

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 66



5-6'2021

Научно-практический журнал

Тимоген®



Сокращает продолжительность болезни при респираторных инфекциях и снижает риск развития осложнений (отит, бронхит, пневмония)



Уменьшает частоту острых респираторных заболеваний и полностью предотвращает развитие эпизодов бронхообструктивного синдрома на фоне ОРВИ у предрасположенных детей (бронхообструкция, предастма)



Стимулирует процесс регенерации слизистой носоглотки.

При профилактическом действии препарат повышает потенциальную метаболическую активность клеток врожденного иммунитета (нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов), что, в случае развития инфекции, увеличивает их способность к поглощению и разрушению бактериальных и вирусных агентов за счет усиления ферментативной (окислительной) активности, синтеза катионных белков и увеличения числа фагоцитирующих клеток. При этом исходное состояние метаболической активности клеток врожденного иммунитета, в отсутствии инфекционных агентов, не изменяется, находясь в пределах нормальных значений.

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. НЕОБХОДИМА КОНСУЛЬТАЦИЯ СПЕЦИАЛИСТА

Учредители:

ISSN 0235-2990

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

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

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 66

5–6'2021

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

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



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

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

Установочный тираж 5000 экз.

Типография:
ООО «Литера»

Дата выхода: июль 2021

Свободная цена

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

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

Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

Научные редакторы

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

Founders:

Ministry of Health
of the Russian Federation

State Scientific Center for Antibiotics

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

Founded in 1956

Editorial office address:

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

Advertising Department:

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

Publisher:

Izdatelstvo «OKI»



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

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

Circulation: 5000 copies

Tipography:
ООО «Литера»

Release Date: July 2021

Free price

ISSN 0235-2990

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Volume 66

5–6'2021

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)**
- Экспериментальные исследования**
- 4 Смирнов В. С., Ленёва И. А., Кудрявцева Т. А., Файзулов Е. Б., Заплутанов В. А., Петленко С. В., Карташова Н. П., Грачёва А. В., Корчевая Е. Р. Возможности подавления цитопатогенного действия коронавируса SARS-CoV-2 по результатам изучения противовирусной активности препарата Цитовир®-3 *in vitro*
- 11 Ленёва И. А., Смирнов В. С., Кудрявцева Т. А., Файзулов Е. Б., Грачева А. В., Карташова Н. П., Заплутанов В. А., Петленко С. В. Местная противовирусная активность препарата «Тимоген®», спрей назальный дозированный, в отношении коронавируса SARS-CoV-2 *in vitro*
- 17 Кузнецова Т. А., Персиянова Е. В., Иванушко Л. А., Смолина Т. П., Газза А. К., Косоулин М. С., Беседнова Н. Н. Иммуноадьювантная активность экзополисахаридов морских бактерий в условиях нормы и иммуносупрессии
- Клинические исследования и практика**
- 23 Богущ Т. А., Самсоник С. А., Башарина А. А., Богущ Е. А., Рябинина О. М., Гришанина А. Н., Кирсанов В. Ю., Карпукhin А. В., Косорук В. С. Корреляция количественных показателей экспрессии эстрогеновых рецепторов α и β в ткани немелкоклеточного рака лёгкого с клиническими характеристиками заболевания
- 30 Данилов А. И., Козлов Р. С., Евсеев А. В., Лямец Л. Л. Выбор антимикробной терапии инфекционного эндокардита в Российской Федерации в условиях доминирования грамположительных микроорганизмов в этиологической структуре
- 35 Акмева А. С., Жамборова Р. Б., Алоева А. Я., Кахидов А. М., Абдулкадырова И. Д., Алтамирова Д. М., Камбачокова З. А., Тагирова Т. Ш., Элиас Э. А. Цитокиновый статус у больных рецидивирующей герпетической инфекцией
- 40 Коломиец В. М., Алыменко М. А., Коваленко А. Л., Павленко Е. П., Таликова Е. В. Эффективность психологического сопровождения с использованием гепато-иммунопротекторов как предикторов в лекарственной терапии туберкулеза
- 48 Сабитов А. У., Ковтун О. П., Бацкалевич Н. А., Мальцев О. В., Жданов К. В., Эсауленко Е. В., Тихонова Е. П., Калинина Ю. С., Сорокин П. В., Чепур С. В., Степанов А. В. Метаанализ рандомизированных контролируемых клинических исследований эффективности препарата Риамиловир в этиотропной терапии острой респираторной вирусной инфекции
- 58 Сабитов А. У., Ковтун О. П., Бацкалевич Н. А., Львов Н. И., Жданов К. В., Эсауленко Е. В., Тихонова Е. П., Калинина Ю. С., Сорокин П. В., Чепур С. В., Степанов А. В. Метаанализ рандомизированных клинических исследований эффективности препарата Риамиловир в этиотропной терапии гриппа
- Обзоры**
- 72 Гончаров А. Е., Колоджиева В. В. Медицинская палеомикробиология: проблемы и перспективы
- 78 Можожкина Г. Н., Самойлова А. Г., Васильева И. А. Бета-лактамы антибиотики — препараты резерва для лечения лекарственно-резистентного туберкулёза
- Рецензия**
- 86 Галегов Г. А., Пронин А. А. Рецензия на монографию Ф. И. Ершова «История вирусологии от Д. И. Ивановского до наших дней»
- Cited in: Medline; Ind Chem; Index Medicus; Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr; Current Contents (Life Sciences) Experimental Research**
- 4 Vyacheslav S. Smirnov, Irina A. Leneva, Tatiana A. Kudryavtseva, Evgeny B. Fayzuloev, Vasily A. Zaplutanov, Sergey V. Petlenko, Nadezhda P. Kartashova, Anastasia V. Gracheva, Ekaterina R. Korchevaya Possibilities of Suppressing The Cytopathogenic Effect of SARS-CoV-2 Coronavirus According to The Results of the Antiviral Activity Of Cytovir®-3 *In Vitro* Study
- 11 Irina A. Leneva, Vyacheslav S. Smirnov, Tatiana A. Kudryavtseva, Evgeny B. Fayzuloev, Anastasia V. Gracheva, Nadezhda P. Kartashova, Vasily A. Zaplutanov, Sergey V. Petlenko Local Antiviral Activity of The Drug «Thymogen®», Nasal Dosed Spray, Against SARS-CoV-2 Coronavirus *In Vitro*
- 17 Tatyana A. Kuznetsova, Elena V. Persiyanova, Lyudmila A. Ivanushko, Tatyana P. Smolina, Anna K. Gazha, Maksim N. Kokulin, Natalia N. Besednova Immunoadjuvant Activity of Marine Bacteria Exopolysaccharides In Normal and Immunosuppressive Conditions
- Clinical Research and Practice**
- 23 Tatiana A. Bogush, Sofia A. Samsonik, Anna A. Basharina, Elena A. Bogush, Olga M. Ryabinina, Anna N. Grishanina, Vladislav Yu. Kirsanov, Alexander V. Karpukhin, Vyacheslav S. Kosorukov Correlation of Quantitative Measures of Estrogen Receptor α and β Expression in Non-Small Cell Lung Cancer Tissue With Clinical Characteristics of the Disease
- 30 Andrey I. Danilov, Roman S. Kozlov, Andrey V. Evseev, Leonid L. Lyamets The Choice of Antimicrobial Therapy For Infective Endocarditis In The Conditions of Gram-Positive Microorganism Dominance In The Etiological Structure In The Russian Federation
- 35 Alisa S. Akmeeva, Renata B. Zhamborova, Arina Ya. Aloeva, Akhmed I. Kakhidov, Iman D. Abdulkadyrova, Diana M. Altamirova, Zareta A. Kambachokova, Tamila Sh. Tagirova, Akhmad Elias Elkham Cytokine Status in Patients With Recurrent Herpes Infection
- 40 Vladislav M. Kolomiets, Maxim A. Alymenko, Aleksey L. Kovalenko, Elizaveta P. Pavlenko, Ekaterina V. Talikova The Effectiveness of Psychological Support With The Use of Hepato-Immunoprotectors As Predictors in Drug Therapy of Tuberculosis
- 48 Alebai U. Sabitov, Olga P. Kovtun, Natalya A. Batskalevich, Oleg V. Maltsev, Konstantin V. Zhdanov, Elena V. Esaulenko, Elena P. Tikhonova, Yulia S. Kalinina, Sergey V. Chepur, Alexander V. Stepanov Meta-analysis of Randomized Controlled Clinical Trials of Riamilovir Efficacy In The Etiotropic Therapy of Acute Respiratory Viral ilfection
- 58 Alebay U. Sabitov, Olga P. Kovtun, Natalya A. Backalevich, Nikolaj I. Lvov, Konstantin V. Zhdanov, Elena V. Esaulenko, Elena P. Tihonova, Yulia S. Kalinina, Pavel V. Sorokin, Sergey V. Chepur, Alexander V. Stepanov Meta-analysis of Randomized Clinical Trials of Riamilovir Efficacy in Etiotropic Therapy of Influenza
- Reviews**
- 72 Artemy E. Goncharov, Viktoria V. Kolodzhieva Medical Paleomicrobiology: Problems and Prospects
- 78 Galina N. Mozhokina, Anastasia G. Samoilova, Irina A. Vasilyeva Beta-Lactam Antibiotics As Reserve Medications For The Treatment of Drug-Resistant Tuberculosis
- Book Review**
- 86 Georgy A. Galegov, Alexander A. Pronin Review of the monograph F. I. Ershov «History of Virology from D. I. Ivanovsky to The Present Day»

* 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.

Возможности подавления цитопатогенного действия коронавируса SARS-CoV-2 по результатам изучения противовирусной активности препарата Цитовир®-3 *in vitro*

В. С. СМЕРНОВ¹, И. А. ЛЕНЁВА², * Т. А. КУДРЯВЦЕВА³,
Е. Б. ФАЙЗУЛОВ², В. А. ЗАПЛУТАНОВ⁴, С. В. ПЕТЛЕНКО⁵,
Н. П. КАРТАШОВА², А. В. ГРАЧЁВА², Е. Р. КОРЧЕВАЯ²

¹ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Российская Федерация

³ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Российская Федерация

⁵ ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова ФМБА», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Possibilities of Suppressing The Cytopathogenic Effect of SARS-CoV-2 Coronavirus According to The Results of the Antiviral Activity of Cytovir®-3 *In Vitro* Study

VYACHESLAV S. SMIRNOV¹, IRINA A. LENEVA², TATIANA A. KUDRYAVTSEVA³,
EVGENY B. FAIZULOEV², VASILY A. ZAPLUTANOV⁴, SERGEY V. PETLENKO⁵,
NADEZHDA P. KARTASHOVA², ANASTASIA V. GRACHEVA², EKATERINA R. KORCHEVAYA²

¹ Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russian Federation

² I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

³ Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation

⁴ Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Russian Federation

⁵ Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russian Federation

Резюме

Введение. Пандемия COVID-19 послужила стимулом к поиску лекарственных средств со специфической противовирусной активностью к новому патогенному штамму коронавируса SARS-CoV-2. В первую очередь научный поиск был направлен на изучение препаратов с уже доказанной эффективностью в отношении гриппа и ОРВИ. **Цель работы** — изучение *in vitro* противовирусной активности препарата Цитовир®-3 в отношении цитопатогенного действия вируса SARS-CoV-2. **Материал и методы.** Противовирусная активность препарата Цитовир®-3 в отношении вируса SARS-CoV-2 изучена в экспериментальных моделях *in vitro* на культуре клеток Vero CCL81 (ATCC). Для расчёта рабочего диапазона концентраций исследуемого препарата с использованием количественного микротетразоливого теста определялась максимальная переносимая концентрация и 50% цитотоксическая доза. **Результаты и обсуждение.** В результате исследования было показано, что наибольшая активность препарата проявлялась при добавлении его к клеткам за 24 ч до и через 1 ч и 24 ч после вирусного заражения, уровень ингибирования при этом достигал 53% (>ИК₅₀) при концентрациях препарата 105, 55 и 85 мкг/мл, соответственно. Цитовир®-3 подавлял вирусную активность SARS-CoV-2 в диапазоне доз от 10 мкг/мл до 105 мкг/мл в указанных условиях инфицирования. Было установлено, что в диапазоне противовирусных доз препарат не проявлял цитотоксического действия на культуру клеток Vero. **Заключение.** Противовирусная активность препарата Цитовир®-3 в отношении вируса SARS-CoV-2 доказана за счёт достижения ИК₅₀, находящейся ниже максимально переносимой концентрации, составившей 149 мкг/мл.

Ключевые слова: SARS-CoV-2; коронавирус; COVID-19; Цитовир®-3; Vero; вирусная цитопатогенность; *in vitro*; противовирусное действие.

Для цитирования: Смирнов В.С., Ленёва И.А., Кудрявцева Т.А., Файзулов Е.Б., Заплутанов В.А., Петленко С.В., Карташова Н.П., Грачёва А.В., Корчевая Е.Р. Возможности подавления цитопатогенного действия коронавируса SARS-CoV-2 по результатам изучения противовирусной активности препарата Цитовир®-3 *in vitro*. Антибиотики и химиотерапия. 2021; 66 (5–6): 4–10. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-4-10.

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции: E-mail: tatyana@kudryavcev.info

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to: E-mail: tatyana@kudryavcev.info

Abstract

Introduction. The COVID-19 pandemic has stimulated the search for drugs with specific antiviral activity against the new pathogenic strain of the SARS-CoV-2 coronavirus. First of all, scientific search was aimed at studying drugs with already proven efficacy against influenza and ARVI. *The aim of this work* was to study the antiviral activity of Cytovir®-3 *in vitro* in relation to the cytopathogenic effect of the SARS-CoV-2 virus. **Material and methods.** The antiviral activity of the drug Cytovir®-3 against the SARS-CoV-2 virus was studied in experimental models *in vitro* on Vero CCL81 cell culture (ATCC). The maximum tolerated concentration and the 50% cytotoxic dose were determined using a quantitative microculture tetrazolium test assay to calculate the working range of the concentrations of the test drug. **Results and discussion.** As a result of the study, it was shown that the greatest activity of the drug was manifested when it was added to the cells 24 hours before and 1 hour and 24 hours after viral infection, the inhibition level reached 53% ($>IC_{50}$) at the drug concentrations of 105, 55, and 85 µg/ml, respectively. Cytovir®-3 suppressed the viral activity of SARS-CoV-2 in the dose range from 10 µg/ml to 105 µg/ml under the indicated infection conditions. It was found that the drug did not exhibit cytotoxic effects on the Vero cell culture in the range of antiviral doses. **Conclusion.** The antiviral activity of Cytovir®-3 against the SARS-CoV-2 virus has been proven due to the achievement of IC_{50} , which is below the maximum tolerated dose of 149 µg/ml.

Keywords: SARS-CoV-2; coronavirus; COVID-19; Cytovir®-3; Vero; viral cytopathogenicity; *in vitro*; antiviral effect.

For citation: Smirnov V. S., Leneva I. A., Kudryavtseva T. A., Faizuloev E. B., Zaplutanov V. A., Petlenko S. V., Kartashova N. P., Gracheva A. V., Korchevaya E. R. Possibilities of suppressing the cytopathogenic effect of SARS-CoV-2 coronavirus according to the results of the antiviral activity of Cytovir®-3 *in vitro* study. *Antibiot i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66 (5–6): 4–10. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-4-10.

Введение

Пандемия COVID-19, вызванная новым патогенным штаммом коронавируса SARS-CoV-2, явилась причиной введения жёстких ограничительных карантинных мер практически во всех странах мира и спровоцировала стагнацию во всех отраслях мировой экономики [1]. Экономические потери, вызванные эпидемией в 2020 г. сопоставимы со всеми затратами на здравоохранение в мире [2]. Заболевание COVID-19, наряду с эпидемией испанского гриппа 1918–1920 гг., уже вошло в историю как чрезвычайная ситуация мирового масштаба, которая выявила все недостатки современного обеспечения биологической безопасности населения [3, 4].

Современные процессы глобализации и урбанизации, скорее всего не будут способствовать эффективному использованию только административных мер, вводимых для предотвращения подобных ситуаций в будущем [1]. По этой причине во всех странах с развитой фармацевтической промышленностью ведётся непрерывный поиск лекарственных препаратов со специфической активностью против возбудителей конкретных инфекционных заболеваний, с целью их дальнейшего лечебно-профилактического применения [5, 6]. В этой связи в первую очередь необходимо обратить внимание на препараты с уже доказанной эффективностью против широкого спектра штаммов различных вирусов, вызывающих ОРВИ [7–9].

Одним из таких лекарственных препаратов является Цитовир®-3. На фармацевтическом рынке он представлен в виде трёх лекарственных форм — порошок для приготовления раствора для приёма внутрь, сироп и капсулы, для различных возрастных целевых категорий пациентов. Цитовир®-3 имеет доказательную базу, основанную на

ранее проведённых доклинических и 6 официально зарегистрированных законченных клинических исследованиях на пациентах взрослого и детского возраста [10–12]. В пострегистрационных и наблюдательных исследованиях в рамках непрерывной системы фармаконадзора препарат показал высокий профиль безопасности применения в рутинной клинической практике. На основании подтверждённых данных, согласно инструкции по медицинскому применению, Цитовир®-3 применяется с целью профилактики и комплексной терапии гриппа и острых респираторных вирусных заболеваний у взрослых и детей с 1 года.

Коронавирусы (*Coronaviridae*) — это большое семейство РНК-содержащих вирусов, способных инфицировать людей и некоторых животных. У человека коронавирусы могут вызвать острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) различной степени тяжести — от лёгких форм до тяжёлого острого респираторного синдрома (далее — ТОРС, англ. SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) и острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС). Ранее коронавирусы рассматривались в качестве агентов, вызывающих у человека инфекции верхних дыхательных путей с преимущественно лёгким течением — т. н. спорадические или сезонные заболевания. Однако в конце 2002 г. в Китае впервые были выявлены случаи заражения людей новым типом коронавируса SARS-CoV, возбудитель, который индуцировал массовый подъём заболеваемости, вызывая у части заболевших поражение не только верхних отделов респираторного тракта, но и лёгких — ТОРС (тяжёлый острый респираторный синдром — «атипичная пневмония»). Вторым крупным очагом коронавирусной инфекции с острым респираторным синдромом стал Ближний Восток. В 2012 г. коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (Middle East respiratory syndrome, MERS-CoV) был

выделен в Саудовской Аравии, а позднее случаи инфицирования были зафиксированы ещё в 20 странах. При этом 36% случаев заболевания оказались летальными [13–15].

Таким образом, учитывая, что в структуре ОРВИ встречаются коронавирусы, является целесообразным проведение экспериментального исследования *in vitro* для оценки влияния лекарственного препарата Цитовир®-3 на патогенность SARS-CoV-2.

Цель исследования — изучение *in vitro* противовирусной активности препарата Цитовир®-3 в отношении цитопатогенного действия вируса SARS-CoV-2.

Материал и методы

Образцы исследуемого препарата и их приготовление.

Для эксперимента была использована смесь трёх активных действующих веществ (альфа-глутамил-триптофан, аскорбиновая кислота, бендазол) пропорционально содержанию на одну терапевтическую дозу лекарственного препарата Цитовир®-3. Предоставленный сухой порошок растворяли в стерильной воде до концентрации 10 мг/мл (сток-раствор), а из сток-раствора готовили необходимые концентрации с использованием питательной среды ДМЕМ с 1% эмбриональной сывороткой коров, L-глутамином (300 мкг/мл) и гентамицином (40 мкг/мл).

Вирус и культура клеток. В работе использовался лабораторный штамм коронавируса SARS-CoV-2 «Дубровка» (идент. № GenBank: MW161041.1). Штамм вируса SARS-CoV-2, который был выделен на культуре клеток Vero из назофарингеального мазка больного COVID-19. Культивирование вируса проводили на клетках эпителия почки африканской зелёной мартышки Vero CCL81 (ATCC) из коллекции НИИВС им. И. И. Мечникова (далее — культура клеток Vero). Клетки культивировали при 37°C в питательной среде ДМЕМ с глутамином и глюкозой 4,5 г/л, 5% эмбриональной сывороткой коров (ЭСК), L-глутамином (300 мкг/мл), гентамицином (40 мкг/мл) в атмосфере 5% CO₂.

Определение цитотоксичности препарата. Вычисление 50% цитотоксической дозы (ЦТД₅₀) проводили количественным методом с использованием микротетразолиевого красителя (МТТ), измеряя оптическую плотность (ОП) опыта и клеточного контроля в программе Microsoft Office Excel 365. Концентрация субстанций, уменьшающая значение ОП на 50% по сравнению с контролем клеток, принималась за 50% цитотоксическую дозу (ЦТД₅₀), вычисление которой проводили при построении кривой зависимости (выживания) с использованием пакета «drc» в программе Rstudio (Version 1.0.143) [C.Ritz, 2016]. Для количественных показателей результат представлен в виде среднего значения ± стандартное отклонение (SD).

Исходя из значения ЦТД₅₀, рассчитывали рабочие концентрации исследуемого препарата для дальнейших экспериментов [16].

Определение противовирусной активности препарата Цитовир®-3 в отношении вируса SARS-CoV-2. Изучение активности препарата Цитовир®-3 в культуре клеток Vero было про-

ведено с использованием метода ингибирования цитопатического действия SARS-CoV-2. К монослою клеток в 96-луночных планшетах препарат Цитовир®-3 был добавлен в диапазоне концентраций — 5, 10, 50, 75, 100, 150, 200 и 300 мкг/мл. В качестве препарата сравнения был использован эталонный препарат сравнения Умифеновир в концентрации 20 мкг/мл, близкой к его значению 50% ингибирующей концентрации (ИК₅₀), ранее определённой в отношении вируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero, показавший противовирусную активность *in vitro* в отношении различных патогенных типов коронавируса (MERS-CoV, SARS-CoV, SARS-CoV-2) [17–19]. В опытах по определению активности Цитовир®-3 были использованы следующие схемы добавления: «лечебно-профилактические» — апробированная и наиболее эффективная для ряда препаратов, — за 2 ч [19] или за 24 ч — внесение препарата за 24 ч до вирусного инфицирования и «лечебные» — внесение через +1, +24, +48, +72 ч после вирусного инфицирования. В качестве вирусного контроля использовали соответствующие разведения вируса без препарата. В качестве клеточного контроля использовали культуру клеток Vero с добавлением питательной среды. Каждая точка эксперимента была поставлена в 4 повторях, было проведено 3 независимых эксперимента. После инкубации в каждую лунку добавляли 100 мкл вируса в необходимой дозе (от 100, 50, 20 и 10 МОИ). Планшеты инкубировали в атмосфере 5% CO₂ при 37°C в течение 5 сут до появления ЦПД в клетках вирусного контроля. Учёт результата проявления ЦПД в клетках проводили с использованием количественного теста МТТ. Процент ингибирования вирусной репродукции проводили в программе Excel по формуле:

$$\text{Ингибирование \%} = \frac{(100 - (\text{ОП}_{\text{кл.контроль}} - \text{ОП}_{\text{опыт}}))}{(\text{ОП}_{\text{кл.контроль}} - \text{ОП}_{\text{вир.контроль}})} * 100$$

Концентрация препарата, вызывающая ингибирование вирусной репродукции на 50%, принималась за ингибирующую концентрацию 50 (ИК₅₀).

Статистическая оценка. Статистическую обработку полученных количественных данных проводили с помощью программы Microsoft Office Excel 365. Для сравнения двух независимых групп использовался непараметрический критерий U Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Изучение цитотоксичности смеси активных веществ препарата Цитовир®-3 в отношении клеток Vero было проведено в серии из трёх опытов (табл. 1). С этой целью были изучены следующие конечные концентрации предоставленного препарата: 5, 10, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400, 500 мкг/мл.

После инкубации в течение 72 ч визуальная оценка при помощи инвертированного микроскопа показала, что в клеточных контролях не было отмечено цитотоксических и морфологических изменений, а также нарушений клеточного монослоя. Аналогично не наблюдалось изменений клеток для исследуемого препарата в концентрациях 5, 10, 50, 75 и 100 мкг/мл. В эксперименте в концентрациях 150 и 200 мкг/мл

Таблица 1. Цитотоксичность препарата Цитовир®-3 в культуре клеток Vero CCL81
Table 1. Cytotoxicity of Cytovir®-3 in the Vero CCL81 cell culture

Препарат Цитовир®-3	Значения МПК и ЦТД ₅₀ , мкг/мл			
	опыт 1	опыт 2	опыт 3	среднее значение
ЦТД ₅₀ ±SD	387±43	274±40	260±68	307±53
МПК (визуально)	100	100	100	100
МПК (МТТ тест)	100	150	200	150±50

Таблица 2. Ингибирование репродукции SARS-CoV-2 исследуемыми препаратами в культуре клеток Vero CCL81
Table 2. Inhibition of SARS-CoV-2 reproduction by the studied drugs in the Vero CCL81 cell culture

Препараты	Доза вируса, MOI	Ингибирование вирусной активности, %								
		Цитовир®-3							Умифеновир	
		концентрации, мкг/мл								
		5	10	50	75	100	150*	200*	300*	20
1-й опыт	100	—	3	17	16	24	19	32	28	—
	20	5	2	21	18	29	23	14	21	—
2-й опыт	100	5	4	15	23	21	19	21	17	33
	20	4	—	16	32 [#]	31 [#]	25	26	17	71
3-й опыт	100	0	0	12	22	20	18	21	4	32
	50	5	2	18	18	23	16	22	6	—
	20	1	—	18	20	28	20	21	8	47
	10	0	0	15	15	30 [#]	24	27	3	—

Примечание. * — Концентрации, которые по полученным данным 2-го этапа исследования \geq МПК; # — достижение специфического подавления вирусной репродукции в рабочем диапазоне концентраций \leq МПК.
Note: * — concentrations, which are \geq MTC, according to the data of the 2nd stage of the study; # — achieving specific suppression of viral reproduction in the working concentration range \leq MTC

Таблица 3. Ингибирование вирусной активности SARS-CoV-2 препаратом Цитовир®-3 в культуре клеток Vero CCL81
Table 3. Inhibition of SARS-CoV-2 viral activity by Cytovir®-3 in the Vero CCL81 cell culture

Схема введения, время до (-) и после (+) инфицирования	Ингибирование вирусной активности, %								ИК ₅₀ , мкг/мл
	концентрация препарата, мкг/мл								
	5	10	50	75	100	125*	150**	200**	
- 24 ч	16	19	21	24	49	26	24	16*	105
+ 1 ч	17	42	49	52	53	8	0	0	55
+ 24 ч	16	38	39	41	53	22	11	5	85
+ 48 ч	0	1	4	29	37	0	0	0	>100
+ 72 ч	0	0	3	9	16	0	0	0	>100

Примечание. * — снижение верхней границы рабочего диапазона концентраций препарата в соответствии с расчётной поправкой на цитопатическое действие вируса SARS-CoV-2; ** — концентрации, которые по полученным данным 2 этапа исследования имели значение \geq МПК.

Note. * — lowering the upper limit of the working range of drug concentrations in accordance with the calculated correction for the cytopathic effect of the SARS-CoV-2 virus; ** — concentrations, which, according to the data obtained at the 2nd stage of the study, had a value of \geq MTC

отмечались клетки округлой формы и морфологически значительно отличающиеся от клеточного контроля. В лунках с более высокими концентрациями (300, 400 и 500 мкг/мл) наблюдалось частичное или полное разрушение клеточного монослоя. По обобщённым результатам всех опытов, цитотоксичность проявлялась в дозах выше 300 мкг/мл. Максимально переносимая концентрация (МПК), при которой не было изменения клеток по сравнению с клеточным контролем, позволила определить безопасный рабочий диапазон концентраций препарата Цитовир®-3 для культуры клеток Vero CCL81 (ATCC), который составил 0–149 мкг/мл.

Исследование подавления вирусной репродукции препаратом Цитовир®-3 показало, что его эффективность возрастала с увеличением концентрации образца (линейность воздействия доза–эффект) (табл. 2). По полученным данным в трёх опытах Цитовир®-3 в низких концентрациях (5 и 10 мкг/мл) не влиял на размножение вируса, при увеличении концентраций с 20 до 100 мкг/мл наблюдалось ингибирование, которое увеличивалось с повышением концентрации (от 15 до 31%). При дальнейшем увеличении кон-

центраций (150, 200 и 300 мкг/мл) ингибирование значительно не увеличивалось, и кривая доза–эффект выходила на плато. В третьем опыте при использовании 4 множественностей заражения — 100, 50, 20 и 10 MOI — были получены сходные результаты.

Цитовир®-3 специфически ингибировал цитопатический эффект вируса SARS-CoV-2, при этом ингибирование возрастало пропорционально с увеличением концентрации и имело тенденцию к уменьшению при увеличении дозы заражения вирусом. Активность Умифеновира, взятого в качестве препарата сравнения, также увеличивалась с уменьшением дозы заражения вирусом, соответствуя его активности в ранее проведённых исследованиях [18].

Специфическим (селективным) считали подавление вирусной репродукции составляющее около 30%. Полученные результаты позволили убедиться в наличии потенциальной противовирусной активности и приступить к следующему этапу экспериментальных опытов. Препарат сравнения Умифеновир убедительно подтвердил заявленную эффективность, что свидетельствует о валидности и воспроизводи-

мости методики, используемой при выполнении данного исследования [19].

Вследующей серии экспериментов была изучена противовирусная активность препарата в отношении вируса SARS-CoV-2 при различных сроках его добавления к культуре клеток: за 24 ч до вирусного инфицирования и через +1, +24, +48, +72 ч после вирусного инфицирования. При этом использовали одинаковую множественность заражения 20 MOI (табл. 3).

Проведённые опыты показали, что наиболее эффективными схемами оказались схемы, при которых Цитовир®-3 добавлялся за 24 ч, через 1 и через 24 ч после вирусного инфицирования.

При этих схемах ингибирование возрастало с увеличением концентрации препарата в диапазоне (5–100 мкг/мл), наиболее высокий уровень ингибирования, достигающий примерно 50%, наблюдался при наивысшей из концентраций 100 мкг/мл. Так, высокий уровень ингибирования от 42 до 53% наблюдался при внесении препарата через 1 ч после инфицирования в широком диапазоне доз (от 10 мкг/мл до 100 мкг/мл). Близкие результаты ингибирования (38–53%) наблюдались при внесении препарата через 24 ч после инфицирования в том же диапазоне доз (от 10 мкг/мл до 100 мкг/мл).

На основании полученных данных, в трёх схемах внесения препарата была достигнута ИК₅₀, которая составила 105, 55 и 85 мкг/мл для Цитовир®-3 при его добавлении к клеткам соответственно за 24 ч, через 1 и через 24 ч после вирусного инфицирования.

Заключение

1. В экспериментальных опытах *in vitro* показана противовирусная активность препарата Цитовир®-3 в отношении вируса SARS-CoV-2 за счёт достижения ИК₅₀ в концентрациях 105, 55 и 85 мкг/мл в схемах введения за 24 ч, через 1 и

Литература/References

1. Брикo Н.И., Каграманян И.Н., Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Чернышаская О.П., Полежаева Н.А. Пандемия COVID-19. Меры борьбы с её распространением в Российской Федерации. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2020; 19(2): 4–12. doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-4-12. [Briko N.I., Kagramanyan I.N., Nikiforov V.V., Suranova T.G., Chernyashskaya O.P., Polezhaeva N.A. Pandemiy COVID-19. Mery bor'by s ee rasprostraneniem v Rossijskoj Federatsii. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika*. 2020; 19(2): 4–12. doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-4-12. (in Russian)]
2. Barlow P, van Schalkwyk M.C., McKee M., Labonte R., Stuckler D. COVID-19 and the collapse of global trade: building an effective public health response. *The Lancet*. 2021; 5 (2): 102–107. doi: 10.1016/S2542-5196(20)30291-6
3. Blumenthal D., Fowler E.J., Elizabeth J., Abrams M.S., Collins S.R. Covid-19 — Implications for the Health Care System. *New Engl J Med*. 2020; 383 (15): 1483–1488. doi: 10.1056/NEJMs2021088.
4. Shaikat N., Ali D.M., Razzak J. Physical and mental health impacts of COVID-19 on healthcare workers: a scoping review. *International Journal of Emergency Medicine*. 2020; 13 (1:40): 1–8. doi: 10.1186/s12245-020-00299-5.
5. Scavone C., Brusco S., Bertini M., Sportiello L., Rafaniello C., Zoccoli A., Berrino L., Racagni G., Rossi F., Capuano A. Current pharmacological

рез 24 ч после вирусного инфицирования, соответственно.

2. Рабочий диапазон концентраций препарата Цитовир®-3, в рамках которого были достигнуты ИК₅₀, находится ниже максимально переносимой концентрации, составившей 149 мкг/мл и выявленной в серии опытов на клетках Vero CCL81.

3. Полученные результаты позволяют продолжить дальнейшее изучение лекарственного препарата Цитовир®-3 в специфических доклинических и клинических исследованиях у больных COVID-19.

Дополнительная информация

Участие авторов. Смирнов В. С. — дизайн исследования, редактирование публикации; Лёнёва И.А. — дизайн и проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Кудрявцева Т.А. — дизайн исследования, написание публикации; Файзулоев Е.Б. — дизайн и проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Заплутанов В.А. — дизайн исследования, редактирование публикации; Петленко С.В. — дизайн исследования, редактирование публикации; Карташова Н.П. — проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Грачёва А.В. — проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Корчевая Е.Р. — проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» (Москва, Россия) по заказу и финансовой поддержке АО «Медико-биологический научно-производственный комплекс «Цитомед» (Санкт-Петербург, Россия).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

- treatments for COVID-19: What's next? *Brit J Pharmacol*. 2020; 177 (21): 4813–4824. doi: 10.1111/bph.15072.
6. Alexander Steve P.H., Armstrong J.F., Davenport A.P., Davies J.A. et al. A rational roadmap for SARS-Cov-2/COVID-19 pharmacotherapeutic research and development: IUPHAR Review 29. *Brit J Pharmacol*. 2020; 177 (21): 4942–4966. doi: 10.1111/bph.15094.
7. Liu Y., Sun W., Li J., Chen L., Wang Y., Zhang L., Yu L. Clinical features and progression of acute respiratory distress syndrome in coronavirus disease 2019. Preprint from medRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.02.17.20024166.
8. Sanders J.M., Monogue M.L., Jodlowski T.Z., Cutrell J.B. Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *J Am Med Assoc*. 2020; 323 (18): 1824–1836 doi: 10.1001/jama.2020.6019.
9. Смирнов В.С., Толоян А.А. Некоторые возможности иммунотерапии при коронавирусной инфекции. *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10 (3): 446–458. doi: 10.15789/2220-7619-SPO-1470. [Smirnov V.S., Tolyan A.A. Nekotorye vozmozhnosti immunoterapii pri koronavirusnoj infektsii. *Infektsiya i immunitet*. 2020; 10 (3): 446–458. doi: 10.15789/2220-7619-SPO-1470. (in Russian)]
10. Смирнов В.С. Профилактика и лечение гриппа и острых респираторных вирусных инфекций. Санкт-Петербург: АЙСИНГ, 2012. [Smirnov V.S. Profilaktika i lechenie grippa i ostrykh respiratornykh virusnykh infektsij. Sankt-Peterburg: AJSING, 2012. (in Russian)]

11. Смирнов В.С., Петленко С.В. Грипп и острые респираторные инфекции. Санкт-Петербург: Гиппократ; 2019. [Smirnov V.S., Petlenko S.V. Gripp i ostrye respiratornyye infektsii. Sankt-Peterburg: Gippokrat; 2019. (in Russian)]
12. Государственный реестр разрешений на проведение клинических исследований. Available at: https://grls.rosminzdrav.ru/CiPermiion-Reg.aspx?PermYear=0&DateInc=&NumInc=&DateBeg=&DateEnd=&Protocol=&RegNm=&Statement=&ProtoNum=&idCiStatementCh=&Qualifier=&CiPhase=&RangeOfApp=&Torg=Цитовир&LFDos=&Producer=&Researcher=&sponsorCountry=&MedBaseCount=&CiType=&PatientCount=&OrgDocOut=2&Status=&NotInReg=0&All=0&PageSize=8&order=date_perm&orderType=desc&pagenum=1 (accessed April 8, 2021). [State register of approvals for clinical trials. Available at: https://grls.rosminzdrav.ru/CiPermiion-Reg.aspx?PermYear=0&DateInc=&NumInc=&DateBeg=&DateEnd=&Protocol=&RegNm=&Statement=&ProtoNum=&idCiStatementCh=&Qualifier=&CiPhase=&RangeOfApp=&Torg=Цитовир&LFDos=&Producer=&Researcher=&sponsorCountry=&MedBaseCount=&CiType=&PatientCount=&OrgDocOut=2&Status=&NotInReg=0&All=0&PageSize=8&order=date_perm&orderType=desc&pagenum=1 (accessed April 8, 2021). (in Russian)]
13. Cherry J.D. The chronology of the 2002-2003 SARS mini pandemic. Paediatric Respiratory Reviews. 2004; 5 (4): 262-269. doi: 10.1016/j.prpv.2004.07.009.
14. Li K., Wohlford-Lenane C.L., Channappaavar R., Park J.E., Earnest J.T., Bair T.B. et al. Mouse-adapted MERS coronavirus causes lethal lung disease in human DPP4 knockin mice. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2017; 114 (15): 3119-3128. doi: 10.1073/pnas.1619109114.
15. Yin Y., Wunderink R.G. Mers, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. Respirology. 2018; 23 (2): 130-137. doi: 10.1111/resp.13196.
16. Muller J.A., Harms M., Schubert A., Mayer B. et al. Development of a high-throughput colorimetric Zika virus infection assay. Med Microbiol Immunology. 2017; 206 (2): 175-185. doi: 10.1007/s00430-017-0493-2.
17. Хамитов Р.А., Логинова С.Я., Шукина В.Н., Борисевич С.В., Максимов В.А., Шустер А.М. Противовирусная активность арбидола и его производных в отношении возбудителя тяжелого острого респираторного синдрома в культурах клеток. Вопросы вирусологии. 2008; 53 (4): 9-13. [Khamitov R.A., Loginova S.Ya., Shchukina V.N., Borisevich S.V., Maksimov V.A., Shuster A.M. Protivovirusnaya aktivnost' arbidola i ego proizvodnykh v otnoshenii vzbuditelya tyazhelogo ostrogo respiratornogo sindroma v kul'turakh kletok. Voprosy Virusologii. 2008; 53 (4): 9-13. (in Russian)]
18. Логинова С.Я., Шукина В.Н., Борисевич С.В., Хамитов Р.А., Максимов В.А., Шустер А.М. Изучение эффективности Арбидола при экспериментальной форме тяжелого острого респираторного синдрома. Антибиотики и химиотерапия. 2019; 64 (7-8): 19-23. doi: 10.24411/0235-2990-2019-100039. [Loginova S.Ya., Shchukina V.N., Borisevich S.V., Khamitov R.A., Maksimov V.A., Shuster A.M. Izuchenie effektivnosti Arbidola pri eksperimental'noj forme tyazhelogo ostrogo respiratornogo sindroma. Antibiotiki i Khimioterapiya. 2019; 64 (7-8): 19-23. doi: 10.24411/0235-2990-2019-100039. (in Russian)]
19. Ленева И.А., Пшеничная Н.Ю., Булгаков В.А. Умифеновир и коронавирусные инфекции: обзор результатов исследований и опыта применения в клинической практике. Терапевтический Архив. 2020; 92 (11): 91-97. doi: 10.26442/00403660.2020.11.000713. [Leneva I.A., Pshenichnaya N.Yu., Bulgakov V.A. Umifenovir i koronavirusnye infektsii: obzor rezul'tatov issledovaniy i opyta primeneniya v klinicheskoy praktike. Terapevticheskij Arkhiv. 2020; 92 (11): 91-97. doi: 10.26442/00403660.2020.11.000713. (in Russian)]

Информация об авторах

Смирнов Вячеслав Сергеевич — д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0002-2723-1496

Ленева Ирина Анатольевна — д. б. н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии, Федеральное государственное научное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0002-7755-2714

Кудрявцева Татьяна Анатольевна — к. б. н., научный сотрудник, лаборатория нанотехнологии и синтеза лекарственных веществ, отдел нейрофармакологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0003-4997-9830

Файзулов Евгений Бахтиерович — к. б. н., зав. лабораторией молекулярной вирусологии, Федеральное государственное научное бюджетное учреждение Научно-исследовательский института вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID 0000-0001-7385-5083

Заплутанов Василий Андреевич — старший научный сотрудник Центра доклинических и клинических исследований отделения молекулярной и радиационной биофизики, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0001-5294-6533

Петленко Сергей Викторович — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии, Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID-ID 0000-0002-2752-4598

Карташова Надежда Павловна — научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии, Феде-

About the authors

Vyacheslav S. Smirnov — D. Sc. in medicine, Professor, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0002-2723-1496.

Irina A. Leneva — D. Sc. in biology, I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0002-7755-2714

Tatiana A. Kudryavtseva — Ph. D. in biology, research scientist, Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0003-4997-9830

Evgeny B. Fayzuloev — Ph. D. in biology, I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0001-7385-5083

Vasily A. Zaplutanov — Senior Researcher at the Center of Preclinical and Clinical Research of the Department of Molecular and Radiation Biophysics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0001-5294-6533

Sergey V. Petlenko — D. Sc. in medicine, Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0002-2752-4598

Nadezhda P. Kartashova — Researcher at the Laboratory of Experimental Virology, I. I. Mechnikov Research Institute of

ральное государственное научное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0003-2096-5080

Грачева Анастасия Вячеславовна — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии, Федеральное государственное научное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0001-8428-4482

Корчевая Екатерина Романовна — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии, Федеральное государственное научное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0002-6417-3301

Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0003-2096-5080

Anastasia V. Gracheva — Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Virology, I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0001-8428-4482

Ekaterina R. Korchevaya — Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Virology I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0002-6417-3301

Местная противовирусная активность препарата «Тимоген®», спрей назальный дозированный, в отношении коронавируса SARS-CoV-2 *in vitro*

И. А. ЛЕНЁВА¹, В. С. СМИРНОВ², *Т. А. КУДРЯВЦЕВА³, Е. Б. ФАЙЗУЛОВЕВ¹,
А. В. ГРАЧЕВА¹, Н. П. КАРТАШОВА¹, В. А. ЗАПЛУТАНОВ⁴, С. В. ПЕТЛЕНКО⁵

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Российская Федерация

² ФГБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁵ ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова ФМБА», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Local Antiviral Activity of The Drug «Thymogen®», Nasal Dosed Spray, Against SARS-CoV-2 Coronavirus *In Vitro*

IRINA A. LENEVA¹, VYACHESLAV S. SMIRNOV², *TATIANA A. KUDRYAVTSEVA³,
EVGENY B. FAYZULOEV¹, ANASTASIA V. GRACHEVA¹, NADEZHDA P. KARTASHOVA¹,
VASILY A. ZAPLUTANOV⁴, SERGEY V. PETLENKO⁵

¹ I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

² Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russian Federation

³ Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation

⁴ Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Saint-Petersburg, Russian Federation

⁵ Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russian Federation

Резюме

В связи с пандемией COVID-19 мировая фарминдустрия достигла впечатляющих результатов по разработке и внедрению в клиническую практику различных типов вакцин, вызывающих формирование приобретённого иммунитета против коронавируса SARS-CoV-2. Однако на данный момент ни у одной из них нет заявленной стопроцентной гарантии защиты. При заболевании COVID-19 наиболее уязвимыми в отношении возникновения тяжёлых осложнений являются пациенты с сопутствующей патологией. Аэрозольный путь передачи SARS-CoV-2 способствует молниеносному распространению новой коронавирусной инфекции среди людей, находящихся в закрытых помещениях с плохой вентиляцией, в условиях большой скученности. В связи с этим крайне актуальной проблемой является поиск лекарственных препаратов, обладающих местной противовирусной активностью, которые, в совокупности с ограничительными мерами и масочным режимом, потенциально могут снизить вероятность заражения коронавирусом. В настоящем экспериментальном исследовании на культуре клеток Vero CCL81 (ATCC) изучена местная противовирусная активность препарата «Тимоген®» спрей в отношении вируса SARS-CoV-2 в сравнении с антисептиком «Мирамистин®» раствор. В результате эксперимента у обоих препаратов в исследуемых концентрациях не было выявлено токсического действия на клетки Vero. В серии опытов местную противовирусную активность против SARS-CoV-2 показал препарат «Тимоген®» спрей при титре вируса 5,2 lg ТЦИД₅₀. Таким образом, препарат «Тимоген®», спрей назальный дозированный, имеет высокий потенциал как лекарственное средство местного применения для профилактики и лечения заболевания COVID-19, что требует дополнительного подтверждения в релевантных клинических исследованиях.

Ключевые слова: Тимоген; спрей; коронавирус; противовирусная активность; Vero; SARS-CoV-2; COVID-19; *in vitro*.

Для цитирования: Ленёва И.А., Смирнов В.С., Кудрявцева Т.А., Файзулов Е.Б., Грачева А.В., Карташова Н.П., Заплучанов В.А., Петленко С.В. Местная противовирусная активность препарата «Тимоген®», спрей назальный дозированный, в отношении коронавируса SARS-CoV-2 *in vitro*. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66 (5–6): 11–16. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-11-16.

Abstract

On account of the COVID-19 pandemic, the global pharmaceutical industry has achieved impressive results in the development and introduction of various types of vaccines causing the formation of acquired immunity

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции:

E-mail: tatyana@kudryavcev.info

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to:

E-mail: tatyana@kudryavcev.info

against the SARS-CoV-2 coronavirus into clinical practice. However, none of them currently show the declared one hundred percent guarantee of protection. In the case of the COVID-19 disease, patients with concomitant pathologies are the most vulnerable to the occurrence of severe complications. The aerosol route of transmission of SARS-CoV-2 contributes to the emergence of outbreaks of the new coronavirus infection in crowded places and closed rooms with poor ventilation. In this regard, an urgent problem is the search for drugs with local antiviral activity, which, together with restrictive measures and mask wearing policy, can potentially reduce the likelihood of contracting coronavirus. In this experimental *in vitro* study on Vero CCL81 cell culture (ATCC), the local antiviral activity of the drug Thymogen® spray against the SARS-CoV-2 virus was studied in comparison with the antiseptic Miramistin® solution. As a result of the experiment, no toxic effects on Vero cells were detected in the drugs in the studied concentrations. In a series of experiments, Thymogen® spray showed local antiviral activity against SARS-CoV-2 when the virus titer was 5,2 lg TCID50. Therefore, the drug Thymogen® dosed nasal spray has high potential as a topical drug for prevention and treatment of COVID-19 disease, which requires additional confirmation in relevant clinical studies.

Keywords: *Thymogen; spray; coronavirus; antiviral activity; Vero; SARS-CoV-2; COVID-19; in vitro.*

For citation: Leneva I.A., Smirnov V.S., Kudryavtseva T.A., Fayzuloev E.B., Gracheva A.V., Kartashova N.P., Zaplutanov V.A., Petlenko S.V. Local antiviral activity of the drug «Thymogen®», nasal dosed spray, against SARS-CoV-2 coronavirus *in vitro*. *Antibiot i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 5–6: 11–16. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-11-16.

Введение

Высокая скорость распространения заболевания COVID-19 по всему миру наряду с массовыми спорадическими вспышками инфекций, вызванных новым штаммом коронавируса SARS-CoV-2, при отсутствии их взаимосвязи с температурой окружающей среды, предопределила уточнение и более глубокое изучение механизмов передачи респираторных вирусов в человеческой популяции [1, 2]. Экспериментальные модели по изучению распространения коронавирусной инфекции привели к выделению из воздушно-капельного нового самостоятельного пути передачи — аэрозольного, определяющего основные эпидемиологические характеристики COVID-19 [3, 4]. Благодаря аэрозольному пути передачи вирус SARS-CoV-2 может продолжительное время сохранять жизнеспособность в закрытых пространствах и помещениях [1]. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) в своих рекомендациях советует придерживаться правила избегания «трёх К»: крытых помещений, в которых люди держатся кучно или контактируют [5]. Полученные данные привели к введению жёстких ограничительных мер практически во всех странах мира, заключающихся в первую очередь в запрете массовых мероприятий, обязательном ношении медицинских масок в местах скопления людей и социальном дистанцировании [6]. Указанные мероприятия направлены на минимизацию вероятности заражения населения с целью недопущения перегрузки системы здравоохранения и не предполагают стопроцентной гарантии защиты от инфекции [7]. Однако в условиях мировой глобализации, когда большинство населения проживает в крупных городах и мегаполисах, ежедневное пользование общественным транспортом и услугами крупных торговых учреждений потенциально уменьшает эффективность ограничительных мер [8]. Некоторые страны Европейского союза по этой причине

ввели правила по обязательному ношению респираторов класса защиты FFP2 в магазинах и общественном транспорте [9].

Наиболее тяжёлое клиническое течение COVID-19 с более высоким риском возникновения летальных осложнений наблюдается у пациентов с такими сопутствующими хроническими заболеваниями, как гипертоническая болезнь, сахарный диабет и хроническая сердечная недостаточность [10]. Диагноз гипертоническая болезнь предполагает постоянный приём пациентом гипотензивных лекарственных препаратов, одной из групп которой являются ингибиторы или антагонисты рецептора ангиотензин-превращающего фермента 2 (ACE2) [11]. На сегодняшний день не выявлено существенных гендерных, расовых или возрастных различий в содержании ACE2 в тканях человека. Установлено, что рецепторы к ACE2, активно экспрессирующиеся эпителиальными клетками, альвеолярными клетками лёгких, гепатоцитами, а также клетками почечных канальцев, и по большей части ответственны за проникновение коронавируса SARS-CoV-2 в клетку-хозяина и организм в целом [12, 13]. Первый контакт вируса с организмом происходит в специфической иммунной среде носоглотки, поэтому крайне важно обеспечить функционирование адекватных защитных механизмов от патогенов непосредственно на слизистой оболочке носа. В настоящее время различными научными группами во всём мире активно ведётся поиск и разработка ACE2 ассоциированных пептидов, способных воздействовать на связывание вируса SARS-CoV-2 с ACE2 [14].

Таким образом, в сложившейся ситуации актуальным является поиск лекарственных препаратов, которые в совокупности с физическими ограничительными мерами, будут способны за счёт своего местного защитного действия минимизировать вероятность вирусного заражения, в том числе и новым штаммом коронавируса SARS-CoV-2 [5, 15].

Одним из таких препаратов, представленных на фармацевтическом рынке Российской Федерации и стран СНГ, является «Тимоген®» в лекарственной форме спрея назального дозированного, применяемого местно для профилактики и комплексной терапии острых и хронических вирусных и бактериальных заболеваний верхних дыхательных путей у взрослых и детей с 1 года. Фармакологический эффект препарата обусловлен регулирующим влиянием на реакции клеточного иммунитета, а также усилением гуморального иммунитета и неспецифической резистентности на уровне целостного организма [16].

Цель исследования — изучение *in vitro* местной противовирусной активности препарата «Тимоген®», спрей назальный дозированный (готовая лекарственная форма, 25 мкг/доза), в отношении коронавируса SARS-CoV-2.

Материал и методы

Обоснование экспериментальной модели. Настоящее исследование основано на адаптированных экспериментальных опытах *in vitro* из методических указаний Росздравнадзора, содержащих описание методов изучения и оценки вирулицидной активности дезинфицирующих средств и субстанций [17]. Местную противовирусную активность исследуемых препаратов изучали по динамике тканевой цитопатогенной дозы вируса SARS-CoV-2, вызывающей гибель 50% клеток монослоя (ТЦИД₅₀). Задачей экспериментального исследования не ставилось достижение уровня ТЦИД₅₀ до нуля, так как изучение препаратов предполагало их использование в рамках рабочего терапевтического диапазона без достижения абсолютного вирулицидного дезинфицирующего действия. Эффективность местных антисептических противовирусных свойств препаратов оценивали по статистически значимому снижению ТЦИД₅₀ в соответствующих разведениях вирусной культуры.

Штамм вируса и культура клеток. Изучение местной противовирусной активности препаратов проводилось в культуре клеток Vero CCL81 (ATCC) из коллекции НИИВС им. И. И. Мечникова. В работе использовался лабораторный штамм коронавируса SARS-CoV-2 «Дубровка» (идентификационный номер GenBank: MW161041.1).

Исследуемый препарат. Исходный образец препарата «Тимоген®» спрей назальный дозированный разводили питательной средой ДМЕМ с 1% эмбриональной сывороткой коров, L-глутамином (300 мкг/мл) и гентамицином (40 мкг/мл). Препарат готовили в 6 разведениях: исходный препарат, 1:5, 1:10, 1:50, 1:100, 1:500. Приготовленные разведения препарата инкубировали 30 мин с культуральной жидкостью, содержащей вирус SARS-CoV-2, разведённый 1:2 и 1:100 в ростовой среде (РС), что соответствует титру вируса 6,9 и 5,2 lgТЦИД₅₀/мл, соответственно.

Препарат сравнения. Исходный образец препарата «Мирамистин®» раствор готовили по той же схеме, что и исследуемый препарат «Тимоген®» спрей. Препарат «Мирамистин®» раствор готовили в 2 разведениях: исходный препарат и 1:100 [18]. Приготовленные разведения препарата инкубировали 30 мин с культуральной жидкостью, содержащей вирус SARS-CoV-2, разведённый 1:2 и 1:100 в РС, что соответствует титру вируса 6,9 и 5,2 lgТЦИД₅₀/мл, соответственно.

