

ISSN 0235-2990

# АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 67



3-4'2022

Научно-практический журнал

# Ремаксол для печени – время для жизни!



Ремаксол® — инфузионный гепатотропный препарат для терапии дисфункции печени различного генеза. Способствует:

- уменьшению выраженности синдрома цитолиза и холестаза
- снижению уровня перекисного окисления липидов
- восстановлению липидного обмена



Включен в  
ЖНВЛП

Реклама. ЛСР-009341/09 Информация предназначена для специалистов здравоохранения

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 67

3-4'2022

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

## АДРЕС РЕДАКЦИИ:

Нагатинская ул., д. 3а, Москва, 117105.  
Тел.: 89254723038  
E-mail: journalgnca@yandex.ru  
Зав. редакцией к. б. н. 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: апрель 2022

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:  
Ph. D. in biology 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: april 2022

Free price

ISSN 0235-2990

# ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Volume 67

3–4'2022

MONTHLY JOURNAL

**Editor-in-Chief**

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

**Deputy Editor-in-chief**

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

**RESPONSIBLE FOR THE ISSUE**

**Dmitry Yu. Belousov**

**MEMBERS OF EDITORIAL BOARD**

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

**Scientific Editors**

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

**MEMBERS OF EDITORIAL BOARD**

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

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

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

#### Экспериментальные статьи

- Самотруева М. А., Габитова Н. М., Генатуллина Г. Н., Старикова А. А., Башкина О. А., Тырков А. Г., Озеров А. А., Тюренок И. Н.  
Оценка антимикобактериальной активности вновь синтезированных производных пиримидина в отношении *Mycobacterium tuberculosis*  
Павлова Е. Н., Ерохина М. В., Рыбалкин Е. Ю., Поташикова Д. М., Масютин А. Г., Лепеха Л. Н., Эрешов А. Э.  
Влияние рифампицина на индукцию активности MDR1/P-gp в провоспалительных макрофагах человека  
Гордина Е. М., Божкова С. А., Шабанова В. В.  
Активность биापенема в отношении меропенем-устойчивых *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*  
Чапурин Ю. В., Мбарга М. Д. А., Сенягин А. Н., Подопригора И. В., Манар Рехайлия  
Оценка антибактериальной активности экстрактов коры *Betula pendula* (березы повислой) в отношении уропатогенных микроорганизмов

#### Клинические исследования и практика

- Иванова М. И., Иванов В. М., Щеглова Ю. М., Коваленко А. Л., Таликова Е. В.  
Медицинская реабилитация больных пожилого и старческого возраста с пневмонией, ассоциированной с коронавирусной инфекцией COVID-19  
Теммова Л. А., Алиева З. М., Камбачокова З. А., Теммоев Н. М., Карданова Д. А., Хожжаева Д. С., Дешев А. Л., Малкарова Д. С., Джабраилова М. Х., Шериев А. В.  
Постковидный синдром у детей, проживающих в Кабардино-Балкарской республике

#### Безопасность лекарственных средств

- Таубэ А. А., Романов Б. К., Шубникова Е. В., Аляутдин Р. Н., Журавлева М. В., Демидова О. А., Демченкова Е. Ю.  
Аспекты безопасного применения антибактериальных препаратов при внебольничной пневмонии: значение межлекарственных взаимодействий

#### Обзоры

- Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С., Андрюков Б. Г., Ермакова С. П., Кузнецова Т. А., Крыжановский С. П., Щелканов М. Ю.  
Геморрагические лихорадки: противовирусные эффекты и молекулярные мишени биологически активных полисахаридов и лектинов из морских гидробионтов  
Гриднева Г. И., Белов Б. С., Аронova Е. С.  
Вакцинопрофилактика *Herpes zoster* при ревматических заболеваниях: пересмотр парадигмы и новые возможности  
[Щипелева И. А.], Марковская Е. И., Кретенчук О. Ф.  
Антибиотикотерапия бруцеллёза. Современное состояние и перспективы совершенствования

#### Из истории создания антибиотиков

- Андрюков Б. Г., Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С.  
К 80-летию создания грамицидина С: от изучения асимметрии бактериальных молекул к открытию антимикробных пептидов

#### Experimental Research

- 4 Samotrueva Marina A., Gabitova Narmina M., Genatullina Guzel N., Starikova Alla A., Bashkina Olga A., Tyrkov Alexey G., Ozerov Alexandr A., Tyurenkov Ivan N.  
Assessment of Antimycobacterial Activity of Newly Synthesized Pyrimidine Derivatives Against *Mycobacterium tuberculosis*  
16 Pavlova Ekaterina N., Erokhina Maria V., Rybalkina Ekaterina Yu., Potashnikova Daria M., Masyutin Alexander G., Lepekha Larisa N., Ergeshov Atadzhan E.  
The Effect of Rifampicin on the Induction of MDR1/P-gp Activity in Proinflammatory Human Macrophages  
23 Gordina Ekaterina M., Bozhkova Svetlana A., Shabanova Valentina V.  
Biapenem Activity Against Meropenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*  
29 Chapurin Yuri V., Mbarga Manga Joseph Arsen, Senyagin Alexander N., Podoprigrora Irina V., Manar Rehalia  
Evaluation of the Antibacterial Activity of Extracts of *Betula Pendula* (Silver Birch) Bark Against Uropathogenic Microorganisms

#### Clinical Research and Practice

- 36 Ivanova Marina I., Ivanov Vyacheslav M., Shcheglova Yulia M., Kovalenko Alexey L., Talikova Ekaterina V.  
Medical Rehabilitation of Elderly and Senior Patients with COVID-19-Associated Pneumonia  
42 Temmoeva Leyla A., Aliyeva Zuhra M., Kambachokova Zareta A., Temmoev Nazir M., Kardanova Diana A., Khozhaeva Diana S., Deshev Astemir L., Malkarova Darina S., Dzhabrailova Madina Kh., Sheriev Amirkhan V.  
Post-COVID Syndrome in Children Residing in the Kabardino-Balkarian Republic

#### Drug Safety

- 46 Taube Alexandra A., Romanov Boris K., Shubnikova Elena V., Alyautdin Renad N., Zhuravleva Marina V., Demidova Olga A., Demchenkova Elena Yu.  
Aspects of the Safe Use of Antibacterial Drugs in Community-Acquired Pneumonia: the Implications of Drug-Drug Interactions

#### Reviews

- 53 Besednova Natalia N., Zaporozhets Tatiana S., Andryukov Boris G., Ermakova Svetana P., Kuznetsova Tatiana A., Kryzhanovskiy Sergey P., Shchelkanov Mikhail Yu.  
Hemorrhagic Fevers: Antiviral Effects and Molecular Targets of Biologically Active Polysaccharides and Lectins from Marine Aquatic Organisms  
70 Gridneva Galina I., Belov Boris S., Aronova Evgenia S.  
Vaccine Prophylaxis of *Herpes Zoster* in Rheumatic Diseases: Paradigm Revision and New Opportunities  
77 [Shchipeleva Irina A.], Markovskaya Elena I., Kretenchuk Oksana F.  
Antibiotic Therapy of Brucellosis. Current State and Prospects for Improvement

#### From the History of the Creation of Antibiotics

- 85 Andryukov Boris G., Besednova Natalia N., Zaporozhets Tatyana S.  
To the 80<sup>th</sup> Anniversary of Gramicidin C Creation: From the Study of the Asymmetry of Bacterial Molecules to the Discovery of Antimicrobial Peptides

\* 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.

# Оценка антимикобактериальной активности вновь синтезированных производных пиримидина в отношении *Mycobacterium tuberculosis*

М. А. САМОТРУЕВА<sup>1</sup>, \*Н. М. ГАБИТОВА<sup>1</sup>, Г. Н. ГЕНАТУЛЛИНА<sup>1</sup>, А. А. СТАРИКОВА<sup>1</sup>, О. А. БАШКИНА<sup>1</sup>, А. Г. ТЫРКОВ<sup>2</sup>, А. А. ОЗЕРОВ<sup>3</sup>, И. Н. ТЮРЕНКОВ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Астрахань, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет», Астрахань, Российская Федерация

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет МЗ РФ, Астрахань, Российская Федерация

## Assessment of Antimycobacterial Activity of Newly Synthesized Pyrimidine Derivatives Against *Mycobacterium tuberculosis*

MARINA A. SAMOTRUEVA<sup>1</sup>, \*NARMINA M. GABITOVA<sup>1</sup>, GUZEL N. GENATULLINA<sup>1</sup>, ALLA A. STARIKOVA<sup>1</sup>, OLGA A. BASHKINA<sup>1</sup>, ALEXEY G. TYRKOV<sup>2</sup>, ALEXANDR A. OZEROV<sup>3</sup>, IVAN N. TYURENKOV<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup> Astrakhan State University, Astrakhan, Russian Federation

<sup>3</sup> Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation

### Резюме

**Актуальность.** Современная тенденция растущей антибиотикорезистентности среди патогенных микроорганизмов остаётся одной из актуальных и значимых проблем человечества. Постоянное распространение резистентных штаммов микроорганизмов требует разработки инновационных методов и поиска лекарственных соединений с высокоэффективным механизмом действия. Одним из подобных мультирезистентных патогенов, трудно поддающихся лечению, является возбудитель туберкулёза *Mycobacterium tuberculosis*.

**Цель.** Изучить влияние вновь синтезированных производных пиримидина на рост культуры *Mycobacterium tuberculosis* и на структурные изменения клеток.

**Материал и методы.** В ходе работы для оценки влияния ряда производных пиримидина на рост культуры *M. tuberculosis* проводили скрининг 6 образцов 5-(арилметилден)-2,4,6-трионов (ТАГ1 — ТАГ6), 7 образцов 5-гетарилметилден-2,4,6-трионов (ТАГ7 — ТАГ13) и 2 новых образцов 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он и 3-[2-(1-Нафтил)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-он под лабораторными шифрами VMA-13-03 и VMA-13-04. В качестве тест-культуры *M. tuberculosis* использовали штамм H37RV, предоставленный бактериологической лабораторией Областной инфекционной клинической больницы им. А. М. Ничоги. Для приготовления взвеси микобактерий использовали 4-недельную культуру *M. tuberculosis*, синхронизированную холодом (+4°C) в течение 72 ч. Количество микобактерий в суспензии определяли по стандарту мутности McFarland 0,5. В каждую пробирку ряда последовательных разведений изучаемых веществ, включая контроль, вносили по 0,2 мл рабочей взвеси *M. tuberculosis*. Исследование проводили в 4 сериях повторных экспериментов. Определяли минимальную бактерицидную концентрацию соединений, при которой не обнаруживалось роста колоний и минимальную подавляющую концентрацию, при которой наблюдалась задержка роста микобактерий на 50% по сравнению с контролем. Из осадка готовили мазки для окрашивания по методу Циля–Нильсена для определения наличия кислотоустойчивых и некислотоустойчивых форм микобактерий, а также для изучения влияния пиримидинов и препарата сравнения на структурные изменения клеток *M. tuberculosis*.

**Результаты.** В ходе исследования максимально приближённую антибактериальную активность к препарату сравнения изониазиду по показателю задержки роста микобактерий проявили соединения ТАГ4, ТАГ6 и ТАГ8. Наибольшая бактерицидная активность в отношении *M. tuberculosis* отмечалась у ТАГ4, ТАГ7 и VMA-13-04. Остальные соединения проявили минимальное ингибирующее влияние на рост *M. tuberculosis*. Микроскопические исследования показали, что под влиянием ТАГ3, ТАГ4, ТАГ7, ТАГ12, VMA-13-03 и VMA-13-04 основные структурные компоненты клеток *M. tuberculosis* подвергаются фрагментации и изменению морфологических особенностей по сравнению с клетками микобактерий без воздействия.

**Заключение.** В результате проведённого исследования установлено, что все изучаемые соединения обладают антимикобактериальной активностью. По характеру ингибирующего воздействия на рост *M. tuberculosis* соединения под лабораторными шифрами ТАГ1, ТАГ4, ТАГ7 и ТАГ13 были сопоставимы с изониазидом, а производное ТАГ3 даже несколько превосходило действие препарата сравнения. Наименее выраженным противотуберкулёзным действием обладали соединения под лабораторными шифрами VMA-13-03 и VMA-13-04, вещества под лабораторными шифрами ТАГ5, ТАГ6, ТАГ11 и ТАГ12 — меньшей степенью фармакологического эффекта.

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: ул. Бакинская, 121, Астраханский ГМУ, г. Астрахань, Российская Федерация, 414000.  
E-mail: narmina85@inbox.ru

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 121 Bakinskaya st., Astrakhan State Medical University, Astrakhan, 414000 Russian Federation.  
E-mail: narmina85@inbox.ru

**Ключевые слова:** антимикобактериальная активность; штамм; производные пиримидина; кислотоустойчивые микобактерии; *Mycobacterium tuberculosis*

**Для цитирования:** Самотруева М.А., Габитова Н.М., Генатуллина Г.Н., Старикова А.А., Башкина О.А., Тырков А. Г., Озеров А.А., Тюренков И.Н. Оценка антимикобактериальной активности вновь синтезированных производных пиримидина в отношении *Mycobacterium tuberculosis*. *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 3–4: 4–15. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-4-15.

## Abstract

**Background.** The current trend of growing antibiotic resistance among pathogenic microorganisms remains one of the urgent and significant problems of mankind. The constant spread of resistant strains of microorganisms requires the development of innovative methods and the search for medicinal compounds with a highly effective mechanism of action. One of these multi-resistant pathogens that are difficult to eradicate is the causative agent of tuberculosis — *Mycobacterium tuberculosis*.

**The aim** is to study the effect of newly synthesized pyrimidine derivatives on the growth of *Mycobacterium tuberculosis* culture, as well as on the structural changes in cells.

**Material and methods.** In order to assess the effect of a number of pyrimidine derivatives on the growth of *Mycobacterium tuberculosis* culture, 6 samples of 5-(arylmethylene) hexahydropyrimidine-2,4,6-triones (TAG1 — TAG6), 7 samples of 5-hetarylmethylidene-2,4,6-triones (TAG7 — TAG13), and 2 new samples of 3-(2-Benzoyloxy-2-oxoethyl)quinazoline-4(3H)-one and 3-[2-(1-Naphthyl)-2-oxoethyl]quinazoline-4(3H)-one were screened under the laboratory ciphers VMA-13-03 and VMA-13-04 in the course of the study. *M. tuberculosis* H37RV strain was used as a test culture; it was provided by the bacteriological laboratory of the Regional Infectious Clinical Hospital named after A. M. Nichoga. A 4-week culture of *M. tuberculosis*, synchronized by cold (+4°C) for 72 hours, was used to prepare a suspension of mycobacteria. The number of mycobacteria in the suspension was determined using the McFarland 0.5 turbidity standard. 0.2 ml of *M. tuberculosis* working suspension was added to each tube of a series of successive dilutions of the studied substances, including the control. The study was carried out in 4 series of replicates. The minimum bactericidal concentration of the compounds, at which no colony growth was detected, as well as the minimum inhibitory concentration, at which mycobacterium growth was delayed by 50% compared to the control, were determined. Smears were prepared from the sediment for staining using the Ziehl-Neelsen method to determine the presence of acid-resistant and non-acid-resistant forms of mycobacteria, as well as to study the effect of pyrimidines and a comparison drug on structural changes in *M. tuberculosis* cells.

**Results.** In the course of the study, the TAG4, TAG6, and TAG8 compounds were found to have the closest antibacterial activity to the comparison drug isoniazid, according to the indicator of mycobacteria growth retardation. The greatest bactericidal activity against *M. tuberculosis* was observed in TAG4, TAG7, and VMA-13-04. The remaining compounds have shown minimal inhibitory effect on the growth of *M. tuberculosis*. Microscopic studies have shown that under the influence of TAG3, TAG4, TAG7, TAG12, VMA-13-03, and VMA-13-04, the main structural components of *M. tuberculosis* cells undergo fragmentation and morphological changes compared to mycobacterium cells without exposure.

**Conclusion.** As a result, it was found that all the studied compounds possess antimycobacterial activity. Compounds under the laboratory ciphers TAG1, TAG4, TAG7, and TAG13 were comparable to isoniazid by the nature of the inhibitory effect on the growth of *M. tuberculosis*, and the TAG3 compound even slightly exceeded the effect of the comparison drug. Compounds under the laboratory codes VMA-13-03, and VMA-13-04 had the least pronounced anti-tuberculosis effect. Compounds under the laboratory codes TAG5, TAG6, TAG11, and TAG12 showed the least antimycobacterial activity.