Контроль. В качестве отрицательного контроля была использована культуральная жидкость. В качестве вирусного контроля выступала чистая вирусная культура в аналогичных разведениях 1:2 и 1:100 в РС, что соответствует титру вируса

6,9 и 5,2 lgТЦИД₅₀/мл, соответственно. Для исключения эффекта цитотоксичности препарата «Тимоген®» спрей были приготовлены такие же разведения препарата на РС, которые были проинкубированы с культуральной жидкостью без вируса. После инкубирования был определён инфекционный титр проб путём титрования вируса по конечной точке.

Определение титра вируса путём титрования по конечной точке. В стерильных пробирках для титрования готовили 10-кратные разведения каждой пробы (с 10⁻¹ до 10⁻⁷). Приготовленные разведения в объёме 200 мкл вносились в 96-луночные планшеты с культурой клеток Vero CCL81. Планшеты инкубировали в атмосфере 5% CO₂ при 37°C в течение 5 сут до появления цитопатического действия (ЦПД) в клетках вирусного контроля. Учёт результата проявления ЦПД в клетках проводили с использованием количественного микротетразолиевого теста (МТТ). Расчёт титра вируса проводили с использованием формулы Ramakrishnan M. A. в программе Excel [19].

Исследование местной противовирусной активности. Изучение местной противовирусной активности препарата «Тимоген®» спрей в отношении коронавируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero CCL81 было проведено путём титрования инкубированного с препаратом вируса с использованием количественного теста МТТ. Для исследования был выбран следующий диапазон разведений: неразведённый препарат, 1:5, 1:10, 1:50, 1:100, 1:500. В качестве препарата сравнения использовался «Мирамистин®» раствор неразведённый и в разведении 1:1000. Препараты инкубировались 30 мин в РС. В двух сериях опытов были использованы 2 разведения вируса для инкубации (1:2 и 1:100), что соответствует титрам вируса 6,9 и 5,2 lgТЦИД₅₀/мл.

Статистический анализ. Статистическую обработку полученных количественных данных проводили с помощью программы Microsoft Office Excel 365. Для сравнения двух независимых групп использовался непараметрический критерий U Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Для исключения эффекта цитотоксичности препаратов «Тимоген®» спрей и «Мирамистин®» раствор параллельно были приготовлены такие же разведения препаратов на РС без вируса, которые были проинкубированы с культуральной жидкостью без вируса. Изучение этих разведений не выявило изменений в культуре клеток Vero CCL81, что свидетельствует об отсутствии их токсического действия на клетки.

В первом опыте при инкубировании с высокой дозой вируса (титр 6,9 lgТЦИД₅₀/мл разведение 1:2) нами не была выявлена противовирусная активность препаратов «Тимоген®» спрей и «Мирамистин®» раствор во всех изученных разведениях, титр вируса экспериментальных образцов практически не отличался от титра вируса в вирусном контроле (табл. 1).

Для уточнения эффекта во втором опыте для инкубации была использована меньшая доза вируса — разведение 1:100 (табл. 2).

Проведённые исследования показали, что наибольшей противовирусной активностью обладает «Тимоген®» спрей в неразведённом состоянии (2,83 lgТЦИД₅₀ по сравнению с вирусным контролем 5,17 lgТЦИД₅₀ для вирусного контроля при разведении вируса 1:100, $p < 0,05$). Титр вируса

Таблица 1. Противовирусная активность препаратов «Тимоген®» спрей и «Мирамистин®» раствор в отношении коронавируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero CCL81 (титр вируса 6,9 lgTCID₅₀/мл, разведение вируса 1:2)
Table 1. Antiviral activity of Timogen® spray and Miramistin® solution against SARS-CoV-2 coronavirus in Vero CCL81 cell culture (virus titer 6.9 lgTCID₅₀/ml, virus dilution 1:2)

Препараты	«Тимоген®» спрей						«Мирамистин®» раствор		Вирусный контроль
	НП*	1:5	1:10	1:50	1:100	1:500	НП*	1:1000	
Титр вируса lgTCID ₅₀ /мл ^{##}	4,17 [#]	4,50 [#]	5,50	5,50	4,50 [#]	4,83	4,50 [#]	4,50 [#]	4,83

Примечание. * — неразведённый препарат; ## — начальный титр вируса 6,9 lgTCID₅₀/мл.; # — достоверность по отношению к вирусному контролю $p > 0,05$.

Note: * — undiluted preparation; ## — initial titer of the virus 6.9 lgTCID₅₀/ml; # — reliability in relation to viral control $P > 0.05$

Таблица 2. Противовирусная активность препаратов «Тимоген®» спрей и «Мирамистин®» раствор в отношении коронавируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero CCL81 (титр вируса 5,2 lgTCID₅₀/мл, разведение вируса 1:100)
Table 2. Antiviral activity of Timogen® spray and Miramistin® solution against SARS-CoV-2 coronavirus in Vero CCL81 cell culture (virus titer 5.2 lgTCID₅₀/ml, virus dilution 1:100)

Препараты	«Тимоген®» спрей						«Мирамистин®» раствор		Вирусный контроль
	НП*	1:5	1:10	1:50	1:100	1:500	НП*	1:1000	
Титр вируса lgTCID ₅₀ /мл ^{###}	2,83 ^{##}	4,93 [#]	5,17	5,17	4,83 [#]	5,17	4,50 [#]	4,83 [#]	5,17

Примечание. * — неразведённый препарат; ### — начальный титр вируса 5,2 lgTCID₅₀/мл.; # — достоверность по отношению к вирусному контролю $p > 0,05$; ## — достоверность по вирусному контролю $p < 0,05$.

Note: * — undiluted preparation; ### — initial virus titer 5.2 lgTCID₅₀/ml; # — reliability in relation to viral control $P > 0.05$; ## — reliability for viral control $P < 0.05$

при инкубации с препаратом сравнения «Мирамистин®» раствор во всех опытах не отличался от такового в вирусном контроле.

Одной из лекарственных форм препарата «Тимоген®» является спрей назальный дозированный, что явилось основанием для изучения его местной противовирусной активности в отношении коронавируса SARS-CoV-2. Препаратом сравнения был выбран «Мирамистин®» раствор. Оба препарата, согласно инструкциям по медицинскому применению, безопасны в отношении кожных покровов и слизистых оболочек человека. С целью изучения их местной противовирусной активности была использована адаптированная методика исследования местного дезинфицирующего действия из методических указаний (МУ) 3.5.2431-08 «Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств» Роспотребнадзора. Согласно МУ основным критерием дезинфицирующего действия препаратов и субстанций является подавление инфекционности вирусов на исследуемых объектах не менее чем на 4 lgTCID₅₀ (то есть, степень инаktivации должна быть не менее 99,99%) [17]. Целью настоящего эксперимента было изучение местной противовирусной активности за счёт антисептического действия при подавлении инфекционности коронавируса более чем на 2 lgTCID₅₀. Среди всех опытных образцов препаратов в исследуемых объектах достижение местной противовирусной активности по указанным критериям выявлено у препарата «Тимоген®» спрей назальный

дозированный в неразведённом образце и разведении вируса SARS CoV-2 в соотношении 1:100.

Результаты настоящего исследования хорошо согласуются с данными литературы о том, что короткие триптофан-содержащие пептиды, соответствующие общей формуле A-(X)_n-Trp, где: A — аминокислота с алифатическим или карбоксил-содержащим радикалом, X — любая аминокислота, n — количество аминокислотных остатков от 0 до 3, способны ингибировать ACE2 как *in vitro*, так и *ex vivo* [20–22]. Также было установлено, что α-глутамил-триптофан (Тимоген) в клетках HUVEC (пупочная вена человека) обладает значительным ингибирующим потенциалом относительно рецепторов ACE2; так в этом исследовании его IC₅₀ составило 120±12,4 мкМ. Таким образом, совокупность данных по местной противовирусной активности *in vitro* изучаемого лекарственного препарата Тимоген в виде спрея, данных по аэрозольному пути передачи SARS-CoV-2, роли рецепторов ACE2 в патогенезе COVID-19, а также по взаимодействию этих рецепторов с триптофан-содержащими пептидами, делает актуальным проведение клинических исследований препарата Тимоген с целью профилактики и лечения новой коронавирусной инфекции.

Заключение

В результате экспериментальных исследований у препаратов «Тимоген®» спрей и «Мирамистин®» раствор в исследуемых концентрациях не

выявлено токсического действия на клетки Vero.

Из всех исследуемых образцов местную противовирусную активность против SARS-CoV-2 показал неразведённый препарат «Тимоген®» спрей при титре вируса 5,2 IgГЦИД₅₀/мл, что соответствует разведению вируса в рабочей среде 1:100.

Таким образом, препарат «Тимоген®» спрей назальный дозированный, обладает выраженными защитными свойствами, и может рассматриваться в качестве лекарственного средства местного применения для профилактики и лечения заболевания COVID-19. Полученные результаты, безусловно, требуют дальнейшего подтверждения в релевантных клинических исследованиях.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вак-

цин и сывороток им. И. И. Мечникова» (г. Москва, РФ) по заказу и финансовой поддержке АО «Медико-биологический научно-производственный комплекс «Цитомед» (г. Санкт-Петербург, РФ).

Участие авторов. Ленёва И. А. — дизайн и проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Смирнов В. С. — дизайн исследования, редактирование публикации; Кудрявцева Т. А. — дизайн исследования, написание публикации; Файзулоев Е. Б. — дизайн и проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации; Грачёва А. В. — проведение исследования, статистическая обработка; Карташова Н. П. — проведение исследования, статистическая обработка; Заплутанов В. А. — дизайн исследования, редактирование публикации; Петленко С. В. — дизайн исследования, редактирование публикации.

Литература/References

1. Lepelletier D., Grandbastien B., Romano-Bertrand S., Aho S., Chindiac C., Gehano J-F et al. What face mask for what use in the context of the COVID-19 pandemic? The French guidelines. *J Hosp Infect.* 2020 Jul; 105 (3): 414–418. doi: 10.1016/j.jhin.2020.04.036.
2. Samet J. M., Prather K., Benjamin G., Lakdawala S., Lowe J-M., Reingold A. et al. Airborne Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): What We Know. *Clin Infect Dis.* 2021. ciab039. Published: 18 January 2021 <https://doi.org/10.1093/cid/ciab039>.
3. van Doremalen N., Bushmaker T., Morris D.H., Holbrook M. G., Gamble A., Williamson B.N. et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1 // *N Engl J Med.* 2020; 382: 1564-7. doi: 10.1056/NEJMc2004973.
4. Jarvis M.C. Aerosol Transmission of SARS-CoV-2: Physical Principles and Implications // *Front Public Health.* 2020; 8: 590041 doi: 10.3389/fpubh.2020.590041.
5. <https://www.who.int/ru/emergencies/diseases/novel>
6. Joffe A.R. COVID-19: Rethinking the Lockdown Groupthink. *Front. Public Health.* 2021. February 26. doi: 0.3389/fpubh.2021.625778.
7. MacIntyre C.R., Ananda-Rajan M.R. Scientific evidence supports aerosol transmission of SARS-COV-2. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2020; 9: 202.
8. de Vries R. D., Schmitz K.S., Bovier F.T., Predella C., Khao J., Noak D., et al. Intranasal fusion inhibitory lipopeptide prevents direct-contact SARS-CoV-2 transmission in ferrets. *Science.* 26 Mar 2021; 371 (6536): 1379–1382. doi: 10.1126/science.abf4896.
9. European Centre for Disease Prevention and Control. 2020. Infection prevention and control for COVID-19 in healthcare settings. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/infection-prevention-and-control-covid-19-healthcare-settings>
10. Oraby T., Tyshenko M.G., Maldonado J.C., Vatcheva K., Elsaadny S., Alali W.Q. et al. Modeling the effect of lockdown timing as a COVID-19 control measure in countries with differing social contacts. *Scientific Reports.* 2021; 11: 3354. doi: 10.1038/s41598-021-82873-2.
11. Драпкина О.М., Васильева Л.Э. Спорные вопросы применения ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента и антагонистов рецепторов ангиотензина у пациентов с COVID-19. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020; 19 (3): 2580. doi: 10.15829/1728-8800-2020-2580. [Drapkina O.M., Vasil'eva L.E. Spornye voprosy primeneniya ingibitorov angiotenzin-prevrashchajushchego fermenta i antagonistov retseptorov angiotenzina u patsientov s COVID-19. *Kardiovaskulyarnaya Terapiya i Profilaktika.* 2020; 19 (3): 2580. doi: 10.15829/1728-8800-2020-2580. (in Russian)]
12. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Смирнов В.С. Особенности патогенеза и течения COVID-19 у лиц пожилого и старческого возраста. Успехи геронтолог. 2020; 33 (6): 1032–1042, doi: 10.34922/AE.2020.33.6.003. [Kuznik B.I., Khavinson V.Kh., Smirnov V.S. Osobennosti patogeneza i techeniya COVID-19 u lits pozhilogo i starcheskogo vozrasta. *Uspekhi Gerontol.* 2020; 33 (6): 1032–1042. doi: 10.34922/AE.2020.33.6.003. (in Russian)]

Информация об авторах

Ленева Ирина Анатольевна — д. б. н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии, Федеральное Государственное Научное Бюджетное Учреждение Научно-

13. Шатунова П.О., Быков А.С., Свитич О.А., Зверев В.В. Ангиотензин-превращающий фермент 2. Подходы к патогенетической терапии COVID-19. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97 (4): 339–345. doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-4-6. [Shatunova P.O., Bykov A.S., Svitich O.A., Zverev V.V. Angiotenzinprevrashchajushchij ferment 2. Podkhody k patogeneticheskoj terapii COVID-19. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii.* 2020; 97 (4): 339–345. doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-4-6. (in Russian)]
14. Laure R.S., Xing E., Kenney A.D., Zhang Y., Tuazon J. A., Li J. et al. Rationally Designed ACE2-Derived Peptides Inhibit SARS-CoV-2 // *Bioconjugate Chem.* 2021. 32., 1., 215-223
15. Saha J., Chouhan P Lockdown and unlock for the COVID-19 pandemic and associated residential mobility in India. *Intern J Infect Dis.* 2021; 104: 382–389. doi: 10.1016/j.ijid.2020.11.187.
16. Тихомирова А.Р., Рулева А.А. Клинико-иммунологическая эффективность отечественного иммуноотропного препарата у детей при острых респираторных инфекциях с бронхообструктивным синдромом. *Иммунология.* 2020; 41: 3: 249–255. doi: 10.33029/0206-4952-2020-41-3-2. [Tikhomirova A.R., Ruleva A.A. Kliniko-immunologicheskaya effektivnost' otechestvennogo immunotropnogo preparata u detej pri ostrykh respiratornykh infektsiyakh s bronkhoobstruktivnym sindromom. *Immunologiya.* 2020; 41: 3: 249–255. doi: 10.33029/0206-4952-2020-41-3-2. (in Russian)]
17. МУ 3.5.2431 – 08 Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств. Размещен: 12 ноября 2015 г. [МУ 3.5.2431 – 08 Izuchenie i otsenka virulitsidnoj aktivnosti dezinfitsiruyushchikh sredstv. Razmeshchen: 12 noyabrya 2015 g. (in Russian)]
18. Крюков А.И., Кунельская В.Я., Ивойлов А.Ю., Шадрин Г.Б., Мачулин А.И., Киричекно И.М. Клиническая эффективность применения препарата Мирамистин у детей с обострением хронического грибкового аденоидита. *Лечебное дело.* 2016; 4: 45–50. [Krjukov A.I., Kunel'skaya V.Ya., Ivoilov A.Yu., Shadrin G.B., Machulin A.I., Kirichekno I.M. Klinicheskaya effektivnost' primeneniya preparata Miramistin u detej s obostreniem khronicheskogo gribkovogo adenoidita. *Lechebnoe delo.* 2016; 4: 45–50. (in Russian)]
19. Ramakrishnan M.A. Determination of 50% endpoint titer using a simple formula. *World J Virol.* 2016; 5 (2): 85–86. doi: 10.5501/wjv.v5.i2.85.
20. Schütz D., Ruiz-Blanco Y.B., Münch J., Kirchoff F., Sanchez-Garcia E., Muller J.A. et al. Peptide and peptide-based inhibitors of SARS-CoV-2 entry. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020; 167: 47–65. doi: 10.1016/j.addr.2020.11.007.
21. Khedr S., Deussen A., Kopalani I., Zatschler B. Effects of tryptophan-containing peptides on angiotensin-converting enzyme activity and vessel tone ex vivo and in vivo. *Eur J Nutr.* 2016., December 22, 13, doi: 10.1007/s00394-016-1374y.
22. Martin M., Hagemann D., Nguenn T.T., Schwarz L., Khedr S., Moskopp M.L. et al. Plasma concentrations and ACE-inhibitory effects of tryptophan-containing peptides from whey protein hydrolysate in healthy volunteers. *Eur J Nutr.* 2020; 59: 1135–1147. doi: 10.1007/s00394-019-01974-x.

About the authors

Irina A. Leneva — D. Sc. in biology, I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0002-7755-2714

исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0002-7755-2714

Смирнов Вячеслав Сергеевич — д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0002-2723-1496

Кудрявцева Татьяна Анатольевна — к. б. н., научный сотрудник, лаборатория нанотехнологии и синтеза лекарственных веществ, отдел нейрофармакологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0003-4997-9830

Файзулов Евгений Бахтиерович — к. б. н., зав. лабораторией молекулярной вирусологии, Федеральное Государственное Научное Бюджетное Учреждение Научно-исследовательский института вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0001-7385-5083

Грачева Анастасия Вячеславовна — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии, Федеральное Государственное Научное Бюджетное Учреждение Научно-исследовательский института вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0001-8428-4482

Карташова Надежда Павловна — научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии, Федеральное Государственное Научное Бюджетное Учреждение Научно-исследовательский института вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0003-2096-5080

Заплутанов Василий Андреевич — старший научный сотрудник Центра доклинических и клинических исследований отделения молекулярной и радиационной биофизики, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Ленинградская обл., г. Гатчина, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0001-5294-6533

Петленко Сергей Викторович — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии, Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID-ID: 0000-0002-2752-4598

Vyacheslav S. Smirnov — D. Sc. in medicine, Professor, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0002-2723-1496.

Tatiana A. Kudryavtseva — Ph. D. in biology, research scientist, Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0003-4997-9830

Evgeny B. Fayzuloev — Ph. D. in biology, I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0001-7385-5083

Anastasia V. Gracheva — Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Virology, I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0001-8428-4482

Nadezhda P. Kartashova — Researcher at the Laboratory of Experimental Virology, I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0003-2096-5080

Vasily A. Zaplutanov — Senior Researcher at the Center of Preclinical and Clinical Research of the Department of Molecular and Radiation Biophysics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0001-5294-6533

Sergey V. Petlenko — D. Sc. in medicine, Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID-ID: 0000-0002-2752-4598

Иммуноадъювантная активность экзополисахаридов морских бактерий в условиях нормы и иммуносупрессии

*Т. А. КУЗНЕЦОВА¹, Е. В. ПЕРСИЯНОВА¹, Л. А. ИВАНУШКО¹,
Т. П. СМОЛИНА¹, А. К. ГАЖА¹, М. С. КОКОУЛИН², Н. Н. БЕСЕДНОВА¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация

² Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Российская Федерация

Immunoadjuvant Activity of Marine Bacteria Exopolysaccharides In Normal and Immunosuppressive Conditions

*TATYANA A. KUZNETSOVA, ELENA V. PERSIYANOVA,
LYUDMILA A. IVANUSHKO, TATYANA P. SMOLINA, ANNA K. GAZHA,
MAKSIM S. KOKULIN, NATALIA N. BESEDNOVA

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

² G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Vladivostok, Russian Federation

Резюме

Цель. Исследование механизмов иммуноадъювантного действия экзополисахаридов (ПС) морских микроорганизмов в условиях нормы и иммуносупрессии *in vivo*. **Материал и методы.** Экспериментальные исследования проведены на мышцах-самцах линии BALB/c, которых иммунизировали композициями ПС или гидроксида алюминия с овальбумином (ОВА). Иммуносупрессию индуцировали путём трёхкратного внутрибрюшинного введения дексаметазона (2 мг/кг). В сыворотке крови определяли уровень специфических антител (IgG, IgG1 и IgG2a) и цитокинов (IFN- γ , IL-2, IL-10). **Результаты.** При включении ПС в состав иммунных композиций у животных выявлено усиление специфического иммунного ответа к ОВА, сопоставимое с эффектом гидроксида алюминия. Под влиянием исследуемых ПС также увеличивался уровень как про-, так и противовоспалительных цитокинов. **Выводы.** ПС из морских бактерий действуют как адъюванты в условиях нормального и иммуносупрессивного организма, стимулируя смешанный Th1 (IgG2a, INF- γ) и Th2 (IgG1, IL-10) иммунный ответ к ОВА.

Ключевые слова: ПС морских бактерий; адъюванты; дексаметазон; овальбумин, цитокины.

Для цитирования: Кузнецова Т. А., Персиянова Е. В., Иванушко Л. А., Смолина Т. П., Гажга А. К., Кокоулин М. С., Беседнова Н. Н. Иммуноадъювантная активность экзополисахаридов морских бактерий в условиях нормы и иммуносупрессии. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66 (5–6): 17–22. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-17-22.

Abstract

Aim. To assess the mechanisms of immunoadjuvant activity of marine bacteria exopolysaccharides (PS) in normal and immunosuppressive conditions *in vivo*. **Material and methods.** Experimental studies were carried out on male BALB/c mice, immunized with compositions of PS or aluminum hydroxide and ovalbumin (OVA). Immunosuppression was induced by triple intraperitoneal administration of dexamethasone (2 mg/kg). Serum levels of specific antibodies (IgG, IgG1, and IgG2a) and cytokines (IFN- γ , IL-2, IL-10) were determined. **Results.** The inclusion of PS to the immune compositions led to the formation of an enhanced specific IgG, IgG1, and IgG2a to OVA, comparable to the effect of aluminum hydroxide. The studied PS also contributed to an increase in the level of both pro- and anti-inflammatory cytokines. **Conclusion.** PS from marine bacteria act as adjuvants in normal and immunosuppressive conditions, stimulating a mixed Th1 (IgG2a, INF- γ) and Th2 (IgG1, IL-10) immune response to OVA.

Keywords: polysaccharides of marine bacteria; adjuvants; dexamethasone; ovalbumin; cytokines.

For citation: Kuznetsova T. A., Persiyanova E. V., Ivanushko L. A., Smolina T. P., Gazha A. K., Kokoulin M. S., Besednova N. N. Immunoadjuvant activity of marine bacteria exopolysaccharides in normal and immunosuppressive conditions. *Antibiot i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66 (5–6): 17–22. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-17-22.

Введение

Продукты бактериального происхождения, такие как липополисахариды (ЛПС) грамотрица-

тельных бактерий, представляют интерес в качестве адъювантов. Один из самых сильных и доступных адъювантов этой группы — липид А [1],

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции: Сельская, 1, НИИ эпидемиологии и микробиологии, г. Владивосток.
E-mail: takuznets@mail.ru

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to: 1 Selskaya, G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation. E-mail: takuznets@mail.ru

однако в связи с его высокой токсичностью предпочтением для практического применения получили его производные. В частности, в течение многих лет широко используется в качестве адъюванта к различным вакцинам MPLA (монофосфориллипид А — monophosphoryl lipid A). Известна адъювантная композиция, включающая 3-о-деацелированный 4'-MPLA (AS04) — очищенная, детоксицированная производная ЛПС из бактерий рода *Salmonella*, адсорбированная на различных соединениях алюминия. Эта система обеспечивает прямую стимуляцию антигенпрезентирующих клеток, что приводит к усилению как гуморальных, так и клеточных иммунных реакций [2–4].

Липополисахариды морских грамотрицательных бактерий, составляющие огромную часть их внешней мембраны и играющие существенную роль в адаптации организмов к специфическим условиям окружающей среды, в отличие от ЛПС наземных бактерий, преимущественно, не токсичны и биоразлагаемы. В этом аспекте экзополисахариды морских бактерий выгодно отличаются от ЛПС и ПС из наземных бактерий, растений и водорослей. Это связано также и с тем, что для морских бактерий можно создать определённые воспроизводимые контролируемые параметры производства, в результате чего исключается экологическое воздействие и достигается высокое качество конечного продукта [5].

В последнее десятилетие появляется всё больше работ, касающихся модулирующего действия экзополисахаридов (ПС) морских бактерий на иммунную систему позвоночных, благодаря их способности изменять функциональное состояние иммунокомпетентных клеток [6–8]. В этой связи ПС представляют перспективу в качестве адъювантов вакцин.

Особую важность представляет разработка адъювантных комплексов для создания более эффективного поствакцинального иммунитета при вакцинации у иммунокомпрометированных лиц, каковыми являются люди с риском развития тяжёлых инфекций вследствие дефектов иммунной системы, обусловленные как наследственными причинами (первичные иммунодефициты), так и вторичными иммунодефицитами, возникающими вследствие инфекций, онкологических заболеваний, приёма иммунодепрессантов. К этой группе также относятся пожилые люди.

Разработка новых эффективных и безопасных адъювантов, способных усиливать гуморальный и клеточный иммунитет, относится к числу актуальных направлений современной экспериментальной иммунологии. Востребованными остаются исследования, связанные с изучением возможности использования средств, восстанавливающих адекватное реагирование на введение различных вакцинных препаратов. К числу кан-

дидатов, претендующих на роль таких соединений, относятся ПС морских бактерий.

Цель работы — исследование механизмов иммуноадъювантного действия ПС морских микроорганизмов в условиях нормы и иммуносупрессии *in vivo*.

Материал и методы

Бактериальные штаммы, из которых выделяли ПС1 и 2, получены из коллекции морских микроорганизмов (КММ) ТИБОХ ДВО РАН.

ПС1 получен путём деградации ЛПС морской грамотрицательной бактерии *Cobetia litoralis* КММ 3890^T и состоит из разветвлённых трисахаридных повторяющихся звеньев, состоящих из D-глюкозы (D-Glcp), D-маннозы (D-Manp), и сульфатированной по положению О-5 3-дезоксид-манноокт-2-улозоновой кислоты (Kдоp5S) [9].

ПС2 получен путём деградации ЛПС морской грамотрицательной бактерии *Idiomarina abyssalis* КММ 227^T и характеризуется следующей уникальной структурой: он состоит из сульфатированных пентасахаридных повторяющихся звеньев и содержит два остатка 2-ацетиамидо-2-дезоксид-D-глюкуроновой кислоты (D-GlcpNAcA), L-рамнозы (L-Rhap), 2,4-диацетиамидо-2,4,6-тридезоксид-D-глюкозы (D-QuipNAc4NAc), а также сульфатированный по положению О-2 остаток 3,6-дидеокси-3-(4-гидроксидбутирамидо)-D-глюкозы [D-Quip2S3N(4Hb)] [10].

Экспериментальные исследования *in vivo* выполнены на мышах-самцах BALB/c массой 18–20 г. Работа проводилась с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях». Животных выводили из опыта с использованием эфирного наркоза. Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом «Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова».

Мышей-самцов BALB/c рандомизировали на группы по 10–12 животных, иммунизированных, соответственно, композициями: ПС из морской бактерии *Cobetia litoralis* КММ 3890^T (ПС1) с овалбумином (ОВА); ПС из морской бактерии *Idiomarina abyssalis* КММ 227^T (ПС2) с ОВА; гидроокись алюминия (лицензированный адъювант) с ОВА; ОВА.

Суспензию ПС или гидроксида алюминия с овалбумином (ОВА) готовили путём смешивания или адсорбции на геле гидроксида алюминия в течение 1 ч. В качестве растворителя использовали фосфатно-буферный раствор pH 7,2. Животных иммунизировали внутрибрюшинно 3-кратно с интервалом 2 нед. (0, 14, 28 дни) ОВА (EndoFitMOvalbumin, InvivoGenEuropa, USA) в дозе 100 мкг/мышь. Через 33–35 дней от начала иммунизации производили тотальный отбор крови из сонных артерий. В сыворотке крови определяли IgG, IgG1 and IgG2a антигена с применением тест-системы MouseAnti-OVA IgG, IgG1 and IgG2a Antibody Assay Kit (Chodrex, Inc) и выражали в Ig мкг/мл. Уровень цитокинов (IFN- γ , IL-2, IL-10) в сыворотке крови мышей определяли с применением тест-систем MousePlatinum ELISA (eBioscience, Австрия). Результаты измеряли на микропланшетном ридере Multiscan RC (Labsystems, Финляндия) при 450 нм.

Для воспроизведения модели иммуносупрессии *in vivo* применялся дексаметазон (РУП «Белмедпрепараты», Россия), введение препарата мышам осуществляли внутрибрюшинно трёхкратно по 0,1 мл в дозировке 40 мкг (2 мг/кг) [11]. Иммунизацию животных композициями ПС1+ОВА или ПС2+ОВА осуществляли через сутки после введения дексаметазона.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программы «Statistica-10». Данные представлены в виде средней и её отклонения ($M \pm \sigma$). Оценку различий между двумя независимыми группами проводили с использованием критерия Манна–Уитни. Критическое значение уровня значимости принималось равным 5% ($p < 0,05$).

Влияние ПС на уровень ОВА-специфических IgG, IgG1 и IgG2a в сыворотке мышей BALB/c, иммунизированных овалбумином

Effect of PS on the level of OVA-specific IgG, IgG1, and IgG2a in the serum of BALB/c mice immunized with ovalbumin

Уровень ОВА-специфических IgG (мкг/мл)	ПС 1+ОВА	ПС 2+ОВА	Гидроокись алюминия + ОВА	ОВА (Контроль)
IgG	760,8±139, 7*	2004,4±255,5*#	1028,4±224,4*	30,4±5,6
IgG1	500,5±114, 2*	953,6±150,1*#	414,5±65,7*	19,7±5,4
IgG2a	197,1±28,3*#	736,1±147,7*#	17,8±1,8*	1,35±0,3
ИС (по IgG)	25,0	65,9	33,8	
IgG1/IgG2a	2,5	1,3	23,3	14,6

Примечание. Показатели $M \pm \delta$, $n=6$; * — $p < 0,05$ — значимость различий показателей в сравнении с контролем (ОВА); # — $p < 0,05$ — значимость различий показателей в сравнении с гидроокисью алюминия. ИС рассчитан как отношение уровня общего IgG в опытных группах к контролю (ОВА).

Note. $M \pm \delta$, $n=6$ indicators; * — $P < 0.05$ — significance of differences in indicators in comparison with control (OVA); # — $P < 0.05$ — significance of differences in indicators in comparison with aluminum hydroxide. The stimulation index was calculated as the ratio of the level of total IgG in the experimental groups to the control (OVA).

Результаты и обсуждение

Анализ специфического иммунного ответа показал, что при иммунизации мышей ОВА под влиянием исследуемых ПС и гидроокиси алюминия содержание как общего иммуноглобулина (IgG), так и его изоформ (IgG1 и IgG2a) увеличивалось по сравнению с контролем (ОВА) ($p < 0,05$). Расчёт индексов стимуляции (ИС) иммунного ответа по общему IgG под влиянием ПС1 и ПС2 и гидроокиси алюминия составил, соответственно, 25; 65,9 и 33,8, что свидетельствует о проявлении ПС значительной адъювантной активности, сопоставимой с эффектом гидроокиси алюминия (таблица, рис. 1).

Сравнение адъювантной активности с учётом ИС показало, что эффект ПС1 по общему IgG и

IgG1 аналогичен эффекту гидроокиси алюминия ($p > 0,05$), а по IgG2a значимо превосходил таковой ($p < 0,05$). Эффект ПС2 превосходил таковой у гидроокиси алюминия по уровню общего IgG ($p < 0,05$), а также значимо превышал по уровню IgG1 ($p < 0,05$) и по уровню IgG2a ($p < 0,05$) (см. таблицу).

Иммунный ответ к различным антигенам требует участия разных типов иммунных реакций. Так, ответ Th1 коррелирует с индукцией клеточного иммунитета, необходимого для защиты от внутриклеточных инфекционных агентов (бактерии, простейшие) и характеризуется усиленной выработкой IgG2a, IgG2b, IgG3 у мышей. Ответ же Th2 контролирует гуморальный иммунитет, который эффективен для защиты от большинства бактериальных и ряда вирусных инфекций и характеризуется усиленной продукцией IgG1 [12–14].

Именно адъювант определяет направленность ответа по Th1 или Th2 пути, генерируемого антигенами [13]. Для отражения баланса Th1/Th2 или характеристики направленности иммунного ответа по Th1 или Th2 типу применяются индексы IgG1/IgG2a.

Соотношение изоформ IgG1/IgG2a (в мкг/мл) для ПС1 и ПС2 составило, соответственно, 2,5 и 1,3, что свидетельствует об активации обеих эффекторных субпопуляций Т-лимфоцитов (Th1 и Th2). Под влиянием гидроокиси алюминия этот показатель составил 23,3, что свидетельствует о преимущественной продукции IgG1, т. е. об активации Th2, и, следовательно, о стимуляции гуморального иммунного ответа.

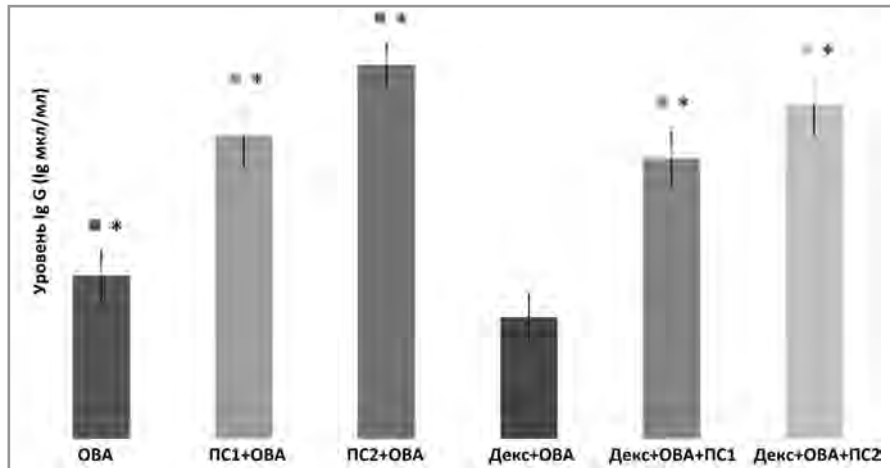


Рис. 1. Влияние ПС на уровень ОВА-специфических IgG в сыворотке крови мышей BALB/c в условиях иммуносупрессии

Примечание. Показатели $M \pm \delta$, $n=6$; * — $p < 0,05$ — значимость различий в сравнении с группой Дексаметазон+ОВА.

Fig. 1. Effect of polysaccharides (PS) on the level of OVA-specific IgG in the serum of BALB/c mice under immunosuppression

Note. $M \pm \delta$, $n=6$ indicators; * — $P < 0.05$ — significance of differences in comparison with the Dexamethasone + OVA group.

Анализ профиля цитокинов у животных, иммунизированных композициями ПС1 и ПС2 с ОВА показал усиление продукции провоспалительных (IFN- γ и IL-2) цитокинов по сравнению с контролем (ОВА) ($p < 0,05$), в то время как применение гидроксида алюминия в качестве адъюванта не оказывало значимого влияния на уровень этих цитокинов ($p > 0,05$). В отношении IL-10 (противовоспалительного медиатора) под влиянием исследуемых ПС, а также гидроксида алюминия выявлено усиление его продукции ($p < 0,05$) (рис. 2).

Также проведено изучение возможности реализации адъювантных свойств ПС в условиях иммуносупрессии, индуцированной дексаметазоном. Было установлено, что иммуносупрессия индуцировала значительное снижение уровня IgG ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (ОВА). Введение ПС1 и ПС2 в состав вакцинных композиций способствовало усилению иммунного ответа у иммуносупрессированных животных, о чём свидетельствует увеличение содержания общего IgG по сравнению с контролем (дексаметазон+ОВА) ($p < 0,05$) (рис. 1).

При моделировании дексаметазониндуцированной иммуносупрессии у иммунизированных ОВА животных наблюдалось ингибирование продукции провоспалительных цитокинов (INF- γ и IL-2) по отношению к контролю (ОВА) ($p < 0,05$), уровень IL-10 значимо не отличался от такового в

группе контроля (ОВА). При включении образцов ПС в состав композиций с ОВА уровень как про-, так и противовоспалительных цитокинов увеличивался по сравнению с таковым в контрольной группе (дексаметазон+ОВА) ($p < 0,05$) (см. рис. 2).

Известно, что цитокины Th1- типа (такие как IFN- γ , TNF α , IL-2, IL-12) имеют тенденцию способствовать индукции клеточного иммунного ответа на введённый антиген. Напротив, высокий уровень цитокинов Th2 типа (например, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) способствует индукции гуморального иммунного ответа [13, 14]. В наших экспериментальных условиях под влиянием ПС морских бактерий у иммунизированных ОВА животных выявлено усиление продукции цитокинов как Th1-типа (IFN- γ), так и Th2 типа (IL-10).

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют, что ПС из морских бактерий действуют как адъюванты в условиях нормального и иммуносупрессированного организма, стимулируя смешанный Th1 (IgG2a, INF- γ) и Th2 (IgG1, IL-10) иммунный ответ к ОВА.

Нарушение иммунитета, связанное с применением глюкокортикоидов (ГК), является немаловажной проблемой. Характерная особенность ГК — иммуносупрессивная активность — является результатом подавления разных звеньев иммунного ответа. При этом эффекты ГК в значительной степени зависят от дозы и продолжи-

тельности применения. Важной стороной действия больших доз ГК является их тормозящее влияние на гуморальный и клеточный иммунный ответ. Это во многом связано с их способностью ингибировать синтез ряда провоспалительных медиаторов, продуцируемых моноцитами и макрофагами, подавлять экспрессию хемокинов и регулировать продукцию противовоспалительных цитокинов [15–17].

В их числе дексаметазон — синтетический кортикостероид, включённый в перечень ЖНЛС для медицинского применения, и широко используемый в клинической медицине в качестве специфического средства заместительной терапии и лечения аллергических, аутоиммунных, инфекционных и др. заболеваний, связанных с персистирующим воспалением. С учётом значительной имму-

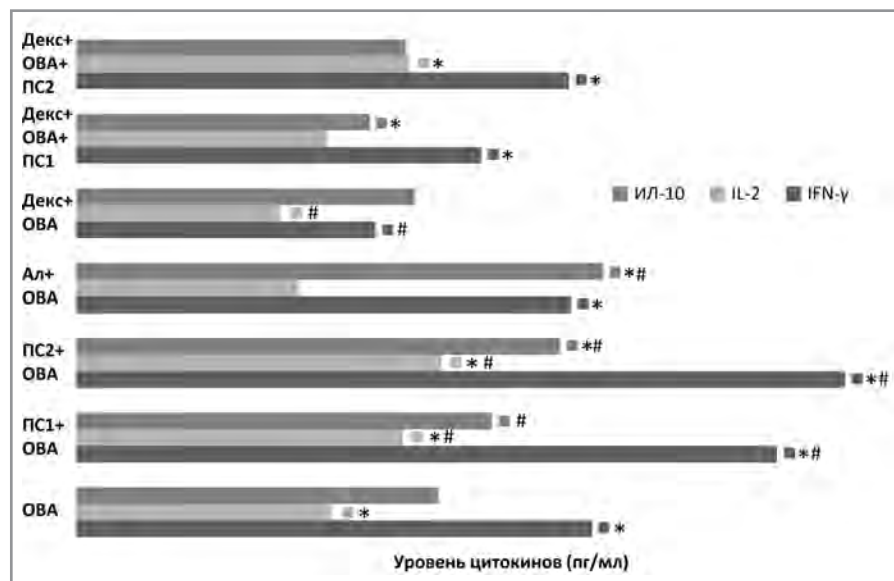


Рис. 2. Влияние ПС на продукцию про- и противовоспалительных цитокинов в условиях нормы и иммуносупрессии у мышей, иммунизированных ОВА. **Примечание.** Показатели $M \pm \delta$; $n=6$; # — $p < 0,05$ — значимость различий показателей в сравнении с группой ОВА; * — $p < 0,05$ — значимость различий показателей в сравнении с группой Дексаметазон+ОВА.

Fig. 2. Effect of PS on the production of pro- and anti-inflammatory cytokines under normal and immunosuppressive conditions in mice immunized with OVA. **Note.** $M \pm \delta$; $n=6$ indicators; # — $P < 0,05$ — the significance of the differences in indicators in comparison with the OVA group; * — $P < 0,05$ — the significance of the differences in indicators in comparison with the Dexamethasone + OVA group.

носупрессивной активности и возможности оказывать влияние на различные системы макроорганизма, дексаметазон также используют в качестве сопутствующего препарата в ходе исследований по разработке новых лекарств и для воспроизведения экспериментальных моделей иммуносупрессии [18].

Нами также использован дексаметазон для воспроизведения модели иммуносупрессии *in vivo*. В результате было установлено, что исследуемые ПС усиливают продукцию ОВА-специфических IgG и цитокинов Th1- (INF- γ) и Th2- (IL-10) профиля в условиях дексаметазониндуцированной иммуносупрессии.

Литература/References

1. Persing D.H., Coler R.N., Lacy M.J., Johnson D.A., Baldrige J.R., Hershberg R.M., Reed S.G. Taking toll: Lipid A mimetics as adjuvants and immunomodulators. *Trends Microbiol.* 2002; 10: s32–s37. doi: 10.1016/s0966-842x(02)02426-5.
2. Casella C.R., Mitchell T.C. Putting endotoxin to work for us: Monophosphoryl lipid A as a safe and effective vaccine adjuvant. *Cell Mol Life Sci.* 2008; 65: 3231. doi: 10.1007/s00018-008-8228-6.
3. Kamphuis T., Meijerhof T., Stegmann T., Lederhofer J., Wilschut J., de Haan A. Immunogenicity and protective capacity of a virosomal respiratory syncytial virus vaccine adjuvanted with monophosphoryl lipid A in mice. *PLoS ONE.* 2012; 7: e36812. doi: 10.1371/journal.pone.0036812.
4. Tota J.E., Struyf E., Sampson J.N., Gonzalez P., Ryser M., Herrero R. et al. Efficacy of the AS04-adjuvanted HPV-16/18 vaccine: pooled analysis of the Costa Rica Vaccine and PATRICIA randomized controlled trials. *J Natl Cancer Inst.* 2020; 112: 818–828. doi: 10.1093/jnci/djz222.
5. Moscovici M. Present and future medical applications of microbial exopolysaccharides. *Front Microbiol* 2015; 6: 1012–1022. doi: 10.3389/fmicb.2015.01012.
6. Lin M.H., Yang Y.L., Chen Y.P., Hua K.-F., Lu C.-P., Sheu F. et al. A novel exopolysaccharide from the biofilm of *Thermusaquaticus* YT-1 induces the immune response through Toll-like receptor 2. *J Biol Chem.* 2011; 286 (20): 17736–45. doi: 10.1074/jbc.M110.200113.
7. Yu L., Sun G., Wei J., Wang Y., Du C., Li J. Activation of macrophages by an exopolysaccharide isolated from Antarctic *Psychrobacter* sp. B-3. *Chinese J. of Oceanology and Limnology* 2016; 34 (5): 1064–71. doi:10.1007/s00343-016-4393-x.
8. Bai Y., Zhang P., Chen G., Cao J., Huang T., Chen K. Macrophage immunomodulatory activity of extracellular polysaccharide (PEP) of Antarctic bacterium *Pseudoalteromonas* sp. S-5. *Int Immunopharmacol.* 2012; 12 (4): 611–617. doi: 10.1016/j.intimp.2012.02.009.
9. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Kalinovsky A.I., Tomshich S.V., Romanenko L.A., Mikhailov V.V., Komandrova N.A. Structure and anticancer activity of sulfated O-polysaccharide from marine bacterium *Cobetia litoralis*

Эти результаты свидетельствуют о возможности использования ПС из морских грамотрицательных бактерий для модуляции иммунных процессов в иммунокомпрометированном организме, а также о возможности применения ПС в качестве иммуoadъювантов для стимуляции поствакцинального иммунитета у иммунокомпрометированных лиц.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

- KMM 3880[†]. *Carbohydr Polym.* 2016; 154: 55–61. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.08.036.
10. Kokoulin M.S., Komandrova N.A., Kalinovsky A.I., Tomshich S.V., Romanenko L.A., Vaskovsky V.V. *Idiomarina abyssalis* KMM 227[†] containing a 2-O-sulfate-3-N-(4-hydroxybutanoyl)-3,6-dideoxy-d-glucose. *Carbohydr Res.* 2015; 41: 100–6. doi: 10.1016/j.carres.2015.05.012.
 11. Богачева Н.В., Тунева Н.А., Смирнов А.А., Галымова Д.А., Попеску Л.И. Разработка биологической модели иммуносупрессии при помощи дексаметазона. *Вятский медицинский вестник* 2018; 4 (60): 39–43. [Bogacheva N.V., Tuneva N.A., Smirnov A.A., Galyamova D.A., Popescu L.I. Razrabotka biologicheskoi modeli immunosupressii pri pomoschi dek-sametazona. *Vyatskii Medicinskii Vestnik* 2018; 4 (60): 39–43. (in Russian)]
 12. Seder R.A., Hill A.V. Vaccines against intracellular infections requiring cellular immunity. *Nature* 2000; 406: 793–798. doi: 10.1038/35021239.
 13. McKee A.S., Munks M.W., Marrack P. How do adjuvants work? Important considerations for new generation adjuvants. *Immunity.* 2007; 27: 687–690. doi: 10.1016/j.immuni.2007.11.003.
 14. Coffman R.L., Sher A., Seder R.A. Vaccine Adjuvants: Putting Innate Immunity to Work. *Immunity* 2010; 33 (4): 492–503. doi: 10.1016/j.immuni.2010.10.002.
 15. Xie Y., Tolmeijer S., Oskam J.M., Tonkens T., Meijer A.H., Schaaf M.J.M. Glucocorticoids inhibit macrophage differentiation towards a pro-inflammatory phenotype upon wounding without affecting their migration. *Disease Models & Mechanisms.* 2019; 12: dmm037887. doi: 10.1242/dmm.037887.
 16. Cain D.W., Cidlowski J.A. Immune regulation by glucocorticoids. *Nat Rev Immunol* 2017; 17: 233–247. doi: 10.1038/nri.2017.1.
 17. Ma W., Gee K., Lim W., Chambers K., Angel J.B., Kozlowski M., Kumar A. Dexamethasone inhibits IL-12p40 production in lipopolysaccharide-stimulated human monocytic cells by down-regulating the activity of c-Jun N-terminal kinase, the activation protein-1, and NF-kappa B transcription factors. *J Immunol.* 2004; 172: 318–30. doi: 10.4049/jimmunol.172.1.318.
 18. Vormehr M., Lehar S., Kranz L.M., Tahtinen S., Oei Y., Javinal V. et al. Dexamethasone premedication suppresses vaccine-induced immune responses against cancer. *Oncotarget.* 2020; 9 (1): e1758004. DOI: 10.1080/2162402X.2020.1758004.

Информация об авторах

Кузнецова Татьяна Алексеевна — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории иммунологии «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-4315-6959. ResearcherID: I-8399-2018. eLIBRARY SPIN-код: 2359-1132. Scopus Author ID: 7202571979

Персиянова Елена Викторовна — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии, «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-5686-8672 ResearcherID: I-3513-2018. eLIBRARY SPIN-код: 8385-7621. Scopus Author ID: 56311963200

Иванушко Людмила Александровна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии, «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-9525-

About the authors

Tatyana A. Kuznetsova — D. Sc. in medicine, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-4315-6959. ResearcherID: I-8399-2018. eLIBRARY SPIN code: 2359-1132. Scopus Author ID: 7202571979

Elena V. Persyanova — Ph. D. in biology, G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-5686-8672 ResearcherID: I-3513-2018. eLIBRARY SPIN: 8385-7621. Scopus Author ID: 56311963200

Ljudmila A. Ivanushko — Ph. D. in medicine, G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-9525-668X. ResearcherID: K-2879-2018. eLIBRARY SPIN: 1535-7665 Scopus Author ID: 6507058048

668X. ResearcherID: K-2879-2018. eLIBRARY SPIN-код: 1535-7665 Scopus Author ID: 6507058048

Смолина Татьяна Павловна — к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии, «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-4505-3627. ResearcherID: J-4344-2018. eLIBRARY SPIN-код: 3503-8898. Scopus Author ID: 6603763859

Газза Анна Константиновна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова», Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-2672-1629. ResearcherID: J-4350-2018. eLIBRARY SPIN-код: 1960-4471. Scopus Author ID: 6508049418

Кокотин Максим Сергеевич — к. х. н., старший научный сотрудник лаборатории химии углеводов и липидов «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН», Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-2245-6802. ResearcherID: N-8353-2013. eLIBRARY SPIN-код: 9170-5830. Scopus Author ID: 54410589100

Беседнова Наталья Николаевна — д. м. н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-2760-9778. eLIBRARY SPIN-код: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

Tatyana P. Smolina — Ph. D. in biology, G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-4505-3627. ResearcherID: J-4344-2018. eLIBRARY SPIN code: 3503-8898. Scopus Author ID: 6603763859

Anna K. Gazha — Ph. D. in medicine, G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-2672-1629. ResearcherID: J-4350-2018. eLIBRARY SPIN code: 1960-4471. Scopus Author ID: 6508049418

Maksim S. Kokulin — Ph. D. in chemistry, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-2245-6802. ResearcherID: N-8353-2013. eLIBRARY SPIN: 9170-5830. Scopus Author ID: 54410589100

Natalia N. Besednova — D.Sc. in medicine, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-2760-9778. eLIBRARY SPIN: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

Корреляция количественных показателей экспрессии эстрогеновых рецепторов α и β в ткани немелкоклеточного рака лёгкого с клиническими характеристиками заболевания

*Т. А. БОГУШ¹, С. А. САМСОНИК^{1,2}, А. А. БАШАРИНА¹,
Е. А. БОГУШ³, О. М. РЯБИНИНА¹, А. Н. ГРИШАНИНА¹,
В. Ю. КИРСАНОВ³, А. В. КАРПУХИН⁴, В. С. КОСОРУКОВ¹

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

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

³ ФГАОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

⁴ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр им. академика Н. П. Бочкова», Москва, Российская Федерация

Correlation of Quantitative Measures of Estrogen Receptor α and β Expression in Non-Small Cell Lung Cancer Tissue With Clinical Characteristics of the Disease

*TATIANA A. BOGUSH¹, SOFYA A. SAMSONIK^{1,2}, ANNA A. BASHARINA¹,
ELENA A. BOGUSH³, OLGA M. RYABININA¹, ANNA N. GRISHANINA¹,
VLADISLAV YU. KIRSANOV³, ALEXANDER V. KARPUKHIN⁴, VYACHESLAV S. KOSORUKOV¹

¹ FSBI «N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M.V. Lomonosov Moscow State University (Lomonosov MSU), Moscow, Russian Federation

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

⁴ FSBI Research Centre of Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

Резюме

Иммунофлуоресцентным методом, сопряжённым с проточной цитометрией, проведена количественная оценка уровня экспрессии эстрогеновых рецепторов разных типов ($ER\alpha$ и $ER\beta$) в хирургических биопсийных образцах опухоли 167 больных немелкоклеточным раком лёгкого (НМРЛ). Экспрессия $ER\alpha$ и $ER\beta$ выявлена во всех исследованных образцах опухолей. Уровень экспрессии $ER\alpha$ в опухолях разных больных варьировал от 10 до 58%, а $ER\beta$ — от 12% до 80%, что указывает на выраженную гетерогенность экспрессии эстрогеновых рецепторов в опухоли у разных больных. Средний показатель уровня экспрессии $ER\beta$ оказался приблизительно в 2 раза выше по сравнению с $ER\alpha$ ($42,1 \pm 15,3\%$ vs $21,4 \pm 11,3\%$; $p 0,001$), что позволяет признать $ER\beta$ основной мишенью эстрогенов в ткани НМРЛ. Уровень экспрессии $ER\alpha$ и $ER\beta$ в ткани НМРЛ не зависит от клинически значимых прогностических характеристик НМРЛ, таких как пол и статус курения больного, а также от гистологического типа НМРЛ. Повышение экспрессии $ER\beta$ отмечено только у пациентов мужского пола с аденокарциномой лёгкого по сравнению с плоскоклеточным раком ($p=0,02$). При оценке корреляции между экспрессией $ER\alpha$ и $ER\beta$ на всей когорте больных и при подгрупповом анализе пациентов с разными клиническими характеристиками болезни показано, что уровень одного из маркёров не предсказывает экспрессию другого. Коэффициент детерминации, который характеризует частоту изменения одной переменной при изменении другой, ни в одной группе сравнения не превысил 25%. Считают, что высокий уровень экспрессии $ER\beta$ и коэкспрессия $ER\alpha$ в ткани НМРЛ обосновывают перспективность внедрения в клиническую практику новой опции в лечении этого заболевания, а именно, адъювантной гормональной (антиэстрогеновой) терапии.

Ключевые слова: эстрогеновые рецепторы альфа; эстрогеновые рецепторы бета; немелкоклеточный рак лёгкого; проточная цитометрия, антиэстрогены.

Для цитирования: Богущ Т. А., Самсоник С. А., Башарина А. А., Богущ Е. А., Рябинина О. М., Гришанина А. Н., Кирсанов В. Ю., Карпучин А. В., Косоруков В. С. Корреляция количественных показателей экспрессии эстрогеновых рецепторов α и β в ткани немелкоклеточного рака лёгкого с клиническими характеристиками заболевания. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66 (5–6): 23–29. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-23-29.