**Keywords:** antimycobacterial activity; strain, pyrimidine derivatives; acid-resistant mycobacteria; *Mycobacterium tuberculosis*

**For citation:** Samotrueva M. A., Gabitova N. M., Genatullina G. N., Starikova A. A., Bashkina O. A., Tyrkov A. G., Ozerov A. A., Tyurenkov I. N. Assessment of antimycobacterial activity of newly synthesized pyrimidine derivatives against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2022; 67: 3–4: 4–15. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-4-15.

Современная тенденция растущей антибиотикорезистентности среди патогенных микроорганизмов остаётся одной из актуальных и значимых проблем человечества [1, 2]. Постоянное распространение резистентных штаммов микроорганизмов требует разработки инновационных методов и поиска лекарственных соединений с высокоэффективным механизмом действия. Одним из подобных мультирезистентных патогенов, трудно поддающихся лечению, является возбудитель туберкулёза *Mycobacterium tuberculosis* [3].

Несмотря на значительные усилия по выявлению и созданию новых терапевтических агентов, ежегодно регистрируется новые случаи заболевания туберкулёзом, что по-прежнему является одной из основных причин смертности во всем мире [4–8]. Кроме того, одним из тревожных сигналов, существенно ухудшающим эффектив-

ность лечения является увеличение числа случаев туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью [9, 10].

Эволюция *M. tuberculosis* вследствие адаптации патогена к действию антимикробных средств способствовала возникновению медленно растущих, бездействующих и нереплицирующих субпопуляций бактерий [11]. Малая эффективность противотуберкулёзных препаратов первого (изониазид, пиразинамид, рифампицин, этамбутол и др.) и второго поколений (амикацин, циклосерин, этионамид и др.), оказывающих воздействие на рост и репликацию клеток, в отношении нереплицирующихся бактерий требует длительного лечения и, как следствие, приводит к возникновению резистентности к известным лекарственным средствам [12]. Токсичность применяемых веществ служит ещё одной причиной, мотивирующей современных исследователей на разра-

ботку новых безопасных противотуберкулёзных препаратов, активных в отношении реплицирующихся и лекарственно-устойчивых штаммов *M.tuberculosis* [12].

Одним из направлений разработки новых лекарственных средств, активных в отношении *M.tuberculosis*, является поиск соединений, ингибирующих ферменты, ответственные за жизненно важные клеточные функции, метаболические пути, составляющие их основу и, как следствие, обуславливающие выживаемость микобактерий в организме человека. Особое внимание заслуживают ферменты, принимающие участие в биосинтетическом пути «спасения» пиримидинов, в ходе которого нуклеотиды, подвергаясь дегградации, синтезируются из промежуточных продуктов [13].

Установлена важная роль дезоксиуридинтрифосфатазы (dUTPase), участвующей в подавлении процесса вовлечения урацила в сборку ДНК за счёт контроля концентрации dUTP, превышение которого приводит к гибели клеток при дегградации двухцепочечной нуклеиновой кислоты. Известно, что dUTPase активирует переход dUTP в дезоксиуридин 5'-монофосфат (dUMP). Описано участие дезоксиуридинтрифосфатазы *M.tuberculosis* в образовании dUMP, который является предшественником биосинтеза тимидилата. Обоснованно рассмотрение dUTPase в качестве перспективной мишени при дизайне лекарственных средств, применяемых для лечения инфекции, вызванной *M.tuberculosis* [13]. Показана возможность связывания кетонной, а также первичной и вторичной аминогрупп соединений, содержащих пиримидин-2,4(1H,3H)-дионовый цикл, с остатками аргинина, серина, лизина и глицина активного сайта фермента [14].

Описана роль дезокситимидинтрифосфат (dCTP) дезаминазы, катализирующей превращение dCTP в дезокситимидинтрифосфат (dUTP); тимидилатсинтазы, участвующей в присоединении dUMP к дезокситимидинмонофосфату (dTMP) и нуклеозиддифосфаткиназы, сопровождающей образование дезокситимидинтрифосфата (dTTP) из dTDP. Установлено, что перечисленные ферменты являются ключевыми соединениями в биосинтетических процессах, обуславливающих выживаемость *M.tuberculosis* [13].

Показано участие дезокситимидинмонофосфаткиназакиназы (dTMP) при катализе фосфорилирования dTMP с образованием dTDP с использованием АТФ в качестве фосфорильного донора и dUMP в качестве субстрата. Изучено строение белковой молекулы, на основании чего установлено, что характерным для *M.tuberculosis* является присутствие в аминокислотной последовательности остатка аргинина. Доказано, что связывание субстрата с цитидилаткиназой осу-

ществляется на участке, образованном остатками глицина и лизина. Описана роль нуклеозиддифосфаткиназы (NDP) в каталитическом фосфорилировании нуклеозиддифосфата с образованием нуклеозидтрифосфата, имеющего важное значение для синтеза ДНК/РНК, клеточного деления и регуляторных процессов, обуславливающих выживание микобактерий. Показано, что NDP характеризуется способностью к катион-зависимому автофосфорилированию, существенную роль в котором играет остаток гистидина [13]. Пиримидиннуклеозидфосфорилаза (PyNP) катализирует обратимый фосфолиз пиримидиновых нуклеозидов. Описано связывание аминокислотных остатков лизина, глутамина, серина и треонина с фосфатом. Взаимодействие пиримидинового нуклеозида с активным сайтом PyNP осуществляется за счёт образования водородной связи с 2-амино-5-гуанидинпентановой, 2,6-диаминогексановой и 2-амино-3-гидроксипропановой кислотами.

Понимание сущности нитратного метаболического пути, играющего решающую роль в выживании *M.tuberculosis* на стадии пониженной активности, при которой бактериальный рост почти полностью приостановлен, раскрывает ещё одно направление поиска лекарственных веществ, активных в отношении данного патогена. Обосновано значение нитратредуктазы (NarGHJI), нитритредуктазы и глутаминсинтазы, принимающих участие в данном биосинтетическом процессе.

Установлено, что при инфицировании организма *M.tuberculosis* внутри макрофагов хозяина образуется оксид азота (II) (NO) и супероксид ( $O_2^-$ ), уничтожающие внутриклеточные бактерии с образованием крайне нестабильного пероксинитрита ( $ONOO^-$ ) с последующей перегруппировкой в  $NO_2^-$  в присутствии NarGHJI. Описана функциональная роль нитритредуктазы (NirBD) в превращении нитрита в аммиак, и глутаминсинтазы, катализирующей реакцию образования глутамина из него, что лежит в основе формирования клеточной стенки [15]. Известно, что также микобактериальная глутаминсинтаза увеличивает способность бактерий ингибировать фагосомно-лизосомный защитный механизм хозяина [16]. Показано, что снижение способности NO уничтожать болезнетворные штаммы *M.tuberculosis* является следствием устойчивости к противотуберкулёзным препаратам первого поколения, подавляющих активность нитратредуктазы.

Имеются сведения о способности патогена экспрессировать такие антиоксидантные ферменты, как супероксиддисмутаза, каталаза, алкилгидропероксидаза и пероксиредоксины, участвующие в нейтрализации свободных радикалов и обеспечивающие устойчивость патогена в организме человека [17].



Установлено, что повреждение клеточной стенки *M. tuberculosis* также лежит в основе действия противотуберкулёзных препаратов. Отличительной особенностью мембраны *M. tuberculosis* является высокая концентрация липидов и, как следствие, высокая степень гидрофобности [18]. Результатами молекулярного докинга подтверждено присутствие в клеточной оболочке *M. tuberculosis* ковалентно связанных миколовых кислот в составе гликолипидов, D-арабино-D-галактана и пептидогликана. Описана роль миколовых кислот в обеспечении резистентности *M. tuberculosis* ко многим лекарственным веществам [19]. Воздействие лекарственного средства на протеинредуктазу, которая является ферментом, отвечающим за удлинение цепи жирных кислот и катализирует восстановление  $\alpha$ ,  $\beta$ -ненасыщенных производных, может быть использовано при разработке гетероциклических соединений, проявляющих противотуберкулёзную активность. Отмечается большая значимость тирозина и лизина для связывания субстрата водородной связью. Показано взаимодействие гидроксильной группы рибозной части никотинамида, фенольного гидроксила бензимидазольной и индолизиновыми составляющими с указанными аминокислотными остатками [20].

Показано, что миколовые, а также жирные кислоты с очень длинной и полиметильной разветвлённой цепью (пальмитиновая, гексадеценовая, октадеценовая и туберкулостеариновая) входят в состав липидов клеточной стенки микобактерий [21]. Охарактеризовано участие в биосинтезе жирных кислот двух ферментных систем: синтазы (FAS I), состоящей из одного полипептида и катализирующей образование коротких предшественников для удлинения цепи жирных кислот, и FAS II, участвующей в биосинтезе миколовых кислот. Обнаружен белок FabG1, входящий в состав FAS II, активирующий НАДФН-специфическое восстановление длинноцепочечных  $\beta$ -кетоацилпроизводных. Особая роль отводится переносимой протеинсинтазе II (KAS II). Доказано, что аланин, глицин, гистидин, фенилаланин, аспарагин представляют активные центры KAS II. Установлена наибольшая аффинность связывания с ними церуленина изониазированного комплекса, тиолактомицина и тиофенона [22]. Изучен механизм действия изониазида, а также бициклических нитроимидазолов, направленный на нарушение процесса биосинтеза миколовых кислот клеточной стенки [11, 14].

Жизненно важным для *M. tuberculosis* является фермент арабинозилтрансфераза С, относящаяся к классу ферментов трансфераз, который участвует в биосинтезе клеточной стенки микобактерий. Вероятно, подавление его активности может составлять основу действия веществ

с противотуберкулёзным фармакологическим эффектом. Веществом, блокирующим активность арабинозилтрансферазы С, принимающей участие в основных этапах гликозилирования липоарабиноманнана и биосинтеза арабиногалактанов из арабинозы, составляющих клеточную стенку бактерий, является этамбутол, который может применяться в комбинации с изониазидом, пиразинамидом и рифампином [23]. Показано, что молекула арабинозилтрансферазы С состоит из 284 аминокислотных остатков, активными из которых являются аспарагин, аланин, лейцин, лизин и аргинин. Доказано, что связывание этамбутола с активным сайтом фермента происходит за счёт образования водородных связей с аланином, аспарагином, серином и глицином. Ингибирующее действие изониазида опосредовано его взаимодействием с Ala767, Arg879, Gly767 и Ile965 [23].

Решающим фактором вирулентности для выживания внутриклеточных микобактерий туберкулёза является фермент протеинкиназа G (PknG), представляющий мультидоменный белок из рубредоксина, определяющего энзимную активность, киназы и тетраглицопептидного повторяющегося домена [18]. Отличительной особенностью PknG является наличие уникального набора аминокислотных остатков в кармане связывания ингибитора, который не обнаружен ни в одной из киназ человека. Показано, что блокирование активности PknG под действием лекарственного вещества способствует быстрому переносу микобактерий в лизосомы и их уничтожение [24]. Отмечается, что связывание ингибитора и основной ферментативной цепи происходит, как правило, через остатки глутамина и валина [18]. Кроме того, протеинкиназа A (PknA) играет значительную роль в регуляции формы клеток микобактерий. Активация фермента происходит во время роста микобактерий и инфицирования ими организма человека [25]. Показана способность PknA оказывать воздействие на процесс фосфорилирования ряда белков, участвующих в синтезе миколовой кислоты, делении клеток и синтезе пептидогликана [25]. Блокирование процесса фосфорилирования остатков треонина (Thr172, Thr174 и Thr180) в активном сайте PknA, вероятно, может служить одним из возможных вариантов механизма действия веществ, проявляющих противотуберкулёзную активность [25].

Способность *M. tuberculosis* выживать в неблагоприятных для патогена условиях в организме человека связана с ещё одним ферментом — шикиматкиназой, выполняющей ключевую роль в шикиматном пути биосинтеза ароматических аминокислот. Согласно результатам молекулярного докинга, взаимодействие шикиматкиназы с лекарственным веществом осуществляется посредством водородного связывания с Gly80,

Arg136 и Arg58. Образующееся переходное состояние стабилизируется за счёт дополнительных межмолекулярных Ван дер Ваальсовых взаимодействий с аминокислотами: Ile45, Asp34, Pro11, Pro118, Gly79, Phe57, Leu119 и Gly81 [26].

Ингибирование дыхательных цитохромов за счёт воздействия на первичную терминальную оксидазу цитохрома bcc-aa3 (Cyt-bcc-aa3) даёт возможность подавлять жизнедеятельность нереплицирующихся *M.tuberculosis* [27]. Блокирование процесса окислительного фосфорилирования является следствием воздействия на ключевой элемент дыхательной цепи. Описана роль фермента сукцинатдегидрогеназы, катализирующего окисление сукцината в фумарат и играющего решающую роль в бактериальном углеродном обмене и дыхании. Охарактеризованы две ферментативные формы, одна из которых необходима для оптимального роста в аэробных условиях, а другая играет значительную роль в остановке роста при переходе *M.tuberculosis* от аэробного к гипоксическому режиму существования [27]. Изучение причин возникновения устойчивости к действию антимикробных препаратов позволило оценить роль эффлюксных систем оттока в качестве мишени для новых противотуберкулёзных препаратов, способных их ингибировать [19].

Результаты исследований, направленных на установление связи «структура–активность», доказали наличие выраженной активности в отношении *M.tuberculosis* у соединений, структура которых содержит пиримидиновый цикл.

История пиримидинов берёт начало со дня их открытия в составе нуклеиновых кислот и использования в качестве химиотерапевтических агентов в настоящий момент [28]. Химиотерапевтическая эффективность производных пиримидина обусловлена способностью к ингибированию жизненно важных ферментов, ответственных за биосинтез ДНК [29]. Отмечен антиканцерогенный (блеомицин), противовирусный (ацикловир, ламивудин), и противопротозойный (пирантел) эффекты производных пиримидина, а также их выраженные бактерицидные (триметоприм, изофон) и фунгицидные (флуцитозин) свойства [29–32].

Цель исследования — провести сравнительную оценку антимикобактериальной активности вновь синтезированных производных пиримидина в отношении *Mycobacterium tuberculosis*.

## Материал и методы

В ходе работы для оценки влияния ряда производных пиримидина на рост культуры *M.tuberculosis* проводили скрининг 6 образцов 5-(арилметил)гексагидропиримидин-2,4,6-трионов (ТАГ1 — ТАГ6), 7 образцов 5-гетарилметилден-2,4,6-трионов (ТАГ7 — ТАГ13), синтезированных на кафедре органической, неорганической и фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет» и 2 новых образцов 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он и 3-[2-

(1-Нафтил)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-он под лабораторными шифрами VMA-13-03 и VMA-13-04, синтезированных на кафедре фармацевтической и токсикологической химии ВолгГМУ Минздрава России.

В качестве тест-культуры *M.tuberculosis* использовали штамм H37RV, предоставленный бактериологической лабораторией Областной инфекционной клинической больницы им. А. М. Ничоги. Штамм поддерживали на среде Левенштейна-Йенсена. Антимикобактериальную активность изучаемых соединений исследовали методом серийных разведений [33] на среде Школьниковой. Концентрация соединений в ряду серийных разведений убывала в геометрической прогрессии с коэффициентом 2, от 128 мкг/мл до 0,25 мкг/мл. Контролем служили посевы с растворителем (димексид в эквиобъёмах), посевы без добавления в среду веществ (положительный контроль), контроль на стерильность среды (среда Школьниковой без посевов и соединений), а также ряды серийных разведений препарата сравнения — изониазида.

Навеску изучаемого соединения в 4 мг растворяли в 0,5 мл димексида, после чего добавляли 4,5 мл физиологического раствора и получали рабочий раствор. К 1,6 мл полученного разведения добавляли 8,4 мл среды Школьниковой. В полученном растворе содержание препарата составляло 128 мкг/мл.