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции:

E-mail: tatbogush@mail.ru

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to:

E-mail: tatbogush@mail.ru

Abstract

The expression level of estrogen receptors (ER α and ER β) in surgical tumor biopsy specimens from 167 patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) was quantified by flow cytometry-based immunofluorescence analysis. ER α and ER β expression was revealed in all the tumor samples investigated. The level of ER α expression in the tumors varied from 10 to 58% and ER β — 12% to 80%, indicating significant heterogeneity of estrogen receptor expression in tumors of different patients. The mean ER β expression level was approximately 2-times higher compared to ER α ($42.1 \pm 15.3\%$ vs $21.4 \pm 11.3\%$; $p < 0.001$). It allows to consider ER β as a major estrogen target in NSCLC tissue. The level of ER α and ER β expression in NSCLC tissue is independent of gender, smoking status, and the histological type of the tumor. Increased ER β expression was detected only in male patients with lung adenocarcinoma in comparison with squamous cell carcinoma ($p = 0.02$). The assessment of the correlation between ER α and ER β in both the whole cohort of patients and subgroups with clinically relevant disease parameters revealed that the level of one marker does not predict the other one's expression. The coefficient of determination, which characterizes how differences in one variable can be explained by the difference in a second variable, was less than 25% in any comparison group. The authors consider that the high level of ER β expression and ER α coexpression in NSCLC tissue substantiates the clinical perceptiveness of a new treatment option for the disease, namely, adjuvant hormone (antiestrogen) therapy.

Keywords: estrogen receptors alpha; estrogen receptors beta; non-small cell lung cancer; flow cytometry, antiestrogens.

For citation: Bogush T. A., Samsonik S. A., Basharina A. A., Bogush E. A., Ryabinina O. M., Grishanina A. N., Kirsanov V. Yu., Karpukhin A. V., Kosorukov V. S. Correlation of quantitative measures of estrogen receptor α and β expression in non-small cell lung cancer tissue with clinical characteristics of the disease. *Antibiot i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66 (5–6): 23–29. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-23-29.

Введение

В настоящее время рак лёгкого занимает первое место по смертности среди других злокачественных заболеваний как в России, так и во всем мире [1, 2]. Острая необходимость решения этой важнейшей проблемы привела к открытию новых мишеней, участвующих в опухолевом росте, и разработке новых молекулярно-направленных лекарственных препаратов. Таргетные препараты позволили несколько улучшить результаты лечения определённых групп больных немелкоклеточным раком лёгкого (НМРЛ), который выявляется более чем в 80% случаев диагностированного рака лёгкого, в целом, результаты терапии данного заболевания нельзя признать удовлетворительными. Поэтому, безусловно, поиск новых стратегий лечения является актуальным.

Курение является одной из причин возникновения рака лёгкого. Однако рост заболеваемости отмечен и среди женщин, никогда не имевших такой привычки [3]. В ряде работ показана вовлечённость эстрогенов в патогенез рака лёгкого. Например, в проспективном исследовании более 35 тыс. женщин в пре- и постменопаузе, принимавших препараты эстрогенов и прогестина, наблюдается повышенный риск возникновения рака лёгкого [4]. Результаты других работ не подтверждают такой взаимосвязи [5]. Тем не менее, было выдвинуто предположение, что на лёгочный канцерогенез могут влиять эстрогены, которые оказывают свои эффекты посредством связывания с высокоаффинными эстрогеновыми рецепторами (ER).

Блокирование эстрогеновых рецепторов, результатом которого является угнетение пролиферации опухолевых клеток, уже давно успешно применяется при терапии рака молочной же-

лезы, а антиэстроген тамоксифен на протяжении более 50 лет является золотым стандартом адъювантного лечения этого заболевания [6]. Трансляционные исследования доказали наличие экспрессии ER в ткани НМРЛ [7, 8], следовательно, можно предположить, что приём антиэстрогенов в комбинации с другими препаратами может быть эффективен при данном заболевании. Стоит также отметить положительные стороны гормонотерапии: лекарственные препараты обычно хорошо переносятся, доступны и отличаются невысокой ценой по сравнению с таргетными лекарственными средствами.

На сегодняшний день данные относительно экспрессии ER в ткани НМРЛ зачастую противоречивы, а клинических данных об экспрессии каждого подтипа ER в опухолевой ткани и её связи с клинико-морфологическими характеристиками заболевания недостаточно [9]. Необходимы новые исследования, которые помогут определить роль ER в качестве маркёров прогноза НМРЛ, а также помогут выбрать пациентов, для которых гормонотерапия может быть эффективной.

Это и определило цель настоящего исследования — сравнительный анализ экспрессии эстрогеновых рецепторов разных типов (ER α и ER β) в ткани немелкоклеточного рака лёгкого с разными клинически значимыми характеристиками болезни.

Материал и методы

Исследованы образцы немелкоклеточного рака лёгкого (НМРЛ) 167 пациентов, радикально прооперированных в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» в период с 2009 по 2017 гг. В работе использован ранее разработанный и запатентованный методический подход к строго количественной характеристике молекулярных белковых маркёров солидных опухолей — иммунофлуоресцентный анализ с применением проточной цитометрии [10].

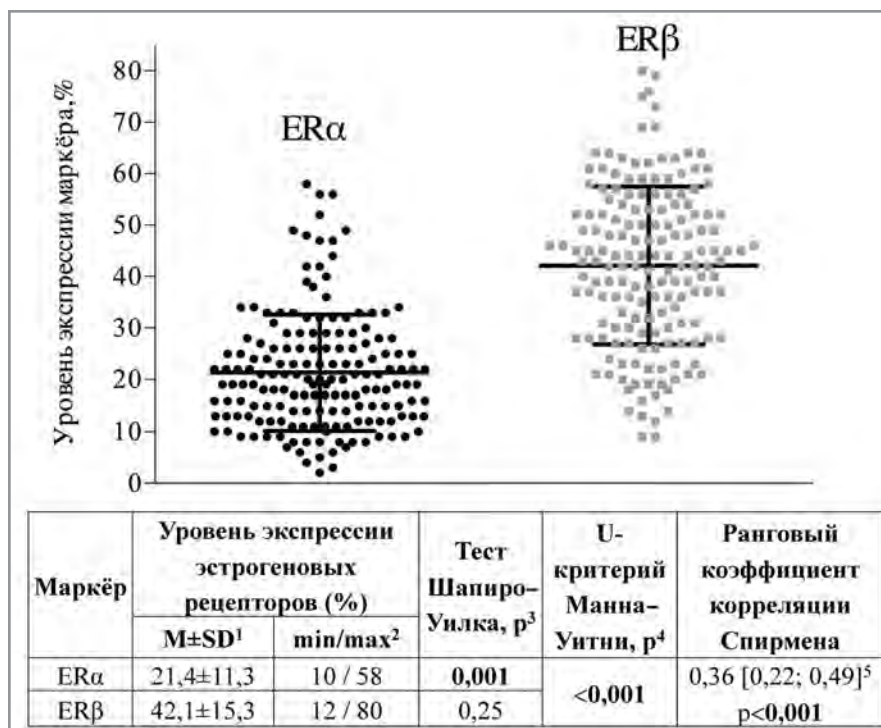
Кратко, для анализа экспрессии ER α использовали первичные кроличьи антитела клона SP1 (ab16660, Abscam) в конечном разведении 1:80, для ER β — первичные мышинные антитела клона 14C8 (ab288, Abscam) в конечном разведении 1:200, а также вторичные антикроличьи или антимышинные антитела, конъюгированные с красителем DyLight650 (ab98510 и ab98729, соответственно, Abscam) в конечном разведении 1:1000. Инкубацию одноклеточной суспензии (200 тыс. клеток/мл.) с первичными антителами проводили в течение ночи (15–20 ч) при 4°C. Далее, после однократной отмывки клеток 2 мл 0,5% раствором бычьего сывороточного альбумина (BSA), добавляли вторичные антитела и инкубировали в течение 1,5 ч при 4°C. Для удаления из анализа разрушенных клеток и эритроцитов суспензию в течение 15 мин инкубировали с ДНК красителем Hoechst H33258 (Sigma-Aldrich), в концентрации 1,2 мкг/мл, после чего дважды отмывали 20-кратным объемом 0,5% раствором BSA.

Измерение флуоресценции клеток проводили на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter). Флуоресценцию красителей DyLight650 и Hoechst 33258 регистрировали в каналах FL6 и FL9, соответственно. В работе оценивали уровень экспрессии ER α и ER β (%), рассчитанный в программе FlowJo 10.0 (FlowJo, LLC) с помощью метода Колмогорова–Смирнова.

Для обработки полученных результатов использованы статистические методы, включенные в пакет программы GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software). Критерий Шапиро–Уилка применён для оценки характера распределения образцов по уровню экспрессии маркёров. Различия в показателях экспрессии эстрогеновых рецепторов в подгруппах сравнения рассчитывали с помощью U-критерия Манна–Уитни. Оценка корреляции между уровнем экспрессии ER α и ER β проведена с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена. Результаты статистического анализа считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Количественные показатели экспрессии ER α и ER β в ткани немелкоклеточного рака лёгкого (НМРЛ) представлены на рисунке. Оценка экспрессии маркёра в ткани НМРЛ проведена по показателю «уровень экспрессии», который отражает количество клеток (%), специфическая флуоресценция которых после инкубации с моноклональными антителами к ER α и ER β превышает показатель контроля (клетки инкубировали только с вторичными антителами, конъюгированными с флуорохромом).



Распределение образцов опухолей ($n=167$) по уровню экспрессии эстрогеновых рецепторов разных типов (ER α и ER β).

Примечание. Чёрные круги и серые квадраты — уровень экспрессии ER α и ER β , соответственно. Горизонтальные линии на рис. — среднее арифметическое значение \pm стандартное отклонение. ¹ — $M \pm SD$ — среднее арифметическое значение \pm стандартное отклонение; ² — минимальное и максимальное значение уровня экспрессии маркёра; ³ — достоверность нормальности распределения показателей экспрессии маркёров; ⁴ — достоверность различий между показателями уровня экспрессии ER α и ER β ; ⁵ — в квадратных скобках указан 95% доверительный интервал. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Distribution of tumor samples ($n=167$) according to the expression level of different types of estrogen receptors (ER α and ER β).

Note. Black circles and gray squares represent the expression level of ER α and ER β , respectively. Horizontal lines in the figure are arithmetic mean \pm standard deviation. ¹ — $M \pm SD$ — arithmetic mean \pm standard deviation; ² — minimal and maximal values of the marker expression level; ³ — statistical significance of normal distribution of marker expression parameters; ⁴ — statistical significance of differences between ER α and ER β expression levels; ⁵ — 95% confidence interval in square brackets. Statistically significant differences are shown in bold.

Оценка характера распределения показателей экспрессии эстрогеновых рецепторов в исследованных образцах опухолей, проведённая с использованием теста Шапиро–Уилка, показала, что распределение является нормальным для ER β ($p=0,25$) и ненормальным — для ER α ($p < 0,001$). Учитывая это, статистический анализ полученных результатов проведён, используя непараметрические методы.

Показано, что ER α и ER β выявляются во всех исследованных образцах опухолей. Уровень экспрессии ER α в разных опухолях варьирует от 10 до 58%, а ER β — от 12 до 80%, что указывает на выраженную гетерогенность больших НМРЛ по исследованному показателю экспрессии в опу-

Таблица 1. Подгрупповой анализ корреляции показателей экспрессии ER α и ER β в ткани немелкоклеточного рака лёгкого с клиническими характеристиками заболевания

Table 1. Subgroup analysis of correlation of ER α and ER β expression parameters in non-small cell lung cancer tissue with clinical characteristics of the disease

Группы сравнения	n ¹	Показатели уровня экспрессии эстрогеновых рецепторов (%) ²		p ³	
		ER α	ER β	ER α	ER β
Все больные, включенные в исследование					
Мужчины	139	21,0±10,6	42,5±15,4	0,48	0,47
Женщины	28	23,5±14,1	40,3±14,9		
Аденокарцинома	68	24,3±13,8	44,5±14,1	0,10	0,10
Плоскоклеточный рак	99	19,8±8,5	40,7±15,8		
Курильщики ⁴	103	20,8±10,0	42,1±15,5	0,49	0,58
Не курят ⁴	39	21,6±10,8	42,5±15,4		
Больные мужского пола					
Аденокарцинома	42	25,0±13,0	47,3±14,2	0,08	0,02
Плоскоклеточный рак	97	19,6±8,5	40,6±15,4		
Курильщики	100	20,8±9,5	41,8±15,4	0,47	0,98
Не курят	18	22,1±10,7	42,3±17,6		
Больные мужского пола с аденокарциномой лёгкого					
Курильщики	27	22,6±12,0	45,2±14,5	0,21	0,32
Не курят	8	27,0±11,7	51,6±12,8		
Больные мужского пола с плоскоклеточным раком лёгкого					
Курильщики	73	20,4±8,3	40,9±15,3	0,64	0,22
Не курят	10	18,7±10,0	34,6±14,7		

Примечание. ¹ — число больных в группах сравнения; ² — среднее арифметическое значение \pm стандартное отклонение; ³ — достоверность различий между показателями уровня экспрессии эстрогеновых рецепторов в группах сравнения рассчитывали методом Манна–Уитни; ⁴ — статус курения установлен для 142 больных. Полуширинным шрифтом выделено статистически значимое различие.

Note. ¹ — number of patients in comparison groups; ² — arithmetic mean \pm standard deviation; ³ — statistical significance of differences between the expression levels of estrogen receptors in comparison groups was calculated by the Mann–Whitney U test; ⁴ — smoking status was determined for 142 patients. Statistically significant differences are shown in bold.

холи эстрогеновых рецепторов обоих типов. При этом средние значения уровня экспрессии ER β оказались приблизительно в 2 раза статистически значимо выше данного показателя для ER α (p 0,001) и составили, соответственно, 42,1±15,3% и 21,4±11,3%.

Что касается ассоциативной связи между уровнем экспрессии ER β и ER α , оценённой во всей исследованной группе больных, то ранговый коэффициент корреляции Спирмена оказался равным 0,36 (p 0,001). Это указывает на наличие статистически значимой прямой слабой взаимосвязи между исследованными параметрами, которая, однако не несёт предиктивной значимости, так как коэффициент детерминации, который равен квадрату значения коэффициента корреляции Спирмена и характеризует частоту изменения одной переменной при изменении другой, составил 13%. Иными словами, точность предсказания уровня экспрессии одного типа эстрогеновых рецепторов, исходя из знаний об экспрессии другого, не достигает даже 15%. Без сомнения, такое прогнозирование не имеет практического смысла.

В табл. 1 приведены результаты оценки корреляции показателей экспрессии ER α и ER β в ткани немелкоклеточного рака лёгкого с клиническими характеристиками заболевания в под-

группах пациентов, отличавшихся по одному признаку — пол, гистологический тип опухоли или статус курения.

Показано, что средние значения уровня экспрессии и ER α , и ER β в образцах опухолевой ткани у пациентов женского пола не отличаются от аналогичных показателей у мужчин (p >0,05 для обоих маркёров). Различия значений уровня экспрессии эстрогеновых рецепторов между подгруппами больных разного пола с разным гистологическим типом опухоли также оказалось недостоверными (p >0,05). Однако при подгрупповом анализе у пациентов мужского пола с аденокарциномой отмечен статистически значимый (p =0,02) более высокий по сравнению с плоскоклеточным раком лёгкого средний показатель уровня экспрессии ER β — 44,5 против 40,7%, соответственно. Что касается экспрессии ER α , то в данных группах сравнения «аденокарцинома vs плоскоклеточный рак» более высокий уровень экспрессии маркёра показан только на уровне тенденции — 24,3 против 19,8%, соответственно (p =0,08).

И, наконец, при сравнении подгрупп пациентов разного пола курильщиков с пациентами, которые не имели такой привычки, различий в экспрессии эстрогеновых рецепторов обоих типов в ткани НМРЛ обнаружено не было (p >0,05).

Дополнительный сравнительный анализ групп пациентов мужского пола также не выявил различий по уровню экспрессии в опухоли ER α и ER β между курильщиками и некурящими при одинаковой гистологической форме НМРЛ – аденокарцинома или плоскоклеточный рак ($p>0,05$) для двух исследованных маркёров и обеих гистологических форм опухоли.

Для выявления возможной ассоциативной связи между уровнем экспрессии ER α и ER β проведён корреляционный анализ показателей уровня экспрессии маркёров в подгруппах с разными клинически значимыми характеристиками болезни. Как видно из табл. 2, для многих подгрупп сравнения обнаружена статистически значимая прямая корреляция между уровнем экспрессии маркёров, однако ранговый коэффициент Спирмана во всех случаях не превысил значения 0,5. Это указывает на слабую силу выявленной взаимосвязи, при которой коэффициент детерминации (напомним: характеризует частоту изменения одной переменной при изменении другой и равен квадрату значения коэффициента корреляции Спирмана) ни в одной группе сравнения не превысил 25%.

Таким образом, как и в случае с оценкой корреляции между экспрессией ER α и ER β , проведённой на всей когорте включенных в исследование больных НМРЛ (таблица под рисунком), подгрупповой анализ (табл. 2) подтвердил, что уровень экспрессии одного из маркёров достоверно не предсказывает экспрессию другого маркёра.

Заключение

Антиэстроген тамоксифен является первым примером реализации таргетного подхода в терапии злокачественных новообразований, который, начиная с начала 70-х годов прошлого столетия, демонстрирует неизменную эффективность при лечении рака молочной железы [11]. В настоящее время список эстроген-зависимых новообразований существенно расширился, так как экспрессия эстрогеновых рецепторов в опухолевой ткани выявлена в разных опухолях, и немелкоклеточный рак лёгкого (НМРЛ) является примером этого [12, 13].

Связь НМРЛ с эстрогенами продемонстрирована при исследовании женщин в менопаузе, получающих заместительную терапию. Оказалось, что приём эстрогенов не только повысил частоту НМРЛ [14], но и изменил биологические характеристики опухоли — заболевание протекает более агрессивно [15]. Это означает, что антиэстрогены можно рассматривать как дополнительную опцию в терапии НМРЛ, и полученные результаты демонстрируют правомочность такого представления, так как экспрессия эстрогеновых рецепторов выявлена в ткани НМРЛ всех пациентов.

Таблица 2. Анализ корреляции между уровнем экспрессии ER α и ER β в ткани немелкоклеточного рака лёгкого в подгруппах с разными клинически значимыми характеристиками заболевания

Table 2. Analysis of correlation between ER α and ER β expression level in non-small cell lung cancer tissue in subgroups with different clinically significant disease characteristics

Группы сравнения	r^1	p^2
Все больные, включенные в исследование		
Мужчины	0,40 [0,25; 0,53]	<0,001
Женщины	0,28 [0,12; 0,60]	0,18
Аденокарцинома	0,36 [0,12; 0,55]	0,003
Плоскоклеточный рак	0,35 [0,15; 0,50]	0,001
Курильщики	0,43 [0,25; 0,50]	<0,001
Не курят	0,21 [0,13; 0,50]	0,21
Больные мужского пола		
Аденокарцинома	0,39 [0,09; 0,62]	0,01
Плоскоклеточный рак	0,34 [0,14; 0,52]	0,001
Курильщики	0,42 [0,23; 0,57]	<0,001
Не курят	0,24 [-0,25; 0,63]	0,32
Больные мужского пола с аденокарциномой лёгкого		
Курильщики	0,30 [-0,11; 0,61]	0,13
Не курят	0,53 [-0,15; 0,70]	0,17
Больные мужского пола с плоскоклеточным раком лёгкого		
Курильщики	0,42 [0,19; 0,60]	<0,001
Не курят	-0,07 [-0,23; 0,17]	0,85

Примечание. ¹ — ранговый коэффициент корреляции Спирмана (в квадратных скобках указан 95% доверительный интервал); ² — достоверность рангового коэффициента корреляции Спирмана. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Note. ¹ — Spearman's rank correlation coefficient (95% confidence interval is shown in square brackets); ² — statistical significance of Spearman's rank correlation coefficient. Statistically significant differences are shown in bold.

При этом важно отметить отличительную особенность этой молекулярной характеристики НМРЛ — мишенью антиэстрогенов в ткани НМРЛ могут быть ER β , а не классические ER α , которые являются точкой приложения антиэстрогенов при лечении рака молочной железы. Об этом свидетельствуют полученные результаты количественной оценки уровня экспрессии эстрогеновых рецепторов разных типов в ткани НМРЛ — средний уровень показателя для ER β в репрезентативной когорте больных приблизительно в 2 раза превысил значения для ER α .

Необходимо отметить также, что пол пациента, статус курения и гистологический тип опухоли, рассмотренные независимо друг от друга как самостоятельные клинически значимые прогностические характеристики болезни, так и в совокупности, не ассоциированы с уровнем экспрессии ER α и ER β в ткани НМРЛ. Статистически значимое повышение в опухоли уровня экспрессии ER β отмечено только у пациентов мужского пола с аденокарциномой лёгкого по сравнению с плоскоклеточным раком. Важное наблюдение,

которое указывает на возможно более эффективное воздействие антиэстрогенов на этот гистологический вариант НМРЛ у мужчин.

И наконец, при оценке корреляции между количественными показателями экспрессии в опухоли ER α и ER β показано, что уровень экспрессии одного из маркёров достоверно не предсказывает экспрессию другого. Поэтому для объективной характеристики статуса ткани НМРЛ по уровню экспрессии эстрогеновых рецепторов необходима информация об экспрессии как ER α , так и ER β . Этот факт необходимо принимать во внимание при молекулярном фенотипировании опухоли и отборе пациентов для проведения антиэстрогеновой терапии.

В целом, перспективы проведения антиэстрогеновой терапии у больных НМРЛ, учитывая количественные показатели экспрессии в ткани опухоли ER α и ER β , представляются реальными, а их внедрение в клиническую практику не требует дополнительных финансовых затрат и усилий для преодоления бюрократических препон, так как, по существу, уже давно одобрено Минздравом России. Так, в инструкциях по применению тамоксифена, размещённых на сайте государст-

венного реестра лекарственных средств, в разделе «Показания к применению» имеется указание, что препарат можно назначать для лечения больных с «солидными опухолями, резистентными к стандартным методам лечения с гиперэкспрессией эстрогеновых рецепторов» [16].

Необходимость введения в клиническую практику новой опции в лечении НМРЛ — применение антиэстрогенов в адъювантной терапии НМРЛ с экспрессией в опухоли эстрогеновых рецепторов очевидна. Подтверждением этого являются результаты трансляционных исследований последних лет [17]. В частности, мы продемонстрировали неблагоприятную прогностическую значимость высокого уровня экспрессии ER β ($\geq 40\%$) в прогнозе агрессивности течения НМРЛ по показателю выживаемости оперированных больных [18, 19].

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

Литература/References

1. <https://gco.iarc.fr/today/home> [Internet]. World Health Organization; IARC (International Agency for Research on Cancer); CANCER TODAY; Globocan 2020 Russian Federation. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/643-russian-federation-factsheets.pdf>
2. <https://gco.iarc.fr/today/home> [Internet]. World Health Organization; IARC (International Agency for Research on Cancer); CANCER TODAY; Globocan 2020 World. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf>
3. Sun S., Schiller J.H., Gazdar A.F. Lung cancer in never smokers—a different disease. *Nat Rev Cancer*. 2007; 7 (10): 778–790. doi: 10.1038/nrc2190.
4. Enwere E.K., Dean M.L., Li H., D'Silva A., Bebb D.G. The prevalence and prognostic significance of estrogen receptor beta expression in non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2020; 9 (3): 496–506. doi: 10.21037/tlcr.2020.03.34.
5. Brinton L.A., Schwartz L., Spitz M.R., Park Y., Hollenbeck A.R., Gierach G.L. Unopposed estrogen and estrogen plus progestin menopausal hormone therapy and lung cancer risk in the NIH-AARP diet and health study cohort. *Cancer Causes Control*. 2012; 23 (3): 487–496. doi: 10.1007/s10552-012-9904-2.
6. Bogush T.A., Polezhaev B.B., Mamichev I.A., Bogush E.A., Polosky B.E., Tjulandin S.A., Ryabov A.B. Tamoxifen never ceases to amaze: new findings on non-estrogen receptor molecular targets and mediated effects. *Cancer Invest*. 2018; 3 (4): 211–220. doi: 10.1080/07357907.2018.1453933.
7. Kriegsmann K., Zgorzelski C., Muley T., Christopoulos P., von Winterfeld M., Herpel E., Goepfert B., Mechttersheimer G., Sinn P., Stenzinger A., Schirmacher P., Winter H., Eichinger M., Warth A., Kriegsmann M. Immunohistological expression of oestrogen receptor, progesterone receptor, mammapglobin, human epidermal growth factor receptor 2 and GATA-binding protein 3 in non-small-cell lung cancer. *Histopathology*. 2020; 77 (6): 900–914. doi: 10.1111/his.14203.
8. Gao X., Cai Y., Wang Z., He W., Cao S., Xu R., Chen H. Estrogen receptors promote NSCLC progression by modulating the membrane receptor signaling network: a systems biology perspective. *J Transl Med*. 2019; 17: 308. doi: 10.1186/s12967-019-2056-3.
9. Pelekanou V., Anastasiou E., Bakogeorgou E., Notas G., Kampa M., Garcia-Milian R., Lavredaki K., Moustou E., Chinari G., Arapantoni P., O'Grady A., Georgoulas V., Tsapis A., Stathopoulos E.N., Castanas E. Estrogen receptor-alpha isoforms are the main estrogen receptors expressed in non-small cell lung carcinoma. *Steroids*. 2019; 142: 65–76. doi: 10.1016/j.stero.2018.01.008.
10. Bogush T.A., Basharina A.A., Eliseeva B.K., Kaliuzhny S.A., Bogush E.A., Kirsanov V.Y., Davydov M.M., Kosorukov V.S. A new approach to epithelial-mesenchymal transition diagnostics in epithelial tumors: double immunofluorescent staining and flow cytometry. *Biotechniques*. 2020; 69 (4): 257–263. doi: 10.2144/btn-2020-0024.
11. Jordan V.C. 50th anniversary of the first clinical trial with ICI 46,474 (tamoxifen): then what happened? *Endocr Relat Cancer*. 2021; 8 (1): R11–R30. doi: 10.1530/ERC-20-0335.
12. Lamb C.A., Vanzulli S.I., Lanari C. Hormone receptors in breast cancer: more than estrogen receptors. *Medicina (B Aires)*. 2019; 79: 540–545.
13. Huang L., Liu T., Ji H., Yang S., Sui J., Yang W.S., Liang G.Y., Zhang X.M. Expression pattern of estrogen receptor β and its correlation with multidrug resistance in non-small cell lung cancer. *Neoplasma*. 2019; 66 (5): 847–857. doi: 10.4149/neo_2018_181120N872.
14. Chlebowski R.T., Anderson G.L., Manson J.E., Schwartz A.G., Wakelee H., Goss M., Rodabough R.J., Johnson K.C., Wactawski-Wende J., Kotchen J.M., Ockene J.K., O'Sullivan M.J., Hubbell F.A., Chien J.W., Chen C., Stefanick M.L. Lung cancer among postmenopausal women treated with estrogen alone in the women's health initiative randomized trial. *J Natl Cancer Inst*. 2010; 102 (18): 1413–1421. doi: 10.1093/jnci/djq285.
15. Fan S., Liao Y., Qiu W., Huang Q., Xiao H., Liu C., Li D., Cao X., Li L., Liang H., Ai B., Zhou S. Estrogen promotes the metastasis of non-small cell lung cancer via estrogen receptor β by upregulation of Toll like receptor 4 and activation of the myd88/NF κ B/MMP2 pathway. *Oncol Rep*. 2020; 43(6): 2105–2119. doi: 10.3892/or.2020.7574.
16. <https://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx> [Internet]. Государственный реестр лекарственных средств. Препарат 'Тамоксифен' (МНН). (доступ от 22.01.2021). Доступ по ссылке: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=6d55c879-9d2d-4361-8a34-a2ab90b9fe85&t [Gosudarstvennyi reestr lekarstvennykh sredstv. Preparat "Tamoksifen" (MNN) (cited 2021 22 Jan) Available from: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=6d55c879-9d2d-4361-8a34-a2ab90b9fe85&t (in Russian)].
17. Rodriguez-Lara V., Hernandez-Martinez J.-M., and Arrieta O. Influence of estrogen in non-small cell lung cancer and its clinical implications. *J Thorac Dis*. 2018; 10 (1): 482–497. doi: 10.21037/jtd.2017.12.61.
18. Basharina A., Bogush T., Bogush E., Grishanina A., Ryabinina O., Vichlantzseva N., Kolomiytsev S., Polotsky B. P. 103-28 Prognostic value of estrogen receptor beta tumor expression in non-small cell lung cancer patients after radical surgery. *J Thorac Oncol*. 2019; 14: S429. doi: 1016/J.JTHO.2019.08.880.
19. Musial C., Zaucha R., Kuban-Jankowska A., Konieczna L., Belka M., Marino Gammazza A., Baczek T., Cappello E., Wozniak M., Gorska-Ponikowska M. Plausible role of estrogens in pathogenesis, progression and therapy of lung cancer. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18 (2): E648. doi: 10.3390/ijerph18020648.

Информация об авторах

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

#Самсоник Софья Александровна — студентка факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова, лаборант-исследователь группы молекулярных маркеров лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Москва, Российская Федерация. ORCID:0000-0002-7645-7299

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

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

Рябинина Ольга Михайловна — к. б. н., научный сотрудник группы молекулярных маркеров лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-2309-5324. ResearcherID: K-8472-2018. Scopus Author ID: 14421678900

Гришанина Анна Николаевна — научный сотрудник группы молекулярных маркеров лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-4277-9222. ResearcherID: R-9087-2019. Scopus Author ID: 6506498692

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

Карпухин Александр Васильевич — д. б. н., заведующий лабораторией молекулярной генетики сложно наследуемых заболеваний Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр им. академика Н. П. Бочкова». Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-7001-9116

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

авторы внесли равный вклад в опубликованную статью.

About the authors

#Tatiana A. Bogush — D. Sc. in biology, Professor, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-7673-4284. ResearcherID: A-6522-2013. eLIBRARY SPIN: 4050-0061. Scopus Author ID: 7006161773

Sofia A. Samsonik — student of the Fundamental Medicine Department, Lomonosov Moscow State University, assistant-researcher at the N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-7645-7299

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

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

Olga M. Ryabinina — Ph.D. in biology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-2309-5324. ResearcherID: K-8472-2018. Scopus Author ID: 14421678900

Anna N. Grishanina — Researcher at the N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-4277-9222. ResearcherID: R-9087-2019. Scopus Author ID: 6506498692

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

Alexander V. Karpukhin — D. Sc. in biology, Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-7001-9116

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

Authors made equal contributions to the published article.

Выбор антимикробной терапии инфекционного эндокардита в Российской Федерации в условиях доминирования грамположительных микроорганизмов в этиологической структуре

*А. И. ДАНИЛОВ, Р. С. КОЗЛОВ, А. В. ЕВСЕЕВ, Л. Л. ЛЯМЕЦ

ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Смоленск, Российская Федерация

The Choice of Antimicrobial Therapy For Infective Endocarditis In The Conditions of Gram-Positive Microorganism Dominance In The Etiological Structure In The Russian Federation

*ANDREY I. DANILOV, ROMAN S. KOZLOV,
ANDREY V. EVSEEV, LEONID L. LYAMETS

Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Smolensk, Russian Federation

Резюме

Проблема инфекционного эндокардита в настоящее время заслуживает особого внимания. Согласно данным, внутриспитальная летальность при данной патологии достигает 20%, что во многом обусловлено развитием потенциальных осложнений, среди которых наиболее часто отмечаются развитие и прогрессирование сердечной недостаточности, а также тромбоэмболические проявления с поражением органов-мишеней различной локализации. В статье представлены результаты многоцентрового исследования, в котором были установлены особенности антимикробной терапии пациентов с инфекционным эндокардитом в условиях доминирования в этиологической структуре грамположительных микроорганизмов в Российской Федерации. Проанализировано 440 случаев определённого и вероятного инфекционного эндокардита в период с сентября 2006 г. по декабрь 2020 г.

Ключевые слова: инфекционный эндокардит; этиологическая структура; антимикробная терапия.

Для цитирования: Данилов А. И., Козлов Р. С., Евсеев А. В., Лямец Л. Л. Выбор антимикробной терапии инфекционного эндокардита в Российской Федерации в условиях доминирования грамположительных микроорганизмов в этиологической структуре. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66 (5–6): 30–34. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-30-34.

Abstract

The problem of infectious endocarditis currently deserves special attention. According to the data, intrahospital mortality caused by this pathology reaches 20%, which is largely due to the development of potential complications, the most common among which are the development and progression of heart failure, as well as thromboembolic manifestations with the damage to target organs of various localization. The article presents the results of a multicenter study establishing the features of antimicrobial therapy in patients with infectious endocarditis under the conditions of the dominance of gram-positive microorganisms in the etiological structure in the Russian Federation. 440 cases of definite and probable infectious endocarditis in the period from September 2006 to December 2020 were analyzed.

Keywords: infective endocarditis; aetiological structure; antimicrobial therapy.

For citation: Danilov A. I., Kozlov R. S., Evseev A. V., Lyamets L. L. The choice of antimicrobial therapy for infective endocarditis in the conditions of gram-positive microorganism dominance in the etiological structure in the Russian Federation. *Antibiot i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66 (5–6): 30–34. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-30-34.

Актуальность

В настоящее время, заболеваемость инфекционным эндокардитом (ИЭ) составляет до 10 случаев на 100 тыс. человек в год, а внутриспи-

тальная летальность в некоторых регионах мира может достигать 20% [1–3].

Высокие цифры летальности при ИЭ во многом обусловлены развитием тяжёлых осложнений, среди которых наиболее часто отмечаются

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: dr.DanAndr@yandex.ru

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to:
E-mail: dr.DanAndr@yandex.ru

Характеристика включенных в проведенное исследование случаев ИЭ.**Characteristics of the cases of infective endocarditis included in the study.**

Характеристики	Январь 2006 г. — август 2011 г.	Сентябрь 2011 г. — декабрь 2020 г.	Весь период
Возраст, М±m	42,5±15,4	46,8±17,4	44,7±16,4
Пол			
Мужчины	155/240 (64,6%)	150/200 (75,0%)	305/440 (68,9%)
Женщины	85/240 (35,4%)	50/200 (25,0%)	135/440 (31,1%)
Локализация поражения			
Митральный клапан	103/240 (42,9%)	82/200 (41,0%)	185/440 (42,0%)
Аортальный клапан	88/240 (36,7%)	74/200 (37,0%)	162/440 (36,8%)
Трикуспидальный клапан	84/240 (35,0%)	71/200 (35,5%)	155/440 (35,2%)
Клапан легочной артерии	1/240 (0,4%)	1/200 (0,5%)	2/440 (0,5%)
Тип клапана			
Нативный	217/240 (90,4%)	164/200 (82,0%)	381/440 (86,6%)
Протезированный	23/240 (9,6%)	36/200 (18,0%)	59/440 (13,4%)

развитие и прогрессирование сердечной недостаточности, тромбоэмболические проявления, формирование инфекционных аневризм [1, 4].

В течение последних десятилетий увеличилось количество и изменилось соотношение основных факторов риска ИЭ. Наиболее важную роль стали играть инъекционная наркомания, кардиохирургические операции и инвазивные медицинские манипуляции, что, согласно современным исследованиям, привело к смене ведущего возбудителя, которым в настоящее время является *Staphylococcus aureus* [1, 4, 5].

Параллельно отмечается рост резистентности большинства возбудителей к антимикробным препаратам, применяемым в клинической практике. В случае ИЭ основную проблему представляют метициллинорезистентные штаммы *Staphylococcus aureus* (MRSA) [5, 6].

Долгое время единственным активным антимикробным препаратом в отношении MRSA был ванкомицин. Вместе с тем, в последнее время всё чаще регистрируются случаи сниженной чувствительности *S. aureus* к данному препарату. На сегодняшний день разработан и введён в клиническую практику ряд современных антистафилококковых препаратов. Одним из них является даптомицин, обладающий высокой активностью как в отношении метициллиночувствительных *S. aureus* (MSSA), так и MRSA, а также в отношении штаммов со сниженной чувствительностью к гликопептидам [4, 7].

Учитывая вышеизложенное, была поставлена цель — определить соотношение грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов в этиологической структуре ИЭ и изучить особенности назначения антимикробной терапии (АМТ) у пациентов с данной патологией, проживающих в Российской Федерации.

Материал и методы

Проведено многоцентровое исследование этиологии, антибиотикорезистентности и фармакоэпидемиологии ИЭ, состоящее из 2 частей: ретроспективной (январь 2006 г. — август 2011 г.) и проспективной (сентябрь 2011 г. — декабрь 2020 г.).

В исследование включены пациенты обоего пола всех возрастных групп с установленным диагнозом ИЭ (таблица). Диагноз ИЭ выставлялся согласно общепризнанным критериям Duke [8, 9]. Критериями включения в исследование были: наличие диагноза определённого или вероятного ИЭ в медицинской карте стационарного больного, факт взятия образцов крови для бактериологического исследования, проведённая эхокардиография, доступность медицинской документации для заполнения индивидуальной регистрационной карты пациента.

Всего в исследование включено 440 (в ретроспективной части — 240, в проспективной — 200) пациентов с ИЭ, средний возраст которых составил 44,7±16,4 лет.

Пациенты находились на стационарном лечении в 11 лечебных учреждениях 9 городов Российской Федерации (Архангельск, Иркутск, Казань, Москва, Омск, Смоленск, Тюмень, Якутск, Ярославль).

Данные каждого пациента вносились в специально разработанные индивидуальные регистрационные карты и вводились с использованием метода двойного ввода в специализированную базу данных, разработанную на основе базы управления данными Microsoft Access для Windows. Статистическая обработка данных проводилась с помощью статистического пакета SAS Institute, США, версия 8.02 для Windows XP.

Результаты и обсуждение

Этиотропная направленность АМТ пациентов с ИЭ подробно освещена в разработанных зарубежных рекомендациях и имеет важное значение при выборе наиболее рациональных схем лечения [4]. С учётом этого обстоятельства была проведена микробиологическая идентификация включённых в исследование случаев (рис. 1).

В соответствии с существующими рекомендациями, основополагающим принципом АМТ пациентов с ИЭ является ранняя и длительная терапия. При этом гораздо более предпочтительным является применение препаратов с бактерицидной активностью [4].

В проведённом исследовании в качестве стартовой терапии в общей структуре исследования комбинированная АМТ использовалась только в 40,6%, монотерапия — в 59,4% случаев. При этом наиболее часто применялись аминогликозиды (22,6%), парентеральные цефалоспорины III поколения (22,1%) и гликопептиды (14,7%). Гораздо реже назначались фторхинолоны (8,7%), незащищённые аминопенициллины (6,6%) и ан-

тистафилококковые пенициллины (6,3%). Другие antimicrobные препараты назначались в единичных случаях (рис. 2).

Эффективность стартовой АМТ в общей структуре исследования: улучшение — 46,9%, выздоровление — 7,4%, нет эффекта — 42,2%, летальный исход — 2,7%, ухудшение — 0,7%.

В 70,9% случаев стартовая АМТ была изменена. Наиболее часто в данном случае назначались гликопептиды (20,9%), аминогликозиды (16,3%), фторхинолоны (10,2%) и парентеральные цефалоспорины III поколения (9,8%), (рис. 3).

Эффективность АМТ при смене терапии в общей структуре исследования: улучшение — в 70,3%, выздоровление — в 15,3%, нет эффекта — 3,4%, летальный исход — 11,0%.

Назначение адекватной АМТ у пациентов с ИЭ способствует снижению летальности и излечению с минимальными анатомическими изменениями клапанного аппарата сердца [4, 10]. При этом следует отметить, что существующая практика назначения antimicrobных препаратов при ИЭ в Российской Федерации не всегда соответствует современным рекомендациям.

В подавляющем большинстве случаев стартовая АМТ пациентов с ИЭ носит эмпирический характер с потенциальной активностью в отношении ведущих возбудителей [4, 11]. В условиях лидирующей позиции *S.aureus* в этиологической структуре ИЭ следует отметить неоправданно низкую частоту назначения в Российской Федерации высокоактивных в отношении данного возбудителя antimicrobных препаратов (липопептидов).

Несмотря на отсутствие на сегодняшний день чётких доказательств преимущества комбинированной терапии ИЭ над монотерапией, в ряде слу-

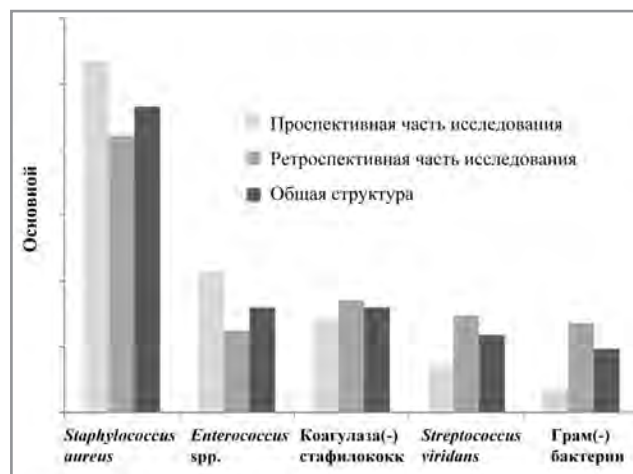


Рис. 1. Структура возбудителей, выделенных в ходе проведённого исследования (в %).

Fig. 1. The structure of pathogens isolated in the course of the study, %.

чаев комбинированный характер терапии имеет принципиально важное значение. Согласно данным иностранных литературных источников, комбинированная АМТ способствует профилактике рецидивов и снижению длительности терапии, в особенности в случае энтерококковой этиологии [4]. Согласно результатам проведённого исследования, в ходе стартовой АМТ доля комбинированной терапии крайне низка.

Следует отметить, что пациенты с ИЭ имеют потенциально полиорганную недостаточность, в том числе почечную недостаточность. В связи с этим одновременное назначение гликопептидов и аминогликозидов в течение длительного времени существенно повышает риски развития и прогрессирования нефропатии [4].

С учётом увеличения частоты развития бактериемии, вызванной MRSA, проведено достаточно большое количество исследований, в ходе которых изучался вопрос сравнения стандартной схемы (ванкомицин + гентамицин) и даптомицина. Согласно результатам подавляющего большинства этих исследований, даптомицин не уступает по эффективности стандартной схеме и его назначение при бактериемии, вызванной MRSA является оправданным. Дополнительными его преимуществами яв-

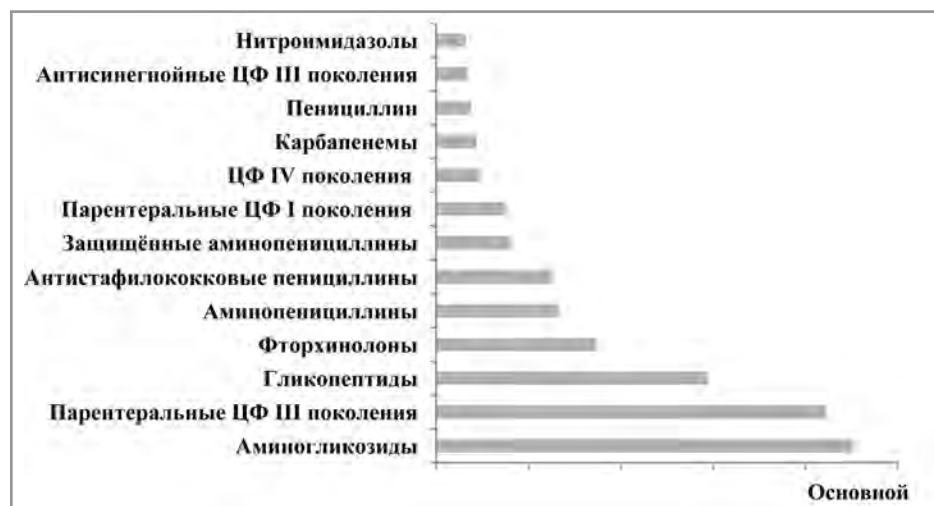


Рис. 2. Структура основных групп antimicrobных препаратов в ходе назначения стартовой терапии (в %).

Fig. 2. The structure of the main groups of antimicrobial drugs in the course of initial treatment, %.

ляются более быстрый бактерицидный эффект по сравнению с ванкомицином и отсутствие потенциальной нефротоксичности. Низкую частоту назначения даптомицина в Российской Федерации можно объяснить его высокой стоимостью и отсутствием до недавнего времени зарегистрированных дженериков [4, 7, 12].

Длительность АМТ пациентов с ИЭ составляет 4–6 нед., в ряде случаев достигает 8 нед. [4, 13]. Вместе с тем, не всегда имеется возможность столь длительной госпитализации пациента. В связи с этим, на сегодняшний день имеются данные о потенциальной возможности применения амбулаторной парентеральной АМТ. При этом следует отметить, что данный вид терапии имеет ограничения, и она допустима лишь тогда, когда у изначально госпитализированного в стационар пациента отмечается положительная клиническая динамика, отсутствуют серьезные риски развития осложнений и существуют необходимые условия ухода за пациентом в амбулаторных условиях.

В современных международных рекомендациях, касающихся вопросов ведения пациентов с ИЭ, отмечено, что в случае развития инфекционного процесса, не поддающегося контролю при назначении АМТ, необходимо прибегать к хирургическому лечению. Вместе с тем, многие ответственные специалисты призывают подходить к решению данного вопроса достаточно взвешенно, учитывая, что качество терапевтически пролеченных пациентов значительно выше по сравнению с пациентами, перенесшими оперативное вмешательство на клапанном аппарате сердца и вынужденных впоследствии получать непрямые антикоагулянты.

Литература/References

1. Данилов А.И., Козлов Р.С., Козлов С.Н., Дехнич А.В. Практика ведения пациентов с инфекционным эндокардитом в Российской Федерации. Антибиотики и химиотерапия. 2017; 62 (1–2): 30–34. [Danilov A.I., Kozlov R.S., Kozlov S.N., Decnich A.V. Praktika vedeniya pacientov s infekcionym ehndokarditom v Rossijskoj Federacii. Antibiotiki i Khimioterapiya. 2017; 62 (1–2): 30–34. (in Russian)]
2. Erichsen P, Gislason G.H., Bruun N.E. The increasing incidence of infective endocarditis in Denmark, 1994–2011. Eur J Inter Med. 2016; 35: 95–99.
3. Dayer M.J., Jones S., Prendergast B., Baddour L.M., Lockhart P.B., Thorn-

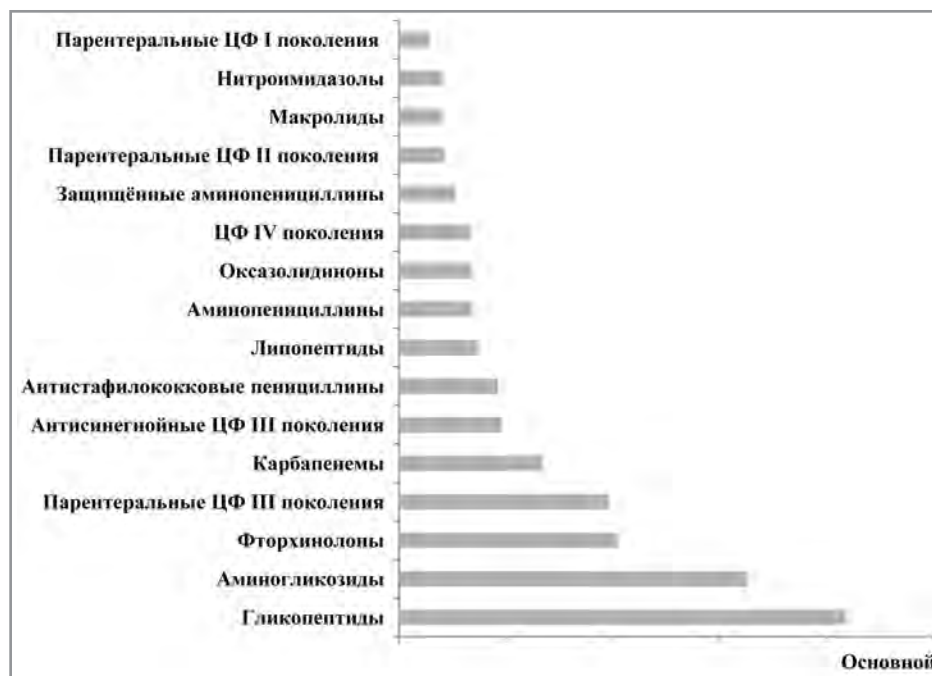


Рис. 3. Структура основных групп антимикробных препаратов при смене схемы терапии (в %).

Fig. 3. The structure of the main groups of antimicrobial drugs following the change of the therapy regimen, %.

Заключение

Несмотря на установленные алгоритмы АМТ в отношении подавляющего большинства случаев ИЭ, в настоящее время продолжают дискуссии специалистов, касающиеся вопросов рационального выбора терапии ИЭ.

С появлением современных препаратов практические врачи получили возможность проведения эффективной АМТ инфекций, вызванных полирезистентными грамположительными возбудителями. В случае ИЭ особенно важно наличие у препарата выраженной бактерицидной активности.

Проведение настоящего исследования позволило выявить основные проблемы АМТ пациентов с ИЭ, разработать пути их решения и сформулировать рекомендации по оптимизации лечения пациентов с ИЭ в Российской Федерации.

hill M.H. Incidence of infective endocarditis in England, 2000–13: a secular trend, interrupted time-series analysis. Lancet. 2015; 385: 1219–1228.

4. Habib G., Lancellotti P., Antunes M.J., Bongiorni M.G., Casalta J.P., Del Zotti F. et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: The Task Force for the Management of infective endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC) endorsed by: European Association of Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). Eur Hear. J2015; 36 (44): 3075–3128.
5. Гусманов Д.С. Инфекционный эндокардит у инъекционных наркоманов. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН 2013; 14 (1): 18–25. [Gusmanov D.S. Infekcionnyj endokardit u in"ekcionnyh narko-

- manov. Byulleten' NCSSKHim. A.N. Bakuleva RAMN. 14 (1): 18–25 (in Russian)].
6. Данилов А.И., Алексеева И.В., Аснер Т.В., Власова Е.Е., Данилова Е.М., Дехнич А.В. и соавт. Этиология инфекционного эндокардита в России. Клинико-микробиологический журнал. 2015; 17 (1): 4–10. [Danilov A.I., Alekseeva I.V., Asner T.V., Vlasova E.E., Danilova E.M., Dehnich A.V. i soavt. Etiologija infekcionnogo jendokardita v Rossii. Klin Mikrobiol Antimikrob Khimioter. 2015; 17 (1): 4–10. (in Russian)]
 7. Данилов А.И., Козлов Р.С., Лямец Л.Л. Структура факторов риска инфекционного эндокардита в Российской Федерации. Вестник СГМА. 2018; 17 (4): 107–111. [Danilov A.I., Kozlov R.S., Lyamets L.L. Struktura faktorov riska infekcionnogo endokardita v Rossijskoj Federacii. Vestnik SGMA. 2018; 17 (4): 107–111. (in Russian)]
 8. Durack D.T., Lukes A.S., Bright D.K. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. Am J Med. 1994; 96 (3): 200–209.
 9. Li J.S., Sexton D.J., Mick N., Nettles R., Fowler V.G., Ryan T. et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. Clin Infect Dis. 2000; 30 (4): 633–638.
 10. Cancan Gursul N., Vardar I., Demirdal T., Gursul E., Ural S., Yesil M. Clinical and microbiological findings of infective endocarditis. J Infect Develop Countr. 2016; 10 (5): 478–487.
 11. Данилов А.И., Козлов С.Н. Общие принципы ведения пациентов с инфекционным эндокардитом. Клиническая фармакология и терапия. 2019; 28 (2): 57–60. [Danilov A.I., Kozlov S.N. Obshchie principy vedeniya pacientov s infekcionnym endokarditom. Klinicheskaya Farmakologiya i Terapiya. 2019; 28 (2): 57–60.
 12. Gould I.M., Miro J.M., Rybak M.J. Daptomycin: the role of high-dose and combination therapy for Gram-positive infections. Intern J Antimicrob Agents. 2013; 42(3): 202–210.
 13. Моисеев В.С., Котова Е.О., Караулова Ю.Л. Эпидемиология и клиническое течение современного инфекционного эндокардита (по данным муниципальной больницы) Клиническая фармакология и терапия. 2014; 23 (3): 62–66. [Moiseev V.S., Kotova E.O., Karaulova Ju.L. J Epidemiologija i klinicheskoe techenie sovremennogo infekcionnogo jendokardita (po dannym municipal'noj bol'nicy). Klinicheskaya Farmakologiya i Terapiya. 2014; 23 (3): 62–66. (in Russian)]

Информация об авторах

Данилов Андрей Игоревич — к. м. н., доцент кафедры клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Смоленск, Российская Федерация

Козлов Роман Сергеевич — д. м. н., член-корреспондент РАН, ректор ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Смоленск, Российская Федерация

Евсеев Андрей Викторович — д. м. н., профессор, заведующий научно-исследовательским центром, заведующий кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Смоленск, Российская Федерация

Лямец Леонид Леонидович — к. тех. н., доцент, заведующий кафедрой физики, математики и медицинской информатики ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Смоленск, Российская Федерация

About the authors

Andrey I. Danilov — Ph. D. in medicine, Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Smolensk, Russian Federation

Roman S. Kozlov — D. Sc. in medicine, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Smolensk, Russian Federation

Andrey V. Evseev — D. Sc. in medicine, Professor, Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Smolensk, Russian Federation

Leonid L. Lyamets — Ph. D. in technical sciences, Associate Professor, Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Smolensk, Russian Federation

Цитокиновый статус у больных рецидивирующей герпетической инфекцией

А. С. АКМЕЕВА¹, Р. Б. ЖАМБОРОВА², А. Я. АЛОЕВА¹, А. М. КАХИДОВ¹,
И. Д. АБДУЛКАДЫРОВА¹, Д. М. АЛЬТАМИРОВА¹, *З. А. КАМБАЧОКОВА¹,
Т. Ш. ТАГИРОВА¹, А. Э. ЭЛЬХАМ¹

Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова, *Нальчик, Российская Федерация*
Северо-Осетинская государственная медицинская академия, *Владикавказ, Российская Федерация*

Cytokine Status in Patients With Recurrent Herpes Infection

ALISA S. AKMEEVA¹, RENATA B. ZHAMBOROVA², ARINA YA. ALOEVA¹,
AKHMED M. KAKHIDOV¹, IMAN D. ABDULKADYROVA¹, DIANA M. ALTAMIROVA¹,
*ZARETA A. KAMBACHOKOVA¹, TAMILA SH. TAGIROVA¹, AKHMAD ELIAS ELKHAM¹

¹ Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, *Nalchik, Russian Federation*

² North Ossetian State Medical Academy, *Vladikavkaz, Russian Federation*

Резюме

Проведено исследование концентрации основных провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО) в сыворотке крови 48 больных с рецидивирующей хронической герпесвирусной инфекции. Установлено достоверное повышение уровня цитокинов с максимальными значениями в период разгара заболевания. В период угасания клинических симптомов наблюдается понижение их концентрации с неполной нормализацией в период реконвалесценции. Изменения уровня ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО в сыворотке крови больных с рецидивом герпесвирусной инфекцией зависели от периода заболевания и степени тяжести патологического процесса.

Ключевые слова: рецидивирующая герпесвирусная инфекция; иммунитет; цитокины; ИЛ-1 β ; ИЛ-6; ФНО.

Для цитирования: Акмеева А. С., Жамборова Р. Б., Алоева А. Я., Кахидов А. М., Абдулкадырова И. Д., Алтамирова Д. М., Камбачокова З. А., Тагирова Т. Ш., Эльхам А. Э. Цитокиновый статус у больных рецидивирующей герпетической инфекцией. 2021; 66 (5–6): 35–39. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-35-39.

Abstract

The study of the concentration of the main pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6 and TNF) in the blood serum of 48 patients with recurrent chronic herpesvirus infection was carried out. A significant increase of cytokine levels with the maximum values during the height of the disease was established. During the period of clinical symptoms' subsidence, a decrease in their concentration with incomplete normalization is observed during the period of convalescence. Changes in the level of IL-1 β , IL-6 and TNF in the blood serum of patients with recurrent herpesvirus infection depended on the period of the disease and the severity of the pathological process.

Keywords: recurrent herpesvirus infection; immunity; cytokines; IL-1 β ; IL-6; TNF.

For citation: Akmееva A. S., Zhamborova R. B., Aloeва A., Kakhidov A.M., Abdulkadyrova I. D., Altamirova D. M., Kambachokova Z. A., Tagirova T. Sh., Elkham Akhmad Elias. Cytokine tatus in patients with recurrent herpes infection. *Antibiot i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66 (5–6): 35–39. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-35-39.

Герпесвирусы широко распространены в человеческой популяции и обладают большим разнообразием клинических проявлений, поражая различные органы и ткани. В настоящее время известно 8 видов герпесвирусов человека, разделённых на 3 группы: α -герпесвирусы — вирусы простого герпеса 1 и 2 типа (ВПГ-1, -2), вирус ветряной оспы (ВВО), β -герпесвирусы: цитомегаловирус

(ЦМВ), вирус герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6), ВГЧ-7 и γ -герпесвирусы: вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) и ВГЧ-8 [1–3].

Вирусы простого герпеса (ВПГ) 1-го и 2-го типов являются одними из наиболее распространённых возбудителей вирусных инфекций, уступая в этом отношении только вирусу гриппа [4, 5]. Рецидивирующие формы герпесвирусной инфек-

ции встречаются, по данным различных авторов, у 5–30% людей трудоспособного возраста [6]. На территории России и в странах СНГ от хронической герпесвирусной инфекции страдает более 25 млн человек [6, 7]. При герпесвирусной инфекции, как и при других хронических заболеваниях с персистенцией вируса, развиваются иммунодефицитные состояния, обусловленные недостаточностью клеточных и гуморальных механизмов иммунологической резистентности, в частности с дефектами цитокиновой системы [8].

Профиль цитокинов в сыворотке крови можно рассматривать как важнейшую характеристику иммунной системы, позволяющую глубже понять механизмы патогенеза многих инфекционных заболеваний, а также один из ключевых критериев эффективности этиотропных и иммуномодулирующих препаратов [4, 6, 8]. В случае хронического рецидивирующего течения вирусной инфекции клетки-продуценты цитокинов, помимо патоген-ассоциированных иммуностимулирующих сигналов, подвержены различным иммуносупрессивным влияниям.

Вышесказанное говорит о целесообразности динамического исследования уровня основных цитокинов, обеспечивающих противовирусную активность и обладающих провоспалительной и иммунорегуляторной активностью, в частности ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО, у больных рецидивирующей герпесвирусной инфекцией (РГИ).

Материал и методы

Под наблюдением находились 48 больных рецидивирующим герпесом (28 женщин и 20 мужчин) в возрасте от 18 до 65 лет. По тяжести клинического течения лёгкая форма инфек-

ции (1–2 рецидива в год) диагностирована у 12 пациентов, среднетяжёлая форма (3–5 рецидива в год) — у 18, тяжёлая (более 6 рецидивов в год) — у 18 человек. Основными жалобами больных были: боль, зуд и жжение в области герпетических высыпаний, общая слабость, недомогание, головная боль, понижение работоспособности. При объективном исследовании выявляли признаки герпесвирусной инфекции: наличие пузырьков, язв, трещин, эритемы, отёчности поражённых тканей, повышение температуры тела, увеличение регионарных лимфатических узлов. Контрольную группу составили 25 здоровых доноров, не имеющих антител к ВПГ-1 и ВПГ-2 в сыворотке крови и не содержащих ДНК ВПГ-1/2 и возбудителей других инфекций, передающихся половым путем, в соскобах из уретры, а у женщин ещё из влагалища и шейки матки. Диагноз устанавливался на основании клинической картины, выделения ДНК ВПГ-1 и ВПГ-2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в соскобе непосредственно из зоны высыпаний, а также обнаружения в крови специфических антител к ВПГ методом твёрдофазного иммуноферментного анализа.

Все больные обследованы клинически и лабораторно в период обострения и клинической ремиссии. С начала обострения пациенты получали стандартную противовирусную терапию с пероральным и местным применением ациклических нуклеозидов.

Концентрацию ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО в сыворотке крови определяли методом твёрдофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов ProCon IL1 beta, ProCon IL6 и ProCon TNF alpha (ООО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург) в соответствии с инструкциями производителя. Результаты проведённых исследований обработаны с помощью компьютерных программ Microsoft Excel и Statistica с применением критериев Манна-Уитни и Вилкоксона для сравнения независимых и связанных выборок, а также корреляционного анализа.

Результаты и обсуждение

В период обострения заболевания у больных РГИ установлено значительное повышение содержания провоспалительного цитокина ФНО в сыворотке крови (табл. 1). Параллельно положи-

Таблица 1. Динамика концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных рецидивирующей герпесвирусной инфекцией в зависимости от периода исследования

Table 1. Dynamics of the concentration of pro-inflammatory cytokines in the blood serum of patients with recurrent herpesvirus infection depending on the study period

Исследуемый показатель	Период исследования	n	$X_{min}-X_{max}$ (пг/мл)	$M\pm m$ (пг/мл)	p	p_1
ИЛ-1 β	Здоровые	25	32–58	44 \pm 1,5	—	—
	I	48	91–179	128 \pm 9,2	<0,001	—
	II	42	71–150	101 \pm 4,2	<0,001	<0,001
	III	34	38–109	71 \pm 2,1	<0,001	<0,001
ИЛ-6	Здоровые	25	26–37	25 \pm 1,5	—	—
	I	48	60–83	64 \pm 1,1	<0,001	—
	II	42	27–69	45 \pm 2,2	<0,001	<0,001
	III	34	28–61	37 \pm 1,3	<0,05	<0,05
ФНО- α	Здоровые	25	13–47	41 \pm 2,1	—	—
	I	48	46–286	176 \pm 13,1	<0,001	—
	II	42	37–148	102 \pm 2,2	<0,001	<0,001
	III	34	34–122	79 \pm 2,3	<0,001	<0,001

Примечание. Здесь и в табл. 2: I — период разгара заболевания; II — период ранней реконвалесценции; III — период поздней реконвалесценции; p — достоверность отличий от показателей группы здоровых лиц; p_1 — достоверность отличий от показателей предыдущего периода; n — число наблюдений; M — среднее арифметическое; m — стандартная ошибка среднего.

Note. Here and in Table 2: I — height of the disease; II — period of early recovery; III — period of late convalescence; p — reliability of the differences compared to the indicators of a group of healthy individuals; p_1 — reliability of the differences compared to the indicators of the previous period; n — number of observations; M — arithmetic mean; m — standard error of the mean.

Таблица 2. Динамика концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных рецидивирующей герпесвирусной инфекцией в зависимости от степени тяжести заболевания**Table 2.** Dynamics of the concentration of pro-inflammatory cytokines in the blood serum of patients with recurrent herpesvirus infection, depending on the severity of the disease

Степень тяжести	Период исследования	n	ИЛ-1 β			ИЛ-6			ФНО- α		
			M \pm m (пг/мл)	p	p ₁	M \pm m (пг/мл)	p	p ₁	M \pm m (пг/мл)	p	p ₁
Здоровые		25	44 \pm 1,5	—	—	25 \pm 1,5	—	—	41 \pm 2,1	—	—
Лёгкое	I	12	96 \pm 2,3	<0,001	—	56 \pm 1,5	<0,001	—	96 \pm 5,0	<0,001	—
	II	10	74 \pm 2,4	<0,001	<0,001	37 \pm 3,2	<0,001	>0,05	73 \pm 3,1	<0,001	<0,05
	III	8	47 \pm 1,2	>0,05	<0,01	24 \pm 1,3	>0,05	>0,05	41 \pm 2,1	>0,05	>0,05
Среднетяжёлое	I	18	119 \pm 3,1	<0,001	—	65 \pm 1,9	<0,001	—	134 \pm 4,3	<0,001	—
	II	15	89 \pm 1,1	<0,001	<0,001	48 \pm 1,2	<0,001	<0,05	110 \pm 4,2	<0,001	<0,05
	III	11	81 \pm 2,6	<0,001	<0,001	34 \pm 1,1	<0,05	>0,05	73 \pm 3,1	<0,05	<0,001
Тяжёлое	I	18	171 \pm 2,6	<0,001	—	69 \pm 1,7	<0,001	—	183 \pm 2,2	<0,001	—
	II	17	132 \pm 3,7	<0,001	<0,001	52 \pm 2,9	<0,001	<0,001	125 \pm 5,7	<0,001	<0,001
	III	15	93 \pm 2,5	<0,001	<0,001	39 \pm 1,7	<0,001	<0,001	96 \pm 5,1	<0,001	<0,001

тельной динамике заболевания (регрессу кожных проявлений и клинической симптоматики) на фоне этиотропной терапии ациклическими нуклеозидами прослеживалось постепенное снижение концентрации фактора некроза опухоли. Тем не менее, в период ранней реконвалесценции содержание ФНО в целом оставалось на уровне, достоверно превышающем показатели здоровых лиц. У пациентов со среднетяжёлым и тяжёлым течением заболевания в межрецидивный период концентрация данного цитокина была существенно выше референсных значений у здоровых лиц (табл. 2). Полная нормализация содержания ФНО в период ремиссии наблюдалась только у больных с лёгкой формой РГИ. Обнаружена прямая корреляционная связь концентрации ФНО в сыворотке крови с тяжестью заболевания.

В период обострения у обследованных больных выявлено увеличение концентрации ИЛ-1 β в сыворотке крови с максимальным значением на высоте клинических проявлений, что, как и в случае с ФНО, было вполне ожидаемым (см. табл. 1). В период ремиссии, несмотря на отсутствие герпетических высыпаний и подавление репликации вируса в местах типичной локализации, исследуемый показатель в целом оставался выше такового у здоровых лиц, хотя и снижался почти вдвое от пикового уровня при обострении.

Содержание ИЛ-1 β в сыворотке крови зависело от тяжести заболевания. Так, более высокие концентрации этого цитокина определялись у больных с тяжёлым и среднетяжёлым течением болезни. Наименее выраженные изменения исследуемого показателя выявлены у больных с лёгким течением РГИ, у которых в межрецидивный период наблюдалась полная нормализация уровня ИЛ-1 β (см. табл. 2).

Отсутствие снижения уровня ИЛ-1 β у обследованных больных в стадии ремиссии до референсных значений у здоровых лиц можно считать закономерными, учитывая биологическую роль и механизмы индукции этого цитокина, а также от-

сутствие полной эрадикации ВПГ в межрецидивный период. ИЛ-1 β усиливает как неспецифические защитные реакции, обусловленные активацией дендритных клеток, моноцитов/макрофагов и нейтрофильных лейкоцитов, так и специфический иммунный ответ. Механизм действия ИЛ-1 β связан со стимуляцией дифференцировки Tnaive-клеток в направлении Th1 и повышением их функциональной активности, а именно усилением синтеза лимфоцитами ИФН- γ и ИЛ-2, повышением ИЛ-2-зависимой пролиферации. В свою очередь ИЛ-2 активирует не только Т- и НК-клеточные противовирусные реакции, но и антителообразование. Кроме того, ИЛ-1 β опосредованно индуцирует синтез ИФН I, II и III типов в организме хозяина.

Таким образом, повышенный фоновый уровень ФНО и ИЛ-1 β в сыворотке крови больных РГИ в межрецидивный период отражает, с одной стороны, неполную эрадикацию ВПГ-1/2, а с другой — реализацию важных, если не ключевых, звеньев противовирусного иммунного ответа.

Динамика содержания ИЛ-6 в сыворотке крови пациентов с РГИ в целом коррелировала с таковой ИЛ-1 β и ФНО: при обострении заболевания наблюдалось возрастание концентрации ИЛ-6, в стадии ремиссии уровень ИЛ-6 понижался, но не достигал нормальных значений (см. табл. 1). Так же как и концентрация ИЛ-1 β и ФНО, уровень ИЛ-6 находился в прямой корреляционной связи со степенью тяжести РГИ (см. табл. 2).

Значение повышения концентрации ИЛ-6 в разные стадии РГИ ещё предстоит раскрыть. По крайней мере, отчасти этот цитокин выполняет защитные, в том числе противовирусные функции, активируя функцию нейтрофилов, антителообразование, продукцию белков острой фазы. Однако его способность смещать баланс Th1/Th2 в сторону последних и при определённых обстоятельствах подавлять продукцию других провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 и ФНО) делает его роль при РГИ двойственной. Ранее уже описана взаимосвязь реактивации латентной герпесвирус-

ной инфекции с хронической экспрессией ИЛ-6. Если иммунорегуляторные эффекты этого цитокина в острую фазу заболевания в определённой степени могут иметь протективное значение, то отсутствие нормализации концентрации ИЛ-6 при реконвалесценции таит в себе потенциал реактивации вирусной инфекции.

Достаточно хорошо известны фазные изменения иммунной системы при герпесвирусной инфекции *in vivo* и *in vitro*, которые в первую очередь затрагивают компоненты врождённого иммунитета, а именно дендритные клетки и моноциты/макрофаги. Ярким отображением этих изменений является продукция иммунокомпетентными клетками цитокинов. В частности, установлено, что в первые часы после инфицирования происходит активация выработки интерферонов (ИФН) I типа и фактора некроза опухоли (ФНО). Несколько позднее отмечается усиление продукции интерлейкина-12 (ИЛ-12), ИЛ-18 и ИФН III типа (ИЛ-28 и ИЛ-29), а в культурах с присутствием НК-клеток и на моделях *in vivo* — ещё и ИФН- γ [9]. Все вышеуказанные цитокины обладают в той или иной степени прямой и/или опосредованной противовирусной активностью. Вопрос, касающийся выработки при герпесвирусной инфекции других плейотропных цитокинов — ИЛ-1 β и ИЛ-6, остаётся во многих аспектах открытым, в частности в аспекте соотношения их защитного значения и патогенетической роли.

На различных тест-системах *in vitro* продемонстрирована способность ВПГ подавлять противовирусные реакции, в частности угнетать функциональную активность НК-клеток, продукцию ИФН I и II типов, реализацию адаптивного клеточного ответа [10]. Раскрыты некоторые молекулярные механизмы иммуносупрессивных эффектов ВПГ-1 и ВПГ-2. Так, вирусный протеин ICP 34.5 нейтрализует действие ИФН- α/β , обращая фосфорилирование эукариотического иницирующего фактора-2 α , опосредованное протеинкиназой R. При этом последний фермент является центральным компонентом индукции ФНО, ИЛ-6 и хемокина RANTES при герпесвирусной инфекции. Другой протеин ВПГ — ICP27 — блокирует активацию транскрипционных факторов IRF3 и NF- κ B и тем самым подавляет экспрессию ИФН I типа и других провоспалительных цитокинов. Ещё один вирусный белок — ICP47 — связывается с транспортёром, ассоциированным с процессингом антигена (TAP), и таким образом ингибирует презентацию антигенов CD8+ Т-лим-

фоцитам в контексте главного комплекса гистосовместимости I класса.

Данные исследований цитокинов, в том числе ФНО, ИЛ-1 β и ИЛ-6, в образцах плазмы или сыворотки крови у больных различными герпесвирусными инфекциями более противоречивы, чем таковые, полученные на экспериментальных моделях. Так, у молодых женщин с перименструальными обострениями хронического орофациального герпеса отмечено снижение содержания ИЛ-2 и повышение концентраций ФНО и ИЛ-6 в сыворотке крови [11]. Уровни ФНО и ИЛ-1 β в сыворотке крови больных инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейн–Барр, в острую фазу заболевания не отличались от таковых у здоровых лиц, а концентрация ИЛ-6 была существенно повышена [12, 13]. В случае длительного течения ВПГ индуцируют в организме вирусносителя генерацию клонов регуляторных Т-клеток (Treg), которые модулируют врождённые и адаптивные защитные реакции и изменяют продукцию цитокинов [14–17].

Полученные нами результаты изучения содержания провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО при герпесвирусной инфекции свидетельствуют о развившемся дисбалансе иммунной системы. Изменения уровня изученных цитокинов в сыворотке крови больных герпесвирусными инфекциями зависели от периода заболевания и степени тяжести патологического процесса.

Сохранение повышенных концентраций ИЛ-1 β и ФНО у пациентов в период ремиссии говорит, что вторичная иммунная недостаточность, клиническим маркером которой и является рецидивирующая герпесвирусная инфекция, не связана с супрессией продукции указанных цитокинов. Вероятно, дефект противовирусной защиты у больных с хроническим рецидивирующим генитальным герпесом находится на уровне эффекторных клеток (цитотоксических Т-лимфоцитов и НК-клеток) и процессинга/презентации вирусных антигенов, о чем уже говорилось выше. Вполне возможно, что рецидивирующий характер течения герпесвирусной инфекции связан в той или иной степени с активацией продукции ИЛ-6.

Результаты настоящего исследования позволяют заключить, что определение содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных герпесвирусной инфекцией может использоваться как дополнительный критерий тяжести и прогноза течения заболевания, а также эффективности проводимого лечения.

Литература/References

1. Шубелко Р.В., Зуйкова И.Н., Шульженко А.Е. Герпесвирусные инфекции человека: клинические особенности и возможности терапии. Русский медицинский журнал. 2018; 8 (1): 39–45. [Shubelko R.V.,

Zujkova I.N., Shul'zhenko A.E. Herpesvirusnye infektsii cheloveka: klinicheskie osobennosti i vozmozhnosti terapii. Russkij meditsinskij zhurnal. 2018; 8 (1): 39–45. (in Russian)]

2. Иммуноterapia: Руководство для врачей. Под ред. Хаитова Р.М., Атауллаханова Р.И., Шульженко А.Е. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 768 с. [Immunoterapiya: Rukovodstvo dlya vra-

- chey. Pod. red. Khaityova R. M., Ataullakhanova R. I., Shul'zhenko A. Ye. 2-ye izd., pererab. i dop. M.: GEOTAR-Media, 2018. 768. (in Russian)].
3. Камбачокова З.А. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у больных герпесвирусными инфекциями. Вестник Башкортостана. 2012; 3: 112–117. [Kambachokova Z.A. Pokazateli kletoch-nogo i gumoral'nogo immuniteta u bol'nykh herpesvirusnymi infektsiyami. Vestnik Bashkortostana. 2012; 3: 112–117. (in Russian)]
 4. Баскакова Д.В., Халдин А.А., Бирко Н.И. Клинико-эпидемиологические характеристики заболеваний, вызванных герпесом простого герпеса. Российский журнал кожных и венерических болезней. Приложение «Герпес». 2006; 2: 26–30. [Baskakova D.V., Khaldin A.A., Birko N.I. Kliniko-epidemiologicheskie kharakteristiki zabolevaniy, vyzvannykh herpesom prostogo herpesa. Rossijskij zhurnal kozhnykh i venericheskikh boleznej. Prilozhenie «Герпес». 2006; 2: 26–30. (in Russian)]
 5. Белозеров Е.С., Буланьков Ю.И. Терапия вирусных инфекций. Элиста: АПП «Джангар». 2007; 104. [Belozеров E.S., Bulan'kov Yu.I. Terapiya virusnykh infektsij. Elista: APP «Dzhangar». 2007; 104. (in Russian)]
 6. Новикова И.А., Романива О.А. Особенности продукции цитокинов при рецидивирующей герпетической инфекции. Медицинская иммунология. 2013; 15 (6): 571–576. [Novikova I.A., Romaniva O.A. Osobennosti produktsii tsitokinov pri retsidiviruyushchej gerpeticheskoy infektsii. Meditsinskaya immunologiya. 2013; 15 (6): 571–576. (in Russian)]
 7. Белозеров Е.С., Буланьков Ю.И., Митин Ю.А. Болезни иммунной системы. Элиста: АПП «Джангар». 2005; 272. [Belozеров E.S., Bulan'kov Yu.I., Mitin Yu.A. Bolezni immunnnoy sistemy. Elista: APP «Dzhangar». 2005; 272. (in Russian)]
 8. Камбачокова З.А. Рецидивирующие инфекции, вызванные вирусами простого герпеса: расстройство иммунитета, окислительных процессов и антиоксидантной защиты, и их коррекция. Автореф. дисс док. мед. наук. М.: 2012; 45. [Kambachokova Z.A. Retsediviruyushchie infektsii, vyzvannye virusami prostogo herpesa: rasstrojstva immuniteta, oksiditel'nykh protsessov i antioksidantnoj zashchity, i ikh korrektsiya. Avtoref. diss dok. med. nauk. Moscow: 2012; 45. (in Russian)]
 9. Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей. СПб. СпецЛит. 2006; 303. [Isakov V.A., Arkhipova E.I., Isakov D.V. Gerpsevirusnye infektsii cheloveka: rukovodstvo dlya vrachej. SPb. SpetsLit. 2006; 303. (in Russian)]
 10. Исаков В.А., Рыбалкин С.Б., Романцев М.Г. Герпесвирусная инфекция: руководство для врачей. СПб. 2006; 94. [Isakov V.A., Rybalkin S.B., Romantsev M.G. Gerpsevirusnaya infektsiya: rukovodstvo dlya vrachej. SPb. 2006; 94. (in Russian)]
 11. Ellermann-Eriksen S. Macrophages and cytokines in the early defence against herpes simplex virus. Virol. J. 2005; 2: 59. doi: 10.1186/1743-422X-2-59.
 12. Hornef M.W., Wagner H.-J., Kruse A., Kirchner H. Cytokine production in a whole-blood assay after Epstein-Barr virus infection *in vivo*. Clinical and Diagn Lab Immunol. 1995; 2 (2): 209–213.
 13. Melchjorsen J., Matikainen S., Paludan S.R. Activation and evasion of innate antiviral immunity by herpes simplex virus. Viruses. 2009; 1 (3): 737–759.
 14. Lund J.M., Hsing L., Pham T.T., Rudensky A.Y. Coordination of early protective immunity to viral infection by regulatory T cells. Science. 2008; 320 (5880): 1220–1224.
 15. Myesliwska J., Trzonkowski P., Bryl E., Lukaszuk K., Myesliwski A. Lower interleukin-2 and higher serum tumor necrosis factor- α levels are associated with premenstrual, recurrent, facial Herpes simplex infection in young women. Eur Cytokine Network. 2000; 11 (3): 397–406.
 16. Teng Y.C., Chen Y.T., Cheng Y.Y., Hung S.L. Requirements for the up regulation of interleukin-6 by herpes simplex virus-infected gingival fibroblasts. Viral Immunol. 2005; 18: 170–178.
 17. Derek D.S., Keith R.J. Herpes Simplex Virus Remodels T-Cell Receptor Signaling, Resulting in p 38 — Dependent Selective Synthesis of interleukin-10. Journal Virology. 2007; 87 (22): 12504–12514.

Информация об авторах

Акмева Алиса Сергеевна — студентка 6 курса специальности «Лечебное дело» медицинского факультета Кабардино-Балкарского государственного университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик, Российская Федерация

Жамборова Рената Бесплановна — студентка 6 курса Северо-Осетинской государственной медицинской академии, Владикавказ, Российская Федерация

Алоева Арина Ясировна — студентка 6 курса специальности «Лечебное дело» медицинского факультета Кабардино-Балкарского государственного университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик, Российская Федерация

Кахидов Ахмед Мехдиевич — студент 6 курса специальности «Лечебное дело» медицинского факультета Кабардино-Балкарского государственного университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик, Российская Федерация

Абдулкадырова Иман Даудовна — студентка 6 курса специальности «Лечебное дело» медицинского факультета Кабардино-Балкарского государственного университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик, Российская Федерация

Альтамирова Диана Муслимовна — студентка 6 курса специальности «Лечебное дело» медицинского факультета Кабардино-Балкарского университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик, Российская Федерация

Камбачокова Зарета Анатольевна — д. м. н., профессор кафедры госпитальной терапии медицинского факультета Кабардино-Балкарского университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик, Российская Федерация

Тагирова Тамила Шапрудиевна — студентка 6 курса специальности «Лечебное дело» медицинского факультета Кабардино-Балкарского университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик, Российская Федерация

Эльхам Ахмад Элиас — студент 6 курса специальности «Лечебное дело» медицинского факультета Кабардино-Балкарского университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик, Российская Федерация

About the authors

Alisa S. Akmeeva — 6th year student of the General Medicine specialty at the Faculty of Medicine of the Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

Renata B. Zhamborova — 6th year student at the North Ossetian State Medical Academy, Vladikavkaz, Russian Federation

Arina Ya. Aloeva — 6th year student of the General Medicine specialty at the Faculty of Medicine of the Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

Akhmed M. Kakhidov — 6th year student of the General Medicine specialty at the Faculty of Medicine of the Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

Iman D. Abdulkadyrova — 6th year student of the General Medicine specialty at the Faculty of Medicine of the Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

Diana M. Altamirova — 6th year student of the General Medicine specialty at the Faculty of Medicine of the 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

Tamila Sh. Tagirova — 6th year student of the General Medicine specialty at the Faculty of Medicine of the Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

Akhmad Elias Elkham — 6th year student of the General Medicine specialty at the Faculty of Medicine of the Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

Эффективность психологического сопровождения с использованием гепато-иммунопротекторов как предикторов в лекарственной терапии туберкулёза

В. М. КОЛОМИЕЦ¹, М. А. АЛЫМЕНКО¹, А. Л. КОВАЛЕНКО²,
Е. П. ПАВЛЕНКО¹, *Е. В. ТАЛИКОВА³

¹ ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Курск, Российская Федерация

² ФГБУН «Институт токсикологии ФМБА», Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Санкт-Петербург, Российская Федерация

The Effectiveness of Psychological Support With The Use of Hepato-Immunoprotectors as Predictors In Drug Therapy of Tuberculosis

VLADISLAV M. KOLOMIETS¹, MAXIM A. ALYMENKO¹, ALEKSEY L. KOVALENKO²,
ELIZAVETA P. PAVLENKO¹, *EKATERINA V. TALIKOVA³

¹ Kursk State Medical University, Kursk, Russian Federation

² Institute of Toxicology of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Saint Petersburg, Russian Federation

³ Saint-Petersburg Medico-Social Institute, Saint Petersburg, Russian Federation

Резюме

Цель исследования — оценка эффективности психологической (приверженность лечению) и лекарственной терапии сопровождения в зависимости от формы туберкулёза лёгких. Рассмотрены результаты комплексной терапии 326 больных с различными формами туберкулёза лёгких. Все пациенты получили этиотропное лечение с учётом чувствительности возбудителя к противотуберкулёзным препаратам и терапию сопровождения, включающую психологическое сопровождение и по показаниям — гепатопротекцию ремаксолом. При анализе зависимости психоэмоционального состояния пациентов от формы туберкулёзного процесса в лёгких было отмечено, что высокая приверженность терапии отмечалась у трети пациентов во всех группах (ДТЛ — 26,1%, ИТЛ — 28,6%, ФКТЛ — 32,8% и ОТЛ — 31,8%, соответственно, $p > 0,05$). Полученные результаты могут быть связаны с высоким уровнем устойчивости выделяемых от пациентов МТБ: из 232 больных с низкой приверженностью лечению (НУП и УУП) у 97 (36,2%) определялась лекарственная устойчивость возбудителя к двум и более этиотропным препаратам, что в свою очередь обусловило назначение препаратов резервного ряда. Таким образом, определение уровня приверженности лечению оправдано и направлено на коррекцию психологического сопровождения пациентов с туберкулёзом лёгких, что позволяет повысить эффективность терапии этих больных. Назначение последних у ряда больных привело к развитию гепатотоксических реакций, что послужило основанием для включения в схемы терапии сопровождения ремаксолом (внутривенно капельно по 400 мл, курсом № 5–7). На фоне лечения отмечен выраженный гепатопротекторный (улучшение показателей трансаминаз) и незначительный иммунопротективный (положительная динамика цитокинового профиля) эффекты. Отмеченные изменения иммунограммы можно связать с доказанным антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием янтарной кислоты, входящей в состав ремаксолом, и они требуют дальнейших исследований.

Ключевые слова: туберкулёз; приверженность лечению; терапия сопровождения; противотуберкулёзные препараты; чувствительность; ремаксолом.

Для цитирования: Коломиец В. М., Алыменко М. А., Коваленко А. Л., Павленко Е. П., Таликова Е. В. Эффективность психологического сопровождения с использованием гепато-иммунопротекторов как предикторов в лекарственной терапии туберкулёза. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66 (5–6): 40–47. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-40-47.

Abstract

The aim of the study was to evaluate the effectiveness of psychological (adherence to treatment) and accompanying drug therapy depending on the form of pulmonary tuberculosis. The results of complex therapy of 326 patients with various forms of pulmonary tuberculosis are considered. All patients received etiotropic treatment, taking into account the sensitivity of the pathogen to anti-tuberculosis drugs, as well as support therapy, including psychological support and, if indicated, hepatoprotective therapy with Remaxol. When analyzing the dependence of the psychoemotional state of patients on the form of the tuberculous process in the lungs, it was noted that high adherence to therapy was observed in one third of patients in all groups (DTL — 26.1%, ITL — 28.6%, FCTL — 32.8% and ATL — 31.8%, respectively, $P > 0.05$). The results obtained may be associated with a high level of resistance of mycobacterium tuberculosis excreted from pa-

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции: Кондратьевский пр., д. 72, литер А, ЧОУ ВО СПбМЦИ, г. Санкт-Петербург, 195271.
E-mail: e.talikova@mail.ru

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to: 72A Kondratyevsky avenue, Saint-Petersburg Medico-Social Institute, Saint Petersburg, 195271 Russian Federation. E-mail: e.talikova@mail.ru

tients: out of 232 patients with low adherence to treatment (NUP and UUP), 97 (36.2%) showed drug resistance of the pathogen to two or more etiotropic drugs, which, in turn, caused prescription of reserve drugs. Thus, the determination of the level of adherence to treatment is justified and is aimed at correcting the psychological support of patients with pulmonary tuberculosis, which makes it possible to increase the effectiveness of therapy in these patients. The appointment of the latter in a number of patients led to the development of hepatotoxic reactions, which served as the basis for the inclusion in the therapy regimens of the accompaniment of Remaxol (intravenous drip of 400 ml, course No. 5–7). Pronounced hepatoprotective (improved transaminase parameters) and insignificant immunoprotective (positive dynamics of the cytokine profile) effects were noted during treatment. The noted changes in the immunogram can be associated with the proven antioxidant and membrane stabilizing effect of succinic acid, which is part of Remaxol. These changes require further research.

Keywords: tuberculosis; adherence to treatment; maintenance therapy; anti-tuberculosis drugs; sensitivity; Remaxol.

For citation: Kolomiets V. M., Alymenko M. A., Kovalenko A. L., Pavlenko E. P., Talikova E. V. The effectiveness of psychological support with the use of hepato-immunoprotectors as predictors in drug therapy of tuberculosis. *Antibiot i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66 (5–6): 40–47. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-40-47.

Введение

На протяжении многих десятилетий туберкулёз остаётся глобальной проблемой здравоохранения во всем мире, в связи с его высокой распространённостью, длительностью течения, склонностью к осложнениям и хронизации процесса, а также недостаточной эффективностью лечения. Большую часть случаев среди вновь выявленного активного туберкулёза составляет туберкулёз органов дыхания — 96–97% [1, 2]. Среди важных причин низкой эффективности терапии является недостаточная приверженность пациентов к лечению [3–5]. По данным ряда авторов, в России доля пациентов, досрочно прекративших химиотерапию, составляет на разных территориях от 20 до 53% среди впервые выявленных случаев [1]. Причинами прерывания курса, помимо демографических факторов и личностных особенностей пациента, признаны длительность терапии в условиях стационара и необходимость приёма комбинации из 4–6 потенциально токсичных препаратов. При этом отмечено, что частота токсических поражений печени достигает 74%, а отмена или прерывание курса этиотропной терапии по этой причине приводит к формированию лекарственной устойчивости возбудителя [6].

В связи с этим, всё большее значение приобретает проблема психокоррекции в системе реабилитации больных туберкулёзом. С этой целью в программы подготовки по специальности «фтизиатрия», наряду с профилактической, диагностической, лечебной и реабилитационной, включена и психолого-педагогическая деятельность [7]. Однако до сих пор не определены наиболее оптимальные тесты для психологической диагностики состояния пациентов. Что касается методов психотерапевтического воздействия для снижения факторов риска, то этим занимаются психологи (там, где они есть) в индивидуальном порядке. Основная задача, которая ставится перед психологом — диагностика особенностей личности и состояния пациента с целью выявле-

ния психологических факторов, которые могут привести к снижению приверженности лечению. В числе таких факторов выделяют: отрицание больным у себя заболевания и как следствие — низкую мотивацию лечению; длительность лечения, которое пугает пациентов и приводит к его преждевременному прерыванию; страх перед терапией, которая вследствие токсичности препаратов может нанести его организму более сильный урон, чем от самого заболевания; отрицательное влияние неэффективности лечения у других пациентов, особенно с хроническим течением туберкулёза; побочные эффекты (непереносимые), возникающие на первых месяцах лечения; недостаточное осознание социальной опасности заболевания; наличие общераспространённого мнения о неизлечимости туберкулёза; недооценка эффективности стационарного лечения; негативное отношение социума к заболеванию, сопровождаемое большим количеством мифов и предрассудков, и часто низкая санитарная культура населения [5, 8, 9]. Все указанные факторы риска снижения приверженности лечению вряд ли возможно нейтрализовать мерами административного воздействия. Поэтому необходимы интегрированные действия фтизиатра и психолога с учётом нарушений психосоматического характера, сопровождающих течение туберкулёзного процесса.

С учётом необходимости купирования осложнений лечения, прежде всего обусловленных гепатотоксическими реакциями на противотуберкулёзные препараты, особенно резервного ряда, целесообразно назначение сукцинатсодержащего препарата ремаксол (ООО «НТФФ «ПОЛИСАН», Санкт-Петербург), способствующего восстановлению митохондриальных мембран и процессов окислительного фосфорилирования, корригирующего тканевую гипоксию и оказывающего гепатопротективное действие, а также усиливающего регенеративные процессы в печени [10, 11].

Цель исследования — оценить эффективность психологической (приверженность лече-

Ремаксол для печени – время для жизни!



Препарат инициальной терапии
при поражениях печени
различного генеза

- Воздействует на основные механизмы развития повреждения печени:
 - митохондриальную дисфункцию
 - повреждение клеточных мембран
 - оксидативный стресс
- активирует клеточное дыхание, повышает энергообеспечение
- стимулирует синтез нуклеотидов и обменные процессы в клетках
- способствует увеличению текучести мембран гепатоцитов, восполняет запасы глутатиона



включен в перечень
ЖНВЛП

ПРОИЗВЕДЕНО
ПО GMP

 **Полисан**

Инфузионный гепатотропный препарат

нию) и лекарственной терапии сопровождения в зависимости от формы туберкулёза лёгких.

Материал и методы

Проанализированы данные 326 пациентов, находившихся на стационарном лечении в отделениях ОБУЗ «Областной клинической противотуберкулезный диспансер» комитета здравоохранения Курской области (ОБУЗ «ОКПТД»). Преобладали пациенты мужского пола (252 — 77,3%) и в возрасте 40–59 лет (173–53%).

У всех пациентов были проведены стандартные общеклинические, лабораторные и исследования лучевыми методами, включая компьютерную томографию. На основании клиничко-лабораторных данных у 115 человек был диагностирована диссеминированная форма туберкулёза лёгких (ДТЛ), у 119 — инфильтративная (ИТЛ), у 70 — фиброзно-кавернозный туберкулёз лёгких (ФКТЛ) у 22 — очаговый туберкулёз лёгких (ОТЛ). По характеру процесса пациенты распределялись следующим образом: впервые выявленные случаи — 217 человек, рецидивирующее течение — 18 пациентов и у 91 пациента диагностирован хронический туберкулёзный процесс.

Все пациенты получили этиотропную терапию с использованием стандартных режимов, ориентированных на рекомендации ВОЗ (программа DOTS и DOTS+) и в соответствии с федеральными стандартами, утверждёнными приказом МЗ РФ №951 от 29 декабря 2014 г. При анализе результатов лечения учитывали возможность сопряжённого воздействия различных факторов риска, таких как злоупотребление психотропными веществами и алкоголем, степень социальной дезадаптации, сопутствующие заболевания и другие.

Эффективность лечения учитывали после окончания интенсивной фазы основного курса лечения (ИФ ОКЛ) по общепринятым критериям: прекращению бактериовыделения, положительной динамике морфологических изменений, по данным лучевых методов обследования, и уменьшению интоксикации.

Перед началом терапии определяли уровень приверженности больных лечению (ПБЛ) по авторской методике [12], в основе которой тестирование пациента по специальной анкете и определение наличия факторов риска (стенов): стресс, фрустрация, стигматизация, внушаемость, пристрастие к алкоголю, социально-психологический статус, побочные реакции на лечение, отсутствие эффекта лечения, не сложившиеся взаимоотношения с медицинским персоналом, экономическое неблагополучие. В зависимости от количества стенов прогнозировался уровень приверженности:

- Низкий уровень (НУП) — неудовлетворительная приверженность лечению, склонность к нарушениям больничного режима, отсутствие эффекта лечения, частые рецидивы и обострения.
- Удовлетворительный уровень (УУП) — умеренные нарушения больничного режима в экстремальных ситуациях, плохие результаты терапии, редкие рецидивы и обострения.
- Высокий уровень (ВУП) — низкая вероятность нарушений больничного режима хотя возможны единичные кратковременные нарушения больничного режима в экстремальных ситуациях, низкая вероятность рецидивов и обострений, высокая эффективность лечения.

Определялась степень влияния выявленных факторов (стенов) на приверженность лечению с целью коррекции (психологической и медикаментозной) основного курса этиотропной терапии.

У пациентов с НУП и УУП и прогнозом неблагоприятного исхода терапии рекомендовалось интенсификация психологического сопровождения с использованием применением психосоматических методик коррекции состояния. При выявленном ВУП оценивалось как благоприятный прогноз и рекомендовалось при психологическом сопровожде-

нии проводить коррекционные мероприятия только по показаниям после заключения психолога.

Кроме того, у 39 пациентов с ФКТЛ и НУП, развившийся в том числе из-за гепатотоксических реакций на этиотропные препараты, в схему терапии сопровождения был добавлен ремаксол (ООО «НТФФ «ПОЛИСАН») внутривенно капельно по 400 мл, курс № 5–7.

Помимо общепринятого комплекса клиничко-лабораторных данных у пациентов, получивших ремаксол, исследовались уровень трансаминаз (аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) и иммунологический профиль (интерлейкины (ИЛ) 4,6 и 10, ФНО- α , ИНФ- γ).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием персонального компьютера и пакета прикладных программ «СТАТИСТИКА 6.0». Доверительный интервал (ДИ) представлял собой диапазон значений, который с определённой вероятностью ($\alpha=0,05$ или 95%) включал в себя настоящее популяционное значение, $p<0,05$ принимали за величину уровня статистической значимости.

Результаты и обсуждение

Отмечено, что эффективность ИФ ОКЛ во многом зависит от степени развития морфологических изменений в поражённом органе и времени начала лечения, то есть в клиническом отношении во многом предопределена формой и фазой процесса (табл. 1).

Выявлено, что наиболее низкая эффективность терапии была у пациентов с ФКТЛ и ДТЛ формами туберкулёза лёгких. У 39 (55,7%) из 70 больных с ФКТЛ отмечалось хроническое течение процесса с преобладанием лекарственно-устойчивыми штаммами возбудителя (табл. 2). Низкий же уровень при очаговой форме (ОТЛ) объясним — у 7 из 13 больных с туберкулемами в легких достичь клинического излечения без хирургического вмешательства не представляется возможным.

Одним из важных факторов риска неудачи терапии пациентов с туберкулезом легких является характер лекарственной устойчивости возбудителя. В нашем исследовании (табл. 2) именно от больных ФКТЛ выделялись культуры возбудителя с множественной-, поли- и широкой лекарственной устойчивостью *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) (МЛУ, ПЛУ, ШЛУ), что вынуждало назначать препараты резервного ряда с прогнозируемыми нежелательными (побочными) реакциями. Так, IV и V режимы, включающие противотуберкулёзные препараты (ПТП) резервного ряда, были назначены и принимали 86 пациентов из которых 36 (41,8%) — были с ФКТЛ.

Анализ уровня приверженности пациентов терапии выявил достаточно низкие показатели. Отмечено, что зависимость уровня приверженности лечению пациентов от формы туберкулёзного процесса вряд ли возможно оценивать как приемлемый (табл. 3).

Высокая приверженность лечению выявлена только у 94 (28,83%) больных, при этом с практически одинаковым процентным соотношением больных с различным течением процесса.

Таблица 1. Эффективность лечения (после окончания интенсивной фазы основного курса)
Table 1. The effectiveness of treatment (after the end of the intensive phase of the main course)

Клинические формы и фазы процесса*	Уровни эффективности лечения**						Итого	
	ВУ		НУ		НУО			
	А	%	А	%	А	%	А	%
ДТЛ	96	83,48	16	13,91	3	2,61	115	100,00
CV-	35	72,92	11	22,92	2	4,17	48	100,00
CV+	61	91,04	5	7,46	1	1,49	67	100,00
ИТЛ	96	80,67	22	18,49	1	0,84	119	100,00
CV-	36	69,23	16	30,77			52	100,00
CV+	60	89,55	6	8,96	1	1,49	67	100,00
ОТЛ	13	59,09	8	36,36	1	4,55	22	100,00
CV-	9	64,29	4	28,57	1	7,14	14	100,00
CV+	4	50,00	4	50,00			8	100,00
ФКТЛ CV+	54	77,14	11	15,71	5	7,14	70	100,00
Итого	259	79,45	57	17,48	10	3,07	326	100,00

Примечание. Здесь и в табл. 3: *CV- — фаза распада; CV+ — фаза инфильтрации/диссеминации; ** — уровни эффективности: ВУ (высокий уровень) — прекращение бактериовыделения, клиническое улучшение и положительная R-динамика; НУО (низкий уровень) — только клиническое улучшение или отрицательная динамика; НУ (неполный результат) — только R-динамика и клиническое улучшение.

Note. Here and in Table 3: *CV- — phase of decay; CV+ — phase of infiltration/dissemination; ** — efficiency levels: ВУ (high level) — cessation of bacterial excretion, clinical improvement and positive R-dynamics; НУО (low level) — only clinical improvement or negative dynamics; НУ (incomplete result) — only R-dynamics and clinical improvement.

Таблица 2. Характер лекарственной устойчивости *M.tuberculosis*
Table 2. The nature of the drug resistance of *M.tuberculosis*

ЛУ МБТ*	Формы процесса									
	ДТЛ		ИТЛ		ОТЛ		ФКТЛ		Всего	
	А	%	А	%	А	%	А	%	А	%
Чув	68	59,13	62	52,10	15	68,18	27	38,57	172	52,76
1ЛУ	4	3,48	7	5,88	1	4,55	7	10,00	19	5,83
МЛУ	32	27,83	34	28,57	4	18,18	24	34,29	94	28,83
ПЛУ	6	5,22	5	4,20	1	4,55	4	5,71	16	4,91
ШЛУ	5	4,35	11	9,24	1	4,55	8	11,43	25	7,67
Итого	115	100,00	119	100,00	22	100,00	70	100,00	326	100,00

Примечание. Здесь и в табл. 4: * Чув. — устойчивости нет; 1ЛУ — устойчивость МБТ к одному антибактериальному препарату; МЛУ — устойчивость МБТ к изониазиду и рифампицину; ПЛУ — полиустойчивость к нескольким препаратам (но не МЛУ); ШЛУ — устойчивость МЛУ и к одному из вводимых парентерально антибиотиков.

Note. Here and in Table 4: * Чув. — no resistance; 1ЛУ — resistance of *M.tuberculosis* to one antibacterial drug; МЛУ — resistance of *M.tuberculosis* to isoniazid and rifampicin; ПЛУ — multi-drug resistance (but not МЛУ); ШЛУ — МЛУ resistance, as well as to one of the parenterally administered antibiotics.

Таблица 3. Уровни приверженности лечению у больных с различным характером процесса
Table 3. Levels of adherence to treatment in patients with different nature of the process

Показатель	В/выявленные (n=217)						Рецидив (n=18)						Хронические больные (n=91)						Всего	
	ВУП		НУП		УУП		ВУП		НУП		УУП		ВУП		НУП		УУП			
	А	%	А	%	А	%	А	%	А	%	А	%	А	%	А	%	А	%		
ДТЛ	19	16,52	18	15,65	40	34,78	2	1,74	2	1,74	2	1,74	9	7,83	6	5,22	17	14,78	115	100,0
CV-	11	22,92	3	6,25	20	41,67							3	6,25	3	6,25	8	16,67	48	100,0
CV+	8	11,94	15	22,39	20	29,85	2	2,99	2	2,99	2	2,99	6	8,96	3	4,48	9	13,43	67	100,0
ИТЛ	26	21,85	29	24,37	43	36,13	1	0,84	4	3,36			7	5,88	4	3,36	5	4,20	119	100,0
CV-	13	25,00	16	30,77	18	34,62			1	1,92			2	3,85			2	3,85	52	100,0
CV+	13	19,40	13	19,40	25	37,31	1	1,49	3	4,48			5	7,46	4	5,97	3	4,48	67	100,0
ОТЛ	6	27,27	1	4,55	9	40,91					2	9,09	1	4,55	1	4,55	2	9,09	22	100,0
CV-	3	21,43	1	7,14	7	50,00					2	14,29					1	7,14	14	100,0
CV+	3	37,50			2	25,00							1	12,50	1	12,50	1	12,50	8	100,0
ФКТЛ CV+	10	14,29	6	8,57	10	14,29	2	2,86			3	4,29	11	15,71	11	15,71	17	24,29	70	100,0
Итого	61	18,71	54	16,56	102	31,29	5	1,53	6	1,84	7	2,15	28	8,59	22	6,75	41	12,58	326	100,0

Кроме того, с прогностической точки зрения неблагоприятным можно считать то, что при анализе соотношения спектра чувствительности возбудителя к ПТП из 232 больных с НУП и УУП у 97 (36,2%) определялась лекарственная устойчи-

вость возбудителя к двум и более этиотропным препаратам (табл. 4).

У 39 пациентов отмечалось развитие нежелательных (побочных) реакций гепатотоксического характера: тяжесть и боли в правом подреберье,

Таблица 4. Уровни приверженности лечению у больных с различным характером процесса и лекарственной устойчивостью МБТ

Table 4. Levels of adherence to treatment in patients with different disease progression and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*

ЛУ МБТ	Характер процесса и приверженность лечению															итог			
	в/выявленные (n=217)						рецидив (n=18)					хронические больные (n=91)							
	ВУП		НУП		УУП		ВУП		НУП		УУП		ВУП		НУП		УУП		
	А	%	А	%	А	%	А	%	А	%	А	%	А	%	А		%	А	%
Чувств	30	17,44	35	20,35	54	31,40	1	0,58	4	2,33	5	2,91	9	5,23	9	5,23	25	14,53	172
ІЛУ	3	15,79	1	5,26	7	36,84							3	15,79	1	5,26	4	21,05	19
МЛУ	22	23,40	16	17,02	24	25,53	1	1,06	1	1,06	1	1,06	9	9,57	10	10,64	10	10,64	94
ПЛУ	2	12,50	1	6,25	7	43,75	2	12,50			1	6,25	1	6,25	1	6,25	1	6,25	16
ШЛУ	4	16,00	1	4,00	10	40,00	1	4,00	1	4,00			6	24,00	1	4,00	1	4,00	25
Итого	61	18,71	54	16,56	102	31,29	5	1,53	6	1,84	7	2,15	28	8,59	22	6,75	41	12,58	326

Таблица 5. Динамика уровня цитокинов на фоне курса ремаксола (M±m)

Table 5. The dynamics of the cytokine levels against the background of treatment with Remaxol (M±m)

Сроки исследования	Цитокины				
	ИЛ-4	ИЛ-6	ИЛ-10	ИНФ-γ	ФНО-α
До начала терапии	13,5±1,2	23,9±2,3	33,8±1,62	11,3±4,5	4,9±0,6
После курса терапии	10,5±1,3	14,5±2,6	24,8±2,6	6,8±0,7	3,6±0,7
% снижения	-22%	-39%	-26%	-39%	-26%

снижение аппетита и слабость на фоне противотуберкулёзной терапии и изменения уровня трансаминаз АСТ в среднем до 37,51±1,3 Ед/л, АЛТ до 26,83 Ед/л. Этим пациентам был проведён курс ремаксола.

Остальным пациентам с низким уровнем приверженности, но без гепатотоксических отклонений нарушения в психосоматическом состоянии корректировались интегрировано фтизиатром и психологом рекомендованными методами (медико-социальная помощь, школы здоровья, психотерапевтическое воздействие путём индивидуальной работы психолога и др.).

После курса ремаксола у пациентов отмечалось купирование симптоматики, восстанавливались самочувствие и аппетит, уровни трансаминаз снизились: АСТ до 26,18±0,8 Ед/л а АЛТ до 18,34±1,3 Ед/л (p>0,05), что позволило продолжить терапию ПТП резервного ряда в различных режимах.

Кроме того, анализ цитокинового профиля у данных пациентов выявил положительную динамику основных показателей (табл. 5).

Согласно расчёту, иммунологическая эффективность препарата по критерию Стьюдента — индекс его активности составил ≤2, что статистически не значимо. Однако отмеченные изменения иммунограммы можно связать с доказанным антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием янтарной кислоты, входящей в состав ремаксола. Полученные результаты требуют дальнейших исследований.

Таким образом, благодаря включению в схему терапии сопровождения ремаксола у пациентов с гепатотоксическими реакциями на ПТП, они были купированы, что позволило не только провести полный курс этиотропной терапии, но и способствовало улучшению психоэмоционального состояния пациентов этой группы.

Заключение

Анализ эффективности психологической (приверженность лечению) составляющей комплексной терапии пациентов в зависимости от формы туберкулёзного процесса выявил, что высокая приверженность лечению отмечалась только у 94 (28,83%) больных с практически одинаковым процентным соотношением больных с различным течением процесса. Это может быть связано с характером лекарственной устойчивости возбудителя: при анализе соотношения спектра чувствительности возбудителя к ПТП, из 232 больных с низкой приверженностью лечению (НУП и УУП) у 97 (36,2%) определялась лекарственная устойчивость возбудителя к двум и более этиотропным препаратам. При этом от больных ФКТЛ выделялись культуры возбудителя с множественной-, поли- и широкой лекарственной устойчивостью МБТ (МЛУ, ПЛУ, ШЛУ), что вынуждало назначать препараты резервного ряда с прогнозируемыми нежелательными (побочными) реакциями. Так, IV и V режимы, включающие противотуберкулёзные препараты (ПТП) резервного ряда, были назначены и принимали 86 пациентов из которых 36 (41,8%) — были с ФКТЛ.

При развитии гепатотоксических реакций на ПТП, благодаря включению в схему терапии сопровождения ремаксола, они купировались что позволило не только провести полный курс этиотропной терапии, но и способствовало улучшению психоэмоционального состояния пациентов этой группы.