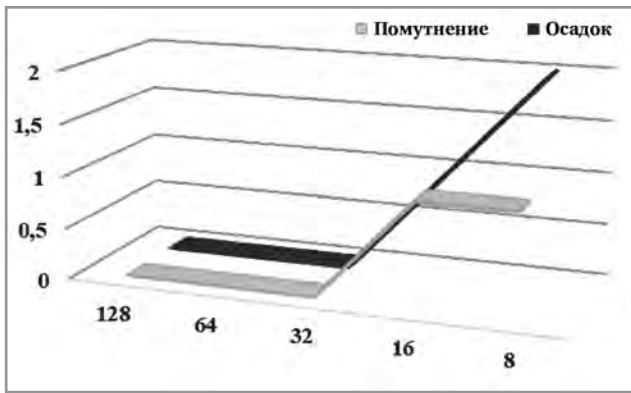
Для приготовления взвеси микобактерий использовали 4-недельную культуру *M.tuberculosis*, синхронизированную холодом (+4°C) в течение 72 ч. Количество микобактерий в суспензии определяли по стандарту мутности McFarland 0,5. Рабочая смесь содержала 108 микобактериальных клеток в 1 мл. В каждую пробирку ряда последовательных разведений изучаемых веществ, включая контроль, вносили по 0,2 мл рабочей взвеси *M.tuberculosis*, т. е.,  $2 \times 10^7$  микобактерий. Исследование проводили в 4 сериях повторных экспериментов. Все посевы инкубировали в течение 10–12 дней при температуре +37°C. По истечении этого срока визуально оценивали наличие и характер роста культуры *M.tuberculosis* в каждой пробирке. Затем содержимое пробирок центрифугировали (1500 оборотов в мин в течение 10 мин) и удаляли супернатант. Далее из каждой пробирки на среду Левенштейна-Йенсена высеивали 0,05 мл суспензии и после десятидневной инкубации при температуре +37°C определяли жизнеспособность *M.tuberculosis*. Определяли минимальную бактерицидную концентрацию соединений (МБК), при которой не обнаруживалось роста колоний и минимальную подавляющую концентрацию (МПК), при которой наблюдалась задержка роста микобактерий на 50% по сравнению с контролем.

Из осадка готовили мазки для окрашивания по методу Циля-Нильсена [34] для определения наличия кислотоустойчивых (КУМ) и неокислотоустойчивых форм (НКУМ) микобактерий, а также для изучения влияния пиримидинов и препарата сравнения на структурные изменения клеток *M.tuberculosis*.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета Excel и программного обеспечения BIOSTAT, с учётом критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми различия считали при  $p < 0,05$ .

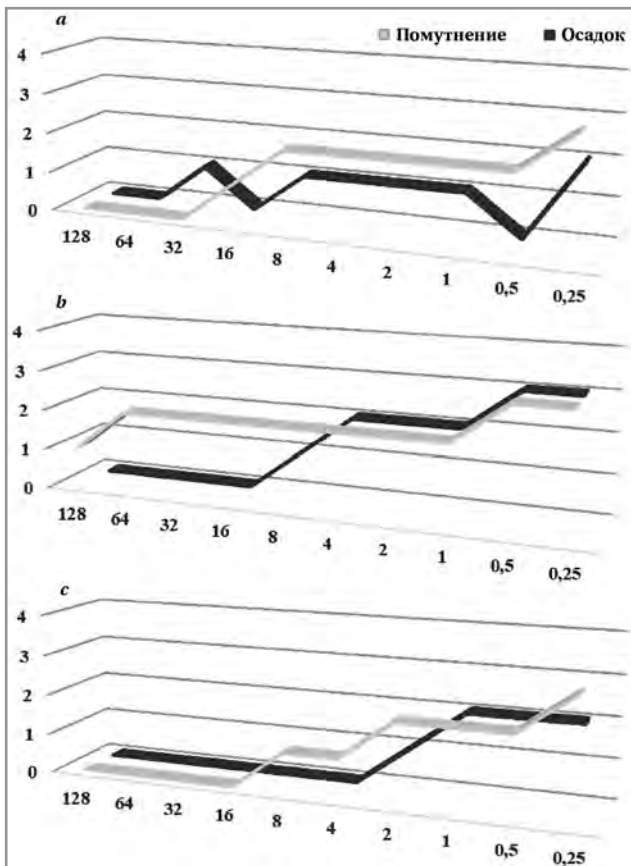
## Результаты исследований

Показатели визуальной оценки антимикобактериальной активности исследуемых соединений приведены на рис. 1–8. Визуальная оценка посевов микобактерий на среде Школьниковой показала, что под действием противотуберкулёзного препарата изониазида при концентрациях 32–128 мкг/мл роста *M.tuberculosis* не наблюдается. При концентрации 16 мкг/мл отмечается появление слабого роста, который усиливается по мере снижения концентрации препарата (рис. 1).

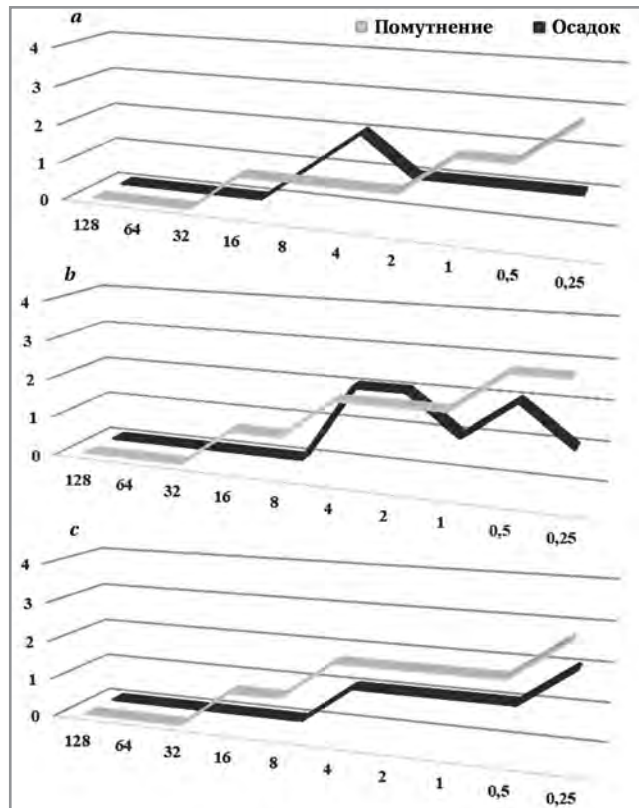


**Рис 1.** Визуальная оценка антимикобактериальной активности изониазида в концентрациях 8–128 мкг/мл.  
**Fig. 1.** Visual assessment of the antimycobacterial activity of isoniazid at concentrations of 8–128 µg/ml.

Под действием соединения ТАГ1 среда остаётся прозрачной в диапазоне концентраций 32–128 мкг/мл, что предполагает практическое отсутствие роста микобактерий. По мере увеличения разведения наблюдается помутнение среды до полной потери прозрачности содержимого пробирок (рис. 2, *a*). В пробирках с соединениями



**Рис 2.** Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений в концентрациях 0,25–128 мкг/мл. *a* — ТАГ1; *b* — ТАГ2; *c* — ТАГ3  
**Fig. 2.** Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds at concentrations of 0.25–128 µg/ml. *a* — TAG1; *b* — TAG2; *c* — TAG3.



**Рис 3.** Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений в концентрациях 0,25–128 мкг/мл. *a* — ТАГ4; *b* — ТАГ7; *c* — ТАГ13.  
**Fig. 3.** Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds at concentrations of 0.25–128 µg/ml. *a* — TAG4; *b* — TAG7; *c* — TAG13.

ТАГ2 даже при самой высокой исследуемой концентрации полной прозрачности среды не отмечалось. При концентрациях 1–64 мкг/мл отмечался умеренный рост микобактерий под действием соединений ТАГ2 (рис. 2, *b*). Соединение ТАГ3 полностью подавляло рост микобактерий при концентрациях 16–128 мкг/мл (рис. 2, *c*). При концентрации 4–8 мкг/мл отмечено начало слабого роста, который увеличивался до умеренного при концентрациях 0,5–2 мкг/мл, а при концентрации вещества 0,25 мкг/мл среда полностью теряла прозрачность (рис. 2, *c*).

При воздействии соединения ТАГ4 рост микобактерий отсутствовал при разведениях 32–128 мкг/мл. При концентрациях 2–16 мкг/мл отмечался слабый рост. При концентрациях 0,5–1 мкг/мл выявлен умеренный рост, который при концентрации 0,25 мкг/мл переходил в интенсивный (рис. 3, *a*). Под действием соединений ТАГ7 и ТАГ13 среда остаётся прозрачной при концентрациях 32–128 мкг/мл (рис. 3, *b, c*). По мере увеличения разведения наблюдается слабое помутнение среды при концентрации 16 мкг/мл, до полной потери прозрачности содержимого пробирок — при концентрации 0,25 мкг/мл (рис. 3, *b, c*).

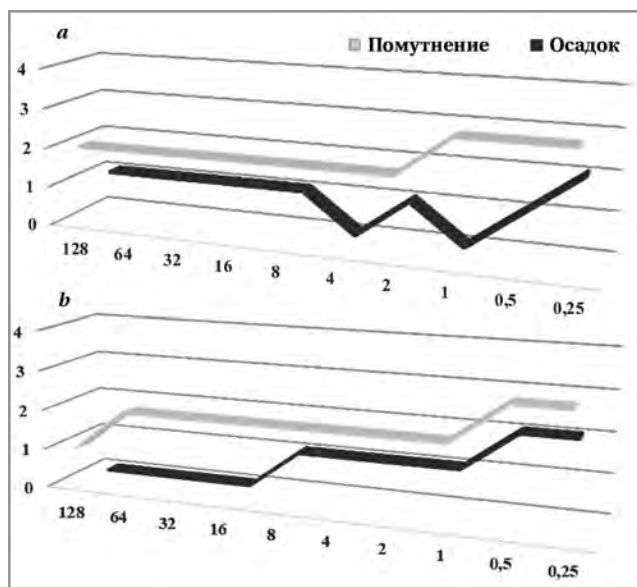


Рис. 4. Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений в концентрациях 0,25–128 мкг/мл. *a* — TAG5; *b* — TAG6.

Fig. 4. Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds at concentrations of 0.25–128 µg/ml. *a* — TAG5; *b* — TAG6.

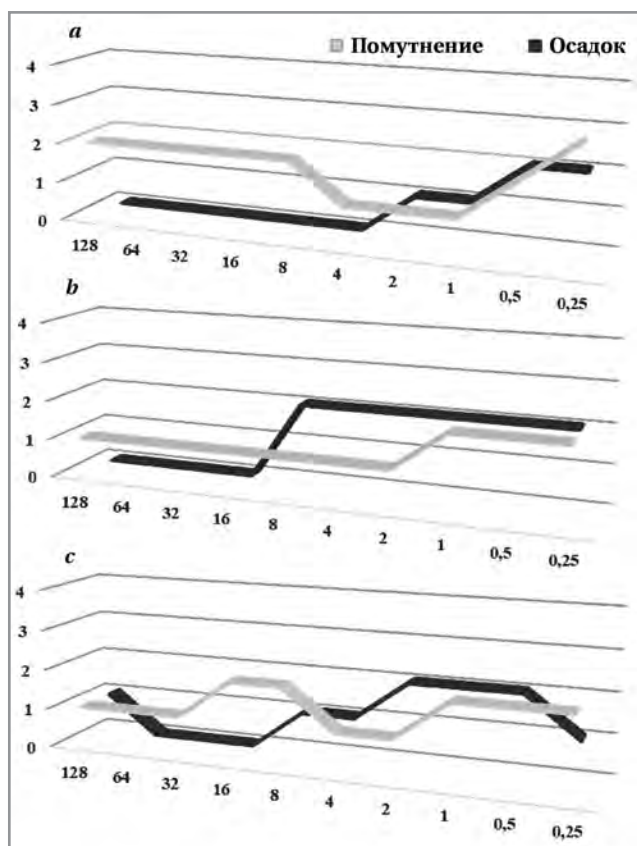


Рис. 5. Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений в концентрациях 0,25–128 мкг/мл. *a* — TAG8; *b* — TAG9; *c* — TAG10.

Fig. 5. Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds at concentrations of 0.25–128 µg/ml. *a* — TAG8; *b* — TAG9; *c* — TAG10.

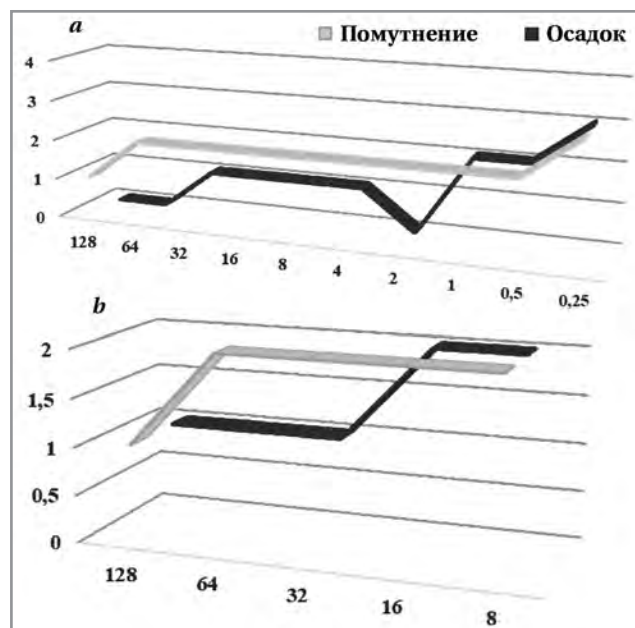


Рис. 6. Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений.

*a* — TAG11 в концентрациях 0,25–128 мкг/мл; *b* — TAG12 в концентрациях 8–128 мкг/мл.

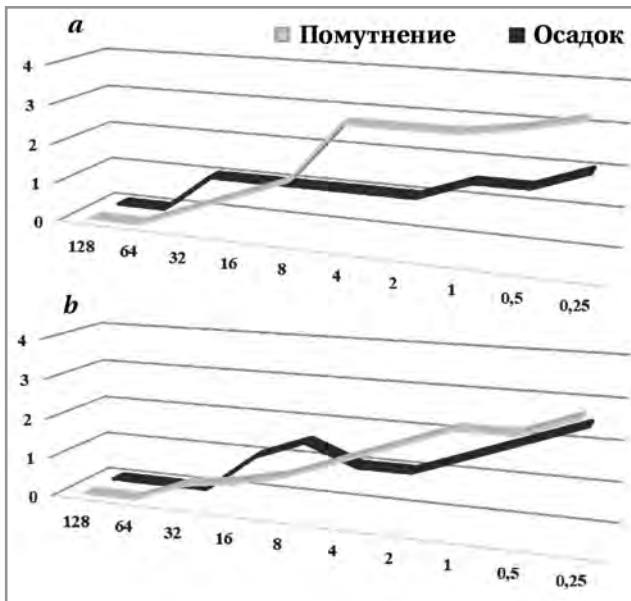
Fig. 6. Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds.

*a* — TAG11 at concentrations of 0.25–128 µg/ml; *b* — TAG12 at concentrations of 8–128 µg/ml.

Даже при самых высоких используемых концентрациях соединения TAG5 и TAG6 не способны полностью подавить рост тест-культуры. При концентрациях 2–128 мкг/мл вещества TAG5 (рис. 4, *a*) и при концентрациях 1–64 мкг/мл соединения TAG6 (рис. 4, *b*) отмечался умеренный рост, а при снижении концентрации среда полностью теряла прозрачность.

Соединения TAG8, TAG9 и TAG10 при всех используемых концентрациях полностью не подавляли роста микобактерий. При воздействии соединения TAG8 отмечался слабый рост в диапазоне концентраций 1–128 мкг/мл (рис. 5, *a*) и при воздействии соединения TAG9 в пределах концентраций 2–128 мкг/мл (рис. 5, *b*). Установлено, что в пробирках с соединением TAG9 до самой минимальной концентрации 0,25 мкг/мл отмечался умеренный рост (рис. 5, *b*). При воздействии соединения TAG10 только в интервале от 32 до 128 мкг/мл наблюдали слабый рост *M. tuberculosis* (рис. 5, *c*). Со снижением концентрации веществ TAG8 и TAG10 интенсивность роста возрастала до полного помутнения среды (рис. 5, *a, c*).

В пробирках с *M. tuberculosis* под воздействием соединений TAG11 и TAG12 не отмечалось полной прозрачности среды даже при самых высоких исследуемых концентрациях. При концентрациях 1–64 мкг/мл отмечался умеренный рост микобактерий под действием соединений TAG11 (рис. 6, *a, b*). Под действием соединения TAG12 уме-



**Рис. 7.** Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений в концентрациях 0,25–128 мкг/мл. *a*— VMA-13-03; *b*— VMA-13-04  
**Fig. 7.** Visual assessment of the antimycobacterial activity of the compounds at concentrations of 0.25–128 µg/ml. *a*— VMA-13-03; *b*— VMA-13-04

ренный рост *M. tuberculosis* отмечался только при концентрациях 8–64 мкг/мл, а при дальнейшем снижении концентрации вещества интенсивность роста микобактерий возрастала (рис. 6, *b*).

Визуальная оценка антимикобактериальной активности соединений VMA-13-03 и VMA-13-04 показала, что при исследуемых концентрациях от 64 до 128 мкг/мл роста *M. tuberculosis* в пробирках не наблюдалось (рис. 7, *a, b*). При концентрациях 0,5–32 мкг/мл отмечался умеренный рост микобактерий под действием соединений VMA-13-03 (рис. 7, *a*). Под действием соединения VMA-13-04 умеренный рост отмечался при концентрациях 0,5–16 мкг/мл (рис. 7, *b*), а при дальнейшем снижении концентрации веществ интенсивность роста возрастала (рис. 7, *b*).

Результаты определения жизнеспособности *M. tuberculosis* под воздействием изучаемых соединений приведены на рис. 8.

Анализ полученных результатов показал, что наибольшая бактерицидная активность в отношении *M. tuberculosis* отмечалась у ТАГ4, ТАГ7 и VMA-13-04 (рис. 8, *b*), при этом МПК данных препаратов оказалась достоверно ниже, чем у препарата сравнения. Максимально приближенной антибактериальной активностью к препарату сравнения изониазиду, по показателю задержки роста микобактерий, оказались соединения ТАГ4, ТАГ6 и ТАГ8 (рис. 8, *a*), однако соединения ТАГ6 и ТАГ8 даже при самых высоких используемых концентрациях не подавляли рост колоний на твердой питательной среде (рис. 8, *b*). У соединений

под лабораторными шифрами ТАГ3, ТАГ9, ТАГ10, ТАГ12 наблюдалось высокая антимикобактериальная активность в отношении *M. tuberculosis*, но МПК данных препаратов была на 57% ниже, чем у препарата сравнения (рис. 8, *a*). Остальные соединения также проявили свое ингибирующее влияние на рост *M. tuberculosis*, однако их МПК и МБК значительно превышали аналогичные характеристики препарата сравнения (рис. 8, *a, b*).

Микроскопическое исследование клеток *M. tuberculosis* из пробирок с положительным контролем (без добавления в среду веществ) показало наличие красных палочковидных форм клеток, размерами от 1 до 8 мкм в длину от 0,5 до 1 мкм в диаметре.

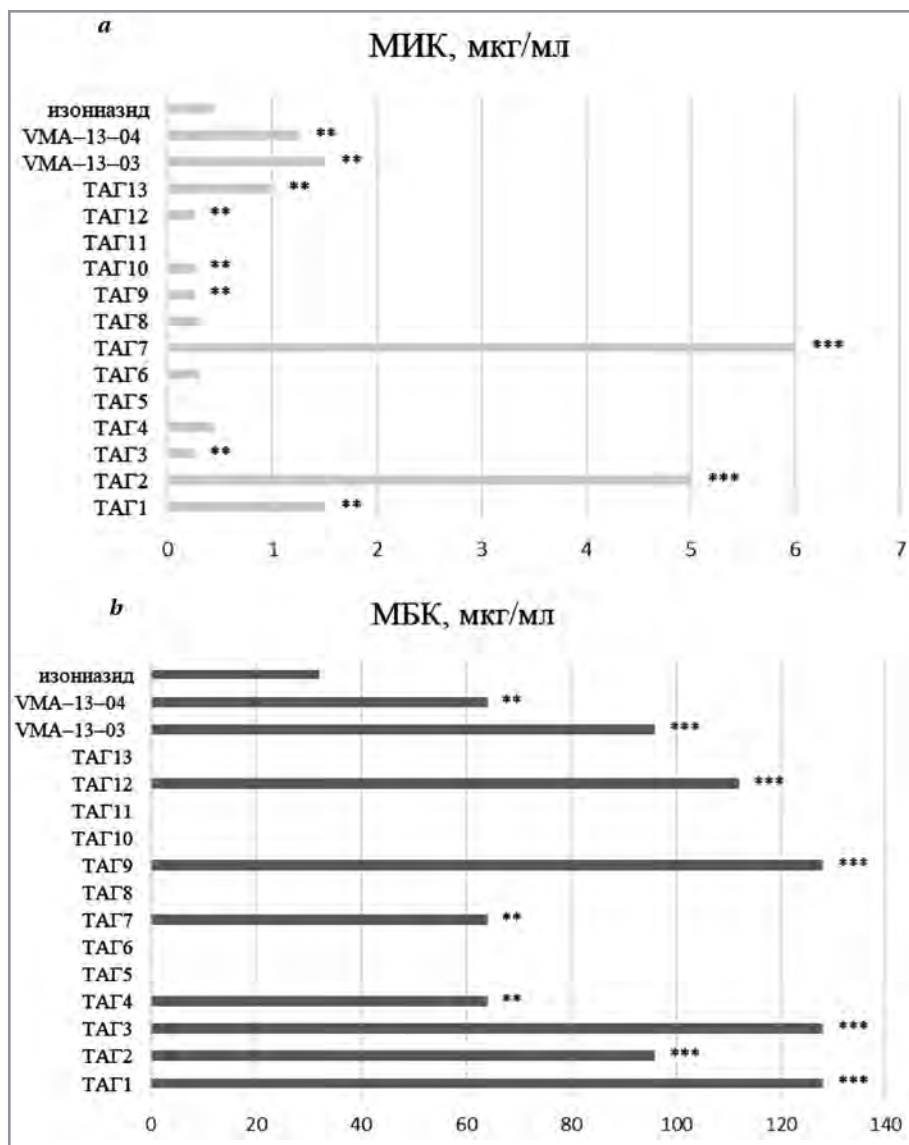
Изучение влияния пиримидинов на структурные изменения клеток *M. tuberculosis*, а также определение наличия кислотоустойчивых и не-кислотоустойчивых форм микобактерий показало, что под влиянием ТАГ3, ТАГ12 и VMA-13-04 клетки *M. tuberculosis* теряют свою характерную структуру. Указанное обстоятельство свидетельствует, что соединения этих пиримидинов могут нарушать нормальную функцию синтеза кислотоустойчивых липидов, проницаемость клеточной стенки [35].

Более 30% микобактерий становились более короткими и увеличивались в диаметре. Надо полагать, что происходит торможение нормальных функций клеточного деления [36]. У 15% наблюдались только фрагменты с неровными краями, что может свидетельствовать об изменении проницаемости клеточной мембраны [36]. Более 50% клеток *M. tuberculosis* под влиянием ТАГ4 и ТАГ7 изменяли свою структуру, встречались клетки с удлинёнными не свойственными морфологическим формами клеток, что указывает на нарушение процесса деления клеток, как правило, такие формы являются нежизнеспособными [35].

При исследовании *M. tuberculosis* под воздействием VMA-13-04 в 20% случаев встречались клетки с деформированной и уплотненной цитоплазмой. Под влиянием VMA-13-03 наблюдалось 15% неокрашенных клеток и 50% гранулированных форм, указывающих на пластичность микробных клеток [37].

Под действием ТАГ7 и ТАГ12 обнаружено более 30% слабо окрашенных или не окрашенных клеток *M. tuberculosis*. Кроме того, 15% клеток микобактерий образовывали скопление гранулярного вещества внутри. Выявлено до 60% кокковых фрагментов, расположенных одиночно или в виде цепочки. Можно предположить, что в присутствии пиримидинов нарушается образование клеточных стенок микобактерий и синтез миколовых кислот [38].

Полученные результаты позволяют проводить аналогию с присутствием в их молекулах пи-



**Рис. 8.** Определение жизнеспособности *M.tuberculosis* при исследовании пиримидинов и изониазида (а — МИК соединений; б — МБК соединений)

**Примечания.** \*\* — различия статистически достоверны ( $p \leq 0,01$ ) по отношению к изониазиду; \*\*\* — различия статистически достоверны ( $p \leq 0,001$ ) по отношению к изониазиду.

**Fig. 8.** Determination of the viability of *M.tuberculosis* in the pyrimidines and isoniazid study (A — MIC of the compounds, B — microbiologically induced corrosion of the compounds)

**Notes.** \*\* — the differences are statistically significant ( $P \leq 0.01$ ) in relation to isoniazid; \*\*\* — the differences are statistically significant ( $P \leq 0.001$ ) in relation to isoniazid.

риимидинового цикла, сочленённого в положении 5 с гетарильными фрагментами. Воздействие изучаемых соединений на рост микобактериальных штаммов, с одной стороны, может быть связано с прекращением образования микроорганизмами фолиевой и дигидрофолиевой кислот, а с другой — с иммуностимулирующим влиянием в отношении всех звеньев иммунной системы. Это даёт основание предположить, что данный механизм может привести к нарушению синтеза нуклеиновых кислот [39] и оказывать бактериостатическое дей-

ствие на микобактериальные штаммы [40].

Располагая знаниями о ферментах, участвующих в процессе поддержания жизнедеятельности клетки *M.tuberculosis*, обеспечении выживаемости патогена в неблагоприятных для него условиях, становится возможным обоснование использования новых производных пиримидина для лечения инфекции, вызванной данным микроорганизмом, а также сравнение степени фармакологического эффекта веществ, молекулы которых различаются по химическому строению.

Присутствие в исследуемых соединениях пиримидин-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-трионного цикла обуславливает возможность донорно-акцепторного связывания молекул веществ с аминокислотными остатками активных центров ферментов, катализирующих жизненно важные метаболические процессы в клетке *M.tuberculosis*. Однако присутствие в структуре пиримидиновых производных радикалов, различающихся по строению, позволяет обосновывать различие степени их фармакологического действия. Замещение фенильного радикала в ТАГ3 третичной аминогруппой, являющейся дополнительным центром для донорно-акцепторного связывания с активным сайтом фермента с образованием стабилизированного водородными связями комплекса, позволяет подтвердить превосходство этого соединения по степени противомикробной активности. Молекула ТАГ4 содержит в качестве заместителя бензойного кольца ковалентно-связанный атом хлора, присутствие которого, вероятно, также способствует повышению аффинности связывания за счёт сил Ван-дер-Ваальсового взаимодействия с молекулой-мишенью. Однако, с учётом общей тенденции, являясь галогеном, он способен обуславливать токсичность производного, что

непрерывно необходимо учитывать при дальнейшем исследовании фармакологических свойств вещества. Отсутствие заместителей фенильного радикала в ТАГ1 предопределяет более высокую степень липофильности этого вещества по сравнению с ТАГ3 и ТАГ4, что обеспечивает облегчение при прохождении клеточной мембраны *M.tuberculosis*, характеризующейся повышенной гидрофобностью. Наличие карбонильного центра в ТАГ13 может способствовать участию соединения в реакциях окислительного фосфорилирования, сопровождающихся переносом электронов и, как следствие, оказывать подавляющее действие на патоген угнетением его дыхательной функции. Замещение ТАГ7 фурановым циклом, с одной стороны, обеспечивает дополнительную возможность образования связи по донорно-акцепторному механизму с помощью неподеленной электронной пары кислорода. Однако учитывая её частичную делокализацию в ароматической системе, появляется основание полагать, что фурановый заместитель вносит меньший вклад в связывание с ферментативной системой в отличие от радикала в ТАГ3.

Наименее выраженное противотуберкулёзное действие ТАГ6 может быть объяснено вследствие разных причин. Можно было бы предположить, что при наличии фенольного гидроксила в качестве заместителя бензойного кольца соединение способно проявлять слабо выраженные кислотные свойства. Учитывая устойчивость *M.tuberculosis* в слабокислой среде, подавление активности патогена производным ТАГ6 ставится под сомнение. Знаниями о работе эффлюксных оттоковых систем, позволяют сформировать представление о возможности отталкивания клеткой *M.tuberculosis* ТАГ5, ТАГ6 и ТАГ12, плохо вступающими, вследствие присутствия неполярных заместителей в молекуле, в водородное связывание с белковой молекулой эффлюксного канала.

Объёмный нафтильный радикал в молекуле VMA-13-04 обуславливает большую степень липофильности вещества, однако создаёт стерические препятствия для его проникновения в клетку, хиназолиновый цикл при этом определяет способность соединения образовывать водородные связи с аминокислотами активных сайтов ферментов, а также эффлюксным белковым каналом. Приведённые факты дают основание предполагать наличие у соединения средневыраженной антимикобактериальной активности и находить сходство по степени фармакологического действия с VMA-13-03.

## Литература/References

1. Bhusnure O.G., Shinde M.C., Vijayendra S.S., Gholve S.B., Giram P.S., Birajdar M.J. Phytopharmaceuticals: An emerging platform for innovation and development of new drugs from botanicals. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2019; 9 (3-s): 1046–1057. doi: 10.22270/jddt.v9i3-s.2940.

## Заключение

В результате проведённого исследования установлено, что все изучаемые соединения обладают антимикобактериальной активностью. По характеру ингибирующего воздействия на рост *M.tuberculosis* соединения под лабораторными шифрами ТАГ1, ТАГ4, ТАГ7 и ТАГ13 были сопоставимы с изониазидом, а соединение ТАГ3 даже несколько превосходило действие препарата сравнения. Наименее выраженным противотуберкулёзным действием обладали соединения под лабораторными шифрами VMA-13-03 и VMA-13-04. Вещества под лабораторными шифрами ТАГ5, ТАГ6, ТАГ11 и ТАГ12 проявляли наименьшую антимикобактериальную активность. Анализ результатов определения жизнеспособности *M.tuberculosis* показал, что максимально приближенной антибактериальной активностью к препарату сравнения изониазиду, по показателю задержки роста микобактерий, оказались соединения ТАГ4, ТАГ6 и ТАГ8. Наибольшая бактерицидная активность в отношении *M.tuberculosis* отмечалась у ТАГ4, ТАГ7 и VMA-13-04. Остальные соединения проявили минимальное ингибирующее влияние на рост *M.tuberculosis*. Микроскопические исследования показали, что под влиянием ТАГ3, ТАГ4, ТАГ7, ТАГ12, VMA-13-03 и VMA-13-04 основные структурные компоненты клеток *M.tuberculosis* подвергаются фрагментации и изменению морфологических особенностей по сравнению с клетками микобактерий без воздействия.

Таким образом, производные пиримидина могут рассматриваться как перспективные для дальнейших исследований по поиску антимикобактериальных препаратов.

## Дополнительная информация

**Финансовая поддержка.** Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства здравоохранения РФ в части проведения НИР по теме «Поиск и разработка перспективных соединений с антибактериальной активностью среди производных пиримидина для создания лекарственных препаратов» 48.2-2021.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Все иллюстрации, рисунки и фотографии выполнены авторским коллективом и носят оригинальный характер, а также не нарушают ничьих авторских прав.