Выводы

Анализ зависимости психоэмоционального состояния пациентов от формы туберкулёзного

процесса в лёгких выявил, что высокая приверженность терапии отмечалась у трети пациентов во всех группах (ДТЛ — 26,1%, ИТЛ — 28,6%, ФКТЛ — 32,8% и ОТЛ — 31,8%, соответственно, $p > 0,05$). Полученные результаты могут быть связаны с высоким уровнем устойчивости выделяемых от пациентов МТБ: из 232 больных с низкой приверженностью лечению (НУП и УУП) у 97 (36,2%) определялась лекарственная устойчивость возбудителя к двум и более этиотропным препаратам, что в свою очередь обусловило назначение препаратов резервного ряда. Таким образом, определение уровня приверженности лечению оправдано и направлено на коррекцию психологического сопровождения пациентов с туберкулёзом лёгких, что поз-

воляет повысить эффективность терапии этих больных.

Назначение препаратов резервного ряда привело к развитию гепатотоксических реакций, что послужило основанием для включения в схемы терапии сопровождения ремаксола (внутривенно капельно по 400 мл, курсом № 5–7). На фоне лечения отмечен выраженный гепатопротекторный (улучшение показателей трансаминаз) и незначительный иммунопротективный (положительная динамика цитокинового профиля) эффекты. Отмеченные изменения иммунограммы можно связать с доказанным антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием янтарной кислоты, входящей в состав ремаксола, и требует дальнейших исследований.

Литература/References

1. Равильоне М., Коробитцин А. А. Ликвидация туберкулёза — новая стратегия ВОЗ в эру устойчивого развития, вклад Российской Федерации. Туберкулёз и болезни лёгких. 2016; 84 (11): 8–15. doi:10.21292/2075-1230-2016-94-11-7-15. [Ravil'one M., Korobitsin A. A. Likvidatsiya tuberkuleza — novaya strategiya VOZ v eru ustojchivogo razvitiya, vklad Rossijskoj Federatsii. Tuberkulez i Bolezni Legkikh. 2016; 84 (11): 8–15. doi:10.21292/2075-1230-2016-94-11-7-15. (in Russian)]
2. Тестов В. В., Стерликов С. А., Васильева И. А., Сидорова И. А., Михайлова Ю. В. Федеральный регистр лиц, больных туберкулёзом, как инструмент мониторинга влияния противоэпидемических мероприятий, вызванных пандемией COVID-19, на систему оказания противотуберкулёзной помощи. Туберкулёз и болезни лёгких. 2020; (98) 11: 6–11. doi:10.21292/2075-1230-2020-98-11-6-11. [Testov V. V., Sterlikov S. A., Vasil'eva I. A., Sidorova I. A., Mikhailova Yu. V. Federal'nyj registr lits, bol'nykh tuberkulezom, kak instrument monitoringa vliyaniya protivoepidemicheskikh meropriyatij, vyzvannykh pandemiej COVID-19, na sistemu okazaniya protivotuberkuleznoj pomoshchi. Tuberkulez i Bolezni Legkikh. 2020; (98) 11: 6–11. doi:10.21292/2075-1230-2020-98-11-6-11. (in Russian)]
3. Белостоцкий А. В., Касаева Т. Ч., Кузьмина Н. В., Нелидова Н. В. Проблема приверженности больных туберкулёзом к лечению. Туберкулёз и болезни лёгких. 2015; (4): 4–9. [Belostotskij A. V., Kasaeva T. Ch., Kuz'mina N. V., Nelidova N. V. Problema priverzhennosti bol'nykh tuberkulezom k lecheniju. Tuberkulez i Bolezni Legkikh. 2015; (4): 4–9. (in Russian)]
4. Коломиец В. М., Медведева Н. Н. Клинико-психологические особенности у больных различными формами туберкулёза лёгких. Туберкулёз и социально значимые заболевания. 2019; 1: 79–80. [Kolomiets V. M., Medvedeva N. N. Kliniko-psikhologicheskie osobennosti u bol'nykh razlichnymi formami tuberkuleza legkikh. Tuberkulez i Sotsial'no Znachimye Zabolevaniya. 2019; 1: 79–80. (in Russian)]
5. Шерстнев Г. В., Скорняков С. Н., Подаева В. А., Шерстнев С. В., Цветков А. И. Мультидисциплинарный подход в работе по формированию приверженности лечению больных туберкулёзом. Туберкулёз и болезни лёгких. 2017; 95 (1): 34–41. doi:10.21292/2075-1230-2017-95-1-34-41. [Sherstnev G. V., Skornjakov S. N., Podaeva V. A., Sherstnev S. V., Tsvetkov A. I. Mul'tidisciplinarnyj podkhod v rabote po formirovaniyu priverzhennosti lecheniju bol'nykh tuberkulezom. Tuberkulez i Bolezni Legkikh. 2017; 95 (1): 34–41. doi:10.21292/2075-1230-2017-95-1-34-41. (in Russian)]
6. Старшинова А. А., Беляева Е. Н., Пантелеев А. М., Павлова М. В. Применение гепатопротекторов на фоне химиотерапии туберкулёза: обзор отечественных и зарубежных исследований. Туберкулёз и болезни лёгких. 2018; 96 (10): 63–69. doi:10.21292/2075-1230-2018-96-10-63-69. [Starshinova A. A., Belyaeva E. N., Pantelev A. M., Pavlova M. V. Primenenie gepatoprotektorov na fone khimioterapii tuberkuleza: obzor otechestvennykh i zarubezhnykh issledovanij. Tuberkulez i Bolezni Legkikh. 2018; 96 (10): 63–69. doi:10.21292/2075-1230-2018-96-10-63-69. (in Russian)]

- nykh i zarubezhnykh issledovanij. Tuberkulez i bolezni legkikh 2018; 96(10): 63–69. doi:10.21292/2075-1230-2018-96-10-63-69. (in Russian)]
7. Юдин С. А., Барканова О. Н., Борзенко А. С., Деларю В. В. Реабилитация во фтизиатрии: комплементарность медицинских, социальных и психологических факторов: Монография. Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2017; 301. [Jyudin S. A., Barkanova O. N., Borzenko A. S., Delaryu V. V. Reabilitatsiya vo ftiziatrii: komplementarnost' meditsinskikh, sotsial'nykh i psikhologicheskikh faktorov: Monografiya. Volgograd: Izd-vo VolgGMU, 2017. 301. (in Russian)]
8. Стерликов С. А., Галкин В. Б., Русакова Л. И., Пономарёв С. Б., Гордина А. В. Результаты лечения больных туберкулёзом в 2018 году. Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. 2019; 3: 28–68. doi:10.24411/2312-2935-2019-10054. [Sterlikov S. A., Galkin V. B., Rusakova L. I., Ponomarev S. B., Gordina A. V. Rezul'taty lecheniya bol'nykh tuberkulezom v 2018 godu. Sovremennye Problemy Zdravookhraneniya i Meditsinskoj Statistiki 2019; 3: 28–68. doi:10.24411/2312-2935-2019-10054. (in Russian)]
9. Ясинов Д. А., Половинко И. А., Смагина Л. Т. Эффективность психологического сопровождения приверженности к лечению туберкулёза на стационарном этапе. Туберкулёз, социальные болезни, ВИЧ. 2014; 16 (1): 55–59. [Yasinov D. A., Polovinko I. A., Smagina L. T. Effektivnost' psikhologicheskogo soprovozhdeniya priverzhennosti k lecheniyu tuberkuleza na stacionarnom etape. Tuberkulez, Sotsial'nye Bolezni, VICH. 2014; 16 (1): 55–59. (in Russian)]
10. Стелмак В. В., Козлов В. К., Иванова В. Ф., Самусенко И. А. Эффективность инфузионного гепатотропного препарата ремаксол в патогенетической терапии хронических вирусных гепатитов на цирротической стадии. Терапевтический архив. 2015; 87 (8): 67–72. doi:10.17116/terarkh201587867-72. [Stel'makh V. V., Kozlov V. K., Ivanova V. F., Samusenko I. A. Effektivnost' infuzionnogo gepatotrofnogo preparata remaksol v patogeneticheskoy terapii khronicheskikh virusnykh gepatitov na tsirroticheskoy stadii. Terapevticheskij Arhiv. 2015; 87(8): 67–72. doi:10.17116/terarkh201587867-72. (in Russian)]
11. Суханов Д. С. Эффективность гепатопротекторного действия и оценка риска при использовании реамберина, ремаксола и адеметинина у больных туберкулёзом органов дыхания с лекарственными поражениями печени. Терапевтический архив. 2012; 84 (11): 26–29. [Sukhanov D. S. Effektivnost' gepatoprotektornogo dejstviya i otsenka riska pri ispol'zovanii reamberina, remaksola i ademetonina u bol'nykh tuberkulezom organov dykhaniya s lekarstvennymi porazheniyami pecheni. Terapevticheskij Arhiv. 2012; 84 (11): 26–29. (in Russian)]
12. Патент на изобретение России RU № 2611398 «Способ повышения эффективности лечения больных туберкулёзом» 21.02.2017. Регистрация в Государственном регистре изобретений РФ 21 февраля 2017 г. [Patent na izobretenie Rossii RU № 2611398 «Sposob povysheniya effektivnosti lecheniya bol'nykh tuberkulezom» 21.02.2017. Registratsiya v Gosudarstvennom registre izobretenij RF 21 fevralya 2017 g. (in Russian)]

Информация об авторах

Коломиец Владислав Михайлович — д. м. н., профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Курск, Российская Федерация

Альменко Максим Алексеевич — к. м. н., ассистент кафедры общей фармакологии, ведущий эксперт управления организации и развития медицинской помощи

About the authors

Vladislav M. Kolomiets — D. Sc. in medicine, Kursk State Medical University, Kursk, Russian Federation

Maxim A. Alymenko — Ph. D. in medicine, Kursk State Medical University, Health Committee of the Kursk Region, Kursk, Russian Federation

Комитета здравоохранения Курской области, Курск, Российская Федерация

Коваленко Алексей Леонидович — д. б. н., к. х. н., дважды лауреат Государственной премии в области науки и техники, ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Павленко Елизавета Петровна — ассистент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Курск, Российская Федерация

Таликова Екатерина Владимировна — к. м. н., доцент кафедры морфологии, патологии и судебной медицины, Частное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский медико-социальный институт» (ЧОУ ВО СПбМСИ), Санкт-Петербург, Российская Федерация

Aleksey L. Kovalenko — D. Sc. in biology, Ph. D. in chemistry, twice laureate of the State Prize in Science and Technology, Institute of Toxicology of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Saint Petersburg, Russian Federation

Elizaveta P. Pavlenko — Assistant of the Department of Clinical Immunology, Allergology, and Phthiisopulmonology, Kursk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russian Federation

Ekaterina V. Talikova — Ph. D. in medicine, Saint-Petersburg Medico-Social Institute, Saint Petersburg, Russian Federation

Метаанализ рандомизированных контролируемых клинических исследований эффективности препарата Риамиловир в этиотропной терапии острой респираторной вирусной инфекции

А. У. САБИТОВ¹, О. П. КОВТУН¹, Н. А. БАЦКАЛЕВИЧ²,
О. В. МАЛЫЦЕВ³, К. В. ЖДАНОВ³, Е. В. ЭСАУЛЕНКО⁴, Е. П. ТИХОНОВА⁵,
Ю. С. КАЛИНИНА⁵, *П. В. СОРОКИН⁶, С. В. ЧЕПУР⁷, А. В. СТЕПАНОВ⁷

¹ ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Российская Федерация

² ГАУЗ Свердловской области «Городская клиническая больница № 40», Екатеринбург, Российская Федерация

³ Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова, Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁵ ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация

⁶ ООО «Фармавиرون», Новоуральск, Российская Федерация

⁷ ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Meta-Analysis of Randomized Controlled Clinical Trials of Riamilovir Efficacy In The Etiotropic Therapy of Acute Respiratory Viral Infection

ALEBAI U. SABITOV¹, OLGA P. KOVTUN¹, NATALYA A. BATSKALEVICH²,
OLEG V. MALTSEV³, KONSTANTIN V. ZHDANOV³, ELENA V. ESAULENKO⁴,
ELENA P. TIKHONOVA⁵, YULIA S. KALININA⁵, *PAVEL V. SOROKIN⁶,
SERGEY V. CHEPUR⁷, ALEXANDER V. STEPANOV⁷

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

² Sverdlovsk Region «City Clinical Hospital No. 40», Yekaterinburg, Russian Federation

³ S. M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation

⁴ Saint-Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation

⁵ Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation

⁶ ООО «Farmaviron», Novouralsk, Russian Federation

⁷ State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation

Резюме

Цель. Проведение метаанализа рандомизированных контролируемых испытаний для объединения результатов клинических исследований по оценке эффективности препарата Триазавирин® (риамиловир) в этиотропной терапии острой респираторной вирусной инфекции.

Материалы и методы. В исследования были включены 435 пациентов с подтверждённым диагнозом «острая респираторная вирусная инфекция» ОРВИ (с лабораторно подтверждённым отсутствием антигенов вируса гриппа). Исследования проводились в 27 центрах. В исследованиях пациенты были разделены на 3 группы в соотношении 1:1:1 (суммарно по 145 человек в группе). В каждом исследовании была группа, принимавшая препарат в дозировке 100 мг 5 раз в день, группа, принимавшая препарат в дозировке 250 мг 3 раза в день и плацебо 2 раза в день, и группа, принимавшая плацебо 5 раз в день. Анализ проведён в соответствии с принципами PRISMA в отношении качества представления информации о результатах систематических обзоров и метаанализов работ, посвящённых оценке медицинских вмешательств.

Результаты. Проведённый метаанализ показал, что применение препарата Триазавирин® (риамиловир) статистически достоверно влияет на выраженность клинических симптомов у пациентов с ОРВИ. Метаанализ подтвердил достоверные ассоциации между применением препарата Триазавирин® в обеих дозах и шансом наступления стойкого улучшения клинических симптомов на 5-е сутки терапии. Метаанализ также подтвердил статистическую значимость клинических эффектов применения препарата риамиловир по таким показателям,

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции: ул. Подгорная, здание 11, пом. 5, Свердловская область, г. Новоуральск, Российская Федерация, 624130. E-mail: pavel.sorokin@pharmaviron.com

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to: 11 Podgornaya str., building 5, Sverdlovsk region, Novouralsk, 624130 Russian Federation. E-mail: pavel.sorokin@pharmaviron.com

как площадь под кривой «балл по шкале тяжести состояния пациента с ОРВИ — время», доля пациентов с полным исчезновением всех симптомов к концу 5-го дня от начала терапии.

Заключение. В проведённых исследованиях установлено, что применение препарата Триазавирин® эффективно как на начальных, так и на поздних стадиях заболевания, в связи с чем препарат может быть использован при стартовой терапии взрослых больных с респираторными заболеваниями вирусной этиологии.

Ключевые слова: ОРВИ; риамиловир; плацебо; клинические испытания; метаанализ.

Для цитирования: Сабитов А. У., Ковтун О. П., Бацкалевич Н. А., Мальцев О. В., Жданов К. В., Эсауленко Е. В., Тихонова Е. П., Калинина Ю. С., Сорокин П. В., Чепур С. В., Степанов А. В. Метаанализ рандомизированных контролируемых клинических исследований эффективности препарата Риамиловир в этиотропной терапии острой респираторной вирусной инфекции. *Антибиотики и химиотерапия.* 2021; 66: 5–6: 48–57. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-6-6-48-57.

Abstract

The aim of the study was to carry out meta-analysis of randomized controlled trials in order to combine the results of clinical trials on Triazavirin® (Riamilovir) efficacy in the etiotropic therapy of acute respiratory viral infection. Materials and methods. The studies included 435 patients with a confirmed diagnosis of acute respiratory viral infection or ARVI (with laboratory confirmed absence of influenza virus antigens). The research was carried out in 27 centers. In studies, patients were divided into 3 groups in a 1:1:1 ratio (a total of 145 people per group). Each study included a group taking 100 mg of the medication 5 times a day, a group taking 250 mg of the medication 3 times a day and a placebo 2 times a day, as well as a group taking a placebo 5 times a day. The analysis was carried out in accordance with the PRISMA principles regarding the quality of information presentation on the results of systematic reviews and meta-analyses of works evaluating the effects of medical interventions. *Results.* The conducted meta-analysis showed that the use of Triazavirin® (Riamilovir) has a statistically significantly effects on the severity of clinical symptoms in patients with ARVI. The performed meta-analysis confirmed reliable associations between the use of Triazavirin® (Riamilovir) in both doses and the chance of a persistent improvement in clinical symptoms on the 5th day of therapy. The meta-analysis also confirmed the statistical significance of the clinical effects of Riamilovir by such indicators as the area under the curve «point on the scale showing the severity of the condition in a patient with ARVI in relation to time», the proportion of patients with complete alleviation of all symptoms by the end of the 5th day from the start of therapy. *Conclusion.* The clinical trials proved that the use of Triazavirin® (Riamilovir) is effective both in the initial and in the late stages of the disease, therefore, the drug can be used in the initial therapy of adult patients with respiratory diseases of viral etiology.

Keywords: ARVI; Riamilovir; placebo; clinical trials; meta-analysis

For citation: Sabitov A. U., Kovtun O. P., Batskalevich N. A., Maltsev O. V., Zhdanov K. V., Esaulenko E. V., Tikhonova E. P., Kalinina Yu. S., Sorokin P. V., Chepur S. V., Stepanov A. V. Meta-analysis of randomized controlled clinical trials of Riamilovir efficacy in the etiotropic therapy of acute respiratory viral infection. *Antibiotiki i Khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy.* 2021; 66: 5–6: 48–57. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-48-57.

Введение

Одним из приоритетных направлений фармацевтической промышленности Российской Федерации является создание новых лекарственных средств для лечения и профилактики вирусных заболеваний. Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) являются актуальной проблемой здравоохранения в силу высокого уровня заболеваемости, превосходящего уровень других инфекционных патологий.

Термин ОРВИ объединяет множество инфекционных заболеваний верхних дыхательных путей, для которых характерны вирусная этиология, относительно лёгкое и непродолжительное течение, общие клинические проявления, распространение воздушно-капельным и контактным путём. Практически каждый человек ежегодно переносит эпизоды ОРВИ или гриппа, подвергаясь риску развития осложнений заболевания. Данная группа инфекций наносит значительный экономический ущерб государственному бюджету в связи с высокой частотой случаев нетрудоспособности среди населения [1–3].

По оценкам экспертов, вирусные заболевания в периоды эпидемий затрагивают от 10 до 20% населения страны, ежегодно нанося экономический ущерб, превышающий 10 млрд руб. Вместе с тем арсенал противовирусных средств, которыми располагает медицина, довольно ограничен. Анализируя основные препараты для лечения ОРВИ необходимо отметить, что все они не лишены недостатков: с одной стороны, это узкий спектр противовирусного действия (противогриппозные препараты тормозят репликацию только вирусов гриппа), с другой стороны — это развитие резистентности, необходимость раннего применения препаратов (первые 2 суток заболевания), токсичность и развитие побочных эффектов, отсутствие препаратов для лечения тяжёлых форм гриппозной инфекции и ограниченный выбор препаратов для терапии ОРВИ негриппозной этиологии [4]. Актуальной задачей является разработка новых противовирусных препаратов с широким спектром действия. Одним из таких лекарственных средств является российский противовирусный препарат Триазавирин® (МНН риамиловир) [3, 5].

Цель исследования — проведение метаанализа рандомизированных контролируемых испытаний для объединения результатов клинических исследований по оценке эффективности препарата Триазавирин® (риамиловир) в этиотропной терапии острой респираторной вирусной инфекции.

Материал и методы

Данная работа написана в соответствии с принципами PRISMA в отношении качества представления информации о результатах систематических обзоров и метаанализов работ, посвящённых оценке медицинских вмешательств [6].

Тип исследований. В данное исследование включались

Критерии включения: (I) любые публикации, в которых представлены результаты клинических исследований препарата Триазавирин® для лечения острой респираторной вирусной инфекции и отсутствием антигенов вирусов гриппа в назофарингеальных мазках; (II) исследования проводились на взрослых пациентах; (III) в публикациях сходная популяция пациентов по основным параметрам: возраст, пол, тяжесть заболевания; (IV) методология оценки эффективности и безопасности в исследованиях не различаются; (V) совпадающие сроки оценки показателей эффективности.

Критерии исключения: (I) полный текст работы недоступен; (II) исследование не проводилось на людях; (III) описания клинических случаев, исследование серии случаев и обзоры литературы.

Типы вмешательств. Оценивалась эффективность препарата Триазавирин® в двух дозах (500 и 750 мг в сутки) по сравнению с плацебо. Схема назначения препарата:

- Триазавирин® 500 мг/сут (100 мг 5 раз в день);
- Триазавирин® 750 мг/сут (250 мг 3 раза в день + 2 раза в день плацебо);
- В контрольной группе использовали Плацебо (5 раз в день).

Типы участников. В исследования были включены пациенты старше 18 лет с острой респираторной вирусной инфекцией (с лабораторно подтверждённым методом полимеразной цепной реакции наличием антигенов ОРВИ и отсутствием антигенов вирусов гриппа).

Исследуемые исходы. Эффективность терапии оценивалась:

Первичные исходы

- Первичная точка — время до наступления стойкого улучшения клинических симптомов (лихорадка, озноб, недомогание, головная боль, боли в мышцах, боли в глазных яблоках, кашель, охриплость, боли в горле, чихание, насморк, заложенность носа) по шкале тяжести состояния при ОРВИ (меньше или равно 2 балла при условии наличия

не более 1 балла для одного симптома) при нормализации температуры (менее 37°C (под стойким улучшением подразумевается сохранение симптомов улучшения на протяжении не менее 21,5 ч).

Вторичные исходы

- Площади под кривой «балл по шкале тяжести состояния пациента с ОРВИ — время» в течение всего исследования (0–14 суток)
- Доля пациентов с нормальной температурой тела к 5-му дню от начала лечения
- Доля пациентов с полным исчезновением всех симптомов к концу 5-го дня от начала терапии
- Частота повторного выделения типированных антигенов вирусов ОРВИ в мазках слизистой носоглотки у пациентов на 8-е сутки из зарегистрированных на 1-й день

Источники информации. По результатам поиска в базах данных PubMed и eLIBRARY.ru (последнюю поисковую сессию осуществили 11.06.2021 г.) выявлено следующее:

По результатам поиска в базах данных PubMed и eLIBRARY.ru по запросу «триазавирин», «риамиловир», «triazavirin», «riamilovir» была отобрана 171 публикация. После проверки на предмет наличия дубликатов в подборке осталось 137 статей. В ходе изучения их аннотаций или полного текста были исключены и не использованы в обзоре 135, поскольку они не соответствовали критериям включения. По результатам изучения текстов, полностью соответствовали критериям включения только 2 работы (рис. 1). Два рецензента извлекли следующие данные из отобранных работ: авторы, название статьи, журнал, дата публикации, DOI, популяция пациентов (число, возраст, критерии включения и исключения), сравнение исходов. Все разногласия были решены в ходе обсуждения между авторами.

В исследования были включены 435 пациентов с подтверждённым диагнозом «острая респираторная вирусная инфекция» ОРВИ (с лабораторно подтверждённым отсутствием



Рис. 1. Схема отбора исследований
Fig. 1. Study selection scheme

Таблица 1. Исследования, включенные в мета анализ.
Table 1. Studies included in the meta-analysis.

Исследование	Группа, N			Возраст, лет	Мужчины, N (%)	Температура тела при включении, °С	Оценка тяжести ОРВИ, балл
	1	2	3				
Льознов Д.А. 2020 [7]	90	90	90	36,3±12,11	163(60,37%)	37,79±0,2	12,2±3,7
Токин И.И., 2019 [8]	55	55	55	35,3±11,8	103(62,4%)	37,81±0,24	11,29±5,02
	145	145	145	t=0,06, p=0,953	χ²=10,13, p=0,002	t=0,06, p=0,949	t=0,15, p=0,884

антигенов вируса гриппа). Исследования проводились в 27 центрах. В обоих исследованиях пациенты были разделены на 3 группы в соотношении 1:1:1 (суммарно по 145 человек в группе). В каждом исследовании была группа, принимавшая препарат в дозировке 100 мг 5 раз в день, группа, принимавшая препарат в дозировке 250 мг 3 раза в день и плацебо 2 раза в день, и группа, принимавшая плацебо 5 раз в день. Завершили исследования в соответствии с протоколом 428 человек.

Оба исследования были проведены по одинаковому дизайну. По основным показателям, таким как возраст, пол, температура тела при включении, оценка тяжести ОРВИ, оба исследования не имели различий (табл. 1).

Качество включенных исследований. Каждую из отобранных работ оценивали по следующим основным позициям: Генерация случайной последовательности (систематическая ошибка выбора), Сокрытие распределения (систематическая ошибка выбора), Ослепление участников и персонала (предвзятость), Ослепление оценки результатов (систематическая ошибка обнаружения), Неполные данные о результатах (систематическая ошибка выбытия), Выборочная отчетность (предвзятость отчетности). Полное описание каждого направления и используемые критерии оценки приведены в Кокрановском руководстве по систематическим обзорам медицинских вмешательств (Cochrane Handbook) [9].

Статистический анализ. Сбор данных и расчеты на основе собранной информации производились с использованием профессионального валидированного пакета программ RevMan Version 5.4.1. [10]. Сбор данных, оценка качества, оценка гетерогенности и обобщение результатов проводили в соответствии с требованием Методических рекомендаций по проведению метаанализа [1].

Измерение гетерогенности. Для измерения гетерогенности между работами применяли критерий Хи-квадрат с нулевой гипотезой о равном эффекте во всех включенных в метаанализ исследованиях; также рассчитывался индекс гетерогенности I². Пороговым значением критерия Хи-квадрат для оценки статистической значимости принимали 0,10, где значение $p < 0,10$ – указывает на наличие статистически значимой гетерогенности. В качестве пороговых величин индекса гетерогенности использовали значения I², равные 25% (низкая гетерогенность), 50% (средняя гетерогенность) и 75% (значительная гетерогенность), а также значения $p < 0,05$.

Метаанализ: получение обобщенной точечной величины эффекта и её ДИ.

1) Для объединения результатов первичного показателя — время до наступления стойкого улучшения клинических симптомов обобщение данных проводилось с использованием Шанса наступления стойкого улучшения клинических симптомов на 5-е сутки терапии, основанного на анализе наблюдаемых и ожидаемых событий и дисперсии ($\text{Exp}[(O-E)/\text{Var}]$) [1, 9]. Для этих целей авторы метаанализа связывались с авторами исследований, получили более подробные результаты (выдачи программы) и провели расчёт показателя Шанс наступления стойкого улучшения клинических симптомов на 5-е сутки терапии, для данного показателя существует только модель с фиксированными эффектами.

2) Метаанализ по исходам, основанным на непрерывных данных, проводился с использованием такой обобщенной меры исхода, как разность средних (РС).

3) Метаанализ по дихотомическим исходам проводился с использованием такой обобщенной меры исхода, как отношение рисков (ОР).

4) Выбор типа модели (с фиксированным или случайным эффектом) проводился на основе результатов оценки гетерогенности.

5) Использовались модели с разделением на подгруппы на основе применяемой дозы Триазавирина.

Анализ чувствительности не проводился, так как в метаанализ включены только 2 исследования.

Результаты и обсуждение

Средний возраст пациентов в двух исследованиях составил 35,8±16,91 лет. Метаанализ включил суммарно данные 145 пациентов в группе 1 (Триазавирин® 500 мг/сут 100 мг 5 раз в день), 145 пациентов в группе 2 (Триазавирин® 750 мг/сут, по 250 мг 3 раза в день + 2 раза в день плацебо) и 145 пациентов в контрольной группы (5 раз в день плацебо).

В ходе сбора и систематизации данных из текста каждого исследования, а также из дополнительной информации, предоставленной авторами соответствующих исследований, извлекалась информация по 23 показателям. В частности, со-

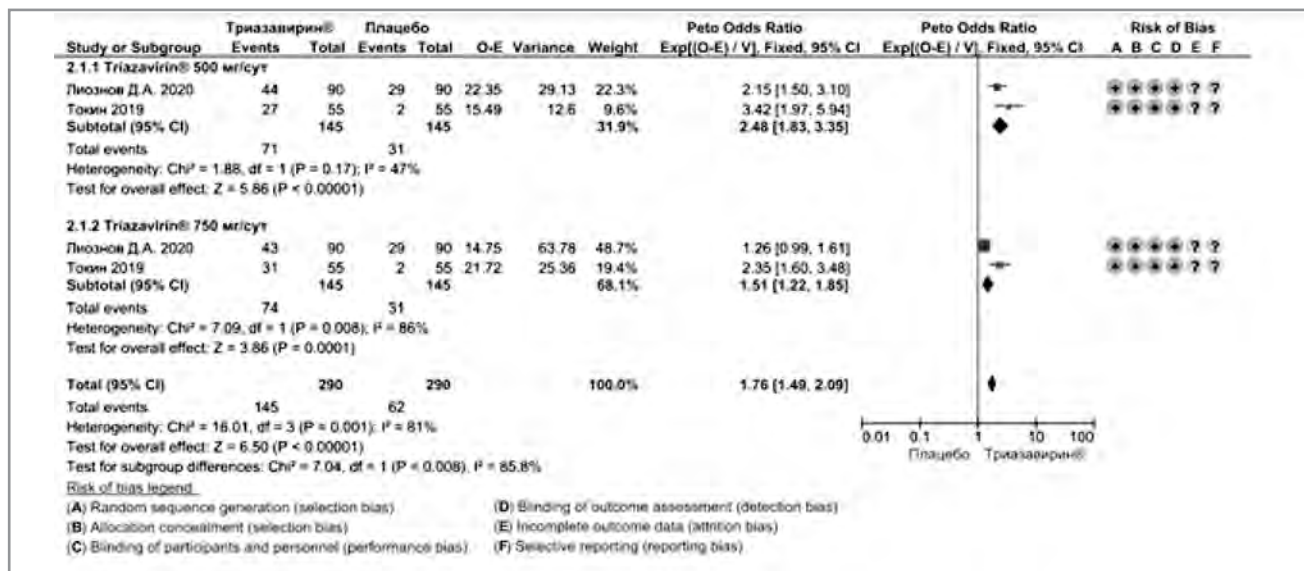


Рис. 2. Лесной график для сравнения препарата Триазавирин® vs. Плацебо по исходу.
Fig. 2. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Placebo by outcome.

Таблица 2. Результаты метаанализа. Триазавирин® vs. Плацебо
Table 2. Results of meta-analysis. Triazavirin® vs. Placebo

Исследуемый исход	N	Участники	Статистический метод	Установленный эффект	Статистическая значимость
2.1 Шанс наступления стойкого улучшения клинических симптомов на 5-е сутки терапии	2	290	Peto Odds Ratio (Exp [(O-E) / V], Fixed, 95% CI)	1,76 [1,49÷2,09]	Z=6,5; p<0,00001
2.1.1 Триазавирин® 500 мг/сут	2	145	Peto Odds Ratio (Exp [(O-E) / V], Fixed, 95% CI)	2,48 [1,83÷3,35]	Z=5,86; p<0,00001
2.1.2 Триазавирин® 750 мг/сут	2	145	Peto Odds Ratio (Exp [(O-E) / V], Fixed, 95% CI)	1,51 [1,22÷1,85]	Z=3,86; p=0,0001
2.2 Площадь под кривой «балл по шкале тяжести состояния пациента с ОРВИ — время» в течение всего исследования (0–14 сутки)	2	145	Mean Difference (IV, Fixed, 95% CI)	-2,59 [-4,91÷-0,28]	Z=2,20, p=0,03
2.2.1 Триазавирин® 500 мг/сут	2	145	Mean Difference (IV, Fixed, 95% CI)	-3,00 [-6,30÷0,31]	Z=1,78, p=0,08
2.2.2 Триазавирин® 750 мг/сут	2	145	Mean Difference (IV, Fixed, 95% CI)	-2,20 [-5,44÷1,04]	Z=1,33, p=0,18
2.3 Доля пациентов с нормальной температурой тела к 5-му дню от начала лечения	2	145	Risk Ratio (M-H, Random, 95% CI)	1,20 [0,93÷1,54]	Z=1,37, p=0,17
2.3.1 Триазавирин® 500 мг/сут	2	145	Risk Ratio (M-H, Random, 95% CI)	1,19 [0,73÷1,96]	Z=0,70, p=0,49
2.3.2 Триазавирин® 750 мг/сут	2	145	Risk Ratio (M-H, Random, 95% CI)	1,20 [0,72÷2,00]	Z=0,72, p=0,47
2.4 Доля пациентов с полным исчезновением всех симптомов к концу 5-го дня от начала терапии	2	145	Risk Ratio (M-H, Fixed, 95% CI)	3,08 [1,52÷6,23]	Z=3,13, p=0,002
2.4.1 Триазавирин® 500 мг/сут	2	145	Risk Ratio (M-H, Fixed, 95% CI)	2,96 [1,08÷8,14]	Z=2,10, p=0,04
2.4.2 Триазавирин® 750 мг/сут	2	145	Risk Ratio (M-H, Fixed, 95% CI)	3,20 [1,20÷8,54]	Z=2,32, p=0,02
2.5 Частота повторного выделения типированных антигенов вирусов ОРВИ в мазках слизистой носоглотки у пациентов на 8-е сутки из зарегистрированных на 1-й день	2	423	Risk Ratio (M-H, Fixed, 95% CI)	0,39 [0,14÷1,07]	Z=1,83, p=0,07
2.5.1 Триазавирин® 500 мг/сут	2	211	Risk Ratio (M-H, Fixed, 95% CI)	0,15 [0,02÷1,16]	Z=1,82, p=0,07
2.5.2 Триазавирин® 750 мг/сут	2	212	Risk Ratio (M-H, Fixed, 95% CI)	0,67 [0,19÷2,29]	Z=0,65, p=0,52

биралась информация по следующим критериям.

Шанс наступления стойкого улучшения клинических симптомов на 5-е сутки терапии. Метаанализ собранных данных показал, что терапия Триазавирином® по сравнению с плацебо способствует существенному снижению Шанса наступления стойкого улучшения клинических симптомов на 5-е сутки терапии в обеих дозах (табл. 2, рис. 2). Так, для дозы 500 мг/сут отношение шансов Пето составило OR [95% ДИ]=2,48 [1,83÷3,35] (Z=5,86; p<0,00001), а для дозы 750 мг/сут — OR [95% ДИ]=1,51 [1,22÷1,85] (Z=3,86; p=0,0001).

Оценка гетерогенности Шанса наступления стойкого улучшения клинических симптомов на 5-е сутки терапии для сравнений Триазавирин® 500 мг/сут vs. Плацебо показала, что индекс гетерогенности для исследований составляет I²=47% (χ²=1,88, p=0,17), что говорит о средней гетерогенности. Тогда как для сравнения в подгруппе Триазавирин® 750 мг/сут vs. Плацебо гетерогенность была высокая I²=86% (χ²=7,09, p=0,008), что сказалось и на гетерогенности между подгруппами — I²=85,8% (χ²=7,04, p=0,008). Для данного показателя существует модель только с фиксированными факторами.

Суммарная оценка Шанса подгрупп показала существенное преимущество Триазавирина® над Плацебо — OR [95% ДИ]=1,76 [1,49÷2,09] (Z=6,5; p<0,00001).

Площадь под кривой «балл по шкале тяжести состояния пациента с ОРВИ — время» в течение всего исследования (0–14 сутки). Так как при проведении метаанализа был обнаружен низкий уровень гетерогенности исследований по показателю «Площадь под кривой «балл по шкале тяжести состояния пациента с ОРВИ — время» I²=0% как для обеих доз препарата Триазавирин, так и для объединённых подгрупп (рис. 3), для проведения метаанализа использовали модель с фиксированными факторами.

Проведённый метаанализ показал, что преимущество препарата Триазавирин® в каждой отдельной дозе не достигало статистической значимости (см. табл. 2), однако при объединении результатов различия между Триазавирином и плацебо были статистически значимы, средняя разница Площадей составила M [95% ДИ]=-2,59 [-4,91÷-0,28] баллов/сутки (Z=2,20, p=0,03).

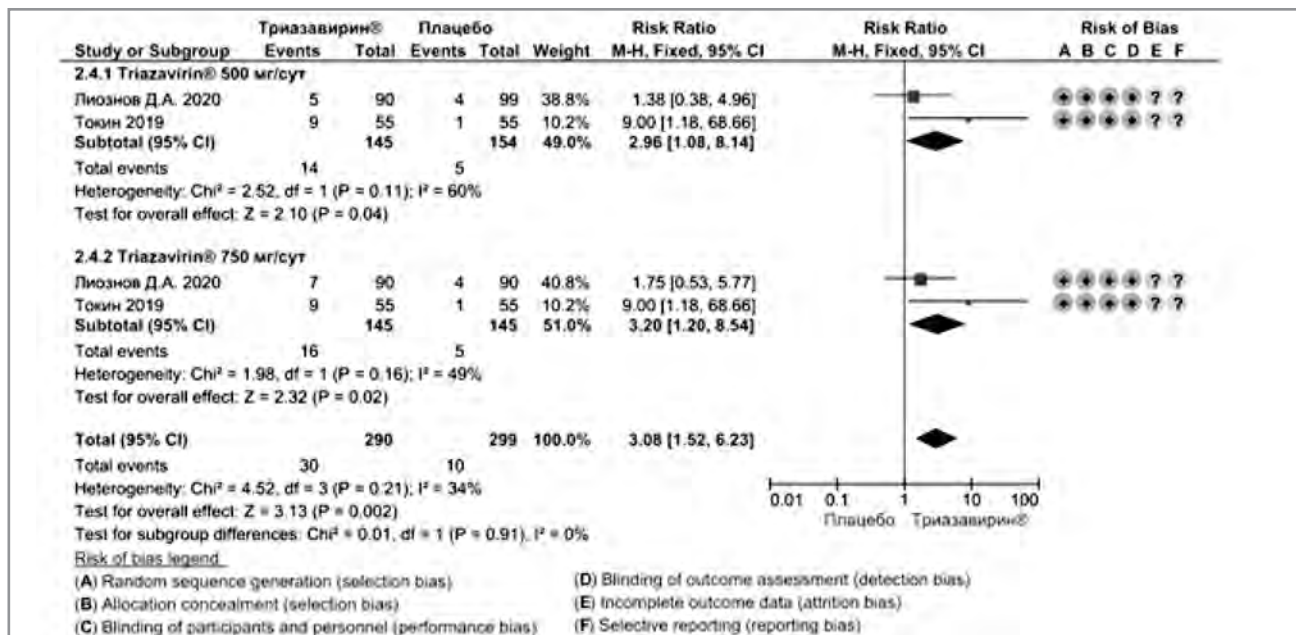


Рис. 5. Лесной график для сравнения препарата Триазавирин® vs. Плацебо по исходу: 2.4 Доля пациентов с полным исчезновением всех симптомов к концу 5-го дня от начала терапии.
 Fig. 5. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Placebo by outcome: 2.4 The proportion of patients with complete alleviation of all symptoms by the end of the 5th day from the start of therapy.

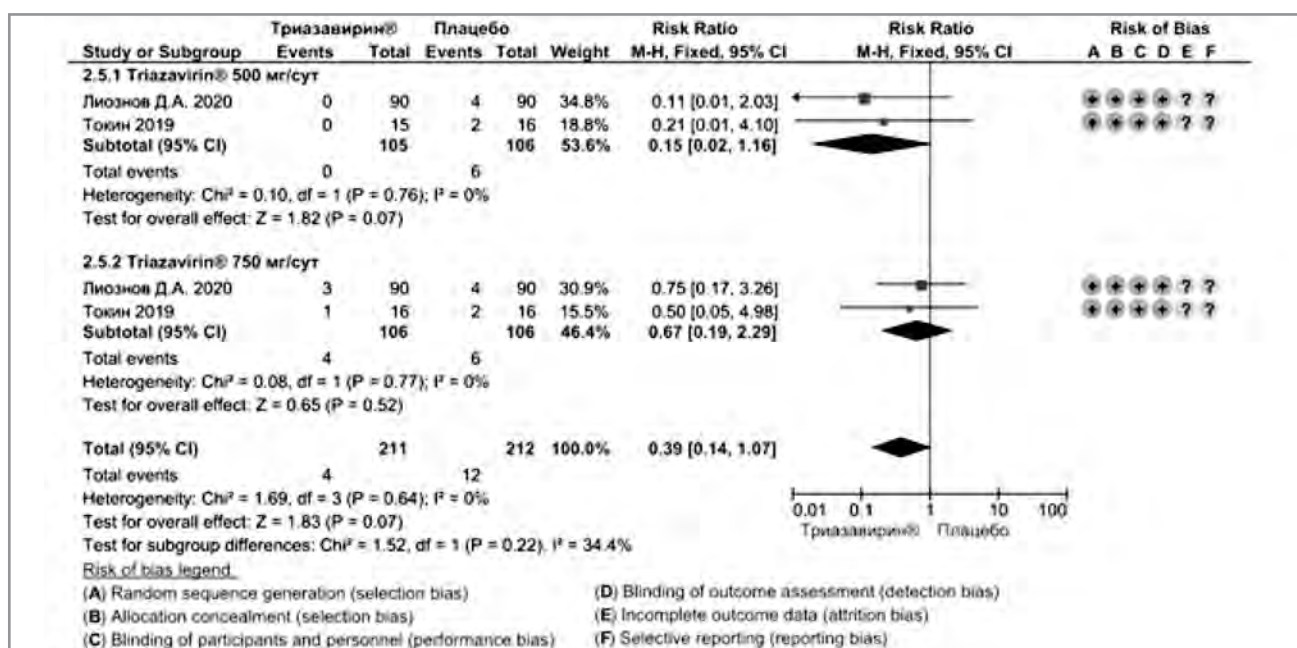


Рис. 6. Лесной график для сравнения препарата Триазавирин® vs. Плацебо по исходу: 2.5 Частота повторного выделения типированных антигенов вирусов ОРВИ в мазках слизистой носоглотки у пациентов на 8-е сутки из зарегистрированных на 1-й день.
 Fig. 6. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Placebo by outcome: 2.5 The frequency of re-isolation of typed ARVI viruses' antigens on day 8 after registration in smears of the nasopharyngeal mucosa in patients registered on the 1st day.

ваний по показателю «Доля пациентов с полным исчезновением всех симптомов к концу 5-го дня от начала терапии» как для обеих доз препарата Триазавирин — I²=60% и 43% в дозе 500 и 750 мг/сут, соответственно, так и для объединённых подгрупп —

I²=34% (рис. 5), для проведения метаанализа использовали модель с фиксированными факторами.

Проведённый метаанализ показал, что преимущество препарата Триазавирин® в каждой отдельной дозе было статистически значимо

(см. табл. 2), и при объединении результатов различия между Триазавирином и плацебо также были статистически значимы. Таким образом доля пациентов с полным исчезновением всех симптомов к концу 5-го дня от начала терапии была в 3 раза выше, чем в группе Плацебо — RR [95% ДИ]=3,08 [1,52÷6,23] ($Z=3,13$, $p=0,002$).

Частота повторного выделения типированных антигенов вирусов ОРВИ в мазках слизистой носоглотки у пациентов на 8-е сутки из зарегистрированных на 1-й день. Так как при проведении метаанализа был обнаружен низкий уровень гетерогенности исследований по показателю «Частота повторного выделения типированных антигенов вирусов ОРВИ в мазках слизистой носоглотки у пациентов на 8-е сутки из зарегистрированных на 1-й день» $I^2=0\%$ как для обеих доз препарата Триазавирин, так и для объединённых подгрупп (рис. 6), для проведения метаанализа использовали модель с фиксированными факторами.

Метаанализ собранных данных показал, что терапия препаратом Триазавирин® по сравнению с плацебо оказывает статистически незначимое различие в Частоте повторного выделения типированных антигенов вирусов ОРВИ в мазках слизистой носоглотки у пациентов на 8-е сутки из зарегистрированных на 1-й день (см табл. 2).

В ходе исследования также были рассмотрены результаты проведённых отдельных исследований, не включённых в основной метаанализ.

В исследовании пациентов с ОРВИ средней тяжести были отобраны 100 пациентов, разделённых на 3 группы: 1 группа (34 человека) получала умифеновир по 200 мг 4 раза в день в течение 5 сут, 2 группа (32 человека) получали Триазавирин® по 1 капсуле (250 мг) 3 раза в день в течение 5 сут, 3 группа (34 человека) не получала противовирусную терапию. Было выявлено, что препараты эффективно купируют основные симптомы заболевания ($p<0,05$), снижают частоту осложнений (18,1±2,1% против 55,9±3,2%, $p<0,05$) и способствуют стабилизации адаптационных реакций организма, в отличие от группы пациентов, не получавших этиотропную терапию (6,9±2,9, против 12,8±2,7, $p<0,05$). На фоне препарата Триазавирин® к 3-му дню (умифеновир — к 4 дню) лечения по сравнению с обычной терапией наблюдали купирование интоксикационного и катарального синдромов (при отсутствии противовирусной терапии у 55,8% больных оставались симптомы интоксикации и катаральные явления) [11].

Проведено исследование, включившее 160 пациентов, с осложнённым течением ОРВИ (в т. ч. 24 с диагнозом грипп), получавших терапию препаратом Триазавирин® 250 мг 3 раза в сутки, в сравнении с осельтамивиром (Тамифлю®) 75 мг

2 раза в сутки — 30 больных. Выявлена стойкая нормализация температуры тела к 3-му дню лечения в обеих группах [12].

Результаты открытого сравнительного наблюдательного исследования пациентов с ОРВИ и гриппом (250 больных, в т. ч. 60 пациентов с диагнозом грипп) показали, что в группе пациентов, получавших препарат Триазавирин®, установлена стойкая нормализация температуры к 3-му дню терапии ($p<0,05$), при этом полная нормализация температуры пациентов зафиксирована на 5-й день лечения. Частота развития вторичных осложнений была статистически выше в группе, получавшей только патогенетическую терапию (20 из 45 (44,4%) человек против группы пациентов, принимавших Триазавирин® — 3 (2,1%) случая — пациенты, поступившие в стационар на 2-й неделе заболевания) [13]. Также установлено, что применение препарата Триазавирин® позволило добиться быстрой положительной динамики по купированию лихорадочно-интоксикационного и катарально-респираторного синдромов. В рамках исследования продемонстрирована клиническая эффективность и безопасность препарата Триазавирин® в группах больных гриппом и ОРВИ, имеющих фоновую неблагоприятную соматическую патологию и относящихся к группам риска по тяжёлому и осложнённому течению болезни. Кроме того, установлено, что применение препарата Триазавирин® одинаково эффективно при поздних сроках обращения больных за медицинской помощью. По мнению авторов исследования, рекомендуется отнести препарат Триазавирин® к препаратам стартовой терапии взрослых больных с респираторными заболеваниями вирусной этиологии [13].

Проведённые исследования демонстрируют, что применение препарата Триазавирин® эффективно как на начальных, так и на поздних стадиях заболевания, в связи с чем препарат может быть использован при терапии взрослых больных с респираторными заболеваниями вирусной этиологии.

Заключение

Противовирусный препарат Триазавирин® — представитель нуклеозидных противовирусных веществ, эффективный в отношении широкого ряда инфекций вирусной этиологии.

В настоящей работе представлены результаты метаанализа рандомизированных контролируемых испытаний по клинической эффективности препарата Триазавирин® при лечении пациентов с ОРВИ.

Метаанализ подтвердил достоверные ассоциации между применением препарата Триазавирин® в обеих дозах и шансом наступления стойкого улучшения клинических симптомов на 5-е сутки

терапии (два исследования, $n=435$; суммарная оценка подгрупп Триазавирина® над Плацебо — OR [95% ДИ]=1,76 [1,49÷2,09] ($Z=6,5$; $p<0,00001$)).

Метаанализ также подтвердил статистическую значимость клинических эффектов применения препарата по следующим показателям:

- Площадь под кривой «балл по шкале тяжести состояния пациента с ОРВИ — время» в течение всего исследования (0–14 сутки) (два исследования, $n=435$; средняя разность Площадей составила M [95% ДИ]=-2,59 [-4,91÷-0,28] баллов/сутки ($Z=2,20$, $p=0,03$)).

- Доля пациентов с полным исчезновением всех симптомов к концу 5-го дня от начала терапии была в 3 раза выше, чем в группе Плацебо — RR [95% ДИ]=3,08 [1,52÷6,23] ($Z=3,13$, $p=0,002$)).

Таким образом, проведённый метаанализ показал, что применение препарата Триазавирин®

статистически достоверно влияет на выраженность клинических симптомов у пациентов с ОРВИ.

Проведённые исследования демонстрируют, что применение препарата Триазавирин® эффективно как на начальных, так и на поздних стадиях заболевания, в связи с чем препарат может быть использован при стартовой терапии взрослых больных с респираторными заболеваниями вирусной этиологии.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование осуществлено на личные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов.

Литература/References

1. Омельяновский В. В., Авксентьева М. В., Сура М. В., Хачатрян Г. Р., Федяева В. К. Методические рекомендации по оценке качества статистического анализа в клинических исследованиях (Утверждены приказом ФГБУ «ЦЭККМП» Минздрава России от «29» декабря 2017 г. № 181-од). Москва: ФГБУ «ЦЭККМП» Минздрава России», 2017. [Omel'yanovskij V. V., Avksent'eva M. V., Sura M. V., Kha-chatryan G. R., Fedyaeva V. K. Metodicheskie rekomendatsii po otsenke kachestva statisticheskogo analiza v klinicheskikh issledovaniyakh (Utv'erzhdeny prikazom FGBU «TsEKKMP» Minzdrava Rossii ot «29» dekabr'ya 2017 g. № 181-od). Moskva: FGBU «TsEKKMP» Minzdrava Rossii», 2017. (in Russian)]
2. Лазаревич И. Л. Фармакологические и нефармакологические методы лечения ОРВИ. Медицинский совет. 2015; 3: 78–83. [Lazarevich I. L. Farmakologicheskie i nefarmakologicheskie metody lecheniya ORVI. Meditsinskij Sovet. 2015; 3: 78–83. (in Russian)]
3. Артемьев Г.А., Бондарев В.П., Борисевич С.В. и др. Триазавирин — противовирусный препарат нового поколения. Екатеринбург : Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского УрО РАН, 2016; 257. [Artem'ev G.A., Bondarev V.P., Borisevich S.V. i dr. Triazavirin — protivovirusnyj preparat novogo pokoleniya. Ekaterinburg : Institut organicheskogo sinteza im. I.Ya. Postovskogo UrO RAN, 2016; 257. (in Russian)]
4. Лазарева Н.Б., Журавлева М.В., Пантелеева Л.Р. ОРВИ: рациональная фармакотерапия с позиции клинической фармакологии. Медицинский совет. 2016; 4: 68–73. [Lazareva N.B., Zhuravleva M.V., Panteleeva L.R. ORVI: ratsional'naya farmakoterapiya s pozitsii klinicheskoy farmakologii. Meditsinskij Sovet. 2016; 4: 68–73. (in Russian)]
5. Сологуб Т.В., Токин И.И., Мидикари А.С., Цветков В.В. Сравнительная эффективность и безопасность применения противовирусных препаратов в терапии больных гриппом. Инфекционные болезни. 2017; 15 (3): 25–32. doi 10.20953/1729-9225-2017-3-25-32. [Sologub T.V., Tokin I.I., Midikari A.S., Tsvetkov V.V. Sravnitel'naya effektivnost' i bezopasnost' primeneniya protivovirusnykh preparatov v terapii bol'nykh grippom. Infektsionnye Bolezni. 2017; 15 (3): 25–32. doi 10.20953/1729-9225-2017-3-25-32. (in Russian)]
6. Page M. J., McKenzie J.E., Bossuyt P.M. et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. PLoS Medicine. 2021; 18 (3): e1003583. doi: 10.1371/journal.pmed.1003583.
7. Лиознов Д.А., Токин И.И., Зубкова Т.Г., Сорокин П.В. Практика применения отечественного противовирусного препарата в этиотропной терапии острой респираторной вирусной инфекции. Терапевтический архив. 2020; 92 (12): 160–164. doi: 10.26442/004036660.2020.12.200427. [Lioznov D.A., Tokin I.I., Zubkova T.G., Sorokin P.V. Praktika primeneniya otechestvennogo protivovirusnogo preparata v etiotropnoj terapii ostroj respiratornoj virusnoj infekcii. Terapevticheskiy Arkhiv. 2020; 92 (12): 160–164. doi: 10.26442/004036660.2020.12.200427. (in Russian)]

Информация об авторах

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

Ковтун Ольга Петровна — д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН, ректор ФГБОУ ВО Уральский государственный

- тика primeneniya otechestvennogo protivovirusnogo preparata v etiotropnoj terapii ostroj respiratornoj virusnoj infekcii. Terapevticheskiy Arkhiv. 2020; 92 (12): 160–164. doi: 10.26442/004036660.2020.12.200427. (in Russian)]
8. Токин И.И., Зубкова Т.Г., Дроздова Ю.В., Лиознов Д.А. Опыт этиотропной терапии ОРВИ отечественным противовирусным препаратом. Инфекционные болезни. 2019; 17 (4): 13–17. doi: 10.20953/1729-9225-2019-4-13-17. [Tokin I.I., Zubkova T.G., Drozdova Yu.V., Lioznov D.A. Opyt etiotropnoj terapii ORVI otechestvennym protivovirusnym preparatom. Infektsionnye Bolezni. 2019; 17 (4): 13–17. doi: 10.20953/1729-9225-2019-4-13-17. (in Russian)]
 9. Higgins J.P.T. (ed.). Cochrane handbook for systematic reviews of interventions version 6.2 (updated February 2021) Available from www.cochrane-handbook.org. The Cochrane Collaboration, 2021. <https://training.cochrane.org/handbook/current> (accessed Jun. 13, 2021).
 10. Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.4, 2020. Accessed: Jun. 13, 2021. [Online]. Available: <https://training.cochrane.org/online-learning/core-software-cochrane-reviews/revman>.
 11. Тихонова Е.П., Кузьмина Т.Ю., Индропова Н.В. и др. Изучение эффективности противовирусных препаратов (умифеновира, триазавирина) в отношении острых респираторных вирусных инфекций Казанский медицинский журнал. 2018; 99 (2): 215–223. doi 10.17816/KMJ2018-215. [Tikhonova E.P., Kuz'mina T.Ju., Indronova N.V. i dr. Izuchenie effektivnosti protivovirusnykh preparatov (umifenovira, triazavirina) v otnoshenii ostrykh respiratornykh virusnykh infektsij Kazanskij Meditsinskij Zhurnal. 2018; 99 (2): 215–223. doi 10.17816/KMJ2018-215. (in Russian)]
 12. Веревищников В.К., Шемякина Е.К., Сабитов А.У., Хаманова Ю.Б. Возможности этиотропной терапии при гриппе и ОРВИ с учётом срока госпитализации больных в стационар и риска развития вторичных осложнений. Антибиотики и химиотерапия. 2019; 64 (3–4): 10–14. doi 10.24411/0235-2990-2019-100012. [Verevshchikov V.K., Shemyakina E.K., Sabitov A.U., Khamanova Ju.B. Vozmozhnosti etiotropnoj terapii pri grippe i ORVI s uchetom sroka hospitalizatsii bol'nykh v statsionar i riska razvitiya vtorichnykh oslozhnenij. Antibiotiki i Khimioterapiya. 2019; 64 (3–4): 10–14. doi 10.24411/0235-2990-2019-100012. (in Russian)]
 13. Веревищников В.К., Шемякина Е.К., Сабитов А.У., Бацкалевич Н.А. Современная этиотропная терапия гриппа и ОРВИ у взрослых больных с отягощённой преморбидной патологией. Антибиотики и химиотерапия. 2018; 63 (7–8): 47–50. [Verevshchikov V.K., Shemyakina E.K., Sabitov A.U., Batskalevich N.A. Sovremennaya etiotropnaya terapiya grippa i ORVI u vzroslykh bol'nykh s otyagoshchennoj premorbidnoj patologiej. Antibiotiki i Khimioterapiya. 2018; 63 (7–8): 47–50. (in Russian)]

About the authors

Alebai U. Sabitov — D. Sc. in medicine, Professor, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-0858-9529

Olga P. Kovtun — D.S c. in medicine, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Ural State Med-

венный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Российская Федерация.