2. Jean S.S., Gould I.M., Lee W.S., Hsueh P.R. New drugs for multidrug-resistant Gram-negative organisms: time for stewardship. *Drugs*. 2019; 79 (7): 705–714. doi: 10.1007/s40265-019-01112-1.
3. Kaplancikli A.Z., Yurttas L., Turan-Zitouni G., A-zdemir A., Goger G., Demirci F., Abu Mohsen U. Synthesis and antimicrobial activity of new pyrimidine-hydrazones. *Letters in Drug Design & Discovery*. 2014; 11 (1): 76–81. doi: 10.2174/15701808113109990037

4. Старшинова А.А., Павлова М.В., Яблонский П.К., Сапожникова Н.В., Виноградова Т.И., Чернохаева И.В., Беляева Е.Н. Эволюция фтизиатрии — это поиск новых методов и препаратов, эффективных при лечении туберкулеза. Практическая медицина. 2014; 83 (7): 1–189. [Starshinova A.A., Pavlova M.V., Yablonskiy P.K., Sapozhnikova N.V., Vinogradova T.I., Chernokhaeva I.V., Belyaeva E.N. Evolyutsiya ftiziatrii — eto poisk novykh metodov i preparatov, effektivnykh pri lechenii tuberkuleza. Prakticheskaya Meditsina. 2014; 83 (7): 1–189. (in Russian)]
5. Bloom B.R., Atun R., Cohen T. et al. Tuberculosis. In: Major Infectious Diseases. 2017. doi: 10.1596/978-1-4648-0524-0\_ch11.
6. Усов К.И., Юшков Г.Г., Машанов А.В. Острая токсичность противотуберкулёзных препаратов, содержащих и не содержащих пиридоксина гидрохлорид (экспериментальное исследование). Туберкулёз и болезни лёгких. 2014; 12: 3–86. [Usov K.I., Jyushkov G.G., Mashanov A.V. Ostraya toksichnost' protivotuberkuleznykh preparatov, soderzhashchikh i ne soderzhashchikh piridoksina gidrokhlorid (eksperimental'noe issledovanie). Tuberkulez i Bolezni Legkikh. 2014; 12: 3–86. (in Russian)]
7. Шикова Ю.В., Ивакина С.Н., Кадыров А.Р., Елова Е.В., Зайцева О.Е., Лиходед Т.А. Анализ ассортимента лекарственных препаратов для выявления и разработки нового комбинированного противотуберкулёзного препарата. Медицинский вестник Башкортостана. 2016; 11 (5): 56–60. [Shikova Yu. V., Ivakina S.N., Kadyrov A.R., Elova E.V., Zajitseva O.E., Likhoded T.A. Analiz assortimenta lekarstvennykh preparatov dlya vyavleniya i razrabotki novogo kombinirovannogo protivotuberkuleznogo preparata. Meditsinskij Vestnik Bashkortostana. 2016; 11 (5): 56–60. (in Russian)]
8. Rybniker J., Vocat A., Sala, Busso P., Pojer F., Benjak A., Cole S.T. Lansoprazole is an antituberculous prodrug targeting cytochrome bc 1. Nat Commun. 2015; 6: 7659. doi: 10.1038/ncomms8659.
9. Гельберг И.С., Вольф С.Б., Алекс Е.Н., Авласенко В.С., Коломиец В.М., Коноркина Е.А. Факторы риска развития туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2015; 1: 1–129. [Gel'berg I.S., Vol'f S.B., Alekso E.N., Avlasenko V.S., Kolomiets V.M., Konorkina E.A. Faktory riska razvitiya tuberkuleza s mnozhestvennoj lekarstvennoj ustojchivost'yu vozбудителя. Kurskij Nauchno-Prakticheskij Vestnik «Chelovek i ego Zdorov'e». 2015; 1: 1–129. (in Russian)]
10. Desai N.C., Kotadiya G.M., Trivedi A.R. Studies on molecular properties prediction, antitubercular and antimicrobial activities of novel quinoline based pyrimidine motifs. Bioorg Med Chem Lett. 2014; 24 (14): 3126–3130. doi: 10.1016/j.bmcl.2014.05.002.
11. Bary C.E., Blanchard J.S. The chemical biology of new drugs in development for tuberculosis. Curr Opin Chem Biol. 2010; 14 (4): 456–466. doi: 10.1016/j.cbpa.2010.04.008.
12. Darby C.M., Nathan C.F. Killing of non-replicating *Mycobacterium tuberculosis* by 8-hydroxyquinoline. J Antimicrob Chemother. 2010; 65 (7): 1424–1427. doi:10.1093/jac/dkq145.
13. Villela A.D., Sánchez-Quitian Z.A., Ducati R.G., Santos D.S., Basso L.A. Pyrimidine salvage pathway in *Mycobacterium tuberculosis*. Curr Med Chem. 2011; 18: 1286–1298. doi: 10.2174/092986711795029555.
14. Ramalho T.C., Caetano M.S., Josa D., Luz G.P., Freitas E.A., Cunha E.F.F. Molecular modeling of *Mycobacterium tuberculosis* dntpsase: docking and catalytic mechanism studies. J Biomol Struct Dyn. 2011; 28: 907–918. doi: 10.1080/07391102.2011.10508617
15. Нитритредуктаза в качестве потенциальной мишени против туберкулёза и способ обнаружения степени тяжести туберкулёза. Патент России №2671688 (2013). Заявка: 27.02.2013, опубликовано 06.11.2018. Nitritreduktaza v kachestve potentsial'noj misheni protiv tuberkuleza i sposob obnaruzheniya stepeni tyazhesti tuberkuleza. Patent Rossii №2671688 (2013). Zayavka: 27.02.2013, opublikovano 06.11.2018. (in Russian)]
16. Kumar M., Singh S.K., Singh P.P., Singh V.K., Rai A.C., Srivastava A.K., Shukla L., Kesawat M.S., Jaiswal A.K., Chung S.M., Kumar A. Potential anti-mycobacterium tuberculosis activity of plant secondary metabolites: insight with molecular docking interactions. Antioxidants. 2021; 10: 1–25. doi: 10.3390/antiox10121990.
17. Jamaati H., Mortaz E., Pajouhi Z., Folkerts G., Movassaghi M., Moloudizargari M., Adcock I.M., Garssen J. Nitric oxide in the pathogenesis and treatment of tuberculosis. Front Microbiol. 2017; 8: 1–11. doi: 0.3389/fmicb.2017.02008. eCollection 2017.
18. Santhi N., Aishwarya S. Insights from the molecular docking of withanolide derivatives to the target protein PknG from *Mycobacterium tuberculosis*. Bioinformatics. 2011; 7 (1):: 1–4. doi: 10.6026/97320630007001. Epub 2011 Aug 20.
19. Lambert N., Abdalla A.E., Duan X., Xie J. Emerging drugs and drug targets against tuberculosis. J Drug Target. 2017; 25 (4): 296–306. doi: 10.1080/1061186X.2016.1258705.
20. Khedr M.A., Pillay M., Chandrashekarappa S., Chopra D., Aldhubiab B.E., Attimarad M., Alwassil O.I., Mlisana K., Odhav B., Venugopala K.N. Molecular modeling studies and anti-TB activity of trisubstituted indolizine analogues; Molecular docking and dynamic inputs. J Biomol Struct Dyn. 2018. 36 (8): 2163–2178. doi: 10.1080/07391102.2017.1345325.
21. Ginsberg A.M. Drugs in Development for Tuberculosis. Drugs. 2010; 70 (17): 2201–2214. doi: 10.2165/11538170-000000000-00000.
22. Singh V., Somvanshi P. Homology modelling of 3-oxoacyl-acyl carrier protein synthase II from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and molecular docking for exploration of drugs. J Mol Model. 2009; 15: 453–460. doi: 10.1007/s00894-008-0426-5.
23. Das N., Jena, P.K., Pradhan S.K. Arabinosyltransferase C enzyme of *Mycobacterium tuberculosis*, a potential drug target: An insight from molecular docking study. Heliyon. 2019; 5: 1–6. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02693.
24. Гариб Ф.Ю., Ризопулу А.П. Взаимодействия патогенных бактерий с врождёнными иммунными реакциями хозяина. Инфекция и иммунитет. 2012; 2 (3): 581–596. [Garib F.Jyu., Rizopulu A.P. Vzaimodejstviya patogennykh bakterij s vrozhdennymi immunnymi reaktsiyami khozaina. Infektsiya i immunitet. 2012; 2 (3): 581–596. (in Russian)]
25. Sundar S., Thangamani L., Manivel G., Kumar P., Piramanayagam S. Molecular docking, molecular dynamics and MM/PBSA studies of FDA approved drugs for protein kinase a of *Mycobacterium tuberculosis*; Aaplication insights of drug repurposing. Informatics in Medicine Unlocked. 2019; 16: 1–5. doi:10.1016/j.imu.2019.100210.
26. Vianna C.P., Jr W.F. Identification of new potential *Mycobacterium tuberculosis* shikimate kinase inhibitors through molecular docking simulations. J Mol Model. 2012; 18: 755–764. doi: 10.1007/s00894-011-1113-5.
27. Foo C.S., Pethe K., Lupien A. Oxidative phosphorylation — an update on a new, essential target space for drug discovery in *Mycobacterium tuberculosis*. App Sci. 2020; 10: 1–33. doi:10.3390/app10072339.
28. Rani J., Kumar S., Saini M., Mundlia J., Verma, P.K. Biological potential of pyrimidine derivatives in a new era. Research on Chemical Intermediates. 2016; 42 (9): 6777–6804. doi:10.1007/s11164-016-2525-8
29. Al-Abdullah E. S., Al-Turkistani A. A., Al-Deeb O. A., El-Brollosy N. R., Habib E. E., El-Emam A.A. Pyrimidine-5-carbonitriles II: synthesis and antimicrobial activity of novel 6-alkyl-2, 4-disubstituted pyrimidine-5-carbonitriles. Drug Res. 2014; 64 (01): 31–39. doi: 10.1055/s-0033-1351315. Epub 2013 Aug 15.
30. Самотруева М.А., Цибизова А.А., Ясенявская А.Л., Озеров А.А., Тюренков И.Н. Фармакологическая активность производных пиридинонов. Астраханский медицинский журнал. 2015; 10 (1): 1–108. [Samotrueva M.A., Tsibizova A.A., Yasenyauskaya A.L., Ozerov A.A., Tyurenkov I.N. Farmakologicheskaya aktivnost' proizvodnykh pirimidinov. Astrakhanskiy meditsinskij zhurnal. 2015; 10 (1): 1–108. (in Russian)]
31. Coen N., Duraffour S., Topalis D., Snoeck R., Andrei G. Spectrum of activity and mechanisms of resistance of various nucleoside derivatives against γ-herpesviruses. Antimicrob Agents Chemother. 2014; 58 (12): 7312–7323. doi: 10.1128/AAC.03957-14.
32. McBryde E.S., Meehan M.T., Doan T.N., Ragonnet R., Marais B.J., Guernier V., Trauer J.M. The risk of global epidemic replacement with drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains. Intern J Infect Dis. 2017; 56: 14–20. doi: 10.1016/j.ijid.2017.01.031. Epub 2017 Feb 2.
33. Навашин С.М., Фомина И.П. Справочник по антибиотикам. М.: Медицина, 1974; 54. [Navashin S.M., Fomina I.P. Spravochnik po antibiotikam. Moscow: Meditsina, 1974; 54. (in Russian)]
34. Малая медицинская энциклопедия. М.: Медицина, 1991–1996 гг. [Malaya meditsinskaya entsiklopediya. Moscow: Meditsina, 1991–1996 gg. (in Russian)]
35. Бреннан П.Дж., Дрепер Ф. Ультраструктура микобактерий туберкулёза. Туберкулёз, патогенез, защита, контроль. Под ред. Б. Р. Блума; М.: Медицина, 2002; 294–306. [Brennan P.Dzh., Dreper F.U. Ultrastruktura mikobakterij tuberkuleza. Tuberkulez, patogenez, zashchita, kontrol'. Pod red. B. R. Bluma; Moscow: Meditsina, 2002; 294–306.
36. Овчинников Н.М., Делекторский Н.М. Электронная микроскопия некоторых представителей рода трепонем, рода нейссерия и трихомонад. М.: Медицина, 1974; 129. [Ovchinnikov N.M., Delektorskiy N.M. Elektronnaya mikroskopiya nekotorykh predstavitelej roda treponem, roda nejsseriya i trikhomonad. Moscow: Meditsina, 1974; 129. (in Russian)]
37. Дюбо П. Бактериальная клеткаю М.: Медгиз, 1948; 525. [Djyubo P. Bakterial'naya kletkaju Moscow: Medgiz, 1948; 525.
38. Модель Л.М. Биология туберкулёзных микобактерий и иммунология туберкулёза. М.: 1958; 315. [Model' L.M. Biologiya tuberkuleznykh mikobakterij i immunologiya tuberkuleza. Moscow: 1958; 315.
39. Пашиная А. Г. Терапия инфекций мочевыводящих. Медицинский совет. 2011; 3–4: 46–47. [Pashinyan A. G. Terapiya infektsij mochevyvodyashchikh. Meditsinskij Sovet. 2011; 3–4: 46–47. (in Russian)]
40. Cohen A.T., Dye C., Fraser H., Gomez G. B., Knight G., Murray M., Nardell E., Rubin E., Salomon J., Vassall A., Volchenkov G., White R., Wilson D., Yadav P. The International Bank for reconstruction and development. The World Bank, 2017.



## Информация об авторах

*Самотруева Марина Александровна* — д. м. н., профессор, проректор по научной и инновационной работе, заведующая кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-5336-4455

*Габитова Нармина Муталлимага-кызы* — ассистент кафедры микробиологии и вирусологии, ассистент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-3867-8330

*Генатуллина Гузель Наилевна* — к. б. н., заместитель руководителя научно-исследовательского центра; доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-5417-4477

*Старикова Алла Андреевна* — ассистент кафедры химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-5210-5248

*Башкина Ольга Александровна* — д. м. н., профессор, ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-4168-4851

*Тырков Алексей Георгиевич* — д. х. н., профессор, декан химического факультета; профессор кафедры органической, неорганической и фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет», Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-3229-5248

*Озеров Александр Александрович* — д. х. н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-4721-0959

*Тюренков Иван Николаевич* — д. х. н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой фармакологии и биофармации ИНМФО ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-7574-3923

## About the authors

*Marina A. Samotrueva* — D. Sc. in medicine, Professor, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-5336-4455

*Narmina M. Gabitova* — Assistant at the Department of Microbiology and Virology, Assistant at the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-3867-8330

*Guzel N. Genatullina* — Ph. D. in biology, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-5417-4477

*Alla A. Starikova* — Assistant at the Department of Chemistry, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-5210-5248

*Bashkina Olga A.* — D. Sc. in medicine, Professor, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-4168-4851

*Alexey G. Tyrkov* — D. Sc. in chemistry, Professor, Astrakhan State University, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-3229-5248

*Alexandr A. Ozerov* — D. Sc. in chemistry, Professor, Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-4721-0959

*Ivan N. Tyurenkov* — D. Sc. in chemistry, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-7574-3923

# Влияние рифампицина на индукцию активности *MDR1/P-gp* в провоспалительных макрофагах человека

Е. Н. ПАВЛОВА<sup>1</sup>, \*М. В. ЕРОХИНА<sup>1,2</sup>, Е. Ю. РЫБАЛКИНА<sup>2,3</sup>,  
Д. М. ПОТАШНИКОВА<sup>1</sup>, А. Г. МАСЮТИН<sup>1,2</sup>, Л. Н. ЛЕПЕХА<sup>2</sup>, А. Э. ЭРГЕШОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулёза», Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина Минздрава России», Москва, Российская Федерация

## The Effect of Rifampicin on the Induction of *MDR1/P-gp* Activity in Proinflammatory Human Macrophages

EKATERINA N. PAVLOVA<sup>1</sup>, \*MARIA V. EROKHINA<sup>1,2</sup>, EKATERINA YU. RYBALKINA<sup>2,3</sup>,  
DARIA M. POTASHNIKOVA<sup>1</sup>, ALEXANDER G. MASYUTIN<sup>1,2</sup>,  
LARISA N. LEPEKHA<sup>2</sup>, ATADZHAN E. ERGESHOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Blokhin of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

### Резюме

**Актуальность.** Влияние на активность белка множественной лекарственной устойчивости Р-гликопротеина (P-gp, ген *MDR1*) в провоспалительных (M1) макрофагах человека рассматривается в качестве одной из перспективных стратегий повышения эффективности лечения больных туберкулёзом лёгких: активность P-gp является фактором, который может снижать внутриклеточное накопление рифампицина (RIF) — субстрата для P-gp.

**Цель работы:** выявить влияние терапевтической концентрации RIF на активность P-gp в M1 макрофагах человека. Поставлены задачи: определить уровни экспрессии гена *MDR1*, белка P-gp и его функциональной активности на разных сроках дифференцировки клеток и при действии RIF.

**Материал и методы.** В работе использованы следующие клеточные линии: суспензионные клетки промиелоцитарной лейкемии THP-1 и индуцированные по провоспалительному фенотипу форболовым эфиром макрофаги THP-1. Суспензионные клетки миелобластной лейкемии K562/IS-9 с трансфицированным геном *MDR1* использовались в качестве группы сравнения. Важным фактором является выбор экспериментальной концентрации RIF: у больных туберкулёзом лёгких средняя концентрация препарата составляет 10 мкг/мл. В работе использованы методы ОТ-ПЦР, иммуноцитохимии, проточной цитометрии.