Бацкалевич Наталья Александровна — к. м. н., заместитель главного врача по инфекционной службе Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Городская клиническая больница № 40», Екатеринбург, Российская Федерация.

Мальцев Олег Вениаминович — к. м. н., старший преподаватель кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний) Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-6286-9946

Жданов Константин Валерьевич — д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН, начальник кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний) Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Российская Федерация.

Эсауленко Елена Владимировна — д. м. н., профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения России, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-3669-1993

Тихонова Елена Петровна — д. м. н., профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения России, Красноярск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-6466-9609

Калинина Юлия Сергеевна — к. м. н., ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения России, Красноярск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-6037-5857

Сорокин Павел Владимирович — к. фарм. н., ведущий научный сотрудник ООО «Фармавирон», Новоуральск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-1477-8521

Чепур Сергей Викторович — д. м. н. профессор, начальник Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-5324-512X

Степанов Александр Валентинович — д. м. н., главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-1917-2895

ical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russian Federation

Natalya A. Batskalevich — Ph.D. in medicine, Sverdlovsk Region «City Clinical Hospital No. 40», Yekaterinburg, Russian Federation

Oleg V. Maltsev — Ph. D. in medicine, S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-6286-9946

Konstantin V. Zhdanov — D. Sc. in medicine, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russian Federation

Elena V. Esaulenko — D. Sc. in medicine, Professor, Saint-Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-3669-1993

Elena P. Tikhonova — D. Sc. in medicine, Professor, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-6466-9609

Yulia S. Kalinina — Ph. D. in medicine, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-6037-5857

Pavel V. Sorokin — Ph. D. in pharmaceutical sciences, ООО «Farmaviron», Novouralsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-1477-8521

Sergey V. Chepur — D. Sc. in medicine, Professor, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-5324-512X

Alexander V. Stepanov — D.Sc. in medicine, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-1917-2895

Метаанализ рандомизированных клинических исследований эффективности препарата Риамиловир в этиотропной терапии гриппа

А. У. САБИТОВ¹, О. П. КОВТУН¹, Н. А. БАЦКАЛЕВИЧ², Н. И. ЛЬВОВ³,
К. В. ЖДАНОВ³, Е. В. ЭСАУЛЕНКО⁴, Е. П. ТИХОНОВА⁵, Ю. С. КАЛИНИНА⁵,
*П. В. СОРОКИН⁶, С. В. ЧЕПУР⁷, А. В. СТЕПАНОВ⁷

¹ ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Российская Федерация

² ГАУЗ Свердловской области «Городская клиническая больница № 40», Екатеринбург, Российская Федерация

³ Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁵ ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация

⁶ ООО «Фармавиرون», Новоуральск, Российская Федерация

⁷ ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Meta-analysis of Randomized Clinical Trials of Riamilovir Efficacy in Etiotropic Therapy of Influenza

ALEBAY U. SABITOV, OLGA P. KOVTUN, NATALYA A. BACKALEVICH, NIKOLAJ I. LVOV,
KONSTANTIN V. ZHDANOV, ELENA V. ESAULENKO, ELENA P. TIHONOVA,
YULIA S. KALININA, PAVEL V. SOROKIN, SERGEY V. CHEPUR, ALEXANDER V. STEPANOV

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

² Sverdlovsk Region «City Clinical Hospital No. 40», Yekaterinburg, Russian Federation

³ S. M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation

⁴ Saint-Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation

⁵ Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation

⁶ ООО «Farmaviron», Novouralsk, Russian Federation

⁷ State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation

Резюме

Цель. Проведение метаанализа рандомизированных клинических испытаний для объединения результатов клинических исследований по оценке эффективности препарата Триазавирин® (риамиловир) в этиотропной терапии гриппа.

Материалы и методы. Анализ проведён в соответствии с принципами PRISMA в отношении качества представления информации о результатах систематических обзоров и метаанализов работ, посвящённых оценке медицинских вмешательств. В исследование были включены 471 пациент с подтверждённым диагнозом грипп (с лабораторно подтверждённым наличием антигенов вируса гриппа).

Результаты. Проведённый метаанализ показал, что применение препарата Триазавирин® (риамиловир) статистически достоверно влияет на выраженность клинических симптомов у пациентов с гриппом, в связи с чем препарат может быть использован при стартовой терапии взрослых больных с гриппом.

Заключение. Проведённые клинические исследования демонстрируют, что применение препарата Триазавирин® (риамиловир) эффективно как на начальных, так и на поздних стадиях заболевания, в связи с чем препарат может быть использован при терапии взрослых больных с респираторными заболеваниями вирусной этиологии, в частности, с диагнозом грипп. Метаанализ собранных данных показал, что терапия препаратом Триазавирин® (риамиловир) имеет статистические достоверные преимущества по различным показателям как по сравнению с группой плацебо, так и с группой Тамифлю® (осельтамивир).

Ключевые слова: грипп; метаанализ; риамиловир; осельтамивир; плацебо; клинические испытания.

Для цитирования: Сабитов А.У., Ковтун О.П., Бацкалевич Н.А., Львов Н.И., Жданов К.В., Эсауленко Е.В., Тихонова Е.П., Калинина Ю.С., Сорokin П.В., Чепур С.В., Степанов А.В. Метаанализ рандомизированных клинических исследова-

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции: ул. Подгорная, здание 11, пом. 5, Свердловская область, г. Новоуральск, Российская Федерация, 624130. E-mail: pavel.sorokin@pharmaviron.com

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to: 11 Podgornaya str., building 5, Sverdlovsk region, Novouralsk, 624130 Russian Federation. E-mail: pavel.sorokin@pharmaviron.com

ний эффективности препарата Риамиловир в этиотропной терапии гриппа. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 5–6: 58–71. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-6-6-58-71.

Abstract

The aim of the study was to carry out a meta-analysis of randomized clinical trials in order to combine the results of clinical trials on Triazavirin® (Riamilovir) efficacy in etiotropic therapy of influenza.

Materials and methods. The analysis was carried out in accordance with the PRISMA principles regarding the quality of information presentation on the results of systematic reviews and meta-analyses of works assessing medical interventions. The study included 471 patients with a confirmed diagnosis of influenza (with laboratory confirmed presence of influenza virus antigens).

Results. The conducted meta-analysis showed that the use of Triazavirin® (Riamilovir) has a statistically significant effect on the severity of clinical symptoms in patients with influenza, therefore Riamilovir can be used in the initial therapy of adult patients with influenza.

Conclusion. Clinical studies have shown that the use of Triazavirin® (Riamilovir) is effective both in the initial and late stages of the disease, and therefore Riamilovir can be used in the treatment of adult patients with respiratory diseases of viral etiology, in particular, those diagnosed with influenza. The meta-analysis of the collected data showed that therapy with Triazavirin® (Riamilovir) has statistically significant advantages in various aspects both in comparison with the placebo group and with the Tamiflu® (Oseltamivir) group.

Keywords: influenza; meta-analysis; riamilovir; oseltamivir; placebo; clinical trials

For citation: Sabitov A.U., Kovtun O.P., Batskalevich N.A., Lvov N.I., Zhdanov K.V., Esaulenko E.V., Tikhonova E.P., Kalinina Yu.S., Sorokin P.V., Chepur S.V., Stepanov A.V. Meta-analysis of randomized clinical trials of Riamilovir efficacy in etiotropic therapy of influenza. *Antibiotiki i Khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 5–6: 58–71. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-58-71.

Введение

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), включая грипп, по уровню заболеваемости занимают лидирующее место среди всех инфекционных заболеваний. В Российской Федерации число ежегодно болеющих гриппом и ОРВИ другой этиологии достигает 30 млн человек, а ежегодный суммарный экономический ущерб оценивается в 40 млрд рублей, составляя около 80% ущерба от всех инфекционных болезней [1].

Этиологическое разнообразие возбудителей и развивающаяся резистентность затрудняют выбор препаратов этиотропной терапии и ставят необходимость разработки новых препаратов на первое место в здравоохранении. Вместе с тем на данный момент количество противовирусных средств весьма ограничено. Основные препараты для лечения гриппа не лишены недостатков: узкий спектр противовирусного действия, развитие резистентности, необходимость раннего применения препаратов (первые двое суток заболевания), токсичность и развитие побочных эффектов, отсутствие препаратов для лечения тяжёлых форм гриппозной инфекции.

Основных групп данных препаратов две: ингибиторы M2 (ремантадин и сходный с ним амантадин) и селективные ингибиторы вирусной нейраминидазы — занамивир и осельтамивир. Учитывая наличие резистентности современных вирусов гриппа к препаратам адамантанового ряда и возможность формирования резистентности к ингибиторам нейраминидазы, чрезвычайно актуальной задачей является разработка новых противовирусных препаратов с широким спектром действия.

Одним из таких лекарственных средств является российский противовирусный препарат

Триазавирин®, представитель нового семейства азолоазинов [2].

Цель исследования — проведение метаанализа рандомизированных клинических испытаний для объединения результатов клинических исследований по оценке эффективности препарата Триазавирин® (риамиловир) в этиотропной терапии гриппа.

Материал и методы

Данная работа написана в соответствии с принципами PRISMA в отношении качества представления информации о результатах систематических обзоров и метаанализов работ, посвящённых оценке медицинских вмешательств [3].

Тип исследований. В данное исследование были включены публикации согласно следующим критериям:

Критерии включения: (I) любые публикации, в которых представлены результаты рандомизированных клинических исследований препарата Триазавирин® для лечения этиотропной терапии гриппа, подтверждённого лабораторно; (II) исследования проводились на взрослых пациентах; (III) в публикациях сходная популяция пациентов по основным параметрам: возраст, пол, тяжесть заболевания; (IV) критерии оценки эффективности и безопасности в исследованиях не различаются, при этом дизайн исследований не ограничивался; (V) совпадающие сроки оценки показателей эффективности.

Критерии исключения: (I) полный текст работы не доступен; (II) исследование не проводилось на людях; (III) описания клинических случаев, исследование серии случаев и обзоры литературы.

Типы вмешательства. В публикации представлены 2 вида сравнения.

- Оценивалась эффективность препарата Триазавирин® в двух дозах (500 и 750 мг в сутки) по сравнению с плацебо. Схема назначения препарата:

- Триазавирин® (риамиловир) 500 мг/сут (250 мг 2 раза в день);
- Триазавирин® (риамиловир) 750 мг/сут (250 мг 3 раза в день + 2 раза в день плацебо);
- В контрольной группе использовали Плацебо (5 раз в день).

Таблица 1. Исследования, включённые в метаанализ
Table 1. Studies included in the meta-analysis

Исследование	Группа, N			Возраст, лет	Мужчины, N (%)	Температура тела при включении, °С	Тип гриппа	Тип исследования
	1	2	3					
Триазавирин® vs. плацебо								
Киселев 2012 [4]	38	38	38	18–59	48 (42,1%)	37,5–39,0 и выше 114 (100%)	Тип А 94 (82,5%) Тип В 20 (17,5%)	Слепое рандомизированное
Мионов 2015 [5]	—	20	15	Нд	0 (0%)	Нд	Грипп 35 (100%) Тип — Нд	Открытое рандомизированное
Попов 2021 [6]	—	50	50	18–65 (30±3,2)	65 (65%)	37,5–39,0 и выше 84 (84%)	Грипп 100(100%) Тип — Нд	Открытое рандомизированное
Всего	38	108	103					
Триазавирин® vs. Тамифлю®								
Исследование								
	Группа, N			Возраст, лет	Мужчины, N (%)	Температура тела при включении, °С	Тип гриппа	Тип исследования
	1	2						
Сологуб 2017 [7]	82	45	18–65	57 (44,9%)	37,5–39,0 и выше 127(100%)	Тип А (H1N1) pdm09 — 82 (64,6%) Тип А (H3N2) — 16 (12,6%) Тип В — 13 (10,2%)	Открытое рандомизированное	
Мионов 2015 [5]	20	16	Нд	0 (0%)	37,5–39,0 и выше 36 (100%)	Грипп 35 (100%) Тип — Нд	Открытое	
Ратникова 2018 [8]	30	29	18–58	21 (53,8%)	37,5–39,0 и выше 59 (100%)	Грипп тип А (H1N1) 59 (100%) Тип — Нд	Открытое рандомизированное	
Всего	132	90						

Примечание. Нд — нет данных.

Note. Нд — no data available.

- Оценивалась эффективность препарата Триазавирин® в сравнении с активным контролем;
- Триазавирин® (риамиловир) 750 мг/сут (250 мг 3 раза в день);
- Активный контроль — Тамифлю® (осельтамивир) по 1 капсуле (75 мг) 2 раза в день.

Типы участников. Представлены две группы пациентов, которые учитывались как подгруппы:

- В исследования были включены пациенты обоего пола от 18 до 60 лет с лабораторно подтверждённым диагнозом «грипп средней степени тяжести»;
- беременные женщины во 2-м триместре беременности (2 статьи) с лабораторно подтверждённым диагнозом «грипп средней степени тяжести».

Исследуемые исходы. Эффективность терапии оценивалась на основе совпадающих показателей эффективности:

Основные параметры эффективности препарата.

- Время до выздоровления с момента инициации терапии (в днях).
- Время до исчезновения следующих симптомов гриппа в днях:
 - температурная реакция (температура в подмышечной области более 37,0°C);
 - основные симптомы интоксикации (головная боль, миалгия);
 - катаральные симптомы (боли/першение в горле, кашель).

Дополнительные параметры эффективности препарата.

- Частота повторного выявления РНК вирусов гриппа методом ПЦР (% пациентов с положительной ПЦР) в опытной и контрольной группах на 5-й день исследования.
- Частота развития осложнений гриппа в опытной и контрольной группах.

Источники информации. В настоящий обзор вошли 6 статей. По результатам поиска в базах данных PubMed и eLIBRARY.ru. Последнюю поисковую сессию осуществили 25.06.2021 г.

По результатам поиска в базах данных PubMed и eLIBRARY.ru по запросу «триазавирин», «риамиловир», «triazavirin» «riamilovir» была отобрана 171 публикация. После сверки на предмет наличия дубликатов в подборке осталось 137 статей. В ходе изучения их аннотаций или полного текста были исключены и не использовали в обзоре 131, поскольку они не соответствовали критериям включения. Два рецензента извлекли следующие данные из отобранных работ: авторы, название статьи, журнал, дата публикации, DOI, популяция пациентов (число, возраст, критерии включения и исключения), сравнение исходов. Все разногласия были решены в ходе обсуждения между авторами. По результатам изучения текстов, полностью соответствовали критериям включения только 6 работ (рис. 1).

В исследования были включены 471 пациент с подтверждённым диагнозом грипп (с лабораторно подтверждённым наличием антигенов вируса гриппа).

Исследования имели разный дизайн и на основе типа сравнений были разделены на два отдельных метаанализа (Триазавирин® vs. плацебо и Триазавирин® vs. Тамифлю®). Объединялись в метаанализе наблюдательные и экспериментальные исследования с учётом вероятности возможных смещений. По основным показателям, таким как возраст, температура тела при включении, оценка тяжести гриппа, исследования не имели различий (табл. 1).

Качество включенных исследований. Каждую из отобранных работ оценивали по четырём основным позициям: Генерация случайной последовательности (систематическая ошибка выбора);

Скрытие распределения (систематическая ошибка выбора);

Ослепление участников и персонала (предвзятость), Ослепление оценки результатов (систематическая ошибка обнаружения);

Неполные данные о результатах (систематическая ошибка выбытия);

Выборочная отчётность (предвзятость отчётности).

Полное описание каждого направления и используемые критерии оценки приведены в Кокрановском руководстве по систематическим обзорам медицинских вмешательств (Cochrane Handbook) [9].

Статистический анализ. Сбор данных и расчёты на основе собранной информации производились с использованием профессионального валидированного пакета программ RevMan Version 5.4.1. [10]. Сбор данных, оценка качества, оценка гетерогенности и обобщение результатов проводили в соответствии с требованием Методических рекомендаций по проведению метаанализа [11].

Измерение гетерогенности. Для измерения гетерогенности между работами применяли критерий Хи-квадрат с нулевой гипотезой о равном эффекте во всех включённых в метаанализ исследованиях; также рассчитывался индекс гетерогенности I^2 . Пороговым значением критерия Хи-квадрат для оценки статистической значимости принимали 0,10, где значение $p < 0,10$ указывает на наличие статистически значимой гетерогенности. В качестве пороговых величин индекса гетерогенности использовали значения I^2 , равные 25% (низкая гетерогенность), 50% (средняя гетерогенность) и 75% (значительная гетерогенность), а также значения $p < 0,05$.

Метаанализ: получение обобщённой точечной величины эффекта и её ДИ.

1) Метаанализ по исходам, основанным на непрерывных данных, проводился с использованием такой обобщённой меры исхода, как разность средних (РС).

2) Метаанализ по дихотомическим исходам проводился с использованием такой обобщённой меры исхода, как отношение рисков (ОР).

3) Выбор типа модели (с фиксированным или случайным эффектом) проводился на основе результатов оценки гетерогенности.

4) Использовались модели с разделением на подгруппы на основе применяемой дозы препарата Триазавирин® и подгруппы беременных.

Анализ чувствительности не проводился, так как в метаанализ включены только 2 исследования.

Результаты и обсуждение

Основные параметры эффективности препарата

- Время до выздоровления с момента инициации терапии (в днях).
- Время до исчезновения следующих симптомов гриппа в днях:



Рис. 1. Схема отбора исследований
Fig. 1. Study selection scheme

— температурная реакция (температура в подмышечной области более 37,0°C);

— основные симптомы интоксикации (головная боль, миалгия);

— катаральные симптомы (боль/першение в горле, кашель, рассматривались объединённо, по максимальной длительности симптомов).

Дополнительные параметры эффективности препарата.

- Частота повторного выявления РНК вирусов гриппа методом ПЦР (% пациентов с положительной ПЦР) в опытной и контрольной группах на 5-й день исследования.

- Частота развития осложнений гриппа в опытной и контрольной группах.

Метаанализ Триазавирин® vs. плацебо включил суммарно данные 38 пациентов в группе 1 (Триазавирин® 500 мг/сут 250 мг 2 раза в день), 108 пациентов в группе 2 (Триазавирин® 750 мг/сут, по 250 мг 3 раза в день+ 2 раза в день плацебо) и в контрольной группе (103 пациента) использовали Плацебо и/или симптоматическую терапию (см. табл. 1).

Метаанализ Триазавирин® vs. Тамифлю® включил суммарно данные 132 пациентов в группе 1 (Триазавирин® 750 мг/сут, по 250 мг 3 раза в день) и в контрольной группе (90 пациентов) использовали Тамифлю® по 1 капсуле (75 мг) 2 раза в день в течение 5 сут (см. табл. 1).

В ходе сбора и систематизации данных из текста каждого исследования, а также из дополнительной информации, предоставленной авторами соответствующих исследований, извлека-

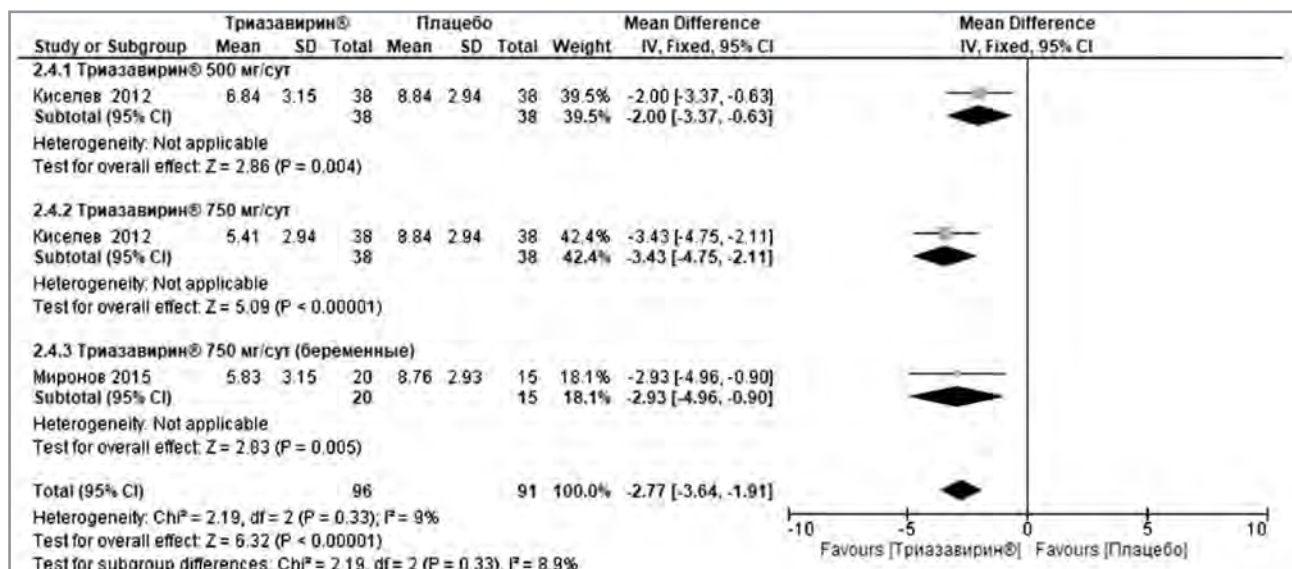


Рис. 2. Лесной график для сравнения препарата Триазавирин® vs. Плацебо по исходу: 1.1 Продолжительность катарального синдрома.

Fig. 2. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Placebo by outcome: 1.1 Duration of catarrhal syndrome.

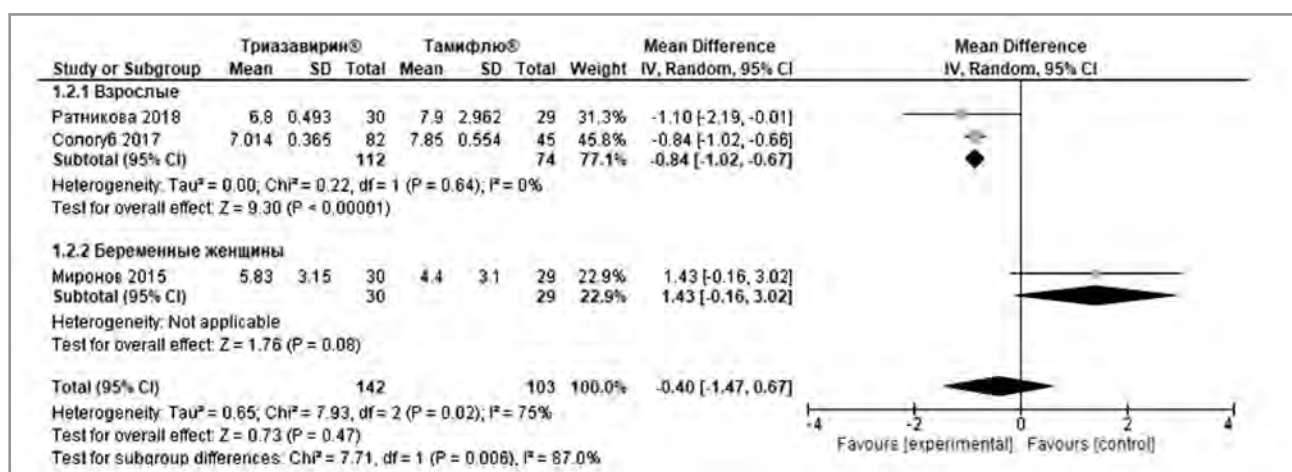


Рис. 3. Лесной график для сравнения препарата Триазавирин® vs. Тамифлю® по исходу: 2.1 Продолжительность катарального синдрома.

Fig. 3. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Outcome of Tamiflu®: 2.1 Duration of catarrhal syndrome.

лась информация по 23 показателям, однако в исследовании вошли 5 основных показателей, для которых найдены данные из не менее двух статей. В частности, собиралась информация по следующим критериям.

Продолжительность катарального синдрома Сравнение 1. Триазавирин® vs. Плацебо

Метаанализ собранных данных показал, что терапия Триазавирин® по сравнению с плацебо способствует существенному снижению продолжительности катарального синдрома в обеих дозах (табл. 2, рис. 2). Так, для дозы 500 мг/сут разность средних составила M [95% ДИ] = -2,00 [-3,37 ÷ -0,63] (включено только 1 исследование), а для дозы 750 мг/сут — M [95% ДИ] = -3,43 [-4,75 ÷ 2,11]

(включено только 1 исследование), аналогичный результат получен и для беременных женщин — M [95% ДИ] = -2,93 [-4,96 ÷ -0,90].

Анализ гетерогенности оценки продолжительности катарального синдрома для сравнений Триазавирин® vs. Плацебо показал, что индекс гетерогенности для всех исследований составляет I² = 9% (χ² = 2,19, p = 0,33), что говорит об отсутствии гетерогенности. Для данного показателя существует модель только с фиксированными факторами (см. рис. 2 и табл. 2)

Суммарная оценка разности подгрупп показала существенное преимущество препарата Триазавирин® над Плацебо — M [95% ДИ] = -2,77 [-3,64 ÷ -1,91] (Z = 6,32, p < 0,0001).

Таблица 2. Результаты метаанализа. Триазавирин® vs. Плацебо
Table 2. Results of meta-analysis. Triazavirin® vs. Placebo

Исход по подгруппам		Н	Участники	Статистический метод	Установленный эффект	Статистическая значимость
1.1 Продолжительность катарального синдрома						
1.1.1	Триазавирин® 500 мг/сут	1	76	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-2,00 [-3,37 ÷ -0,63]	Z=2,86, p=0,004
1.1.2	Триазавирин® 750 мг/сут	1	76	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-3,43 [-4,75 ÷ -2,11]	Z=5,09, p<0,0001
1.1.3	Триазавирин® 750 мг/сут (беременные)	1	35	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-2,93 [-4,96 ÷ -0,90]	Z=2,83, p=0,005
1.2 Сроки нормализации температуры (≤37,0°C)						
1.2.1	Триазавирин® 500 мг/сут	1	152	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-3,66 [-4,28 ÷ -3,04]	Z=11,59, p<0,0001
1.2.2	Триазавирин® 750 мг/сут	1	76	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-3,49 [-4,38 ÷ -2,60]	Z=7,70, p<0,0001
1.2.3	Триазавирин® 750 мг/сут (беременные)	1	76	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-3,82 [-4,68 ÷ -2,96]	Z=8,68, p<0,0001
1.3 Длительность симптомов интоксикации						
1.3.1	Триазавирин® 500 мг/сут	1	152	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-3,10 [-3,83 ÷ -2,37]	Z=8,33, p<0,0001
1.3.2	Триазавирин® 750 мг/сут	1	76	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-2,68 [-3,80 ÷ -1,56]	Z=4,69, p<0,0001
1.3.3	Триазавирин® 750 мг/сут (беременные)	1	76	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-3,41 [-4,37 ÷ -2,45]	Z=6,95, p<0,0001
1.4 Повторное определение РНК вируса гриппа (на 5 день терапии), %						
1.4.1	Повторное определение РНК вируса гриппа (на 5 день терапии), %	2	141	Одношаговое определение (M-H, Fixed, 95% DI)	0,07 [0,02 ÷ 0,18]	Z=5,45, p<0,0001
1.4.1	Триазавирин® 500 мг/сут (вирусы А или В)	1	52	Odds Ratio (M-H, Fixed, 95% DI)	0,10 [0,03 ÷ 0,37]	Z=3,43, p=0,0006
1.4.2	Триазавирин® 750 мг/сут (вирусы А или В)	1	54	Odds Ratio (M-H, Fixed, 95% DI)	0,04 [0,01 ÷ 0,21]	Z=3,80, p=0,0001
1.4.3	Триазавирин® 750 мг/сут (беременные, вирус H1N1)	1	35	Odds Ratio (M-H, Fixed, 95% DI)	0,06 [0,00 ÷ 1,26]	Z=1,81, p=0,07
1.5 Доля пациентов с развившимися осложнениями						
1.5.1	Триазавирин® 500 мг/сут	4	287	Odds Ratio (M-H, Fixed, 95% DI)	0,06 [0,02 ÷ 0,22]	Z=4,18, p<0,0001
1.5.2	Триазавирин® 750 мг/сут	2	100	Odds Ratio (M-H, Fixed, 95% DI)	0,05 [0,00 ÷ 0,99]	Z=1,97, p=0,05
1.5.3	Триазавирин® 750 мг/сут (беременные)	1	35	Odds Ratio (M-H, Fixed, 95% DI)	0,08 [0,01 ÷ 0,45]	Z=2,88, p=0,004

Таблица 3. Результаты метаанализа. Триазавирин® vs. Тамифлю®
Table 3. Results of the meta-analysis. Triazavirin® vs. Tamiflu®

Исход по подгруппам		Н	Участники	Статистический метод	Установленный эффект	Статистическая значимость
2.2 Продолжительность катарального синдрома						
2.2.1	Взрослые	2	245	Mean Difference (IV, Random, 95% DI)	-0,40 [-1,47 ÷ 0,67]	Z=0,73, p=0,47
2.2.2	Беременные женщины	1	186	Mean Difference (IV, Random, 95% DI)	-0,84 [-1,02 ÷ -0,67]	Z=9,30, p<0,0001
2.2.3	Сроки нормализации температуры (≤37,0°C)	2	186	Mean Difference (IV, Random, 95% DI)	1,43 [-0,16 ÷ 3,02]	Z=1,76, p=0,08
2.3.1	Взрослые	1	127	Mean Difference (IV, Random, 95% DI)	-1,00 [-1,15 ÷ -0,85]	Z=12,94, p=0,00001
2.3.2	Беременные	1	59	Mean Difference (IV, Random, 95% DI)	-1,01 [-1,16 ÷ -0,86]	Z=12,99, p<0,0001
2.3.3	Беременные женщины	1	59	Mean Difference (IV, Random, 95% DI)	-0,30 [-1,36 ÷ 0,76]	Z=0,55, p=0,58
2.4 Длительность симптомов интоксикации						
2.4.1	Взрослые	2	186	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-0,88 [-1,01 ÷ -0,75]	Z=13,22, p<0,0001
2.4.2	Беременные женщины	1	127	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-0,88 [-1,01 ÷ -0,74]	Z=12,98, p<0,0001
2.4.3	Беременные женщины	1	59	Mean Difference (IV, Fixed, 95% DI)	-1,10 [-1,95 ÷ -0,25]	Z=2,55, p=0,01
2.5 Повторное определение РНК вируса гриппа (на 5 день терапии), %						
2.5.1	Повторное определение РНК вируса гриппа (на 5 день терапии), %	2	147	Odds Ratio (M-H, Fixed, 95% DI)	0,35 [0,15 ÷ 0,79]	Z=2,51, p=0,01
2.5.1	А (H1N1) rdm09	1	82	Odds Ratio (M-H, Fixed, 95% DI)	0,37 [0,15 ÷ 0,94]	Z=2,10, p=0,04
2.5.2	А (H3N2)	1	16	Odds Ratio (M-H, Fixed, 95% DI)	0,12 [0,00 ÷ 2,88]	Z=1,32, p=0,19
2.5.3	В	1	13	Odds Ratio (M-H, Fixed, 95% DI)	0,50 [0,05 ÷ 5,51]	Z=0,57, p=0,57
2.5.4	А (H1N1) rdm09 (Беременные)	1	36	Odds Ratio (M-H, Fixed, 95% DI)	Не оценивалось	Не оценивалось
2.6 Доля пациентов с развившимися осложнениями						
2.6.1	Взрослые	2	163	Odds Ratio (M-H, Random, 95% DI)	0,13 [0,01 ÷ 1,17]	Z=1,82, p=0,07
2.6.2	Беременные женщины	1	127	Odds Ratio (M-H, Random, 95% DI)	0,13 [0,01 ÷ 1,17]	Z=1,82, p=0,07
2.6.3	Беременные женщины	1	36	Odds Ratio (M-H, Random, 95% DI)	Не оценивалось	Не оценивалось

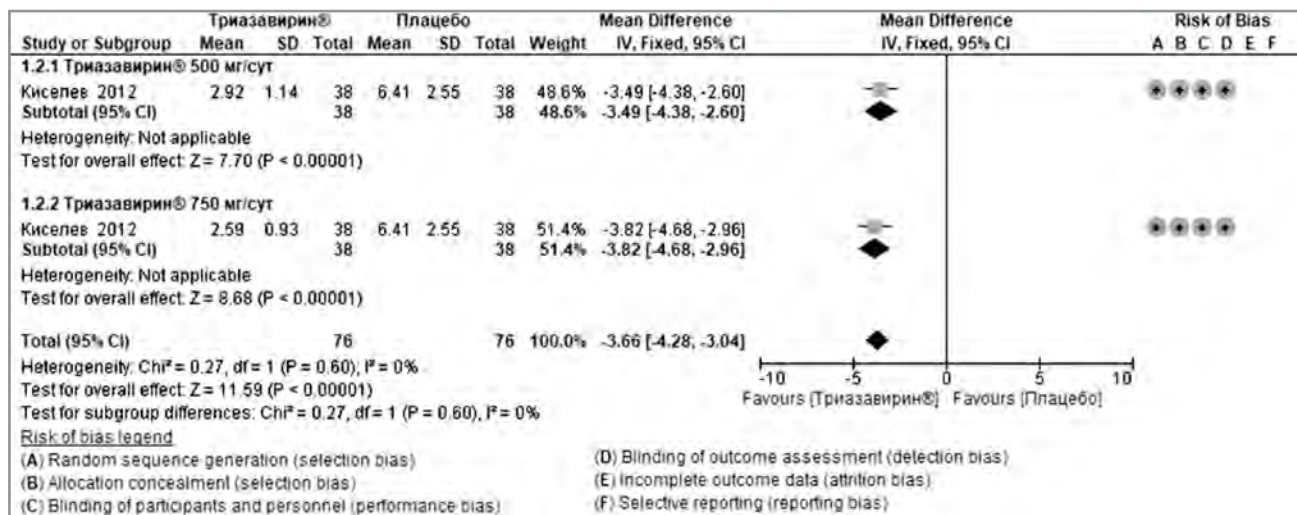


Рис. 4. Лесной график для сравнения препарата Триазавирин® vs. Плацебо по исходу: 1.2 Сроки нормализации температуры ($\leq 37,0^{\circ}\text{C}$).

Fig. 4. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Placebo by outcome: 1.2 Time required for temperature normalization ($\leq 37,0^{\circ}\text{C}$).

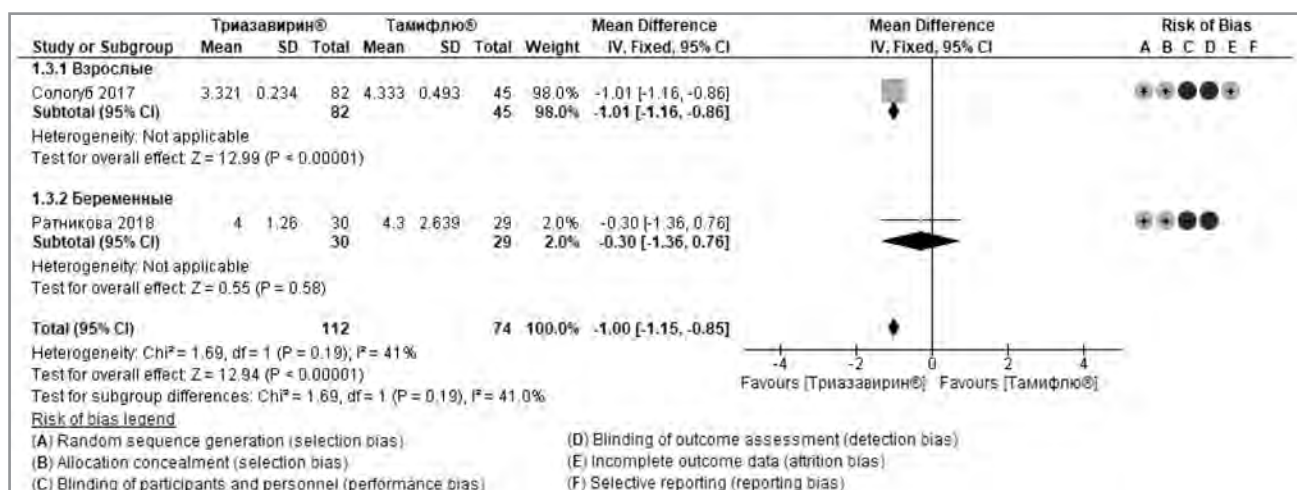


Рис. 5. Лесной график для сравнения препаратов Триазавирин® vs. Тамифлю® по исходу: 2.2 Сроки нормализации температуры ($\leq 37,0^{\circ}\text{C}$).

Fig. 5. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Tamiflu® by outcome: 2.2 Time required for temperature normalization ($\leq 37,0^{\circ}\text{C}$).

Сравнение 2. Триазавирин® vs. Тамифлю®

Метаанализ собранных данных показал, что при терапии препаратом Триазавирин® по сравнению с Тамифлю® получены близкие значения продолжительности катарального синдрома для обоих препаратов (табл. 3, рис. 3). Так, для общей популяции (взрослые) различия были статистически значимы и составили M [95% ДИ] = -0,84 [-1,02 ÷ -0,67] ($Z=9,30$, $p<0,0001$), а для популяции беременных женщин различия незначимы — M [95% ДИ] = 1,43 [-0,16 ÷ 3,02] ($Z=1,76$, $p=0,08$).

Анализ гетерогенности оценки продолжительности катарального синдрома для сравнений Триазавирин® 750 мг/сут vs. Тамифлю® показал, что индекс гетерогенности для общей популяции (взрослые) составляет $I^2=41\%$ ($\chi^2=1,69$, $p=0,19$), что

говорит о несущественной гетерогенности. Для оценки эффекта использовали модель с фиксированными факторами (рис. 3 и табл. 3).

Суммарная оценка разности подгрупп показала существенное преимущество препарата Триазавирин® над Тамифлю® — M [95% ДИ] = -0,40 [-1,47 ÷ -0,67] ($Z=0,73$, $p<0,47$).

Сроки нормализации температуры ($\leq 37,0^{\circ}\text{C}$)

Сравнение 1. Триазавирин® vs. Плацебо

Анализ гетерогенности оценки сроков нормализации температуры ($\leq 37,0^{\circ}\text{C}$) для сравнений препаратов Триазавирин® vs. Плацебо показал, что индекс гетерогенности для всех исследований составляет $I^2=0\%$ ($\chi^2=0,27$, $p=0,60$), что говорит об отсутствии гетерогенности. Для данного показателя существует модель только с фиксированными факторами (см. рис. 4 и табл. 2).

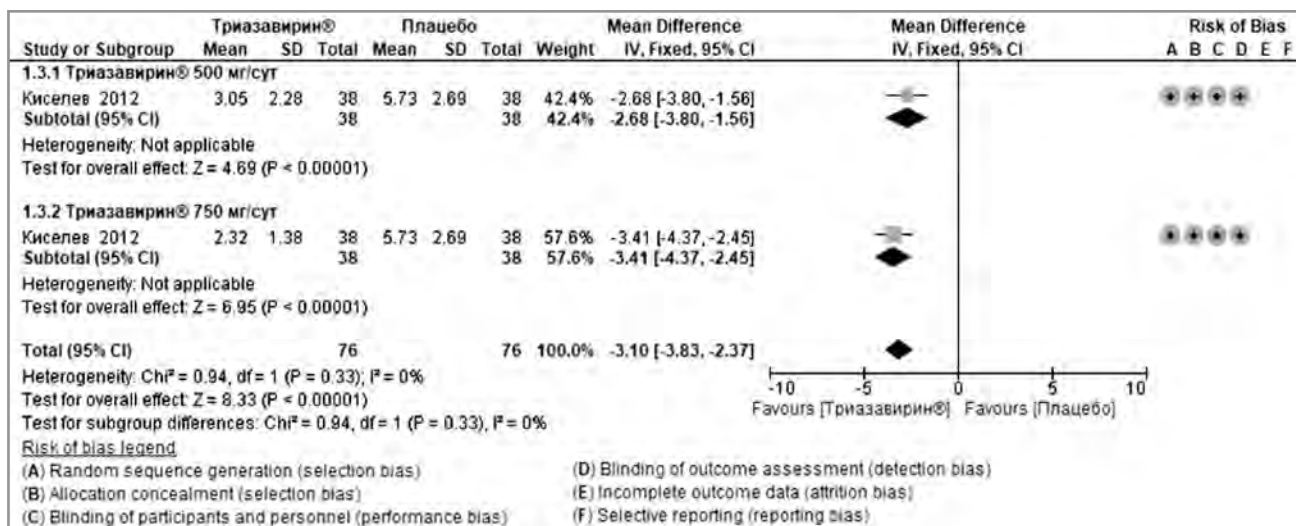


Рис. 6. Лесной график для сравнения препарата Триазавирин® vs. Плацебо по исходу: 1.3 Длительность симптомов интоксикации.

Fig. 6. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Placebo by outcome: 1.3 Duration of intoxication symptoms

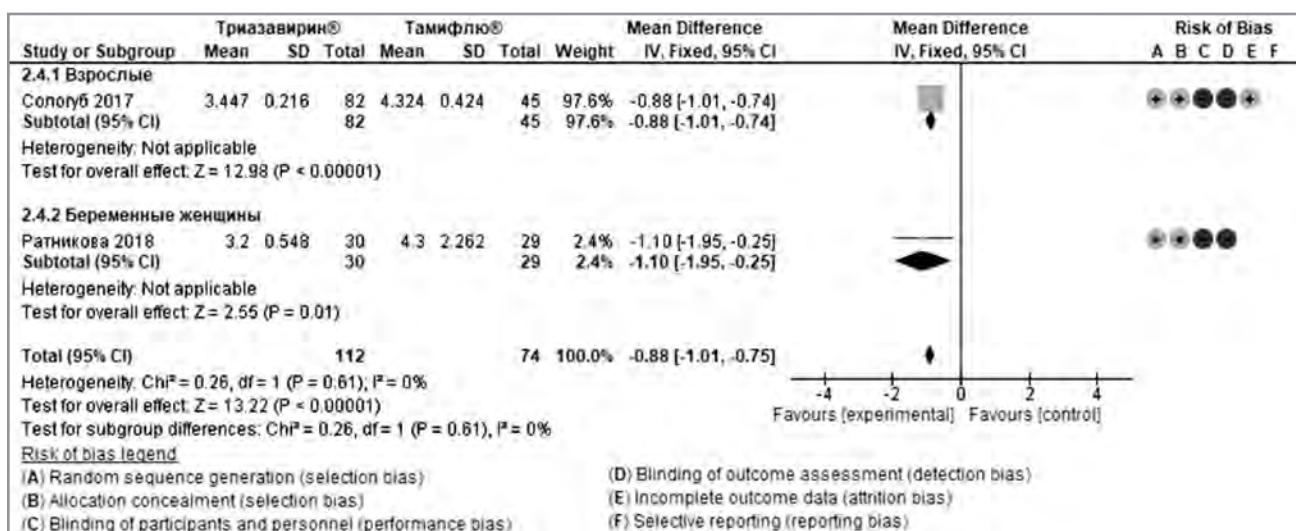


Рис. 7. Лесной график для сравнения препаратов Триазавирин® vs. Тамифлю® по исходу: 2.3 Длительность симптомов интоксикации.

Fig. 7. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Tamiflu® by outcome 2.3 Duration of intoxication symptoms.

Суммарная оценка разности подгрупп показала существенное преимущество Триазавирин® над Плацебо — M [95% ДИ]=-3,66 [-4,28÷-3,04] (Z=11,59, p<0,0001).

Сравнение 2. Триазавирин® vs. Тамифлю®

Анализ гетерогенности оценки Сроков нормализации температуры (≤37,0°C) для сравнений препарата Триазавирин® 750 мг/сут. vs. Тамифлю® показал, что индекс гетерогенности исследований составляет I²=41% (χ²=12,94, p<0,19), что говорит о несущественной гетерогенности. Однако для данного показателя существует модель только с фиксированными факторами (рис. 5 и табл. 3).

Суммарная оценка разности подгрупп показала отсутствие преимущества препарата Триазавирин® над Тамифлю® — M [95% ДИ]=-1,00 [-1,15÷-0,85] (Z=12,94, p<0,0001).

Длительность симптомов интоксикации

Длительность симптомов интоксикации оценивалась по максимальным срокам симптомов (головная боль, миалгия и др.).

Сравнение 1. Триазавирин® vs. Плацебо

Анализ гетерогенности оценки Длительности симптомов интоксикации для сравнений препаратов Триазавирин® vs. Плацебо показал, что индекс гетерогенности для всех исследований составляет I²=0% (χ²=0,94, p=0,33), что говорит об отсутствии гетерогенности. Для данного показателя существует модель только с фиксированными факторами (рис. 6 и табл. 2).

Суммарная оценка разности Длительностей симптомов интоксикации для подгрупп (см. рис. 6 и табл. 2) показало существенное преимущество препарата Триазавирин® над

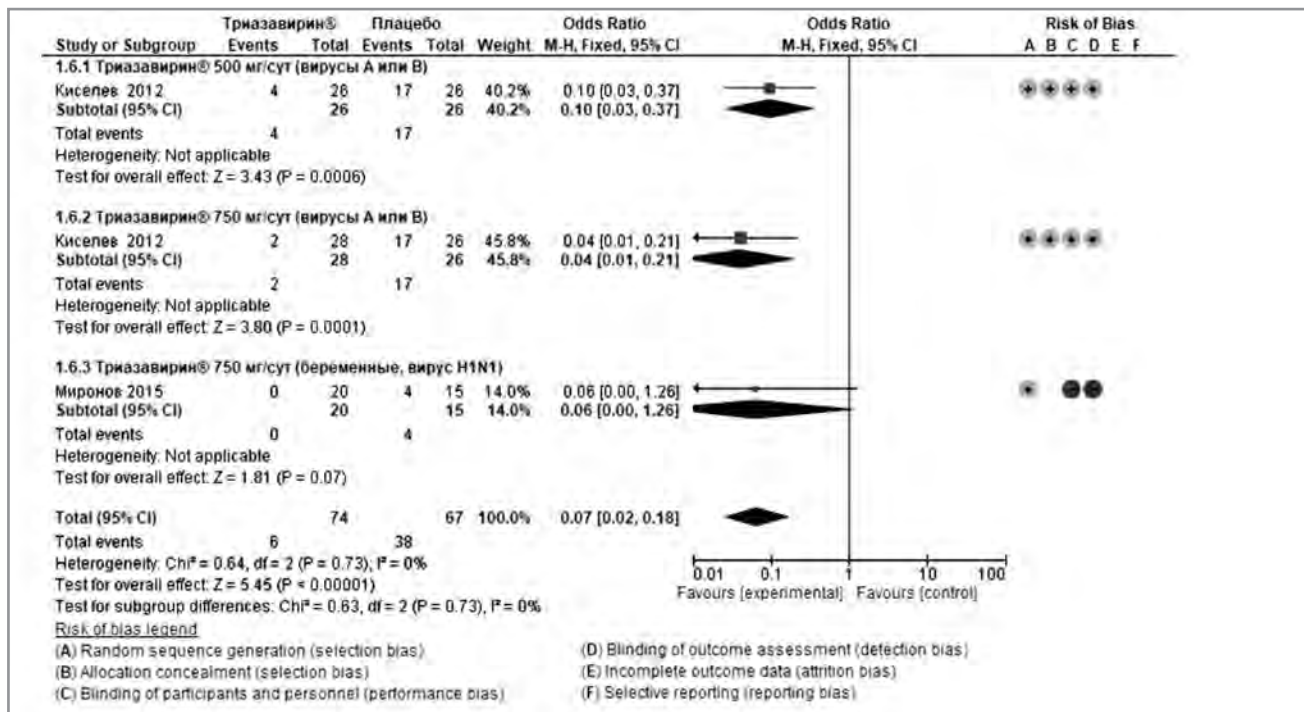


Рис. 8. Лесной график для сравнения препарата Триазавирин® vs. Плацебо по исходу: 1.4 Частота повторного выделения РНК вируса гриппа (на 5-й день терапии), %
Fig. 8. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Placebo by outcome: 1.4 Frequency of re-isolation of influenza virus RNA (on the 5th day of therapy), %

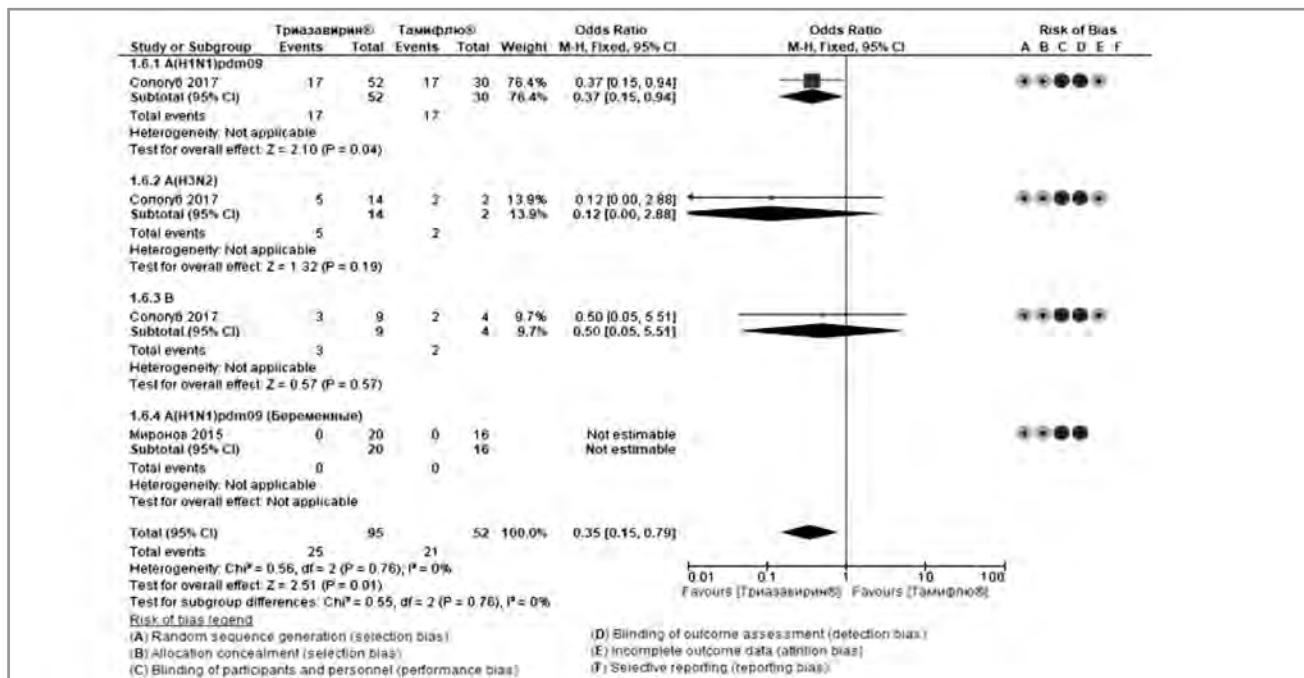


Рис. 9. Лесной график для сравнения препаратов Триазавирин® vs. Тамифлю® по исходу: 2.4 Частота повторного выделения РНК вируса гриппа (на 5-й день терапии), %.
Fig. 9. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Tamiflu® by outcome: 2.4 Frequency of re-isolation of influenza virus RNA (on the 5th day of therapy), %.

Плацебо — M [95% ДИ] = -3,10 [-3,83 ÷ -2,37] (Z=8,33, p<0,0001).

Сравнение 2. Триазавирин® vs. Тамифлю®.

Анализ гетерогенности оценки Длительности симптомов интоксикации для сравнений

препаратов Триазавирин® 750 мг/сут vs. Тамифлю® показал, что индекс гетерогенности для общей популяции (взрослые) составляет I²=0% (χ²=0,26, p=0,61), что говорит об отсутствии гетерогенности. Для данного показателя существует

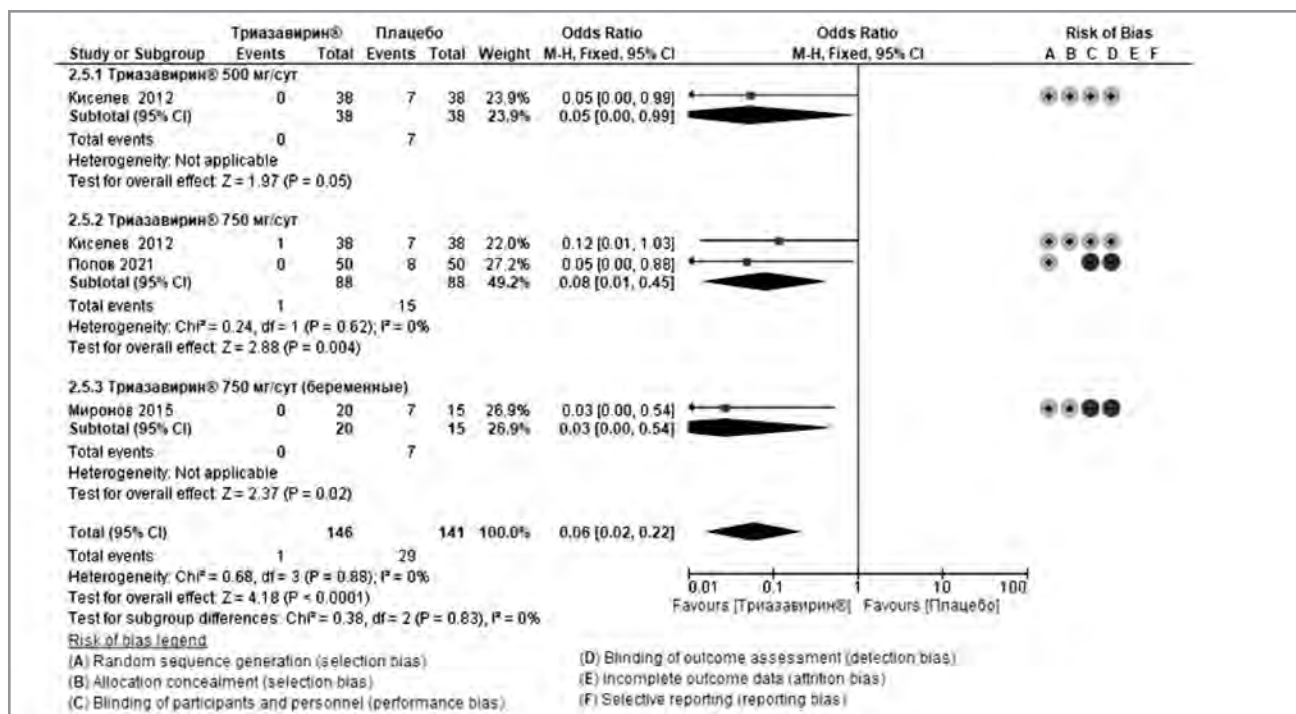


Рис. 10. Лесной график для сравнения препарата Триазавирин® vs. Плацебо по исходу: 2.4.4 Доля пациентов с развившимися осложнениями.
Fig. 10. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Placebo by outcome: 2.4.4 The proportion of patients who developed complications.

модель только с фиксированными факторами. (рис. 7 и табл. 3).

Суммарная оценка разности длительности симптомов интоксикации для подгрупп показала существенное преимущество препарата Триазавирин® над Тамифлю® — M [95% ДИ] = -0,88 [-1,01 ÷ -0,75] (Z=13,22, p<0,0001).

Частота повторного выделения РНК вируса гриппа (на 5-й день терапии), %

Сравнение 1. Триазавирин® vs. Плацебо

Анализ гетерогенности оценки Частоты повторного выделения РНК вируса гриппа (на 5-й день терапии) для сравнений препарата Триазавирин® vs. Плацебо показал, что индекс гетерогенности для всех исследований составляет I²=0% (χ²=0,64, p=0,73), что говорит об отсутствии гетерогенности, что позволило использовать модель с фиксированными факторами (рис. 8 и табл. 2).

Суммарная оценка частоты повторного выделения РНК вируса гриппа показала существенное преимущество препарата Триазавирин® над Плацебо — M [95% ДИ] = 0,07 [0,02 ÷ 0,18] (Z=5,45, p<0,0001).

Сравнение 2. Триазавирин® vs. Тамифлю®

Анализ гетерогенности оценки Частоты повторного выделения РНК вируса гриппа (на 5-й день терапии), %, для сравнений препаратов Триазавирин® 750 мг/сут vs. Тамифлю® показал, что индекс гетерогенности для общей популяции (взрослые) составляет I²=0% (χ²=0,56, p=0,76), что говорит об отсутствии гетерогенности. Для дан-

ного показателя существует модель только с фиксированными факторами (рис. 9 и табл. 3).

Суммарная оценка разности Частоты повторного выделения РНК вируса гриппа для подгрупп показала отсутствие преимущества препарата Триазавирин® над Тамифлю® — OR [95% ДИ] = 0,35 [0,15 ÷ 0,79] (Z=2,51, p=0,01).

Доля пациентов с развившимися осложнениями

Сравнение 1. Триазавирин® vs. Плацебо

Анализ гетерогенности оценки Доли пациентов с развившимися осложнениями, для сравнений Триазавирин® vs. Плацебо показал, что индекс гетерогенности для всех исследований составляет I²=0% (χ²=0,68, p=0,88), что говорит об отсутствии гетерогенности, что позволило использовать модель с фиксированными факторами (рис. 10 и табл. 2).

Суммарная оценка доли пациентов с развившимися осложнениями показала существенное преимущество Триазавирин® над Плацебо — OR [95% ДИ] = 0,06 [0,02 ÷ 0,22] (Z=4,18, p<0,0001).

Сравнение 2. Триазавирин® vs. Тамифлю®

Анализ гетерогенности оценки Доли пациентов с развившимися осложнениями для сравнений препаратов Триазавирин® 750 мг/сут vs. Тамифлю® показал, что индекс гетерогенности и суммарный эффект рассчитаны быть не могут, так как недостаточно данных (рис. 11 и табл. 3).

Оценка доли пациентов с развившимися осложнениями для подгруппы общей популяции

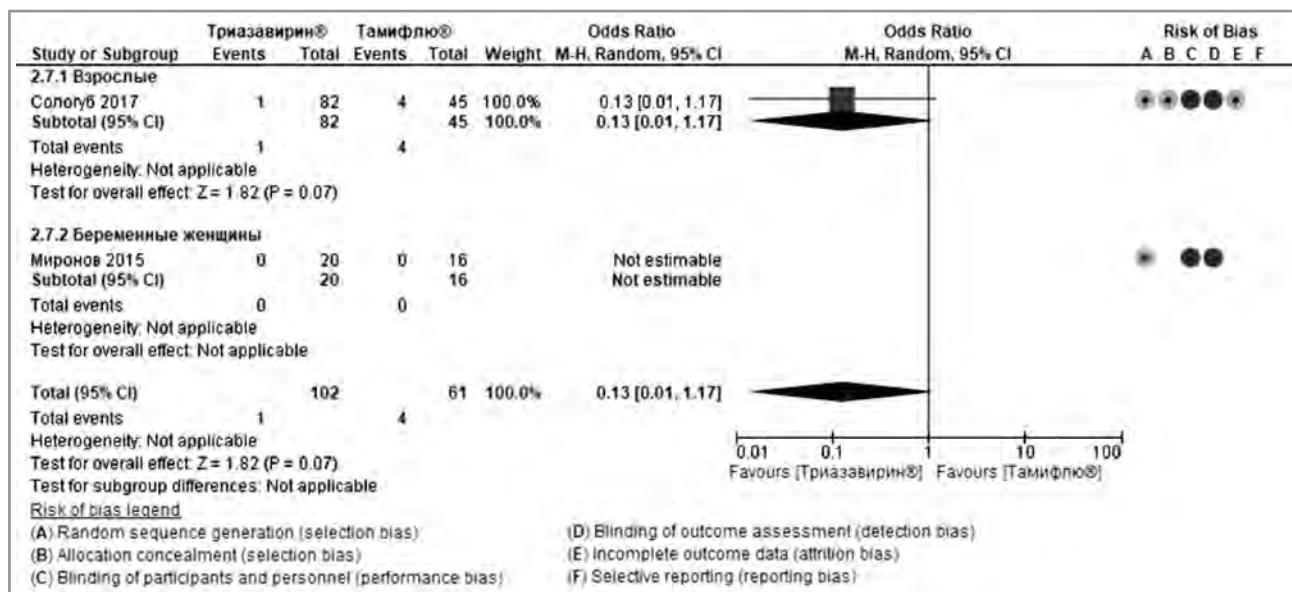


Рис. 11. Лесной график для сравнения препаратов Триазавирин® vs. Тамифлю® по исходу: 2.5 Доля пациентов с резвившимися осложнениями.

Fig. 11. Forest plot of the comparison of Triazavirin® vs. Tamiflu® by outcome: 2.5 The proportion of patients who developed complications.

показала отсутствие различий между препаратами Триазавирин® и Тамифлю® — OR [95%ДИ]=0,13 [0,01÷1,17] (Z=1,82, p=0,07).

В ходе исследования также были рассмотрены результаты проведённых отдельных исследований, не включенных в основной мета-анализ.

Исследована терапевтическая эффективность риамиловира в сравнении с умифеновиром по длительности общих инфекционных синдромов (интоксикации, лихорадки), синдромов поражения респираторного тракта, а также по частоте развития осложнённого течения гриппа. Установлено, что у пациентов, получавших риамиловир, количество розеткообразующих лимфоцитов снижалось до 16,8±2,1%, что в 1,2 раза меньше по сравнению с группой пациентов, принимавших умифеновир (21,2±1,8)%. В результате применения риамиловира при гриппе происходил не только более быстрый регресс интоксикационного и катарального синдромов (p<0,05), но и нормализация ЛТА, что отражает стабилизацию патологического процесса и, соответственно, свидетельствует о большей эффективности проводимой терапии данным противовирусным препаратом [12].

Проведён анализ применения в реальной клинической практике нуклеозидных аналогов (рибавирина и риамиловира) в терапии гриппа, а также оценена их клиническая эффективность в сравнении с эталонным для терапии гриппа препаратом – осельтамивиром. Отобраны 191 история болезни больных с подтвер-

ждённым диагнозом «Грипп А» или «Грипп В». Все пациенты, истории болезни которых были отобраны для анализа, поступили на стационарное лечение в первые 48 ч от начала болезни с неосложнённым на момент начала терапии течением. Из 191 пациента с гриппом осельтамивир получали 57 (контрольная группа), рибавирин — 81 (группа сравнения 1), риамиловир — 53 (группа 2). Степень тяжести состояния у всех пациентов была оценена как «средняя». Длительность общих инфекционных синдромов, синдромов поражения респираторного тракта, а также частота развития пневмоний в группах больных гриппом, получавших риамиловир или осельтамивир, были сопоставимы. В то же время длительность лихорадки у пациентов с гриппом, получавших рибавирин, была достоверно дольше, чем в контрольной группе (4,1±2,22 дня против 3,1±1,94 дня, p<0,05), а частота развития пневмоний была выше (1,2% против 0,0%, p>0,05). Во всех трёх сравниваемых группах нежелательных реакций, связанных с терапией, не отмечено, и в целом пациенты переносили приём препаратов удовлетворительно [13].

Результаты открытого сравнительного наблюдательного исследования пациентов с ОРВИ и гриппом (60 пациентов с диагнозом грипп) показали, что в группе пациентов, получавших препарат Триазавирин® установлена стойкая нормализация температуры пациентов к 3-му дню терапии (p<0,05), при этом полная нормализация температуры зафиксирована на 5-й день лечения. Частота развития вторичных осложнений была

статистически выше в группе, получавшей только патогенетическую терапию (20 (44,4%) из 45 человек) против группы пациентов, принимавших Триазавирин® — 3 (2,1%) случая — пациенты, поступившие в стационар на 2-й неделе заболевания) [14]. Также установлено, что применение препарата Триазавирин® позволило добиться быстрой положительной динамики по купированию лихорадочно-интоксикационного и катарально-респираторного синдромов. В рамках исследования продемонстрирована клиническая эффективность и безопасность препарата Триазавирин® в группах больных гриппом и ОРВИ, имеющих фоновую неблагоприятную соматическую патологию и относящихся к группам риска по тяжёлому и осложнённому течению болезни. Кроме того, установлено, что применение препарата Триазавирин® одинаково эффективно при поздних сроках обращения больных за медицинской помощью. По мнению авторов исследования, рекомендуется отнести препарат Триазавирин® к препаратам стартовой терапии взрослых больных с респираторными заболеваниями вирусной этиологии [14].

Проведено исследование, включившее 24 пациента с диагнозом грипп, с осложнённым течением, получавших терапию препаратом Триазавирин® 250 мг 3 раза в сутки, в сравнении с осельтамивиром (Тамифлю®) 75 мг 2 раза в сутки — 30 пациентов. Выявлена стойкая нормализация температуры тела к 3-му дню лечения в обеих группах. Также в исследовании показано, что применение препарата Триазавирин® с первого дня госпитализации позволяет купировать основные клинические признаки гриппа к пятому дню лечения [1].

Проведённые исследования демонстрируют, что применение препарата Триазавирин® эффективно как на начальных, так и на поздних стадиях заболевания, в связи с чем препарат может быть использован при терапии взрослых больных с респираторными заболеваниями вирусной этиологии.

Заключение

Противовирусный препарат Триазавирин® — представитель нуклеозидных противовирусных веществ, эффективный в отношении широкого

Литература/References

1. Веревицков В.К., Шемякина Е.К., Сабитов А.У., Бацкалевич Н.А. Современная этиотропная терапия гриппа и ОРВИ у взрослых больных с отягощённой преморбидной патологией. Антибиотики и химиотерапия. 2018; 63 (7–8): 47–50. [Verevshchikov V.K., Shemyakina E.K., Sabitov A.U., Batskalevich N.A. Sovremennaya etiotropnaya terapiya grippa i ORVI u vzroslykh bol'nykh s otyagoshchennoj premorbidnoj patologijej. Antibiotiki i Khimioterapiya. 2018; 63 (7–8): 47–50. (in Russian)]
2. Артемьев Г.А., Бондарев В.П., Борисевич С.В. и др. Триазавирин — противовирусный препарат нового поколения. Екатеринбург: Ин-

ряда инфекций вирусной этиологии, в том числе гриппа.

В настоящей работе представлены результаты метаанализа клинических исследований препарата Триазавирин® при лечении пациентов с гриппом.

Метаанализ собранных данных показал, что терапия препаратом Триазавирин® по сравнению с плацебо способствует существенному снижению продолжительности катарального синдрома в обеих дозах. Данные сравнения терапии препаратом Триазавирин® по сравнению с Тамифлю® показали, что препараты обладают близкими значениями продолжительности катарального синдрома.

Показано преимущество препарата Триазавирин® над плацебо по срокам нормализации температуры ($\leq 37,0^{\circ}\text{C}$). При сравнении препаратов Триазавирин® и Тамифлю® выявлены схожие результаты.

Оценка длительности симптомов интоксикации показала существенное преимущество препарата Триазавирин® над плацебо, а также существенное преимущество препарата Триазавирин® над Тамифлю®.

Показано существенное преимущество препарата Триазавирин® над плацебо по показателям частота повторного выделения РНК вируса гриппа (на 5-й день терапии), развитие осложнений, а также получены сходные данные для препаратов Триазавирин® и Тамифлю®.

Таким образом, проведённый метаанализ показал, что применение препарата Триазавирин® статистически достоверно влияет на выраженность клинических симптомов у пациентов с гриппом, в связи с чем препарат может быть использован при стартовой терапии взрослых больных с гриппом.

Дополнительные сведения

Источник финансирования. Исследование осуществлено на личные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов.

- ститут органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, 2016; 257. [Artem'ev G.A., Bondarev V.P., Borisevich S.V. i dr. Triazavirin — protivovirusnyj preparat novogo pokoleniya. Ekaterinburg: Institut organicheskogo sinteza im. I.Ya. Postovskogo UrO RAN, 2016; 257. (in Russian)]
3. Page M. J., McKenzie J.E., Bossuyt P.M., et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. PLoS Medicine. 2021; 18 (3): e1003583. doi: 10.1371/journal.pmed.1003583.
 4. Киселев О.И., Деева Э.Г., Мельникова Т.И. и др. Новый противовирусный препарат Триазавирин. Результаты II фазы клинического исследования. Вопросы вирусологии. 2012; 57 (6): 9–12. Accessed: Jun. 27, 2021. [Online]. Available: <https://elibrary.ru/item.asp?id>

- =18752159. [Kiselev O.I., Deeva E.G., Mel'nikova T.I. i dr. Novyj protivovirusnyj preparat Triazavirin. Rezul'taty II fazy klinicheskogo issledovaniya. *Voprosy virusologii*. 2012; 57 (6): 9–12. Accessed: Jun. 27, 2021. [Online]. Available: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18752159>. (in Russian)]
5. *Миронов И.Л., Ратникова Л.И.* Триазавирин: изучение клинической эффективности при гриппозной инфекции. *Поликлиника*. 2015; 4: 4–5. [Mironov I.L., Ratnikova L.I. Triazavirin: izuchenie klinicheskoy effektivnosti pri grippoznoj infektsii. *Poliklinika*. 2015; 4: 4–5. (in Russian)]
 6. *Попов А.Ф., Маркелова Е.В., Комарова И.А., Бениова С.Н.* Сравнительная эффективность применения препаратов Риамиловир и Умифеновир в лечении гриппа. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66 (3–4): 35–39. doi: 10.37489/0235-2990-2021-66-3-4-35-39. [Popov A.F., Markelova E.V., Komarova I.A., Beniova S.N. Comparative effectiveness of riamilovir and umifenovir for treating influenza. *Antibiotiki i Khimioterapiya*. 2021; 66 (3–4): 35–39. doi: 10.37489/0235-2990-2021-66-3-4-35-39. (in Russian)]
 7. *Сологуб Т.В., Токин И.И., Мидикари А.С., Цветков В.В.* Сравнительная эффективность и безопасность применения противовирусных препаратов в терапии больных гриппом. *Инфекционные болезни*. 2017; 15 (3): 40–47. doi: 10.20953/1729-9225-2017-3-40-47. [Sologub T.V., Tokin I.I., Midikari A.S., Tsvetkov V.V. Sravnitel'naya effektivnost' i bezopasnost' primeneniya protivovirusnykh preparatov v terapii bol'nykh grippom. *Infektsionnye Bolezni*. 2017; 15 (3): 25–32. doi: 10.20953/1729-9225-2017-3-40-47. (in Russian)]
 8. *Ратникова Л.И.* Применено нового отечественного противовирусного препарата в этиотропной терапии гриппа. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2018; 81 (3): 24–27. doi: 10.30906/0869-2092-2018-81-3-24-27. [Ratnikova L.I. Primenene novogo otechestvennogo protivovirusnogo preparata v etiotropnoj terapii grippa. *Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya*. 2018; 81 (3): 24–27. doi: 10.30906/0869-2092-2018-81-3-24-27.
 9. Higgins J.P.T. (ed.). *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions version 6.2* (updated February 2021) Available from www.cochrane-handbook.org. The Cochrane Collaboration, 2021. <https://training.cochrane.org/handbook/current> (accessed Jun. 13, 2021).
 10. Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.4. 2020. Accessed: Jun. 13, 2021. [Online]. Available: <https://training.cochrane.org/online-learning/core-software-cochrane-reviews/revman>.
 11. *Омельяновский В.В., Авксентьева М.В., Сура М.В., Хачатрян Г.Р., Федяева В.К.* Методические рекомендации по оценке качества статистического анализа в клинических исследованиях (Утверждены приказом ФГБУ «ЦЭККМП» Минздрава России от «29» декабря 2017 г. № 181-од). Москва: ФГБУ «ЦЭККМП» Минздрава России», 2017. [Omel'yanovskij V.V., Avksent'eva M.V., Sura M.V., Khatchatryan G.R., Fedyaeva V.K. Metodicheskie rekomendatsii po otsenke kachestva statisticheskogo analiza v klinicheskikh issledovaniyakh (Utv'erzhdeny prikazom FGBU «TsEKKMP» Minzdrava Rossii ot «29» dekabr'ya 2017 g. № 181-od). Moskva: FGBU «TsEKKMP» Minzdrava Rossii», 2017. (in Russian)]
 12. *Емельянова А.Н., Тихонова Е.П., Кузьмина Т.Ю. и др.* Оценка эффективности противовирусной терапии гриппа А (H1N1) в эпидемические сезоны 2017–2018 и 2018–2019 гг. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2020; 83 (3): 23–27. doi: 10.30906/0869-2092-2020-83-3-23-27. [Emel'yanova A.N., Tikhonova E.P., Kuz'mina T.Jyu. i dr. Otsenka effektivnosti protivovirusnoj terapii grippa A (H1N1) v epidemicheskie sezony 2017–2018 i 2018–2019 gg. *Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya*. 2020; 83 (3): 23–27. doi: 10.30906/0869-2092-2020-83-3-23-27. (in Russian)]
 13. *Касьяненко К.В., Львов Н.И., Мальцев О.В., Жданов К.В.* Нуклеозидные аналоги в терапии гриппа: история и опыт. *Журнал инфектологии*. 2019; 11 (3): 20–26. doi: 10.22625/2072-6732-2019-11-3-20-26. [Kas'yanenko K.V., L'vov N.I., Mal'tsev O.V., Zhdanov K.V. Nukleozidnye analogi v terapii grippa: istoriya i opyt. *Zhurnal Infekologii*. 2019; 11 (3): 20–26. doi: 10.22625/2072-6732-2019-11-3-20-26. (in Russian)]
 14. *Веревицков В.К., Шемякина Е.К., Сабитов А.У., Хаманова Ю.Б.* Возможности этиотропной терапии при гриппе и ОРВИ с учётом срока госпитализации больных в стационар и риска развития вторичных осложнений. *Антибиотики и химиотерапия*. 2019; 64 (3–4): 10–14. doi: 10.24411/0235-2990-2019-100012. [Verevichikov V.K., Shemyakina E.K., Sabitov A.U., Khamanova Yu.B. Vozmozhnosti etiotropnoj terapii pri grippe i ORVI s uchetom sroka hospitalizatsii bol'nykh v statsionar i riska razvitiya vtorichnykh oslozhnenij. *Antibiotiki i Khimioterapiya*. 2019; 64 (3–4): 10–14. doi: 10.24411/0235-2990-2019-100012. (in Russian)]

Информация об авторах

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

Ковтун Ольга Петровна — д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН, ректор ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Российская Федерация

Бацкалевич Наталья Александровна — к. м. н., заместитель главного врача по инфекционной службе Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Городская клиническая больница № 40», Екатеринбург, Российская Федерация

Львов Николай Иванович — д. м. н., доцент, профессор кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний) Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Жданов Константин Валерьевич — д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН, начальник кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний) Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Эсауленко Елена Владимировна — д. м. н., профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения России, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-3669-1993

Тихонова Елена Петровна — д. м. н., профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии

About the authors

Alebai U. Sabitov — D. Sc. in medicine, Professor, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-0858-9529

Olga P. Kovtun — D.S c. in medicine, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russian Federation

Natalya A. Batskalevich — Ph.D. in medicine, Sverdlovsk Region «City Clinical Hospital No. 40», Yekaterinburg, Russian Federation

Nikolay I. Lvov — D.Sc. in medicine, Associate Professor, S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russian Federation.

Konstantin V. Zhdanov — D. Sc. in medicine, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russian Federation

Elena V. Esaulenko — D. Sc. in medicine, Professor, Saint-Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-3669-1993

Elena P. Tikhonova — D. Sc. in medicine, Professor, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voyno-

с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения России, Красноярск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-6466-9609

Калинина Юлия Сергеевна — к. м. н., ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения России, Красноярск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-6037-5857

Сорокин Павел Владимирович — к. фарм. н., ведущий научный сотрудник ООО «Фармавирон», Новоуральск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-1477-8521

Чепур Сергей Викторович — д. м. н. профессор, начальник Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-5324-512X

Степанов Александр Валентинович — д. м. н., главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-1917-2895

Yasenetsky of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-6466-9609

Yulia S. Kalinina — Ph. D. in medicine, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-6037-5857

Pavel V. Sorokin — Ph. D. in pharmaceutical sciences, ООО «Farmaviron», Novouralsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-1477-8521

Sergey V. Chepur — D. Sc. in medicine, Professor, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-5324-512X

Alexander V. Stepanov — D.Sc. in medicine, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-1917-2895

Медицинская палеомикробиология: проблемы и перспективы

*А. Е. ГОНЧАРОВ^{1,2,3}, В. В. КОЛОДЖИЕВА²

¹ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Medical Paleomicrobiology: Problems and Prospects

*ARTEMY E. GONCHAROV^{1,2,3}, VIKTORIA V. KOLODZHIEVA²

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation

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

³ Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russian Federation

Резюме

Изучение микробной ДНК из палеонтологических и археологических образцов является мощным инструментом, позволяющим получить исчерпывающую информацию о молекулярной эволюции геномов возбудителей инфекционных заболеваний человека. Статья представляет собой ретроспективу наиболее значимых достижений медицинской палеомикробиологии. Предметом обсуждения являются результаты исследований по изучению генетического разнообразия древних микробиомов, содержащих детерминанты патогенности и антибиотикорезистентности. Перспективными представляются палеомикробиологические исследования многолетней мерзлоты как репозитория патогенной микробиоты.

Ключевые слова: палеомикробиология; высокопроизводительное секвенирование; древняя ДНК; эволюция; возбудители инфекционных заболеваний, микробиом; многолетняя мерзлота.

Для цитирования: Гончаров А.Е., Колоджиева В.В. Медицинская палеомикробиология: проблемы и перспективы. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66 (5–6): 72–77 doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-72-77.

Abstract

The study of microbial DNA from paleontological and archaeological samples is a powerful tool for estimating the molecular evolution of human pathogens. The paper is a retrospective review of the most significant achievements in medical paleomicrobiology. The subject of the discussion is the genetic diversity of ancient microbiomes including pathogenicity and antibiotic resistance genes. Paleomicrobiological studies of permafrost as a repository of pathogenic microbiota are highly promising.

Keywords: paleomicrobiology; high throughput sequencing; ancient DNA; evolution; pathogens; microbiome; permafrost.

For citation: Goncharov A. E., Kolodzhieva V. V. Medical paleomicrobiology: problems and prospects. *Antibiot i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66 (5–6): 72–77. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-72-77.

Введение

Развитие методов изучения генетического материала микроорганизмов, получаемого из геологических, палеонтологических или археологических образцов, привело в последние десятилетия к бурному росту исследований в области палеомикробиологии. Использование в филогенетических построениях последовательностей «древней» микробной ДНК, выделенной из материала известного абсолютного возраста, позволяет оценивать фактические скорости молеку-

лярной эволюции геномов отдельных таксонов, реконструировать эволюционные события, приводящие к существенным изменениям в экологии различных видов прокариот, включая их переход к паразитизму, изучать закономерности формирования их эпидемического потенциала. Революционная работа Дидье Рауля и его коллег (1998) [1], в которой впервые были получены доказательства длительного сохранения ДНК патогенных микроорганизмов в останках людей из исторических захоронений и предложен метод её выделения из пульпы зубов, по сути, открыла ме-

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции: ул. Академика Павлова, 12, ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, г. Санкт-Петербург, 197376. E-mail: phage1@yandex.ru

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to: 12 Academician Pavlov str., Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, 197376 Russian Federation. E-mail: phage1@yandex.ru

дицинским микробиологам и эпидемиологам возможность изучения эпидемий прошлого. С момента публикации данного исследования существенно усовершенствованы технологии экстракции древней ДНК [2], предложен ряд методологических подходов к сборке и изучению геномов палеомикроорганизмов [3], разработаны критерии доказательств аутентичности, изучаемой ДНК [4–6].

В тоже время очевидна необходимость в осмыслении накопленных палеомикробиологическими исследованиями фактических данных и определении основных тенденций развития данного направления медицинской микробиологии.

По нашему мнению, сегодня двумя основными точками приложения медицинской палеомикробиологии являются:

1. Установление происхождения эпидемических клонов и реконструкция эволюции патогенных микроорганизмов;

2. Изучение древних микробиомов как хранилищ генов факторов патогенности и устойчивости к современным антибактериальным препаратам, а также источников жизнеспособных микроорганизмов, имеющих медицинское и биотехнологическое значение.

Ниже мы рассматриваем эти направления палеомикробиологических исследований.

Изучение эволюции патогенных микроорганизмов

ДНК патогенных микроорганизмов, способна сохраняться в пульпе зубов или костных останках тысячи лет, начиная как минимум с периода неолита, однако возраст находок существенно различается для различных патогенов (таблица).

Использование методов высокопроизводительного секвенирования и микрочиповых технологий при изучении древней микробной ДНК позволило выявить значительные события в филогеографии и эволюции возбудителей инфекционных заболеваний.

Ряд исследований был проведён в области «молекулярной археологии» возбудителей туберкулёза [23, 24], лепры [25], сифилиса [26], кариеса зубов [27].

Наиболее впечатляющие успехи были получены при изучении возбудителя чумы в связи с наличием в европейских странах точно датированных массовых захоронений людей, погибших в ходе пандемии «чёрной смерти» [28], при этом было выяснено, что пандемия была вызвана несколькими клонами [29], а также обосновано предположение, что локальные эпидемические вспышки в Европе в период «чёрной смерти» являлись следствием независимых заносов эпидемических штаммов *Yersinia pestis* [30].

Основываясь на анализе SNP в геномах данных штаммов, а также геноме штамма, вызвавшего «Юстинианову» чуму [31], было построено филогенетическое дерево, отражающее эволюцию *Y.pestis* в древности и средневековье. Секвенирование с высоким покрытием генома возбудителя «юстиниановой чумы» VI века н. э. позволило выявить ряд несинонимичных замен и инделов в генах, ассоциированных с реализацией *Y.pestis* патогенного потенциала [32].

Чрезвычайно интересными и важными с практических позиций представляются исследования, вскрывающие процесс формирования у возбудителя инфекционного заболевания механизма передачи. Так, например, изучение ДНК штаммов *Y.pestis*, ассоциированных с населением Евразии периода бронзового века, показало отсутствие гена *ymt* в геномах всех штаммов, циркулировавших ранее 1686 года до н. э. [33]. Продукт данного гена — фосфолипаза D — обеспечивает выживание иерсиний в организме блох. Кроме того, в упомянутых выше древних геномах присутствовали интактные гены *pde2*, *pde3* и *rcaA*, которые обычно делетированы или выключены у штаммов, способных к эффективной трансмиссивной передаче.

Таким образом, судя по изученным геномам, для возбудителя чумы бронзового века трансмиссивный механизм передачи не был характерен. Приспособление к организму переносчика инфекции и, соответственно, становление трансмиссивного механизма передачи у *Y.pestis* произошло вследствие приобретения *ymt* — локуса путём горизонтального переноса генов, о чём свидетельствует обнаружение транспозаз, фланкирующих участок генома с геном *ymt* в геномах более позднего времени.

Другой пример исследования, вскрывающего механизмы формирования патогенного и эпидемического потенциала вида, относится к эволюции вируса натуральной оспы. Изучение геномов древних штаммов поксвирусов, циркулировавших в Северной Европе в эпоху экспансии викингов, показало, что, вероятнее всего, натуральная оспа в этот период не являлась смертельным заболеванием. Однако в течение последующих 1000 лет адаптация вируса к паразитированию в организме человека проявлялась увеличением контагиозности и вирулентности, что сопровождалось потерей части генов, регулирующих иммунный ответ [34]. Таким образом, вирус натуральной оспы представляет собой пример возбудителя, который, в отличие от ряда других патогенов, интродуцированных в человеческое общество, увеличивал свой патогенный и эпидемический потенциал.

Приведённые выше примеры палеомикробиологических исследований, описывающих

Наиболее древние находки возбудителей инфекционных и паразитарных заболеваний в археологическом материале
The most ancient pathogens of infectious and parasitic diseases found in archaeological material

Микроорганизм	Вызываемое заболевание	Используемый метод детекции	Датировка материала	Источник выделения ДНК	Источник
Бактериальные патогены					
<i>Borrelia recurrentis</i>	Возвратный тиф	ПЦР, метагеномный анализ	XV век	Пульпа зубов	7
<i>Bartonella quintana</i>	Болезнь кошачьей царапины	Гнездовой (nested) ПЦР	~2100–2200 до н. э.	Пульпа зубов	8
<i>Brucella melitensis</i>	Бруцеллёз	Метагеномный анализ методом «дробовика»	XIV век	Кальцификат в костях таза	9
<i>Helicobacter pylori</i>	Язвенная болезнь желудка, рак желудка	Метагеномный анализ методом «дробовика»	~5300 лет (Бронзовый век)	Мумифицированные останки «пирольского ледяного человека»	10
<i>Mycobacterium leprae</i>	Проказа	ПЦР	VII век н. э.	Костные останки	11
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Туберкулёз	ПЦР	9250–8160 лет	Костные останки	12
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> serovar Paratyphi C	Парагриф	Метагеномный анализ методом «дробовика»	1200±50 лет	Пульпа зубов	13
<i>Treponema pallidum</i>	Сифилис	Метод гибридационного захвата ДНК в сочетании с высокопроизводительным секвенированием	XVII век н. э.	Костные останки	14
<i>Vibrio cholerae</i>	Холера	Метагеномный анализ методом «дробовика»	1849 г	Музейный препарат тонкого кишечника	15
<i>Yersinia pestis</i>	Чума	Метагеномный анализ методом «дробовика»	~3800 лет	Пульпа зубов	16
Вирусные патогены					
Вирус гепатита В	Вирусный гепатит В	Метагеномный анализ, ПЦР	4,488	Пульпа зубов	17
Вирус гриппа	Грипп	RT-ПЦР	1918	Лёгкие мерзлой мумии жертвы «испанского гриппа»	18
Вирус натуральной оспы	Оспа	Метагеномный анализ методом «дробовика»	VII век н.э.	Пульпа зубов	19
Возбудители паразитарных инвазий					
<i>Plasmodium falciparum</i>	Малярия	Гнездовая (nested) ПЦР	~4,000 лет	Костные останки	20
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Болезнь Шагаса	Гнездовая (nested) ПЦР	9000 лет	Ткани мумии	21
<i>Toxascaris leonina</i>	Токсокароз	ПЦР, секвенирование митохондриальной ДНК	16 573–17 002 до н. э.	Копролиты пумы (Puma concolor)	22

изменения патогенных свойств возбудителя за исторический период, важны, по нашему мнению, в связи с тем, что они характеризуют скорость и направление молекулярной эволюции у различных групп патогенных микроорганизмов, а выявленные закономерности могут быть использованы при анализе причин появления современных эмерджентных патогенов.

Древние микробиомы — источник детерминант патогенности и резистентности к антимикробным препаратам

Большой массив палеомикробиологических исследований посвящён изучению древних микробных сообществ в их естественной среде обитания. Наибольшую степень сохранности жизнеспособных микроорганизмов и их ДНК обеспечивают холодные (криогенные) местообитания, наземные и подводные. Недавно опубликованные данные о микробных сообществах в районе Южно-Тихоокеанского круговорота, позволяют предположить персистенцию аэробных бактерий в холодных придонных океанских осадках на протяжении более чем 101 млн лет [35]. По-видимому, древнейшие сохранившиеся наземные микробные сообщества, датируемые периодом миоцена (около 3 млн лет) обнаружены в многолет-

ней мерзлоте Антарктиды [36] и Арктики [37].

Многолетняя мерзлота является крупнейшим естественным резервуаром древних прокариот и вирусов.

Вытаивание из неё жизнеспособных патогенных микроорганизмов и их ДНК вследствие климатических изменений создаёт реальные, а не гипотетические угрозы возникновения эпидемических вспышек, пример чему является эпидемия сибирской язвы на полуострове Ямал в 2016 г. [38]. Возможность реактивации древних патогенов определяется также тем, что в многолетней мерзлоте законсервированы останки людей и туши животных, являющихся средой обитания этих микроорганизмов. Микробные сообщества, ассоциированные с плейстоценовой фауной Восточной Сибири, описаны в нескольких исследованиях, причём в их составе обнаруживаются как комменсальные микроорганизмы [39, 40], так и патогены, в частности *Bacillus anthracis*. В августе 2015 г. в Якутии были найдены мёрзлые мумии двух детенышей пещерного льва (*Panthera leo spelaea*), датированные периодом начала голоцена (около 10 000 лет) из тканей которых и окружающего их грунта были выделены сибирязвенные бациллы [41]. Проведённый анализ SNP в полном геноме одного из выделенных штаммов, показал его тесную филогенетическую связь со штаммами, выделенными при вспышке сибирской язвы на Ямале в 2016 г., что является аргументом в пользу древности генетической линии, к которой относятся ямальские штаммы.

Следует отметить также присутствие хорошо сохранившегося генетического материала патогенных микроорганизмов в составе микробиомов останков людей, законсервированных в течение сотен и даже тысяч лет во льду и вечной мерзлоте. В частности, подобные находки включают в себя ДНК *Mycobacterium tuberculosis* [42] и вируса оспы [43] в мумиях 16–19 веков.

Метагеномные исследования образцов многолетней мерзлоты свидетельствуют также о том, что данный биом содержит гигантский пул генов, обеспечивающих устойчивость бактерий к антимикробным препаратам, при этом обсуждается вопрос мобилизации древних генов антибиотикорезистентности как следствие потепления климата [44]. Данный резистом формировался путём накопления генов антибиотикорезистентности в течение длительного времени, имеются, в частности, свидетельства об обнаружении детерминант устойчивости к гликопептидам (включая идентичный современному транспозону устойчивости к ванкомицину VanA), тетрациклинам, бета-лактамам в 30000-летней мерзлоте Берингии [45]

Возможность эффективной передачи древних генов антибиотикорезистентности современным

бактериям определяется тем, что данные гены ассоциированы с мобильными генетическими элементами. Так, например, описан мультиантибиотикорезистентный штамм *Pseudomonas* sp. Tik-3, выделенный из многолетней мерзлоты плейстоценового периода. Показано, что геном этого штамма содержит комплексный интегрон-содержащий транспозон Tn5045, содержащий детерминанты устойчивости к стрептомицину/спектиномицину и сульфаниламидам [46]. В образце плейстоценовой мерзлоты идентифицирован также штамм *Psychrobacter psychrophilus*, несущий плазмиду резистентности *pKLN80* включающую ген бета-лактамазы *bla-RTG6*. Возможность её репликации в современных клинических штаммах *Acinetobacter* доказана экспериментально [47].

Метагеномные исследования последних лет показывают, что горизонтальный генетический обмен в микробиомах полярных областей планеты может происходить с не меньшей интенсивностью, чем в умеренных и тропических широтах. Так, например, разнообразие ассоциируемых с горизонтальным переносом генов мобильных генетических элементов (фагов, транспозонов и плазмид) в мёрзлых почвах Арктики (Шпицберген) оказывается даже более выраженным, чем в почвах тропических джунглей [48].

Таким образом, микробиом полярных экосистем сам по себе может рассматриваться в качестве одного из наиболее значимых источников генетического разнообразия прокариот. Накопленные к настоящему моменту данные позволяют поставить вопрос о необходимости масштабных исследований по изучению мобилома (совокупности мобильных элементов) древних микроорганизмов, обитающих в вечной мерзлоте.

Подобные исследования становятся всё более актуальными в связи с необходимостью оценки биологических угроз, возникающих вследствие драматического потепления климата в полярных регионах.

Заключение

Медицинская палеомикробиология как инструмент получения достоверной информации о молекулярной эволюции геномов возбудителей инфекционных заболеваний человека приобретает всё большую значимость. Понимание закономерностей формирования эпидемического потенциала у различных групп микроорганизмов является важным элементом при анализе причин появления новых эмерджентных патогенов.

Палеомикробиологические исследования криосферы Земли в качестве резервуара патогенной микробиоты, древних генов вирулентности и детерминант антибиотикорезистентности являются чрезвычайно востребованными в связи

с активной деятельностью человека в полярных регионах планеты на фоне быстро меняющегося климата.

Литература/References

1. Drancourt M., Aboudharam G., Signoli M., Dutour O., Raoult D. Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp: an approach to the diagnosis of ancient septicemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95: 12637–40.
2. Tran-Hung L., Tran-Thi N., Aboudharam G., Raoult D., Drancourt M. A new method to extract dental pulp DNA: application to universal detection of bacteria. *PLoS One*, 2007; 2 (10), e1062.
3. Spyrou M. A., Bos K. I., Herbig A., Krause J. Ancient pathogen genomics as an emerging tool for infectious disease research. *Nat Rev Gen*. 2019; 20(6), 323–340.
4. Warinner C., Herbig A., Mann A., Fellows Yates J. A., Weiß C. L., Burbano H. A., Krause J. A robust framework for microbial archaeology. *Ann Rev Gen Human Gen*. 2017; 18, 321–356.
5. Hebsgaard M. B., Phillips M. J., Willerslev E. Geologically ancient DNA: fact or artefact? *Trends in Microbial*. 2005; 13 (5): 212–220.
6. Key F. M., Posth C., Krause J., Herbig A., Bos K. I. Mining metagenomic data sets for ancient DNA: recommended protocols for authentication. *Trends in Gen*. 2017; 33(8): 508–520.
7. Guellil M., Kersten O., Namouchi A., Bauer E. L., Derrick M., Jensen A. Ø., Bramanti B. Genomic blueprint of a relapsing fever pathogen in 15th century Scandinavia. *Proc Nat Acad Sci*. 2018; 115 (41): 10422–10427.
8. Drancourt M., Tran-Hung L., Courtin J., Lumley H. D., Raoult D. *Bartonella quintana* in a 4000-year-old human tooth. *J Infect Dis*. 2005; 191 (4), 607–611.
9. Kay G. L., Sergeant M. J., Giuffra V., Bandiera P., Milanese M., Bramanti B., Pallen M. J. Recovery of a medieval *Brucella melitensis* genome using shotgun metagenomics. *MBio*. 2014; 5 (4).
10. Maixner F., Krause-Kyora B., Turaev D., Herbig A., Hoopmann M. R., Hallous J. L., O'Sullivan N. The 5300-year-old *Helicobacter pylori* genome of the Iceman. *Science*. 2016; 351 (6269): 162–165.
11. Rafi A., Spiegelman M., Stanford J., Lemma E., Donoghue H., Zias J. *Mycobacterium leprae* DNA from ancient bone detected by PCR. *The Lancet*. 1994; 343 (8909): 1360–1361.
12. Hershkovitz I., Donoghue H.D., Minnikin D.E., Besra G.S., Lee O-Y, Ger-naey A.M., Galili E., Eshed V., Greenblatt C.L., Lemma E., Bar-Gal G.K., Spiegelman M. Detection and molecular characterization of 9,000-year-old *Mycobacterium tuberculosis* from a Neolithic settlement in the Eastern Mediterranean. *PLoS One*. 2008; 3: e3426. doi: 10.1371/journal.pone.0003426.
13. Zhou Z., Lundström I., Tran-Dien A. et al. Pan-genome Analysis of Ancient and Modern *Salmonella enterica* Demonstrates Genomic Stability of the Invasive Para C. Lineage for Millennia. *Curr Biol*. 2018; 28 (15): 2420–2428. e10. doi: 10.1016/j.cub.2018.05.058.
14. Schuenemann V. J., Kumar Lankapalli A., Barquera R., Nelson E. A., Iraiz Hernández, D., Acuña Alonzo, V., Krause J. Historic *Treponema pallidum* genomes from Colonial Mexico retrieved from archaeological remains. *PLoS Neglected Trop Dis*. 2018; 12 (6): e0006447.
15. Devault A.M. et al. Second-pandemic strain of *Vibrio cholerae* from the Philadelphia cholera outbreak of 1849. *N Engl J Med*. 2014; 370: 334–340. doi: 10.1056/NEJMoal308663.
16. Spyrou M.A., Tukhbatova R.I., Wang C. et al. Analysis of 3800-year-old *Yersinia pestis* genomes suggests Bronze Age origin for bubonic plague. *Nat Commun*. 2018; 9 (2234): doi: 10.1038/s41467-018-04550-9.
17. Mühlemann B., Jones T.C., Damgaard P. et al. Ancient hepatitis B viruses from the Bronze Age to the Medieval period. *Nature*. 2018; 557: 418–423. doi: 10.1038/s41586-018-0097-z.
18. Taubenberger J., Reid A., Lourens R., Wang R., Jin G., Fanning T. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature*. 2005; 437 (7060): 889–893. doi:10.1038/nature04230.
19. Mühlemann B., Vinner L., Margaryan A., Wilhelmson H., de la Fuente Castro C., Allentoft M. E., Bill J. Diverse variola virus (smallpox) strains were widespread in northern Europe in the Viking Age. *Science*. 2020; 369 (6502).
20. Aufderheide A. C., Salo W., Madden M., Streitz J., Buikstra J., Guhl E, Arriaza B., Renier C., Wittmers L. E., Jr., Fornaciari G., Allison M. A 9,000-year record of Chagas' disease. *Proc Nat Acad Sci United States of America*. 2004; 101: 2034–2039.
21. Nerlich A. G., Schraut B., Dittrich S., Jelinek T., Zink A. R. *Plasmodium falciparum* in Ancient Egypt. *Emerg Infect Dis*. 2008; 14: 1317–1319.
22. Petri R. S., Martínez J. G., Mondini M., Fugassa, M. H. Ancient parasitic DNA reveals *Toxascaris leonina* presence in Final Pleistocene of South America. *Parasitology* 2019; 146 (10): 1284–1288.
23. Taylor G.M., Crosse J., Saldanha J., Waldron T. *Mycobacterium tuberculosis* identified in mediaeval human skeletal remains using polymerase chain reaction. *J Archaeol Sci*. 1996; 23: 789–798.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-115-50417

24. Rothschild B.M., Martin L.D., Lev G., Bercovier H., Bar-Gal G.K. et al. *Mycobacterium tuberculosis* complex DNA from an extinct bison dated 17,000 years before the present. *Clin Infect Dis*. 2001; 33: 305–311.
25. Schuenemann V. J., Avanzi C., Krause-Kyora B., Seitz A., Herbig A., Inskip S., Taylor G. M. Ancient genomes reveal a high diversity of *Mycobacterium leprae* in medieval Europe. *PLoS pathogens*. 2018; 14 (5): e1006997.
26. Kolman C. J., Centurion-Lara A., Lukehart S. A., Owsley D. W., Tuross N. Identification of *Treponema pallidum* subspecies pallidum in a 200-year-old skeletal specimen. *Infect Dis*. 1999;180(6): 2060–2063.
27. Simón M., Montiel R., Smerling A., Solórzano E., Díaz N., Álvarez-Sandoval B. A., Malgosa, A. Molecular analysis of ancient caries. *Proc Royal Society B: Biol Sci*. 2014; 281 (1790): 20140586.
28. Bos K. I., Schuenemann V.J., Golding G. B., Burbano H. A., Waglechner N., Coombes, B. K., Wood J. A draft genome of *Yersinia pestis* from victims of the Black Death. *Nature*. 2011; 478 (7370): 506–510.
29. Haensch S., Bianucci R., Signoli M., Rajerison M., Schultz M., Kacki S., Carniel E. Distinct clones of *Yersinia pestis* caused the black death. *PLoS Pathog*. 2010; 6 (10): e1001134.
30. Namouchi A., Guellil M., Kersten O., Hänsch S., Ottoni C., Schmid B. V., Derrick M. Integrative approach using *Yersinia pestis* genomes to revisit the historical landscape of plague during the Medieval Period. *Proc Nat Acad Sci*. 2018; 115 (50): E11790-E11797. doi: 10.1073/pnas.1812865115.
31. Harbeck M., Seifert L., Hänsch S., Wagner D. M., Birdsell D., Parise K. L., Zöller L. *Yersinia pestis* DNA from skeletal remains from the 6th century AD reveals insights into Justinianic Plague. *PLoS Pathogens*. 2013; 9 (5): e1003349.
32. Feldman, M., Harbeck, M., Keller, M., Spyrou, M. A., Rott, A., Trautmann, B., Bos K. A high-coverage *Yersinia pestis* genome from a sixth-century Justinianic plague victim. *Molecular biology and evolution*, 2016: 33 (11); 2911–2923.
33. Rasmussen S., Allentoft M., Nielsen K., Orlando L., Sikora M., Pedersen A., Epimakhov A. Early divergent strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 years ago. *Cell*. 2015; 163 (3): 571–582.
34. Alcamí A. Was smallpox a widespread mild disease? *Science*. 2020; 369 (6502): 376–377. doi: 10.1126/science.abd1214.
35. Morono Y., Ito M., Hoshino T. et al. Aerobic microbial life persists in oxic marine sediment as old as 101.5 million years. *Nat Commun*. 2020; 11: 3626. doi: 10.1038/s41467-020-17330-1.
36. Gilichinsky D. A., Wilson G. S., Friedmann E. I., McKay C. P., Sletten R. S., Rivkina E. M., Shcherbakova V. A. Microbial populations in Antarctic permafrost: biodiversity, state, age, and implication for astrobiology. *Astrobiology*. 2007; 7 (2): 275–311.
37. Vishnietskaya T. A., Kathariou S. Putative transposases conserved in *Exiguobacterium* isolates from ancient Siberian permafrost and from contemporary surface habitats. *App Envir Microbiol*. 2005; 71 (11): 6954–6962.
38. Hueffer K., Drown D., Romanovsky V., Hennessy T. Factors Contributing to Anthrax Outbreaks in the Circumpolar North. *Ecohealth*. 2020; 17 (1): 174–180. doi:10.1007/s10393-020-01474-z.
39. Grigoriev S.E., Fisher D.C., Obadā T., Shirley E.A., Rountrey A.N., Savvinov G.N., Garmaeva D.K., Novgorodov G.P., Cheprasov M.Y., Vasilev S.E., Goncharov A.E., Masharskiy A., Egorova V.E., Petrova P.P., Egorova E.E., Akhremenko Ya.A., van der Plicht J., Galanin A.A., Fedorov S.E., Ivanov E.V., Tikhonov A.N. A woolly mammoth (*Mammuthus primigenius*) carcass from Maly Lyakhovskiy Island (New Siberian Islands, Russian Federation). *Quaternary Int*. 2017; 445: 89–103.
40. Goncharov A., Grigorjev S., Karaseva A. et al. Draft Genome Sequence of *Enterococcus faecium* Strain 58m. Isolated from Intestinal Tract Content of a Woolly Mammoth, *Mammuthus primigenius*. *Genome Announc*. 2016; 4(1): e01706-15. Published 2016 Feb 11. doi:10.1128/genomeA.01706-15.
41. Timofeev V., Bahtejeva I., Mironova R. et al. Insights from *Bacillus anthracis* strains isolated from permafrost in the tundra zone of Russia. *PLoS One*. 2019; 14 (5): e0209140. Published 2019 May 22. doi:10.1371/journal.pone.0209140.
42. Dabernat H., Thèves C., Bouakaze C., Nikolaeva D., Keyser C., Mokrousov I., Gérard A., Duchesne S., Gérard P., Alexeev A.N., Crubézy E., Ludes B. Crubézy E. Tuberculosis epidemiology and selection in an autochthonous Siberian population from the 16th–19th century. *PLoS One*. 2014; 9b (2): e89877. doi: 10.1371/journal.pone.0089877.
43. Biagini P., Thèves C., Balaesque P. et al. Variola virus in a 300-year-old Siberian mummy. *N Engl J Med*. 2012; 367 (21): 2057–2059. doi:10.1056/NEJMc1208124.
44. Sajjad W., Rafiq M., Din G., et al. Resurrection of inactive microbes and resistome present in the natural frozen world: Reality or myth? [published correction appears in *Sci Total Environ*. *Sci Total Environ*. 2020; 735: 139275. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.139275.

45. *D'Costa V. M., King C. E., Kalan L., Morar M., Sung W. W., Schwarz C., Golding G. B.* Antibiotic resistance is ancient. *Nature*. 2011; 477 (7365): 457–461.
46. *Petrova M., Gorlenko Z., Mindlin S.* Tn5045, a novel integron-containing antibiotic and chromate resistance transposon isolated from a permafrost bacterium. *Res Microbiol*. 2011; 162: 337–345.
47. *Petrova M., Kurakov A., Shcherbatova N., Mindlin S.* Genetic structure and biological properties of the first ancient multiresistance plasmid isolated from a permafrost bacterium. *Microbiology*. 2014; 160 (10): 2253–2263. doi: 10.1099/mic.0.079335-0.
48. *Kerfahi D., Tripathi B. M., Dong K., Kim M., Kim H., Slik J. F., Adams J. M.* From the high Arctic to the equator: do soil metagenomes differ according to our expectations? *Microb Ecol*. 2019; 77 (1): 168–185.