**Результаты и обсуждение.** Выявлена индукция экспрессии гена *MDR1* в M1-макрофагах при краткосрочном воздействии «терапевтической» концентрации RIF. Этот эффект характерен только для макрофагов THP-1, в которых регистрируется значительная функциональная активность P-gp. В клетках, в которых активность P-gp не выявляется (суспензионные клетки THP-1), такая индукция не происходит. Это свидетельствует о наличии разных механизмов влияния RIF на *MDR1*, что может быть использовано для разработки стратегии ингибирования P-gp в макрофагах воспаления.

**Заключение.** Учитывая ключевую роль макрофагов при туберкулёзе, необходима дальнейшая оценка *MDR1/P-gp* в операционном материале больных туберкулёзом лёгких, что позволит сделать вывод о необходимости разработки и применения лекарственных стратегий, направленных на блокировку функциональной активности P-gp и выборе более эффективных схем противотуберкулёзной терапии.

**Ключевые слова:** рифампицин; провоспалительные макрофаги; *MDR1*; P-гликопротеин; P-gp

**Для цитирования:** Павлова Е. Н., Ерохина М. В., Рыбалкина Е. Ю., Поташникова Д. М., Масютин А. Г., Лепеха Л. Н., Эргешов А. Э. Влияние рифампицина на индукцию активности *MDR1/P-gp* в провоспалительных макрофагах человека. *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 3–4: 16–22. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-16-22.

### Abstract

**Background.** The effect on the activity of the multidrug resistance protein P-glycoprotein (P-gp, *MDR1* gene) in pro-inflammatory (M1) human macrophages is considered one of the promising strategies for increasing the effectiveness of the treatment in patients with pulmonary tuberculosis: P-gp activity is considered a factor that reduces intracellular accumulation of rifampicin (RIF), a substrate for P-gp.

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: Каширское шоссе, 24, НИИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина, г. Москва, Российская Федерация, 115522. E-mail: erokhina@bk.ru

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 24 Kashirskoe highway, Moscow, Russian Federation. E-mail: erokhina@bk.ru

**The aim** of this work was to reveal the effect of the therapeutic concentration of RIF on the activity of P-gp in M1 human macrophages. The objectives were as follows: to determine the expression levels of the *MDR1* gene, P-gp protein, as well as its functional activity at different periods of cell differentiation and under the influence of RIF.

**Material and methods.** The following cell lines were used in the work: suspension cells of promonocytic leukemia THP-1 and THP-1 macrophages induced by phorbol ether according to the pro-inflammatory phenotype. Suspension cells of myeloid leukemia K562/IS-9 transfected with the *MDR1* gene were used as a comparison group. An important factor is the choice of the experimental concentration of RIF: the average concentration of the drug in patients with pulmonary tuberculosis was 10 µg/ml. The methods of RT-PCR, immunocytochemistry, and flow cytometry were used in the work.

**Results and discussion.** The induction of *MDR1* gene expression in M1 macrophages under short-term exposure to a therapeutic concentration of RIF was revealed. This effect is typical only for THP-1 macrophages, in which a significant functional activity of P-gp is registered. This induction does not occur in the cells with no detectable P-gp activity (THP-1 suspension cells). This indicates the presence of different mechanisms of RIF influence on *MDR1*, which can be used to develop a strategy for P-gp inhibition in inflammatory macrophages.

**Conclusion.** Given the key role of macrophages in tuberculosis, further evaluation of *MDR1/P-gp* in the surgical material of patients with pulmonary tuberculosis is necessary, which makes it possible to draw a conclusion that it is necessary to develop and apply drug strategies aimed at blocking the functional activity of P-gp and choosing more effective anti-tuberculosis therapy regimens.

**Keywords:** proinflammatory macrophages; *MDR1*; P-glycoprotein; P-gp

**For citation:** Pavlova E. N., Erokhina M.V., Rybalkina E. Yu., Potashnikova D. M., Masyutin A. G., Lepkha L. N., Ergeshov A. E. The effect of rifampicin on the induction of *MDR1/P-gp* activity in proinflammatory human macrophages. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 3–4: 16–22. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-16-22.

## Введение

Туберкулёз лёгких входит в десятку ведущих причин смертности в мире: несмотря на успехи антибактериальной терапии, наблюдается увеличение доли его лекарственно-устойчивых форм [1]. Развитие данной тенденции ставит вопрос не только об изучении механизмов резистентности возбудителя туберкулёза и путях её преодоления, но и о повышении эффективности лечения в результате разработки новых, научно-обоснованных стратегий, направленных на организм самого больного [2]. Следует отметить, что до сих пор недостаточно изучены и учитываются в клинической практике механизмы, снижающие накопление противотуберкулёзных препаратов в области туберкулёзного воспаления за счёт активности специальных белков-экспортёров клеток организма человека. Особую роль среди таких белков-экспортёров играют «белки множественной лекарственной устойчивости» и их наиболее яркий представитель — Р-гликопротеин (P-gp, кодируется геном *MDR1*). Изучение влияния P-gp на эффективность противотуберкулёзных препаратов рассматривается в качестве одной из перспективных организм-ориентированных стратегий, направленных на повышение эффективности лечения больных туберкулёзом [3].

В настоящее время известно не менее 300 субстратов P-gp, к которым относятся лекарственные препараты различного спектра действия, в том числе и один из основных противотуберкулёзных препаратов рифампицин (RIF) [4]. Одно из преимуществ RIF является его эффективность против внутриклеточных форм *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ): его внутриклеточная концентрация может превышать внеклеточную в 4–5 раз [5].

Это является особенно актуальным при его действии на инфицированные макрофаги.

При туберкулёзе лёгких макрофаги воспаления выполняют ключевые функции, как клетки, формирующие защитную гранулематозную реакцию, регулирующие характер воспалительного процесса и осуществляющие фагоцитоз *M. tuberculosis* [6]. От их функциональной активности зависит успешность элиминации внутриклеточных форм МБТ. Изучение молекулярных и клеточных механизмов, через которые возможно терапевтически «улучшить» или изменить потенции макрофагов, в настоящее время рассматривается в качестве одной из перспективных стратегий повышения эффективности лечения больных туберкулёзом лёгких [7]. В этой связи актуальным является вопрос о влиянии RIF на экспрессию гена *MDR1* и его белка P-gp в модели макрофагов человека, характеризующихся провоспалительным фенотипом. При этом важным является выбор экспериментальной концентрации препарата, которая соответствует терапевтической: показано, что средняя концентрация RIF в крови и в области гранулём у больных туберкулёзом лёгких составляет 10 мкг/мл [8, 9]. Таким образом, цель данного исследования — выявить влияние терапевтической концентрации RIF на активность P-gp в провоспалительных макрофагах человека. Для реализации цели исследования поставлены задачи охарактеризовать изменение экспрессии гена *MDR1*, уровня P-gp на плазматической мембране клеток и его функциональной активности при разных функциональных состояниях макрофагов — в процессе их дифференцировки и при действии RIF в терапевтической концентрации. В условиях *in vitro* классическим индуктором макрофагальной дифференцировки яв-

ляется форболовый эфир (PMA). Ранее нами была отработана и охарактеризована модель индукции в клетках ТНР-1 активации/дифференцировки по провоспалительному типу М1 макрофагов [10]. Для изучения фенотипа макрофагов моноцитарные клетки человека линии ТНР-1 представляют собой удобную и широко используемую модельную систему.

## Материал и методы

**Клеточные линии.** В работе были использованы следующие клеточные линии: 1) суспензионные клетки промиелоцитарной лейкемии ТНР-1 (Российская коллекция клеточных культур, Санкт-Петербург) и индуцированные по провоспалительному фенотипу форболовым эфиром (PMA, 12-O-tetradecanoyl-13-phorbol myristate, Sigma, США) макрофаги ТНР-1; 2) суспензионные клетки миелобластной лейкемии K562/IS-9 с трансфицированным геном MDR1 [11] (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России). Культивирование проводилось в среде RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (NuClone, Южная Америка), 2 mM L-глутамин (ПанЭко, Россия) при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Для индукции провоспалительной макрофагальной дифференцировки клеток ТНР-1 использовали 100 нМ PMA, согласно методике Курьининой А. В. [10].

**Схема эксперимента.** Стоковая концентрация RIF (Sigma-Aldrich, США) составляла 50 мг/мл в ДМСО. Исходные клетки ТНР-1 культивировали с 10 мкг/мл RIF в течение 28 дней. К дифференцированным в макрофагальном направлении ТНР-1, добавляли 10 мкг/мл RIF через 72 ч дифференцировки и культивировали в течение 96 ч (в связи с ограниченными сроками их жизнеспособности после индукции дифференцировки). Согласно нашим ранее полученным данным, 10 мкг/мл RIF является субтоксической концентрацией для суспензионных клеток ТНР-1 и не оказывает влияние на жизнеспособность макрофагов ТНР-1 [12, 13].

**ОТ-ПЦР в реальном времени.** Тотальную РНК выделяли с помощью Trizol-Reagent (Invitrogen, США) в соответствии с протоколом производителя. Концентрацию РНК определяли на спектрофотометре NanoVue Plus (GE Healthcare, США). Для синтеза кДНК использовали 500 нг тотальной РНК. Обратную транскрипцию и ПЦР в реальном времени с интеркалирующим красителем EvaGreen проводили в соответствии с протоколом производителя (все наборы реагентов Синтол, Россия). Использовали следующие последовательности праймеров (Евроген, Россия): MDR1: прямой — GGGATGGTCAGTGTGATGGA, обратный — GSTATCGTGGTGGCAAACAATA, длина 110 п.н.; RPL27: прямой — ACCGCTACCCCGCAAAGTG, обратный — CCCGTCGGGCSSTGCGTTTA, длина 198 п.н. Реакцию проводили в амплификаторе CFX96 Touch. Продукты ПЦР проверяли на специфичность методом кривой плавления в программном обеспечении Bio-Rad CFX Manager. Нормализацию результатов проводили по экспрессии гена RPL27. Уровень экспрессии генов оценивали по значению  $R = 2^{-\Delta\Delta C_t}$ . Для каждого образца было выполнено три технических повтора.

**Проточная цитометрия. Иммуноцитохимическое выявление P-gr.** Использовали моноклональные мышиные антитела, конъюгированные с изотиоцианатом флуоресцина (FITC), клон 17F9 (BD Biosciences, кат. номер 557002, США), согласно протоколу производителя. Интенсивность флуоресценции представлена в виде отношения медианы интенсивности флуоресценции меченых антителами клеток к медиане интенсивности аутофлуоресценции немеченых клеток.

**Оценка функциональной активности P-gr.** Клетки инкубировали в течение 30 мин в RPMI-1640 без сыворотки с 5 мМ Родамина 123 (Sigma Aldrich, США) при температуре 4°C (на льду) в темноте, затем дважды отмывали в фосфатно-со-

левым буфере при температуре 4°C. Далее клетки инкубировали в среде без сыворотки 30 мин при 37°C в CO<sub>2</sub> инкубаторе в отсутствие или присутствии 22 мМ ингибитора P-gr винбластина. Для оценки функциональной активности P-gr определяли фактор активности P-gr:

$$\text{ФА}_{P-gr} = ((\text{МИФ}^1 - \text{МИФ}^2) / \text{МИФ}^1) \times 100 (\%);$$

где: МИФ — медиана интенсивности флуоресценции клеток; МИФ<sup>1</sup> — выброс родамина 123 в присутствии ингибитора; МИФ<sup>2</sup> — выброс родамина 123 в культуральной среде. Интенсивность флуоресценции родамина 123 регистрировали в канале FITC.

**Программное обеспечение.** Интенсивность флуоресценции регистрировали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) с использованием программы Cell Quest или FACS Aria SORP с помощью программного обеспечения FACSDiva Software: для антител, конъюгированных с FITC и Родамина 123 использовали синий возбуждающий лазер (488 нм, 60 мВт) и фильтры обнаружения 530/30 нм. Записывали 30 000 событий. Каждый эксперимент был проведен в трёх независимых повторах. Для дальнейшего анализа и визуализации полученных на FACS Aria SORP данных использовалось программное обеспечение Flowing Software 2.5.1.

**Статистическая обработка данных.** Статистический анализ полученных результатов проводился при помощи MS Excel v.16.37 или в программном пакете GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, США). Соответствие данных нормальному распределению проверяли критерием Шапиро-Уилка, для проверки равенства дисперсий — критерий Фишера. Результаты представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего ( $M \pm SEM$ ). Для сравнения результатов, соответствующих нормальному распределению и с равными дисперсиями, использовали *t*-критерий Стьюдента или One-Way ANOVA с последующим тестом Тьюки-Крамера.

## Результаты исследования

### Анализ индукции экспрессии гена MDR1

Результаты ОТ-ПЦР экспериментов суммированы на рис. 1. В исходных клетках ТНР-1 уровень экспрессии гена MDR1 определяется на уровне  $0,071 \pm 0,038$  у. е., который является достаточно низким, по сравнению с K562/IS-9 с трансфицированным геном MDR1. Для этих клеток относительный уровень экспрессии равен  $38,0 \pm 0,009$  у. е.

После длительного культивирования в присутствии RIF уровень экспрессии гена MDR1 в суспензионных клетках ТНР-1 составил  $0,008 \pm 0,006$  у. е. Таким образом, субтоксическая концентрация RIF не только не индуцировала экспрессию гена MDR1 в суспензионных клетках ТНР-1, но и статистически значимо снижала её.

В экспериментальной модели макрофагов ТНР-1 уровень экспрессии гена MDR1 составляет  $0,28 \pm 0,09$  у. е. на 3-и сутки (ТНР1+PMA\_3c) и  $0,30 \pm 0,07$  у. е. — на 7-е сутки (ТНР1+PMA\_7c) дифференцировки: по сравнению с исходной суспензионной клеточной линией ТНР-1 уровень экспрессии гена возрастает в 4 раза (см. рис. 1).

Для того чтобы оценить влияние RIF на экспрессию гена MDR1 препарат был добавлен в среду культивирования на 3-и сутки дифференцировки: к этому сроку формируются макрофаги ТНР-1 с провоспалительными фенотипом [10].

Уровень экспрессии гена *MDR1* после культивирования с RIF составляет  $0,50 \pm 0,057$  у. е. против  $0,30 \pm 0,07$  у. е. в контрольных клетках, и представленные различия являются статистически значимыми ( $p=0,02$ ). Таким образом, инкубация макрофагальных клеток в присутствии 10 мкг/мл RIF увеличивает уровень экспрессии гена *MDR1* в 1,7 раза.

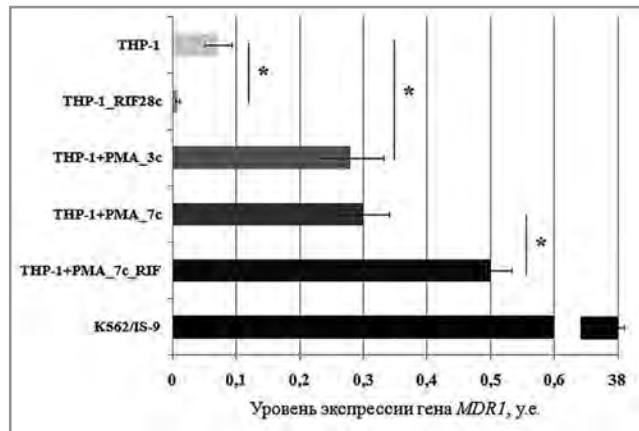
**Иммуоцитохимическое выявление P-гр**

Иммуоцитохимическое мечение антителами не выявило присутствие P-гр на плазматической мембране суспензионных клеток THP-1: интенсивность флуоресценции меченых антителами клеток не отличалась от немеченых. После их длительного культивирования в присутствии RIF уровень интенсивности флуоресценции остался на том же уровне и составил  $1,3 \pm 0,05$  для клеток THP-1 (рис. 2).