Информация об авторах

Гончаров Артемий Евгеньевич — д. м. н., заведующий лабораторией функциональной геномики и протеомики микроорганизмов ФГБНУ Институт экспериментальной медицины; профессор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Российская Федерация; доцент кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Колодziejева Виктория Васильевна — к. м. н., доцент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный университет им. И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

About the authors

Artemy E. Goncharov — D. Sc. in medicine, Institute of Experimental Medicine, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russian Federation

Viktoria V. Kolodzhieva — Ph. D. in medicine, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russian Federation

Бета-лактамы — препараты резерва для лечения лекарственно-резистентного туберкулёза

*Г. Н. МОЖОКИНА, А. Г. САМОЙЛОВА, И. А. ВАСИЛЬЕВА

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» МЗ РФ, Москва, Российская Федерация

Beta-Lactam Antibiotics As Reserve Medications For The Treatment of Drug-Resistant Tuberculosis

*GALINA N. MOZHOKINA, ANASTASIA G. SAMOILOVA, IRINA A. VASILYEVA

National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow, Russian Federation

Резюме

В обзорной статье представлен анализ данных литературы о необходимости расширения спектра препаратов с противотуберкулёзной активностью для лечения наиболее тяжёлых форм лекарственно-устойчивого туберкулёза за счёт применения бета-лактамов в схемах химиотерапии. Показан механизм действия бета-лактамов на микобактерии туберкулёза и представлены результаты исследований *in vitro* по оценке их противотуберкулёзной активности. Клинические исследования по применению карбапенемов доказывают перспективность их использования для лечения больных туберкулёзом с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя.

Ключевые слова: лекарственно-устойчивый туберкулёз; бета-лактамы; карбапенемы; противотуберкулёзная активность.

Для цитирования: Можоккина Г. Н., Самойлова А. Г., Васильева И. А. Бета-лактамы — препараты резерва для лечения лекарственно-резистентного туберкулёза. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66 (5–6): 78–85. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-78-85.

Abstract

The review article presents an analysis of literature data on the necessity to expand the range of medications possessing anti-tuberculosis activity for the treatment of the most severe forms of drug-resistant tuberculosis through the use of beta-lactam antibiotics in chemotherapy regimens. The mechanism of action of beta-lactam antibiotics on mycobacterium tuberculosis is shown, and the results of *in vitro* studies to assess their anti-tuberculosis activity are presented. Clinical studies on the use of carbapenems prove the feasibility of their use for the treatment of patients with tuberculosis with multiple and extensive drug resistance of the pathogen.

Keywords: drug-resistant tuberculosis; beta lactams; carbapenems; anti-tuberculosis activity.

For citation: Mozhokina G. N., Samoilova A. G., Vasilyeva I. A. Beta-lactam antibiotics as reserve medications for the treatment of drug-resistant tuberculosis. *Antibiot i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66 (5–6): 78–85. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-78-85.

Введение

Стратегия борьбы с туберкулёзом (ТБ) Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) направлена на снижение ежегодной заболеваемости и достижения к 2030 г. прекращения эпидемии туберкулёза. Как отмечается в ежегодном рапорте, уровень заболеваемости ТБ в мире в целом снижается, но не достаточно быстро, чтобы достичь запланированных контрольных цифр к 2020 г., а Российская Федерация, как

страна с высоким бременем туберкулёза, находится на пути к достижению этого рубежа [1]. Однако заболеваемость туберкулёзом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя (т. е. к основным препаратам — рифампицину и изониазиду) (ТБ МЛУ) продолжает вызывать озабоченность: в 2019 г. число заболевших в мире выросло за год на 10%.

Лечение ТБ МЛУ является сложной задачей, а показатель успешности лечения МЛУ ТБ в мире в 2019 г. составил 57%, а в России — 35,7% по кри-

терию абациллирования [2]. Длительный курс лечения (до 20–24 мес.), плохая переносимость химиотерапии вследствие развития нежелательных реакций на противотуберкулёзные препараты (ПТП) ведут к нарушениям режима, снижению мотивации больных к лечению, нарастанию лекарственной устойчивости микобактерий (МБТ), и как следствие — неоптимальным результатам лечения при высокой затратности [3–5]. Расширение спектра лекарственной устойчивости (дополнительно к фторхинолонам и к одному из аминокликозидов или полипептиду) сформировало особую категорию возбудителя с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) МБТ. Факторами риска развития ШЛУ признаны наличие распространённого деструктивного процесса в лёгких, неустановленная первичная МЛУ МБТ при применении эмпирической схемы терапии из комбинации ПТП основного и резервного рядов [6]. По заключению ТБ Альянса [7], возникла острая необходимость в более коротком и безопасном лечении больных туберкулёзом с МЛУ и ШЛУ возбудителя.

Для преодоления сложностей, связанных с лечением ТБ МЛУ, ВОЗ рекомендовала разработать индивидуализированные схемы на основе результатов тестирования лекарственной чувствительности и в соответствии с новыми группировками ПТП [8]. Согласно новым дефинициям, принятым ВОЗ в 2021 г. [9], в схемах лечения пациентов с ШЛУ туберкулёзом не могут быть полноценно использованы эффективные препараты группы А, и назначаются препараты из групп В и С. В группу С внесены традиционные ПТП резерва, а также бета-лактамы — имипенем и меропенем. В настоящее время применение бета-лактамов для лечения ШЛУ ТБ — современный тренд мировой борьбы с туберкулёзом [10–12].

Механизм действия бета-лактамовых антибиотиков на микобактерии туберкулёза

Ферменты, участвующие в биосинтезе, деградации, ремоделировании и рециркуляции пептидогликана, снова стали привлекательными мишенями для воздействия на микобактерии туберкулёза [13]. До недавнего времени существовала догма, согласно которой МБТ обладают естественной устойчивостью к бета-лактамам. Две основные гипотезы заключались в том, что бета-лактамы не могут проникать через внешнюю мембрану микобактерий, и что бета-лактамы расщепляются β -лактамазой [14, 15].

Бета-лактамовые антибиотики ингибируют пенициллин-связывающие белки (ПСБ), которые необходимы для сшивания зрелой пептидогликановой цепи, препятствуют синтезу клеточной

стенки и, соответственно, ведут клетки к гибели. В геноме МБТ определены четыре основных ПСБ, 3 из которых с молекулярной массой 94, 82, 52 кДа, являются критическими мишенями. Исследования проницаемости клеточной стенки микобактерий показали, что, несмотря на медленное проникновение бета-лактамов к целевым ПСБ, основной детерминантой устойчивости МБТ к ним является микобактериальная β -лактамаза, осуществляющая гидролиз β -лактамового кольца антибиотиков [16]. Наиболее значимой β -лактамазой является белок BlaC, обладающий широкой субстрат-специфичностью, включающей также карбопенемы, обычно устойчивые к действию β -лактамаз [17]. В дополнение к BlaC у МБТ выявлены три дополнительные β -лактамазы: BlaS, Rv0406c и Rv3677c, которые обеспечивают ещё более низкий уровень устойчивости к β -лактамовым антибиотикам [18]. ПСБ по структуре представляют собой ферменты D, D-транспептидазы (DDT), которые катализируют образование 4→3 транспептидных связей в сети пептидогликана (ПГ). Для ПГ микобактерий характерно наличие L, D-транспептидаз (LDT), которые катализируют образование 3→3 транспептидных связей, которые составляют от 60 до 80% поперечных сшивок у бактерий в стационарной фазе и 30–40% сшивок в реплицирующих клетках [19–21]. Ферменты LDT и DDT структурно не связаны и содержат разные аминокислотные остатки в своих активных центрах (цистеин и серин, соответственно). С. Baranowski и соавт. [22] доказали, что образующиеся 3→3 транспептидные связи в созревающем пептидогликане необходимы для стабилизации клеточной стенки и предотвращения лизиса. Большинство бета-лактамовых антибиотиков (пенициллины, цефалоспорины) ингибируют только DDT, поэтому они не могут полностью предотвращать сборку микобактериальных ПГ. Карбапенемы подавляют не только DDT, но также LDT, а также D, D-карбокситепептидазы [22–25].

Геном МБТ кодирует пять LDT (LdtMt1 — LdtMt5), доминантным является LdtMt2. МБТ, лишённые LdtMt2, имеют слабый рост, сниженную вирулентность, имеют деформированные клеточные стенки и проявляют повышенную чувствительность к бета-лактамам [20]. Эти фенотипы дополнительно усугубляются у микобактерий, лишённых как LdtMt2, так и LdtMt1 [21]. Проведённые исследования показали, что мутантные штаммы МБТ, в которых отсутствуют гены LdtMt1 и LdtMt2 имеют модифицированный пептидогликан, изменяющий физиологию и морфологию клеток; они ослаблены по вирулентности и проявляют повышенную чувствительность не только к амоксициллину, но также к гликопептидному антибиотику ванкомицину [21]. Потеря LdtMt5 на-

рушает целостность клеточной стенки, что приводит к повышенной восприимчивости к осмотическому стрессу и селективным карбапенемам (дорипенем, фаропенем) [26]. По данным V. Dubé и соавт. [27], цефалоспорины могут связывать LDT микобактерий, только до 1000 раз медленнее. Описан синергетический эффект карбапенемов с рифампицином, который наблюдался в отношении устойчивых к рифампицину клинических изолятов МБТ [28]. Кроме того, в исследовании S. Ramón-García и соавт. [29] было обнаружено, что активность рифампицина усиливается при совместном введении с несколькими цефалоспоридами *in vitro*, хотя основа этой синергии осталась неизвестной. Значимость LDT для МБТ продемонстрировали C. Baranowski и соавт. [22], сконструировав штамм Msm, у которого отсутствовала способность образовывать 3→3 поперечные сшивки. Было показано, что в созревающем пептидогликане LDT сшивки необходимы для стабилизации клеточной стенки и предотвращения лизиса. Клетки, не способные синтезировать LDT, имеют повышенную зависимость от сшивания DDT, поэтому одновременное ингибирование обоих процессов приводит к быстрой гибели клеток [22].

Влияние ингибиторов β-лактамазы на противотуберкулёзную активность бета-лактамов

Интерес к бета-лактамам для лечения туберкулёза возродился, отчасти благодаря открытию, что клавулановая кислота может действовать как необратимый ингибитор β-лактамазы BlaC микобактерий [30], а комбинация меропенема с клавуланатом стерилизовала реплицирующуюся культуру МБТ ШЛУ в течение 2 нед. после инкубации [31]. Позднее было показано, что меропенем действует как суицидный ингибитор LdtMt2, вызывая конформационные изменения в белке [32]. В исследовании [33] протестировали 28 штаммов МБТ (из них 16 МЛУ и 3 ШЛУ) на чувствительность к действию различных концентраций меропенема и амоксициллина по отдельности и в сочетании с клавуланатом, а также в тройной комбинации — амоксициллин + меропенем + клавуланат. Все 28 штаммов оказались устойчивы к меропенему при наивысшей испытанной концентрации (5 мг/л). Добавление клавуланата к меропенему снизило МПК меропенема в среднем более чем на 1,8 разведения. Из 24 штаммов, чувствительных к амоксициллину/клавуланату, только у одного МПК составила 0,9/2,5 мг/л. Комбинация амоксициллин + клавуланат + меропенем была наиболее активна против МЛУ / ШЛУ МБТ.

По мнению авторов, эта тройная комбинация может быть полезной для терапии для МЛУ / ШЛУ ТБ и, возможно, поможет снизить дальнейшее развитие устойчивости.

Бактерицидную активность в отношении МБТ лабораторного штамма H37Rv определили у фаропенема, имипенема, цефотаксима, цефалоридина и меропенема, а в присутствии клавуланата их МПК снижалась в 2–4–8 раз. Интересно, что и неактивные пенициллиновые антибиотики в сочетании с клавуланатом показали в 200 раз большую активность. Комбинации меропенема–клавуланата и амоксициллина–клавуланата протестировали на моделях острой и хронической аэрозольной инфекции туберкулёза у мышей BALB/c, однако эффективность была незначительной, что может быть связано с неудачным выбором доз для мышей на основе фармакокинетических исследований [34].

L. Davies Forsman и соавт. [35] изучали активность меропенема–клавуланата в отношении штаммов МЛУ и ШЛУ МБТ. 64 из 68 изолятов имели МПК 0,125–2 мг/л, причём МПК лабораторного чувствительного штамма H37Rv составляла 1 мг/л. Чувствительность изолятов к меропенему–клавуланату не коррелировала с уровнем устойчивости к ПТП [35]. В исследованиях [36] определяли МПК₅₀ биапенема и меропенема по отдельности в отношении 121 штамма МЛУ МБТ и в сочетании с различными ингибиторами β-лактамазы (сульбактам, тазобактам, клавуланат). Один меропенем уступал биапенему, но после добавления клавуланата или сульбактама меропенем проявлял наиболее сильную активность. Наибольший синергический эффект наблюдался при сочетании меропенема с сульбактамом (в отношении 62,8% штаммов) и наименьший — в 18,2% штаммов — при сочетании с клавуланатом. Однако при изучении мутаций в генах β-лактамазы (BlaC), ферментов DDT (DacB2) и LDT (LdtMt1) удалось установить, что у 3,3% из 121 изолятов с мутацией в BlaC наблюдались лучшие синергические эффекты при сочетании меропенема с клавуланатом и амоксициллином с клавуланатом.

Интересные результаты исследований представили K. A. Cohen и соавт. [37], которые протестировали 89 клинических изолятов из Южной Африки с различными спектрами устойчивости к ПТП и два эталонных штамма *M. tuberculosis*. 45% испытанных изолятов оказались сверхчувствительными к амоксициллину/клавуланату по сравнению с эталонными штаммами, в том числе 58% изолятов имели МЛУ и ШЛУ. На основе полногеномного секвенирования установлено, что сверхчувствительность к амоксициллину/клавуланату была характерна для изолятов в пределах генотипа LAM4, который широко распространён среди ШЛУ-ТБ в Южной Африке [37].

Применение бета-лактамов для лечения больных туберкулёзом

Клинических исследований по изучению эффективности использования бета-лактамов для лечения больных туберкулёзом немного и, как правило, они представляли собой небольшие серии наблюдений, без долгосрочной оценки безрецидивного излечения [38–41].

Результаты этих исследований были обобщены в систематическом обзоре 2016 г. [42] Только 7 из 160 исследований удовлетворяли критериям включения: два по эртапенему, одно по имипенему и четыре по меропенему, из них шесть исследований были ретроспективными. В когортах, в которых использовались карбапенемы, успех лечения колебался от 57,3 до 80,3% а коэффициенты конверсии культур варьировались от 60 до почти 95%. К сожалению, провести метаанализ авторам не удалось из-за большой разнородности данных и малой выборки для проведения количественного анализа.

В проспективном рандомизированном исследовании А. Н. Diason и соавт. [43], сравнили эффективность среднесуточного снижения количества колоний МБГ в мокроте больных туберкулёзом, которые получали 2 г меропенема в виде болюсной инфузии и пероральный препарат амоксициллин–клавуланат (500 мг/125 мг) каждые 8 ч, с аналогичными показателями у пациентов, получивших ежедневное лечение изониазидом, рифампицином, пипразинамидом и этамбутолом. Полученный результат по снижению микобактериальной нагрузки в посевах мокроты в первые 14 дней лечения позволил авторам сделать вывод о заметной бактерицидной активности меропенема с амоксициллином/клавулановой кислотой и перспективах для лечения туберкулёза с лекарственной устойчивостью.

В недавнем исследовании М. С. Rayen [44] были проанализированы результаты лечения 18 пациентов с ШЛУ-ТБ. Показатели успешного исхода и летальности составили, соответственно, 83,3 и 11,1%. Через 4 года у вылеченных пациентов рецидивов не наблюдалось. Никаких специфических побочных эффектов при лечении меропенемом/клавуланатом не было. Применяли меропенем в дозе 2 г трижды в сутки во время госпитализации, затем по 2 г дважды ежедневно во время фазы продолжения. Доза амоксициллина–клавуланата была 500 мг/125 мг трижды в день ежедневно. Показатель устойчивых успешных результатов лечения, наблюдаемый авторами, намного превосходил данные, представленные ВОЗ в 2014 г. (26%), что позволило предположить перспективность карбапенемов для лечения трудно поддающихся терапии слу-

чаев ШЛУ-ТБ. G. P. Mishra и J. A. Caminero [45] считают, что одной из причин значительно более успешных результатов, достигнутых в этом исследовании, была высокая доза меропенема. Что касается дозы амоксициллина, то рационально использовать комбинации с наименьшей дозировкой (250 мг/125 мг), т. к. амоксициллин не назначается против туберкулёза, а его низкая доза потенциально сведёт к минимуму побочные эффекты лекарственного взаимодействия.

Потенциал использования карбапенемов для лечения лекарственно-устойчивого туберкулёза был продемонстрирован в недавнем метаанализе [46] данных отдельных пациентов с МЛУ/ШЛУ-ТБ. Авторы попытались присвоить определённый вес каждому лекарству, с которым было положительно связано успешное лечение. Карбапенемы в этом ряду заняли третье место, уступив линезолиду и левофлоксацину.

S. P. van Rijn и соавт. [47] провели систематический обзор и метаанализ лечения карбапенемами МЛУ- и ШЛУ-ТБ, используя результаты 50 исследований, в которых было более 12 000 пациентов. Авторы обнаружили лучшие результаты у пациентов с ШЛУ-ТБ, получавших карбапенемы, по сравнению с традиционным лечением без каких-либо серьёзных побочных эффектов. Однако авторы обращают внимание, что клавуланат не является коммерчески доступным отдельно, и поэтому в настоящее время на практике невозможно назначать карбапенемы в сочетании с клавуланатом [47].

Хотя показатели успеха обнадеживают, схемы применения меропенема и имипенема требуют ежедневных нескольких внутривенных инъекций и, следовательно, госпитализации для лечения. В клинике Médecins Sans Frontières в Мумбаи, Индия, внедрили амбулаторное и домашнее ведение пациентов, получающих имипенем с помощью установки катетера в верхнюю полую вену, в комплексе с бедаквилином, деламаанидом, линезолидом, клофазимином. Из 70 пациентов (72,9% — ШЛУ-ТБ), благоприятные исходы были у 61,4% пациентов, смертность — у 31,4%, пациентов, и 4,3% были признаны неэффективными. Хотя результаты амбулаторных схем, содержащих имипенем, были многообещающими, всё-таки при оказании помощи было несколько проблем, связанных с ограниченной мобильностью из-за катетеризации, недостатка инфекционного контроля и места в доме пациентов для оптимального ухода [48].

V. R. de Jager и соавт. [12] предложили оптимизировать режим применения меропенема на основании результатов оценки ранней бактерицидной активности. Больным ТБ в течение 14 дней назначали меропенем или эртапенем в сочетании с пероральным амоксициллином/клавуланатом (1000 мг/62,5 мг каждые 12 ч). Меропенем

вводили в 2 режимах: однократно внутривенно капельно в течение 6 ч в дозе 6 г или внутривенно в дозе по 2 г через каждые 8 ч. Оба режима введения меропенема демонстрировали равную значительную раннюю бактерицидную активность и отсутствие неожиданных или серьёзных нежелательных явлений. В отличие от меропенема, применение эртапенема при его однократном внутримышечном введении в дозе 1 г не показало бактерицидной активности [12].

Нежелательные явления при применении карбапенемов

В большинстве клинических наблюдений отмечалась хорошая переносимость схем химиотерапии с включением карбапенемов. Чаще всего проявлялись нежелательные реакции, обусловленные внутривенным введением препаратов: гиперсаливация, тошнота, рвота и местные реакции (флебит, тромбофлебит). По данным [41], нежелательные явления при приёме имипенема/клавуланата и меропенема/клавуланата были зарегистрированы только в 5,4% и 6,5% случаев.

Тем не менее, у каждого препарата имеется свой потенциальный токсический профиль. Так, S. R. Norrby [49] отмечал потенциальную нейротоксичность имипенема/циластатина и меропенема, особенно выраженную у имипенема, которая при передозировке может вызывать судороги. Терапевтическая граница при использовании имипенема/циластатина значительно уже, поэтому этот препарат нельзя назначать в дозах, необходимых для лечения бактериального менингита. Меропенем значительно менее склонен к возникновению судорог и хорошо переносится, причём его можно вводить внутривенно с высокой скоростью без повышенного риска тошноты или рвоты. Поскольку нейротоксичность бета-лактамов антибиотиков, по-видимому, вызвана взаимодействием с рецепторами гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), другие препараты с аналогичным механизмом действия, такие как фторхинолоны, следует использовать с осторожностью в сочетании с карбапенемами. По данным исследований, проведённых С. Р. Ногник и соавт. [50], побочные эффекты на меропенем были более частыми, но менее серьёзными, по сравнению с имипенемом/циластатином, при использовании которого чаще были случаи судорожного припадка. В другой работе [51] не обнаружили повышения риска судорог у нейрохирургических пациентов, получавших имипенем или меропенем. Не выявили статистически значимой разницы при прямом сравнении имипенема и меропенема авторы исследования [52], хотя имипенем является более эпилептогенным.

Для всех бета-лактамов характерны аллергические реакции. По данным обзора [53], общая за-

регистрированная частота аллергии на карбапенемы составляет 0,3–3,7%. Авторы считают, что отсутствие перекрёстной чувствительности между отдельными карбапенемами предполагает возможность с осторожностью использовать альтернативный карбапенем у пациентов с зарегистрированной аллергией на эти препараты.

S. Sharifzadeh и соавт. [54] описывают особую реакцию организма с эозинофилией и системными симптомами (DRESS), также известную как синдром лекарственно-индуцированной гиперчувствительности. Сравнивая распространённость DRESS между различными группами антимикробных препаратов, оказалось, что в этом списке лидируют противотуберкулёзные препараты (42,13%), а на долю карбапенемов приходится 1,18%. Сообщается всего о 3 случаях DRESS, вызванных карбапенемами, в виде эозинофилии и поражения печени [54].

Перспективы использования бета-лактамов для лечения туберкулёза МЛУ/ШЛУ

В статье E. Story-Roller и G. Lamichhane [55] сделан акцент на важный момент для комплексной химиотерапии туберкулёза — отсутствие потенциального антагонизма между существующими противотуберкулёзными препаратами и бета-лактамами. Основные ограничения, связанные с использованием меропенема и имипенема, обусловлены режимом применения препаратов — 3–4-кратное внутривенное введение, поэтому появление пероральных биодоступных бета-лактамов открывает новые возможности для длительной химиотерапии туберкулёза [55].

Пероральный биодоступный карбапенем — тебипенем проявляет наиболее сильную активность в отношении клинических изолятов ТБ, включая штаммы МЛУ и ШЛУ с дальнейшим снижением МПК при добавлении к нему клавуланата [56].

Доказательства противотуберкулёзной активности перорального препарата биапенема в исследованиях *in vitro* и *in vivo*, а также данные фармакокинетики и безопасности у людей, по мнению ряда авторов, делают его ведущим кандидатом среди карбапенемов для лечения лекарственно-устойчивого туберкулёза [57, 58].

Недавно появился подкласс карбапенемов — пенемы, структурно отличающийся наличием атома серы, а не атома углерода в его бициклической кольцевой структуре, что приводит к улучшенной химической стабильности по сравнению с более старыми карбапенемами, такими как имипенем. Фаропенем — единственный препарат этого подкласса, который коммерчески доступен, хотя и не был одобрен FDA для использования в

США [55] Лекарственная форма пролекарства фаропенем медоксомил улучшила его пероральную биодоступность [59]. В исследованиях [60] определили более высокую бактерицидную активность фаропенема в отношении метаболически активных и нереплицирующих МБТ по сравнению с меропенемом. Преимущества фаропенема было показано Р. Kumar и соавт. [61], согласно которым образование аддукта фаропенема с LDT сшивками (преимущественно LdtMt1 и LdtMt2) было единственным, обнаруженным в конкурентных анализах со смесью карбапенемов. В работе [62] установлено, что фаропенем по сравнению с различными представителями карбапенемов демонстрирует в три–четыре раза более высокую скорость образования такого аддукта. Кроме того, при его метаболизме образуется дополнительное соединение, связанное с каталитическим остатком цистеина в LDT, которое стабилизирует эту связь. D. Deshpande и соавт. [63] провели эксперимент на модели полого волокна (hollow fiber model). Комбинация линезолид + моксифлоксацин по скорости бактерицидного действия уступала стандартной схеме изониазид + рифампин + пиперазид. Добавление фаропенема к двойной комбинации значительно повысило эффективность и позволило создать пероральный режим фаропенем + линезолид + моксифлоксацин (FLAME), который можно рекомендовать для лечения туберкулёза с МЛУ возбудителя [63]. По данным обзора [55] в настоящее время проводится второе клиническое испытание, сравнивающее

раннюю бактерицидную активность фаропенем + амоксициллин / клавуланат с изониазидом и пиперазидом [NCT02381470].

Заключение

Прогрессивный рост распространения туберкулёза с ШЛУ возбудителя диктует необходимость разработки новых схем химиотерапии с использованием резервных противотуберкулёзных препаратов в сочетании с различными антибиотиками, проявляющими антимикобактериальную активность. Бета-лактамы, в первую очередь, карбапенемы, при введении с ингибиторами β-лактамазы оказывают бактерицидное действие в отношении МЛУ и ШЛУ МБТ *in vitro*. Отсутствие антагонизма с ПТП и хорошая переносимость схем лечения с включением меропенема или имипенема способствуют повышению эффективности лечения больных с ШЛУ туберкулёзом.

Появление пероральных форм карбапенемов и пенемов открывает новые перспективы по применению этих препаратов для длительной химиотерапии. Клинические испытания по сравнению пероральных биопенема и фаропенема с меропенемом будут иметь большое практическое значение для определения препаратов, наиболее пригодных для лечения лекарственно-устойчивого туберкулёза.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

- Global tuberculosis report 2020. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Основные показатели по туберкулёзу (ТБ) по России в 2015-2019 гг. [Electronic resource]. URL: https://mednet.ru/images/materials/CMT/tb_rf_osnovnye_pokazateli_2019.pdf (accessed: 14.03.2021). [Osnoynnye pokazateli po tuberkulezu (TB) po Rossii v 2015-2019 gg. (in Russian)]
- Pontali E., Raviglione M.C., Migliori G. B. the writing group members of the Global TB Network Clinical Trials Committee Regimens to treat multidrug-resistant tuberculosis: past, present and future perspectives. *Eur Respir J* 2019; 28: 190035; doi: 10.1183/16000617.0035-2019.
- Чумакова Е.С. Влияние побочных реакций противотуберкулёзных препаратов на эффективность лечения впервые выявленных больных туберкулёзом лёгких с млу возбудителя. Автореф. дисс. ...к.м.н. М.: 2017. [Chumakova E.S. Vliyaniye pobochnykh reaktsii protivotuberkuleznykh preparatov na effektivnost' lecheniya v pervyye vyyavlennykh bol'nykh tuberkulezom legkikh s mlu vobzuditelya. Avtoref. diss. ...k.m.n. Moscow, 2017 (in Russian)]
- Иванова Д.А. Нежелательные реакции при лечении впервые выявленных больных туберкулёзом органов дыхания: профилактика, ранняя диагностика и купирование. Автореф. дисс. ...д.м.н. М.: 2018. [Ivanova D.A. Nezhelatel'nye reaktsii pri lechenii v pervyye vyyavlennykh bol'nykh tuberkulezom organov dykhaniya: profilaktika, rannyya diagnostika i kupirovaniye. Avtoref. diss. ...d.m.n. Moscow, 2018. (in Russian)]
- Самойлова А.Г. Эффективность комплексного лечения больных туберкулёзом лёгких с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя и причины ее формирования. Автореф. дисс. ...д.м.н. М.: 2017. [Samoilova A.G. Effektivnost' kompleksnogo lecheniya bol'nykh tuberkulezom legkikh s shirokoi lekarstvennoy ustoichivost'yu vobzuditelya i prichiny ee formirovaniya. Avtoref. diss. ...d.m.n. Moscow, 2017 (in Russian)]
- Murray S., Mendel C., Spigelman M.T.B. Alliance regimen development for multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2016 Dec 1; 20 (12): 38–41.

- WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment ISBN 978-92-4-155052-9 © World Health Organization 2019.
- Working Group on New TB Drugs. WHO Updates Definition of XDR-TB <https://www.who.int/publications/i/item/meeting-report-of-the-who-expert-consultation-on-the-definition-of-extensively-drug-resistant-tuberculosis>.
- Gun M.A., Bozdogan B., Coban A. Y. Tuberculosis and beta-lactam antibiotics. *Fut Microbiol*. 2020; 15 (10) 7 Aug doi: 10.2217/fmb-2019-0318.
- Batchelder H R., Story-Roller E., Lloyd E. P., Kaushik A., Bigelow K M., Maggioncalda E C. et al. Development of a penem antibiotic against *Mycobacteroides abscessus*. *Com Biol*. 2020; 3: 741. doi: 10.1038/s42003-020-01475-2.
- de Jager V.R., Vanker N. van der Merwe L., van Brakel E., Muliaditan M., Diacon A. H. Optimizing β-Lactams against Tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020 May 1; 201 (9): 1155–1157. doi: 10.1164/rccm.201911-2149LE.
- Maitra A., Munshi T., Healy J., Martin L. T., Vollmer W., Keep N.H., Bhakta S. Cell wall peptidoglycan in *Mycobacterium tuberculosis*: An Achilles' heel for the TB-causing pathogen. *FEMS Microbiol Rev*. 2019 Sep 1; 43 (5): 548–575. doi: 10.1093/femsre/fuz016
- Kasik J.E. The Nature of Mycobacterial Penicillinase. *Am Rev Respir Dis*. 1965; 91: 117–119. doi: 10.1164/arrd.1965.91.1.117.
- Finch R. Beta-lactam antibiotics and mycobacteria. *J Antimicrob Chemother*. 1986; 18 (1): 6–8. doi: 10.1093/jac/18.1.6.
- Chambers H. F., Moreau D., Yajko D., Müick C., Wagner C., Hackbarth C. et al. Can penicillins and other beta-lactam antibiotics be used to treat tuberculosis? *Antimicrob Agents Chemother*. 1995 Dec; 39 (12): 2620–4. doi: 10.1128/aac.39.12.2620.
- Wang F., Cassidy C., Sacchetti J.C. Crystal structure and activity studies of the *Mycobacterium tuberculosis* beta-lactamase reveal its critical role in resistance to beta-lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2006, 50 (8): 2762–71. doi: 10.1128/AAC.00320-06.
- Шура К.В. Изучение роли гена whiB7 и генов его регулона в природной устойчивости к антибиотикам у микобактерий. Автореф. Дисс. ...к.б.н. М.: 2017. [Shura K.V. Izuchenie roli gena whiB7 i genov ego regulona v prirodnoi ustoichivosti k antibiotikam u mikobakterii. Avtoref. Diss. ...k.b.n. Moscow, 2017 (in Russian)]

19. Lavollay M., Arthur M., Fourceaud M., Dubost L., Marie A., Veziris N., et al. The peptidoglycan of stationary-phase *Mycobacterium tuberculosis* predominantly contains cross-links generated by L,D-transpeptidation. *J Bacteriol.* 2008; 190 (12): 4360–4366. doi: 10.1128/JB.00239-08.
20. Gupta R., Lavollay M., Mainardi J.L., Arthur M., Bishai W.R., Lamichhane G. The *Mycobacterium tuberculosis* protein LdtMt2 is a nonclassical transpeptidase required for virulence and resistance to amoxicillin. *Nat Med.* 2010; 16 (4): 466–469. doi: 10.1038/nm.2120.
21. Schoonmaker M.K., Bishai W.R., Lamichhane G. Nonclassical transpeptidases of *Mycobacterium tuberculosis* alter cell size, morphology, the cytosolic matrix, protein localization, virulence, and resistance to beta-lactams. *J Bacteriol.* 2014; 196 (7): 1394–1402. doi: 10.1128/JB.01396-13
22. Baranowski C., Welsh M.A., Sham L.T., Eskandarian H.A., Lim H.C., Kieser K.J., et al. Maturing *Mycobacterium smegmatis* peptidoglycan requires non-canonical crosslinks to maintain shape. *eLife* 2018; 7: e37516. doi: 10.7554/eLife.37516.
23. Kumar P., Arora K., Lloyd J.R., Lee I.Y., Nair V., Fischer E., et al. Meropenem inhibits D,D-carboxypeptidase activity in *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Microbiol.* 2012; 86 (2): 367–381. doi: 10.1111/j.1365-2958.2012.08199.x.
24. Cordillot M., Dubée V., Triboulet S., Dubost L., Marie A., Hugonnet J.-E., et al. *In vitro* cross-linking of *Mycobacterium tuberculosis* peptidoglycan by L,D-transpeptidases and inactivation of these enzymes by carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Dec; 57 (12): 5940–5. doi: 10.1128/AAC.01663-13.
25. García-Heredia A., Pohane A.A., Melzer E.S., Carr C.R., Fiolek T.J., Rundell S.R., et al. Peptidoglycan precursor synthesis along the sidewall of pole-growing mycobacteria. *eLife* 2018; 7: e37243. doi.org/10.7554/eLife.37243.001.
26. Basta L.A.B., Ghosh A., Pan Y., Jakoncic J., Lloyd E.P., Townsend C.A., et al. Loss of a Functionally and Structurally Distinct L, D-Transpeptidase, LdtMt5, Compromises Cell Wall Integrity in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Biol Chem.* 2015; 290 (42): 25670–85. doi: 10.1074/jbc.M115.660753.
27. Dubée V., Triboulet S., Mainardi J.L., Ethève-Quellejeu M., Gutmann L., Marie A., et al. Inactivation of *Mycobacterium tuberculosis* L,d-transpeptidase LdtMt1 by carbapenems and cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Aug; 56 (8): 4189–95. doi: 10.1128/AAC.00665-12.
28. Kaushik A., Makkar N., Pandey P., Parrish N., Singh U., Lamichhane G. Carbapenems and Rifampin Exhibit Synergy against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium abscessus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Oct; 59 (10): 6561–7. doi: 10.1128/AAC.01158-15.
29. Ramón-García S., González Del Río R., Villarejo A.S., Sweet G.D., Cunningham F., Barros D. Repurposing clinically approved cephalosporins for tuberculosis therapy. *Sci Rep.* 2016 Sep 28; 6: 34293. doi: 10.1038/srep34293.
30. Hugonnet J.-E., Blanchard J.S. Irreversible inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis* β -lactamase by clavulanate. *Biochemistry.* 2007; 46: 11998–12004. doi: 10.1021/bi701506h.
31. Hugonnet J.E., Tremblay L.W., Boshoff H.L., Barry C.E. 3rd, Blanchard J.S. Meropenem-clavulanate is effective against extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Science.* 2009 323: 1215–8. doi: 10.1126/science.1167498.
32. Kim H.S., Kim J., Im H.N., Yoon J.Y., An D.R., Yoon H.J., et al. Structural basis for the inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* L, D-transpeptidase by meropenem, a drug effective against extensively drug-resistant strains. *Acta Crystallogr Sect D.* 2013; 69: 420–31 doi: 10.1107/S0907444912048998.
33. Gonzalo X., Drobniowski F. Is there a place for β -lactams in the treatment of multidrug-resistant/extensively drug-resistant tuberculosis? Synergy between meropenem and amoxicillin/clavulanate. *J Antimicrob Chemother.* 2013 Feb; 68 (2): 366–9. doi: 10.1093/jac/dks395.
34. Solapure S., Dinesh N., Shandil R., Ramachandran V., Sharma S., Bhattacharjee D., et al. *In vitro* and *in vivo* efficacy of beta-lactams against replicating and slowly growing/nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 57 (6): 2506–2510. doi: 10.1128/AAC.00023-13.
35. Davies Forsman L., Giske C.G., Bruchfeld J., Schön T., Juréen P., Ångeby K. Meropenem-clavulanate has high *in vitro* activity against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Mycobacteriol.* 2015 Mar; 4 (Suppl 1): 80–1. doi: 10.1016/j.ijmyco.2014.10.018.
36. Zhang D., Wang Y., Lu J., Pang Y. *In Vitro* activity of β -lactams in combination with β -lactamase inhibitors against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Nov 2; 60 (1): 393–9. doi: 10.1128/AAC.01035-15.
37. Cohen K.A., El-Hay T., Wyrles K.L., Weissbrod O., Munsamy V., Yanover C., et al. Paradoxical hypersusceptibility of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* to β -lactam Antibiotics. *EBioMedicine.* 2016 Jul; 9: 170–179. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.05.041.
38. Payen M.C., De Wit S., Martin C., Sergysels R., Muylle L., Van Laethem Y., Clumeck N. Clinical use of the meropenem-clavulanate combination for extensively drug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2012 Apr; 16 (4): 558–60. doi: 10.5588/ijtld.11.0414.
39. Palmero D., González Montaner P., Cufre M., García A., Vescovo M., et al. First series of patients with XDR and pre-XDR TB treated with regimens that included meropenem-clavulanate in Argentina. *Arch. Bronconeumol.* 2015; 51, e49–e52.
40. De Lorenzo S., Alffenaar J.W., Sotgiu G., Centis R., D'Ambrosio L., Tiberi S., et al. Efficacy and safety of meropenem-clavulanate added to linezolid-containing regimens in the treatment of MDR-/XDR-TB. *Eur Respir J.* 2013 Jun; 41 (6): 1386–92. doi: 10.1183/09031936.00124312.
41. Tiberi S., Payen M.C., Sotgiu G., D'Ambrosio L., Alarcon Guizado, V., et al. Effectiveness and safety of meropenem/clavulanate-containing regimens in the treatment of MDR- and XDR-TB. *Eur Respir J.* 2016 Apr; 47 (4): 1235–43. doi: 10.1183/13993003.02146-2015.
42. Sotgiu G., D'Ambrosio L., Centis R., Tiberi S., Esposito S., et al. Carbapenems To Treat Multidrug And Extensively Drug-Resistant Tuberculosis: A Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2016 Mar 12; 17 (3): 373. doi: 10.3390/ijms17030373.
43. Diacon A.H., van der Merwe L., Barnard M., von Groote-Bidlingmaier F., Lange C., García-Basteiro A.L., et al. β -Lactams against Tuberculosis — New Trick for an Old Dog? *New Eng J Med.* 2016; 375: 393–94. doi: 10.1056/NEJMc1513236.
44. Payen M.C., Muylle L., Vandenberg O., Mathys V., Delforge M., Van den Wijngaert S., et al. Meropenem-clavulanate for drug-resistant tuberculosis: a follow-up of relapse-free cases. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2018 Jan 1; 22 (1): 34–39. doi: 10.5588/ijtld.17.0352.
45. Mishra G.P., Caminero J.A. Low-dose amoxicillin-clavulanate in drug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2018 Apr 1; 22 (4): 465. doi: 10.5588/ijtld.18.0055.
46. Ahmad N., Ahuja S.D., Akkerman O.W., Alffenaar J.C., Anderson L.F., Baghaei P., et al. Collaborative Group for the Meta-Analysis of Individual Patient Data in MDR-TB treatment–2017, Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug-resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis. *Lancet.* 2018 Sep 8; 392 (10150): 821–834. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31644-1.
47. van Rijn S.P., Zuur M.A., Anthony R., Wilffert B., van Altena R., Akkerman O.W., et al. Evaluation of Carbapenems for Treatment of Multi- and Extensively Drug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019 Jan 29; 63 (2): e01489-18. doi: 10.1128/AAC.01489-18.
48. Chavan V.V., Dalal A., Nagaraja S., Thekkur P., Mansoor H., Meneguim A., et al. Ambulatory management of pre- and extensively drug resistant tuberculosis patients with imipenem delivered through port-a-cath: A mixed methods study on treatment outcomes and challenges. *PLoS ONE.* 2020; 15 (6): e0234651. doi: 10.1371/journal.pone.0234651.
49. Norrby S.R. Carbapenems in serious infections: a risk-benefit assessment. *Drug Saf.* 2000 Mar; 22 (3): 191–4. doi: 10.2165/00002018-200022030-00003.
50. Hornik C.P., Herring A.H., Benjamin D.K. Jr., Capparelli E.V., Kearns G.L., van den Anker J., et al. Best Pharmaceuticals for Children Act–Pediatric Trials Network. Adverse events associated with meropenem versus imipenem/cilastatin therapy in a large retrospective cohort of hospitalized infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2013 Jul; 32 (7): 748–53. doi: 10.1097/INF.0b013e31828be70b.
51. Wu Y., Chen K., Shi Z., Wang Q. A retrospective study on the incidence of seizures among neurosurgical patients who treated with imipenem/cilastatin or meropenem. *Curr Pharm Biotechnol.* 2014; 15 (8): 685–90. doi: 10.2174/1389201015666140717090143.
52. Cannon J.P., Lee T.A., Clark N.M., Setlak P., Grim S.A. The risk of seizures among the carbapenems: a meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2014 Aug; 69 (8): 2043–55. doi: 10.1093/jac/dku111.
53. Lee Y., Bradley N. Overview and Insights into Carbapenem Allergy. *Pharmacy (Basel).* 2019 Aug 8; 7 (3): 110. doi: 10.3390/pharmacy7030110.
54. Sharifzadeh S., Mohammadpour A.H., Tavanaee A., Elyasi S. Antibacterial antibiotic-induced drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS) syndrome: a literature review. *Eur J Clin Pharmacol.* 2021 Mar; 77 (3): 275–289. doi: 10.1007/s00228-020-03005-9.
55. Story-Roller E., Lamichhane G. Have we realized the full potential of β -lactams for treating drug-resistant TB? Story-Roller E., Lamichhane G. *IUBMB Life.* 2018 Sep; 70 (9): 881–888. doi: 10.1002/iub.1875.
56. Horita Y., Maeda S., Kazumi Y., Doi N. *In vitro* susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* isolates to an oral carbapenem alone or in combination with β -lactamase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58 (11): 7010–7014. doi:10.1128/AAC.03539-14.
57. Perry C.M., Ibbotson T. Biapenem. *Drugs.* 2002; 62 (15): 2221–34; discussion 2235. doi: 10.2165/00003495-200262150-00005.
58. Kaushik A., Ammerman N.C., Tasneen R., Story-Roller E., Dooley K.E., Dorman S.E., Nuermberger E.L., Lamichhane G. *In vitro* and *in vivo* activity of biapenem against drug-susceptible and rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *J Antimicrob Chemother.* 2017 Aug 1; 72 (8): 2320–2325. doi: 10.1093/jac/dkx152.
59. Srivastava S., Deshpande D., Pasipanodya J., Nuermberger E., Suaminathan S., Gumbo T. Optimal clinical doses of faropenem, linezolid, and moxifloxacin in children with disseminated tuberculosis: goldilocks. *Clin Infect Dis.* 2016 Nov 1; 63 (Suppl 3): S102–S109. doi: 10.1093/cid/ciw483.
60. Dhar N., Dubée V., Ballell L., Cuinet G., Hugonnet J.E., Signorino-Gelo F., et al. Rapid cytolysis of *Mycobacterium tuberculosis* by faropenem, an orally bioavailable β -lactam antibiotic. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Feb; 59 (2): 1308–19. doi: 10.1128/AAC.03461-14.

61. Kumar P, Kaushik A., Lloyd E.P, Li S.G., Mattoo R., Ammerman N.C. et al. Non-classical transpeptidases yield insight into new antibacterials. *Nat Chem Biol.* 2017 Jan; 13 (1): 54–61. doi: 10.1038/nchembio.2237.
62. Steiner E. M., Schneider G., Schnell R. Binding and processing of β -lactam antibiotics by the transpeptidase LdtMt2 from *Mycobacterium tuberculosis*. *FEBS J.* 2017; 284: 725–741. doi: 10.1111/febs.14010.
63. Deshpande D., Srivastava S., Nuermberger E., Pasipanodya J.G., Swaminathan S., Gumbo T.A. Faropenem, Linezolid, and Moxifloxacin Regimen for Both Drug-Susceptible and Multidrug-Resistant Tuberculosis in Children: FLAME Path on the Milky Way. *Clin Infect Dis.* 2016 Nov 1; 63 (Suppl 3): S95–S101. doi: 10.1093/cid/ciw474.

Информация об авторах

Можокина Галина Николаевна — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии и иммунодиагностики туберкулёзной инфекции ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Минздрава России, Москва (ФГБУ НМИЦ ФПИ), Москва, Российская Федерация

Самойлова Анастасия Геннадьевна — д. м. н., первый заместитель директора ФГБУ НМИЦ ФПИ МЗ РФ, Москва, Российская Федерация

Васильева Ирина Анатольевна — д. м. н., профессор, директор ФГБУ НМИЦ ФПИ МЗ РФ, Москва, Российская Федерация

About the authors

Galina N. Mozhokina — D. Sc. in medicine, National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow, Russian Federation

Anastasia G. Samoilova — D. Sc. in medicine, National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow, Russian Federation

Irina A. Vasilyeva — D. Sc. in medicine, National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow, Russian Federation

Рецензия на монографию: Ф.И. Ершов «История вирусологии от Д. И. Ивановского до наших дней». Научно-популярное издание. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2020; 280. doi: 10.33029/9704-5354-4-ISV-2020-1-280. ISBN 978-5-9704-5354-4

Review of the monograph: F. I. Ershov. «History of Virology from D. I. Ivanovsky to the present day». Popular science edition. Moscow: GEOTAR-Media; 2020; 280. doi: 10.33029/9704-5354-4-ISV-2020-1-280. ISBN 978-5-9704-5354-4

Отечественная литература по общей и медицинской вирусологии обширна и многочисленна. В ней вирусы и вирусные инфекции отражены исчерпывающе и представлены в отдельных монографиях и во всеохватывающих руководствах по вирусологии. Вместе с тем давно ощущалось отсутствие в нашей литературе, да и в мировой также, специального отдельного издания, посвящённого отечественной и мировой вирусологии. Хотя известны отдельные статьи и главы по исторической тематике в опубликованных руководствах по вирусологии.

Рецензируемая книга по вирусологии написана известным учёным-вирусологом Феликсом Ивановичем Ершовым, академиком РАН, который известен также как популяризатор вирусологической науки (автор нескольких книг) и даже как очаровательный художник-живописец. В этой книге вся вирусология излагается с позиций историзма и логической последовательности. Этому в полной мере способствовала энциклопедическая образованность автора.

Часть первая посвящена предыстории и естественно открытию вирусов Дмитрием Иосифовичем Ивановским, которое имеет всемирное признание. Рассматриваются вопросы эволюции знаний о вирусах и, что логично, представляется современная классификация вирусов.

Во второй части книги, названной «Тайное становится явным», автор рассказывает о строении вирионов, о специфических особенностях вируса и о широчайшем распространении вирусов на Земном шаре.

Часть третья, определяющая — «Вирусы против всего живого». В этой части книги рассматриваются вирусы против людей, а также вирусы против животных и растений. Автор в интересной и увлекательной форме представляет читателю распространённые вирусные инфекции, вызываемые вирусами гриппа, герпеса, вирусами гепатитов, ВИЧ/СПИД-вирусом и даже коронавирусами.

Часть четвертая «Человечество против вирусов». Представляются достижения в области контроля вирусных инфекций, рассказывается о вакцинах, химиопрепаратах, интерфероне. Мы

добавляем, что создание высокоспецифичного препарата — противогерпесвирусного лекарства, нуклеозида ацикловир, избирательно подавляющего синтез вирусной ДНК, было удостоено Нобелевской премии (Гертруде Эллион).

Часть пятая «Нерешённые проблемы вирусологии». В ней представлены такие фундаментальные темы, как «родословная» вирусов, эволюция вирусов, вирусы и рак. Последняя тема исключительно актуальна и в наше время. Автор в чёткой и ясной форме излагает роль и значение вирусов в развитии злокачественных опухолей и проблему вирусного канцерогенеза от Пентона Рауса и Л.А.Зильбера до Темина и ЦурХаузена (Нобелевская премия).

В части шестой «Вирусы — друзья», как это ни парадоксально, представляются вирусы как инструменты для решения важных биомедицинских и сельскохозяйственных проблем.

Весь текст книги (её макет) полностью отражает её название.

Следует поблагодарить Ф. И. Ершова, что он, выполняя фактически сыновний долг, посвятил седьмую часть своей книги основателям отечественной вирусологии. Она отражает историзм отечественной и даже мировой вирусологии. Весь текст этой части проникнут чувством любви и глубокого уважения к нашим классикам — основателям отечественной вирусологической науки. Нельзя было не отразить (что автор и сделал) исторически значимый яркий эпизод вирусологии и медицины в целом — как открытие под руководством Л. А. Зильбера, при самом активном участии его сотрудников и учеников, этиологии тогда сугубо сибирского заболевания — широко распространённого заболевания энцефалит и открытие вируса клещевого энцефалита, т. е. открытие мирового масштаба, учитывая колоссальное по площади распространение этой тяжёлой инфекции, охватывающей территории Восточной Европы, Урала, огромного Сибирского региона и Дальнего Востока. Мы хотим дополнить, что в лаборатории Л. А. Зильбера был открыт специфический белок опухолей, фетопротейн. Эта разработка получила всемирную известность и

признание. Мы также дополняем, что Лев Александрович Зильбер был дважды удостоен звания Лауреат Государственной премии нашей страны.

Без волнения нельзя читать и о Михаиле Петровиче Чумакове, великом ученике Л. А. Зильбера. Очень точно отражён исключительно выдающийся вклад М. П. Чумакова в победу над полиомиелитом. Кратко, но достаточно информативно представлены материалы, посвящённые выдающемуся вирусологу нашей страны Анатолию Александровичу Смородинцеву и другому выдающемуся вирусологу Валентину Дмитриевичу Соловьёву.

Подробно и исчерпывающе представлен Виктор Михайлович Жданов — выдающийся вирусолог с мировым именем и деятель отечественного здравоохранения. Как ученик и многолетний соавтор В. М. Жданова, Ф. И. Ершов обоснованно включил интересный текст, характеризующий Жданова, как выдающуюся

личность. Это очень яркий психологический очерк.

Деятельность наших отцов-основателей отечественной вирусологии успешно продолжают их ученики и непосредственные последователи, а яркая деятельность Д. К. Львова, Н. В. Каверина, В. И. Агола, А. М. Бутенко, А. Ф. Бобкова и О. П. Жирнова получила мировую известность и признание, и автор книги в их числе.

Прекрасно написано заключение. В предельно сжатой форме излагается многогранная роль вирусов в жизни человечества. Вирусы — спутники всего живого. Ф. И. Ершов включил в свою книгу цветную репродукцию со своей очаровательной картины «Весна в Измайлово». Очень жизнеутверждающая живопись.

Книга Ф. И. Ершова несомненно заслуживает её перевода на английский язык. Книга представляет большой интерес для широкого круга читателей, а не только для медиков и биологов.

Авторы рецензии

Галегов Георгий Артемьевич — д. б. н., профессор, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, 123098, Москва, Российская Федерация

Пронин А. А. — д. б. н., профессор, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, 123098, Москва, Российская Федерация

About the authors

Georgy A. Galegov — D. Sc. in biology, Professor, National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Alexander A. Pronin — D. Sc. in biology, Professor, National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

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, наименования 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 указанных 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 метод» — с детальным описанием объектов исследований, методических приёмов и квалификации 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, химических, а также математических величин и терминов) не допускаются. Меры даются по Международной системе единиц (СИ) в русском обозначении, температура по шкале Цельсия.

10. Латинские названия микроорганизмов приводятся в соответствии с современной классификацией. При первом упоминании название микроорганизма 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 старческой 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 skringinga 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.

Противовирусный препарат

МНН Риамиловир

ТРИАЗАВИРИН[®]



ТРИАЗАВИРИН - оригинальный препарат группы азолоазинов. Препарат этиотропного действия широкого спектра противовирусной активности.

Механизм действия: ингибирование синтеза вирусных РНК и репликации геномных фрагментов.

- Обладает высокой противовирусной эффективностью.
- Хорошо переносится пациентами.
- Безопасен по показателям мутагенности и риску канцерогенеза.
- Отнесен к малотоксичным лекарственным средствам IV класса по острой, подострой и хронической токсичности.
- Не оказывает аллергизирующего и иммунотоксичного действия.

www.triazavirin.ru



Три активных компонента – комплексное действие



Специфически (in vitro) подавляет размножение вируса SARS-CoV-2, возбудителя новой коронавирусной инфекции



Усиливает барьерную функцию верхних дыхательных путей, за счет увеличения содержания секреторного иммуноглобулина А (sIg А)



Активизирует метаболическую активность клеток врожденного иммунитета



Повышает антиоксидантную защиту клеток и тканей

В исследованиях in vitro препарат специфически подавляет (ингибирует) размножение (репликацию) вируса SARS-CoV-2, который является возбудителем новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Степень ингибирования возбудителя возрастает с увеличением концентрации препарата (показана линейность зависимости доза-эффект). Снижает выраженность основных клинических симптомов гриппа и ОРВИ, а также сокращает продолжительность заболевания и способствует его неосложённому течению. Увеличивает содержание секреторного иммуноглобулина А (sIgА) в слизистой носоглотки – входных воротах инфекции, повышая местную иммунорезистентность организма к респираторным инфекциям вирусной и бактериальной природы. При профилактическом действии препарат повышает потенциальную метаболическую активность клеток врожденного иммунитета (нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов), что, в случае развития инфекции, увеличивает их способность к поглощению и разрушению бактериальных и вирусных агентов за счет усиления ферментативной (окислительной) активности, синтеза катионных белков и увеличения числа фагоцитирующих клеток. При этом исходное состояние метаболической активности клеток врожденного иммунитета, в отсутствие инфекционных агентов, не изменяется, находясь в пределах нормальных значений.

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. НЕОБХОДИМА КОНСУЛЬТАЦИЯ СПЕЦИАЛИСТА