Для клеток THP-1 на 3-и сутки дифференцировки (THP1+PMA\_3c) это соотношение составляет уже  $2,235 \pm 0,265$  и  $2,035 \pm 0,205$  — на 7-е сутки (THP1+PMA\_7c) дифференцировки, то есть между 3- и 7-ми сутками макрофагальной дифференцировки не обнаруживается статистически значимых различий. Но в сравнении с исходными суспензионными клетками THP-1 интенсивность флуоресценции статистически значимо возрастает в 1,8–1,9 раза ( $p=0,049$ ). После воздействия RIF (THP1+PMA\_Риф\_4c) уровень интенсивности флуоресценции составляет  $2,38 \pm 0,12$  (см. рис. 2). По сравнению с макрофагами на 7-й день дифференцировки (THP-1+PMA\_7c) данные статистически значимо не различаются. Таким образом, увеличение экспрессии гена *MDR1* в процессе дифференцировки приводит к выявлению P-гр на плазматической мембране макрофагальных клеток, но культивирование макрофагов с терапевтической концентрацией RIF в течение 4 сут не приводит к увеличению уровня P-гр на плазматической мембране.

**Определение фактора активности P-гр**

Анализ накопления родамина 123, его выброса и ингибирования винбластином показал, что после инкубации с RIF в течение 4 суток средние значения ФАР-гр для макрофагов THP-1 составляют  $65,5 \pm 10,24$  и статистически значимо не отличаются от средних значений ФАР-гр для контрольных макрофагов THP-1 (рис. 3, a). В присутствии 22 мкМ винбластина выброс родамина 123 полностью ингибируется, и кривые интенсивности флуоресценции выброса родамина 123 совпадают с кривыми его накопления на всех сроках дифференцировки (рис. 3, b). Несмотря на сравнительно невысокие уровни иммуоцитохимического выявления P-гр на плазматической мембране клеток, данный показатель свидетельствует о высокой функциональной активности P-гр в клетках THP-1 при их дифференцировке.

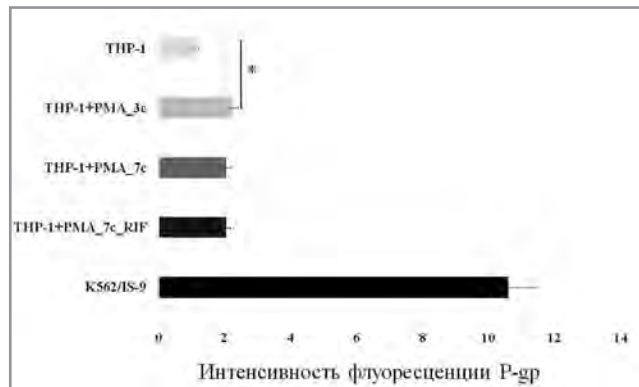


**Рис. 1. Гистограмма изменения экспрессии гена *MDR1* при действии RIF в суспензионных клетках и провоспалительных макрофагах THP-1.**

**Примечание.** На графике представлены средние значения относительного уровня экспрессии гена в условных единицах (у. е.) по результатам 3 экспериментов. Метод ОТ-ПЦР в реальном времени. \* — статистически значимые различия при  $p < 0,05$ .

**Fig. 1. Histogram of changes in *MDR1* gene expression under the influence of RIF in suspension cells and pro-inflammatory macrophages THP-1.**

**Note.** The graph shows the average values of the relative level of gene expression in conventional units (c.u.) based on the results of 3 experiments. Real-time RT-PCR method. \* — statistically significant differences at  $P < 0.05$ .

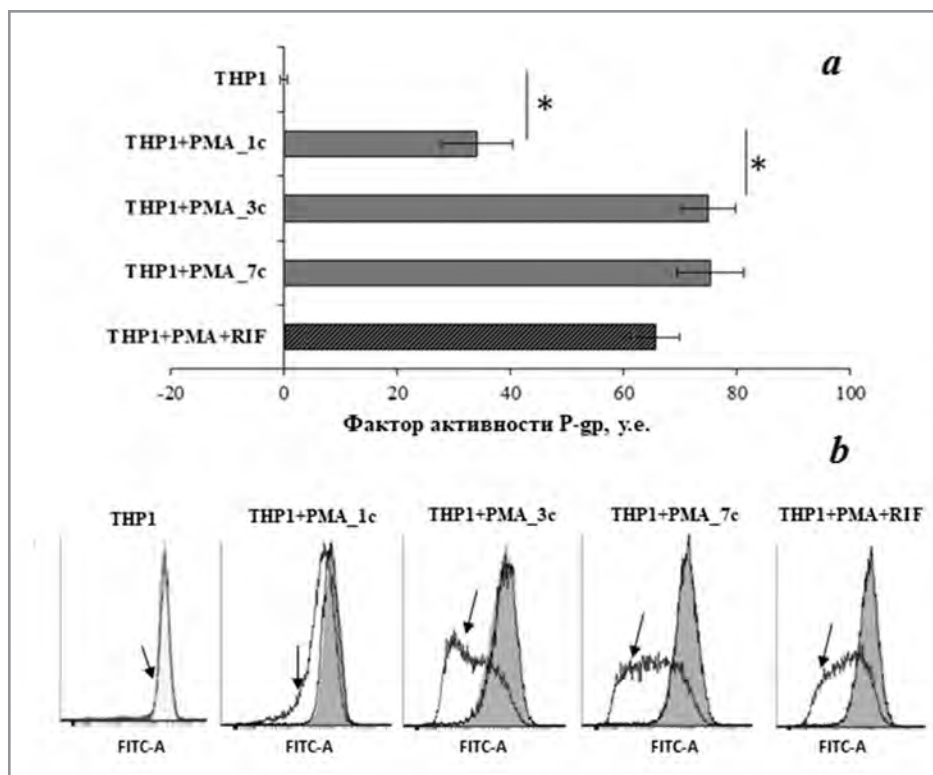


**Рис. 2. Гистограмма иммуоцитохимического выявления P-гр под действие RIF в суспензионных клетках и в провоспалительных макрофагах THP1.**

**Примечание.** На графиках представлены средние значения отношения медиан интенсивности флуоресценции окрашенных антителами клеток к медиане интенсивности неокрашенных клеток ± стандартная ошибка среднего по результатам трёх экспериментов. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

**Fig. 2. Histogram of immunocytochemical detection of P-gp under the influence of RIF in suspension cells and in pro-inflammatory THP1 macrophages.**

**Note.** The graphs show the mean values of the ratio of the median fluorescence intensity of antibody-stained cells to the median intensity of unstained cells ± standard error of the mean for the results of three experiments. The differences were considered statistically significant at  $P < 0.05$ .



**Рис. 3.** Изменения функциональной активности P-gp в процессе макрофагальной дифференцировки и под воздействием RIF в клетках THP-1. *a* — гистограмма анализа ФАР-gp; *b* — графики интенсивности накопления и выброса родамина 123. **Примечание.** *a* — на графике представлены средние значения трёх независимых экспериментов  $\pm$  стандартная ошибка среднего. \* — статистически значимые различия при  $p < 0,05$ . *b* — серая гистограмма — накопление и выброс родамина 123 в присутствии ингибитора P-gp винбластин 22  $\mu$ M (гистограммы совпадают на всех рисунках). Черная кривая, обозначенная стрелкой — выброс Родамина 123. По горизонтальной оси — относительная флуоресценция в канале FITC (о. е.), которая соответствует флуоресцентной эмиссии родамина 123. По вертикальной оси — число событий.

**Fig. 3.** Changes in the functional activity of P-gp during macrophage differentiation and under the influence of RIF in THP-1 cells. *A.* Histogram of FAP-gp analysis. *B.* Graphs of the intensity of accumulation and release of rhodamine 123.

**Note.** *a* — the graph shows the means of three independent experiments  $\pm$  standard error of the mean values. \* — statistically significant differences at  $P < 0.05$ . *b* — Gray histogram — accumulation and release of rhodamine 123 in the presence of the P-gp inhibitor vinblastine 22  $\mu$ M (the histograms are the same in all figures). The black curve marked with an arrow — the release of Rhodamine 123. Horizontal axis — the relative fluorescence in the FITC channel (p.u.), which corresponds to the fluorescent emission of Rhodamine 123. Vertical axis — the number of events.

При этом в выбранном нами дизайне эксперимента нам не удалось обнаружить повышение функциональной активности P-gp в макрофагах при действии RIF.

## Обсуждение исследования

Мы продемонстрировали индукцию экспрессии гена *MDR1* при краткосрочном воздействии терапевтической концентрации RIF в макрофагах THP-1. Этот эффект характерен для клеток, которые уже находятся в процессе макрофагальной дифференцировки по M1-фенотипу и в них является функционально-активный P-gp. В мо-

ноцитах периферической крови человека экспрессия гена *MDR1* также регистрируется на очень низком уровне, но при их адгезии к субстрату и дифференцировке в макрофаги экспрессия гена увеличивается и на мембране клеток детектируется P-gp [14].

Как нами ранее было показано, в используемой модели макрофаги THP-1 характеризуются высокой экспрессией провоспалительных цитокинов (IL-1b, IL-6, IL-8, MCP-1) и выраженной способностью к фагоцитозу через Fc-рецепторы на протяжении всего срока эксперимента (до 7 сут), что является характерным для M1-макрофагов [10]. Стабилизация функциональной активности P-gp регистрируется к 3-м сут эксперимента и совпадает с ранее полученными данными о формировании к этому сроку функционально-зрелого фенотипа макрофагов THP-1 и активации P-gp [10, 15]. Данный срок эксперимента был выбран для добавления RIF. Таким образом, нами выявлена индукция гена *MDR1* в провоспалительных макрофагах, уже характеризующихся высокими значениями фактора активности P-gp. Важно, что этот результат получен при действии те-

рапевтической концентрации RIF, которая выявляется в плазме крови и в туберкуломах лёгких [8, 9].

В тоже время мы не наблюдали аналогичного индуцирующего эффекта в исходных моноцитарных клетках THP-1, хотя известно, что в этих клетках ген *MDR1* характеризуется индуцибельностью при фармакологическом воздействии [16–18]. В экспериментах на мононуклеарах, выделенных из крови, и клетках лимфоцитарной лимфомы CCRF-CEM также было показано, что RIF (25 мкМ, ~20 мкг/мл) не индуцирует экспрессию гена *MDR1* [19]. Эти факты указывают на имеющиеся принципиальные различия в действии RIF на ген *MDR1* в миелоидных клетках и на наличие

разных молекулярных механизмов такой индукции, что может быть использовано для разработки молекулярных и клеточных стратегий воздействия на макрофаги воспаления.

Согласно имеющимся данным, область промотора гена *MDR1* содержит множественные сайты связывания для различных факторов транскрипции, включая Мус, Sp1, AP-1, NF-κB и другие [20]. Одна из современных гипотез предполагает взаимодействие PXR (прегнановый X рецептор) с областью промотора гена *MDR1*. PXR — ядерный рецептор, основной функцией которого является регуляция экспрессии белков, участвующих в детоксикации и выведении ксенобиотиков из организма. Для клеток эпителиального происхождения уже продемонстрирована ведущая роль PXR в стимулировании экспрессии гена *MDR1* при действии RIF [21]. На клеточной линии LS174T (рак толстой кишки человека, характеризуется высокой индукцией *MDR1* под действием RIF) выявлены возможные варианты такой активации: RIF действует на кэзеин-киназу 2, которая фосфорилирует белок теплового шока HSP80b. Это вызывает стабилизацию PXR, его перемещение в ядро, связывание с промотором *MDR1* и запуск его транскрипции [22]. В то же время в более ранней работе на этой же линии клеток было идентифицировано, что PXR связывается не с промотором, а со сложным регуляторным кластером примерно из 8 пар нуклеотидов, в котором ключевую роль при действии RIF играет мотив DR4 в области энхансера. Это может означать, что PXR при действии RIF способен регулировать экспрессию генов, но не запускать её [23]. Мы предполагаем, что такой механизм может как раз и объяснить те различия в индукции экспрессии гена *MDR1*, которые нами были выявлены: PXR индуцирует экспрессию гена *MDR1* только при её наличии на значимом уровне (об этом свидетельствует присутствие в клетках активного P-гр), который уже и выявляется в макрофагах.

При макрофагальной дифференцировке в клетках THP-1 уровень PXR значимо не возрастает, по сравнению с исходной клеточной линией, но увеличивается при действии RIF (показано для высокой концентрации препарата 100 мкг/мл) [24]. В свою очередь, ингибирование кетоконазолом PXR или его нокадаун подавляют RIF-индуцированную экспрессию *MDR1* в макрофагах [24, 25]. Эти свидетельства в пользу ги-

потезы о ключевой роли PXR в индукции экспрессии гена *MDR1* под действием RIF в макрофагах.

Так как RIF является субстратом для P-гр, то постоянная индукция экспрессии гена *MDR1* и функциональной активности P-гр будет снижать накопление локальных концентраций RIF в макрофагах воспаления, тем самым способствуя выживаемости возбудителя. В настоящее время ряд исследователей предлагает разработать стратегию ингибирования функциональной активности P-гр в инфицированных макрофагах [3, 26]. Предполагается, что такая стратегия должна привести к повышению концентраций RIF в инфицированных *M.tuberculosis* макрофагах, и тем самым будет способствовать более эффективному внутриклеточному уничтожению патогена.

## Заключение

Показано, что терапевтическая концентрация рифампицина индуцирует в провоспалительных макрофагах THP-1 экспрессию гена *MDR1*, и этот эффект связан с дифференцировкой клеток и появлением в них функционально-активного P-гр. Учитывая ключевую роль макрофагов в развитии и заживлении туберкулёзного воспаления, возможности персистенции в них возбудителя, необходима дальнейшая оценка *MDR1*/P-гр в макрофагах воспаления, а также в операционном материале больных туберкулёзом лёгких. Эти данные позволят в дальнейшем сделать вывод о необходимости разработки и применения лекарственных стратегий, направленных на блокировку функциональной активности P-гр и выборе более эффективных схем противотуберкулёзной терапии.

### Дополнительная информация

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

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90161 Аспиранты и в рамках темы НИР «Влияние противотуберкулёзных препаратов на белки множественной лекарственной устойчивости клеток человека (МЛУ-СКМ) при туберкулёзе лёгких». Работа по цитометрическому анализу клеток поддержана программой развития МГУ (комплекс для клеточной сортировки на базе FACSAria SORP).

## Литература/References

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2020. Geneva: World Health Organization; (2020).
2. *Hawn T.R., Shah J.A., Kalman D.* New tricks for old dogs: countering antibiotic resistance in tuberculosis with host-directed therapeutics. *Immunol Rev.* 2015; 264 (1): 344–362. doi: 10.1111/imr.12255.
3. *Te Brake L.H.M., de Knegt G.J., de Steenwinkel J.E. et al.* The Role of efflux pumps in tuberculosis treatment and their promise as a target in drug development: unraveling the black box. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 2018; 58: 271–291. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010617-052438.

4. *Kim R.B.* Drugs as P-glycoprotein substrates, inhibitors, and inducers. *Drug Metab Rev.* 2002; 34 (1–2): 47–54. doi: 10.1081/dmr-120001389.
5. *Burman W.J.* The value of *in vitro* drug activity and pharmacokinetics in predicting the effectiveness of antimycobacterial therapy: a critical review. *Am J Med Sci.* 1997; 313 (6): 355–363. doi: 10.1097/00000441-199706000-00008.
6. *Pahari S., Kaur G., Negi S. et al.* Reinforcing the functionality of mononuclear phagocyte system to control tuberculosis. *Front Immunol.* 2018; 9: 193. Published 2018 Feb 9. doi: 10.3389/fimmu.2018.00193.
7. *Khan A., Singh V.K., Hunter R.L., Jagannath C.* Macrophage heterogeneity and plasticity in tuberculosis. *J Leukoc Biol.* 2019; 106 (2): 275–282. doi: 10.1002/JLB.MR0318-095RR.

8. *Alsultan A., Peloquin C.A.* Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis: an update [published correction appears in *Drugs*. 2014 Jun; 74 (9): 2061. Dosage error in article text]. *Drugs*. 2014; 74 (8): 839–854. doi: 10.1007/s40265-014-0222-8.
9. *Prideaux B., Via L.E., Zimmerman M.D. et al.* The association between sterilizing activity and drug distribution into tuberculosis lesions. *Nat Med*. 2015; 21 (10): 1223–1227. doi: 10.1038/nm.3937.
10. *Курьнина А.В., Ерохина М.В., Макаревич О.А., Сысоева В.Ю., Лепеха Л.Н., Кузнецов С.А., Онищенко Г.Е.* Пластичность фагоцитарной активности клеток человека линии Тнр-1 при макрофагальной дифференцировке. *Биохимия*. 2018; 83 (3): 309–325. [Kurynina A.V., Erokhina M.V., Makarevich O.A., Syssoeva V.Yu., Lepexha L.N., Kuznetsov S.A., Onishchenko G.E. Plastichnost' fagotsitarnoy aktivnosti kletok cheloveka linii Tnr-1 pri makrofagal'noj differentsirovke. *Biokhimiya*. 2018; 83 (3): 309–325. (in Russian)]
11. *Mechetner E.B., Schott B., Morse B.S. et al.* P-glycoprotein function involves conformational transitions detectable by differential immunoreactivity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94 (24): 12908–12913. doi: 10.1073/pnas.94.24.12908.
12. *Ерохина М.В., Александрова Е.А., Прокопенко А.В., Лепеха Л.Н. и Онищенко Г.Е.* Особенности влияния рифампицина на механизмы гибели моноцитарных клеток. *Туберкулез и болезни лёгких*. 2009; 11: 49–55. [Erokhina M.V., Aleksandrova E.A., Prokopenko A.V., Lepexha L.N. i Onishchenko G.E. Osobennosti vliyaniya rifampitsina na mekhanizmy gibeli monotsitarnykh kletok. *Tuberkulez i Bolezni Legkikh*. 2009; 11: 49–55. (in Russian)]
13. *Erokhina M., Rybalkina E., Barsegyan G., Onishchenko G., Lepexha L.* The Toxicity of rifampicin poly(lactic acid) nanoparticles against *Mycobacterium Bovis* BCG and human macrophage THP-1 Cell Line. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2015.
14. *van de Ven R., Oerlemans R., van der Heijden J.W. et al.* ABC drug transporters and immunity: novel therapeutic targets in autoimmunity and cancer. *J Leukoc Biol*. 2009; 86 (5): 1075–1087. doi: 10.1189/jlb.0309147.
15. *Mittar D., Paramban R., McIntyre C.* Flow cytometry and high-content imaging to identify markers of monocyte-macrophage differentiation. *BD Biosciences*. 2011; 20.
16. *Yague E., Armesilla A.L., Harrison G. et al.* P-glycoprotein (MDR1) expression in leukemic cells is regulated at two distinct steps, mRNA stabilization and translational initiation. *J Biol Chem*. 2003; 278 (12): 10344–10352. doi: 10.1074/jbc.M211093200.
17. *Carrett-Dias M., Almeida L.K., Pereira J.L. et al.* Cell differentiation and the multiple drug resistance phenotype in human erythroleukemic cells. *Leuk Res*. 2016; 42: 13–20. doi: 10.1016/j.leukres.2016.01.008.
18. *Williams M.S., Amaral F.M., Simeoni E., Somerville T.C.* A stress-responsive enhancer induces dynamic drug resistance in acute myeloid leukemia. *J Clin Invest*. 2020; 130 (3): 1217–1232. doi: 10.1172/JCI130809.
19. *Manceau S., Giraud C., Declèves X. et al.* Lack of P-glycoprotein induction by rifampicin and phenobarbital in human lymphocytes. *Int J Pharm*. 2010; 395 (1–2): 98–103. doi: 10.1016/j.ijpharm.2010.05.016.
20. *Lee W-K., Frank T.* Teaching an old dog new tricks: reactivated developmental signaling pathways regulate ABCB1 and chemoresistance in cancer. *Cancer Drug Resistance*. 2021; 4 (2): 424–452. doi: 10.20517/cdr.2020.114.
21. *Magnarin M., Morelli M., Rosati A. et al.* Induction of proteins involved in multidrug resistance (P-glycoprotein, MRP1, MRP2, LRP) and of CYP 3A4 by rifampicin in LLC-PK1 cells. *Eur J Pharmacol*. 2004; 483 (1): 19–28. doi: 10.1016/j.ejphar.2003.10.010.
22. *Kim S.W., Hasanuzzaman M., Cho M. et al.* Casein Kinase 2 (CK2)-mediated Phosphorylation of Hsp90 $\beta$  as a Novel Mechanism of Rifampin-induced MDR1 Expression. *J Biol Chem*. 2015; 290 (27): 17029–17040. doi: 10.1074/jbc.M114.624106.
23. *Geick A., Eichelbaum M., Burk O.* Nuclear receptor response elements mediate induction of intestinal MDR1 by rifampin. *J Biol Chem*. 2001; 276 (18): 14581–14587. doi: 10.1074/jbc.M010173200.
24. *Hasanuzzaman M., Yi M., Cho M., Parvez M.M., Lee S.J., Shin J.G.* Rifampin Induces Expression of P-glycoprotein on the THP1 Cell-Derived Macrophages, Causing Decrease Intramacrophage Concentration of Prothionamide. *J Pharm Sci*. 2019; 108 (9): 3106–3111. doi: 10.1016/j.xphs.2019.04.009.
25. *Bhagyaraj E., Tiwari D., Ahuja N. et al.* A human xenobiotic nuclear receptor contributes to nonresponsiveness of *Mycobacterium tuberculosis* to the antituberculosis drug rifampicin. *The J Biol Chem*. 2018; 293 (10): 3747. doi: 10.1074/jbc.M117.818377.
26. *Nasiri M.J., Haeili M., Ghazi M. et al.* New insights in to the intrinsic and acquired drug resistance mechanisms in mycobacteria. *Front Microbiol*. 2017; 8: 681. Published 2017 Apr 25. doi: 10.3389/fmicb.2017.00681.

## Информация об авторах

*Павлова Екатерина Николаевна* — аспирант биологического факультета ФГБОУ ВО «МГУ им. М. В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-5662-3715

*Ерохина Мария Владиславовна* — д. б. н., доцент, заместитель заведующего кафедрой клеточной биологии и гистологии ФГБОУ ВО «МГУ им. М. В. Ломоносова»; заведующий лабораторией клеточной биологии, ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-7256-4679

*Рыбалкина Екатерина Юрьевна* — старший научный сотрудник лаборатории генетики опухолевых клеток НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России; старший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии отдела патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-3068-0233

*Поташикова Дарья Марковна* — к. б. н., старший научный сотрудник кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета ФГБОУ ВО «МГУ им. М. В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-0098-827X

*Масютин Александр Георгиевич* — научный сотрудник кафедры клеточной биологии и гистологии ФГБОУ ВО «МГУ им. М. В. Ломоносова»; научный сотрудник лаборатории клеточной биологии отдела патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-8067-4261

*Лепеха Лариса Николаевна* — д. б. н., профессор, ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», Москва, Российская Федерация

*Эргешов Атаджан Эргешович* — д. м. н., профессор, директор ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-2494-9275

## About the authors

*Ekaterina N. Pavlova* — post-graduate student of the Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-5662-3715

*Maria V. Erokhina* — D. Sc. in biology, Associate Professor, Lomonosov Moscow State University, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-7256-4679

*Ekaterina Yu. Rybalkina* — Researcher at the Laboratory of Tumor Cell Genetics, Research Institute of Carcinogenesis, National Medical Research Center of Oncology named after N. N. Blokhin of the Ministry of Health of the Russian Federation; Senior Researcher at the Laboratory of Cell Biology, Department of Pathomorphology, Cell Biology and Biochemistry, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-3068-0233

*Daria M. Potashnikova* — Ph. D. in biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-0098-827X

*Alexander G. Masyutin* — Researcher at the Department of Cell Biology and Histology, Lomonosov Moscow State University; Researcher at the Laboratory of Cell Biology, Department of Pathomorphology, Cell Biology and Biochemistry, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-8067-4261

*Larisa N. Lepexha* — D. Sc. in biology, Professor, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation

*Atadzhan E. Ergeshov* — D. Sc. in medicine, Professor, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-2494-9275



# Активность биапенема в отношении меропенем-устойчивых *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*

\*Е. М. ГОРДИНА, С. А. БОЖКОВА, В. В. ШАБАНОВА

ФГБУ «Национальный исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р. Р. Вредена», Санкт-Петербург, Российская Федерация

## Biapenem Activity Against Meropenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*

\*EKATERINA M. GORDINA, SVETLANA A. BOZHKOVA, VALENTINA V. SHABANOVA

Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

### Резюме

В настоящее время растёт разнообразие устойчивых штаммов с определённым набором механизмов резистентности, увеличивается частота их распространения. Одним из вариантов поиска оптимальных путей лечения тяжёлой инфекции, в том числе ортопедической, вызванной *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, является применение новых препаратов с возможной активностью в отношении резистентных штаммов.

**Цель** — сравнительная оценка антибактериальной активности биапенема в отношении меропенем-устойчивых *K. pneumoniae* и *Paeruginosa*.

**Материал и методы.** В исследование включены 14 изолятов *K. pneumoniae* и 18 — *Paeruginosa*, устойчивых к меропенему. Определение чувствительности к биапенему и меропенему проводили путём определения минимальных подавляющих концентраций (МПК) для каждого микроорганизма методом серийных разведений в соответствии с ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010. Наличие генов карбапенемаз (MBL: VIM-, IMP- и NDM-типов; OXA-48; KPC) определяли методом ПЦР в режиме реального времени.

**Результаты.** Максимальное значение МПК меропенема регистрировали у штамма *K. pneumoniae*, продуцирующего карбапенемазы NDM и OXA-48 — 512 мг/л, при этом МПК данного изолята для биапенема составила 256 мг/л. МПК<sub>50</sub> меропенема — 16 мг/л, в тоже время данный показатель для биапенема был в 4 раза ниже. МПК<sub>90</sub> *Paeruginosa* для меропенема — 512 мг/л, биапенема — 256 мг/л. Среди всех устойчивых к меропенему штаммов, включённых в исследование, 28,6% изолятов *K. pneumoniae* и 22,2% — *Paeruginosa* продемонстрировали чувствительность к биапенему, остальные были устойчивы к данному препарату либо чувствительны при увеличенной экспозиции.

**Заключение.** Сравнительный анализ антибактериальной активности биапенема в отношении меропенем-устойчивых *K. pneumoniae* и *Paeruginosa* показал, что МПК<sub>50/90</sub> биапенема в несколько раз меньше, чем у меропенема. Для 25% изученных устойчивых к меропенему изолятов (4 — *K. pneumoniae* и 4 — *Paeruginosa*) регистрировали наличие чувствительности к данному препарату, ещё 34,8% (6 — *K. pneumoniae* и 5 — *Paeruginosa*) штаммов были чувствительны при увеличенной экспозиции, что расширяет возможность применения препарата в лечении профильных пациентов.

**Ключевые слова:** биапенем; меропенем; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*

**Для цитирования:** Гордина Е. М., Божкова С. А., Шабанова В. В. Активность биапенема в отношении меропенем-устойчивых *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*. *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 3–4: 23–28. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-23-28.

### Abstract

Currently, the diversity of resistant strains with a certain set of resistance mechanisms is growing, and the frequency of their distribution is increasing. One of the options for finding optimal ways to treat severe infections, including orthopedic infections caused by *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*, is the use of new drugs with possible activity against resistant strains.

**The aim** of the study is comparative evaluation of biapenem antibacterial activity against meropenem-resistant *K. pneumoniae* and *Paeruginosa*.

**Materials and Methods.** A total of 14 *K. pneumoniae* and 18 *Paeruginosa* isolates were included in the study. The determination of sensitivity to biapenem and meropenem was carried out via determining the minimum inhibitory concentrations (MIC) for each microorganism by the method of serial dilutions in accordance with ISO 20776-1-2010. Carbapenemase genes (MBL: VIM-, IMP- and NDM-types; OXA-48; KPC) were detected by commercially available real-time PCR.

**Results.** The highest MIC value of meropenem was registered in the carbapenemase-producing *K. pneumoniae* strain (NDM and OXA-48) and amounted to 512 mg/l, while the MIC value of biapenem in this isolate was 256 mg/l. The MIC<sub>50</sub> of meropenem

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: ул. Академика Байкова, д. 8, 32, НМИЦ ТО им. Р. Р. Вредена, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 195427. E-mail: emgordina@win.rniito.ru

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 8–32 Akademika Baikova st., Russian Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after R. R. Vreden, St. Petersburg, 195427 Russian Federation. E-mail: emgordina@win.rniito.ru

was determined to be 16 mg/l, while in case of biapenem it was 4 mg/l. MIC<sub>90</sub> of meropenem against *Paeruginosa* was 512 mg/l, of biapenem — 256 mg/l. Among all meropenem-resistant strains included in this study, 28.6% *K.pneumoniae* and 22.2% *Paeruginosa* isolates showed sensitivity to biapenem, the rest were resistant to this drug or sensitive at increased exposure.

**Conclusion.** Comparative analysis of the antibacterial activity against meropenem-resistant *K.pneumoniae* and *Paeruginosa* showed that MIC<sub>50/90</sub> of biapenem is several times lower than that of meropenem. Sensitivity to this drug was recorded in 25% of the studied isolates resistant to meropenem (4 — *K.pneumoniae* and 4 — *Paeruginosa*), which increases the possibility of using this drug in the treatment of patients with orthopedic infections.

**Keywords:** biapenem, meropenem, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*.

**For citation:** Gordina E. M., Bozhkova S. A., Shabanova V. V. Biapenem activity against meropenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 3–4: 23–28. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-23-28.

## Введение

В течение 50 лет, начиная с 1940-х годов, развитие устойчивости к определённому антибиотиком вызывало минимальные опасения, поскольку быстро разрабатывали и синтезировали новые соединения, которые чаще всего демонстрировали лучшие фармакокинетические и фармакодинамические характеристики в сравнении с имеющимися препаратами. Однако с 1990-х годов последствия повсеместного и зачастую нерационального использования антибиотиков стали очевидными, а количество вводимых в клиническую практику новых антибактериальных препаратов неуклонно сокращалось. В настоящее время на фоне дефицита новых антибактериальных химиопрепаратов резистентность бактерий к антибиотикам представляет собой одну из самых серьёзных проблем медицины XXI века [1].

Карбапенемы, такие как меропенем и имипенем, обладают широким спектром антибактериальной активности и эффективны против многих грамотрицательных и грамположительных аэробных и анаэробных бактерий. Данные препараты ингибируют синтез клеточной стенки бактерий, характеризуются устойчивостью к гидролизу многими β-лактамазами (например, хромосомными и плазмидопосредованными β-лактамазами, включая ферменты расширенного спектра) в сочетании с их способностью прочно соединяться с основными пенициллин-связывающими белками и хорошо проникать в грамотрицательные бактерии. Долгое время данные препараты были наиболее активными антибиотиками резерва и помогли купировать наиболее тяжёлое течение системных инфекций различных локализаций.

Однако, по мере того, как неуклонно растёт разнообразие устойчивых штаммов с определённым набором механизмов резистентности, увеличивается и частота их распространения не только среди пациентов, но и среди населения, что вызывает высокую настороженность у исследователей, клиницистов и системы здравоохранения [2, 3]. Устойчивые к карбапенемам Enterobacteriaceae (CRE) имеют особое значение из-за

их высокой устойчивости, в том числе и к антибиотикам расширенного спектра из других групп [4]. CRE классифицируются как продуценты (CPE) и непродуценты (non-CP CRE) карбапенемаз. Наиболее распространёнными являются карбапенемазы KPC, GES (класс A) и OXA-48-подобные (OXA-48) (класс D), а также металло-β-лактамазы групп VIM, NDM и IMP [5].

*Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* способны вызывать широкий спектр заболеваний, в том числе пневмонии, сепсис, инфекции кожи и мягких тканей, инфекции области хирургического вмешательства, в частности имплантат-ассоциированные инфекции [3]. Согласно отчёту Centres for Diseases Control за 2019 г., в США с 2012 по 2017 гг. регистрировали 210500 случаев инфекций, вызванных Enterobacteriales с бета-лактамазами расширенного спектра или устойчивыми к карбапенемам, в том числе 6700 инфекций, вызванных *Paeruginosa* с множественной лекарственной устойчивостью, что приводит к 12900 случаям смерти ежегодно [6].

Грамотрицательные бактерии вызывают около 10–20% перипротезной инфекции суставов [7]. Результаты 6-летнего мониторинга структуры возбудителей ортопедических инфекций показали рост удельного веса *K.pneumoniae* до 63,8% в спектре ведущих представителей семейства Enterobacteriaceae [8]. Кроме того, *K.pneumoniae* и *Paeruginosa* входят в группу наиболее распространённых патогенов с высоким уровнем устойчивости, которую Infectious Diseases Society of America обозначило как «ESKAPE-патогены». По данным ВОЗ, бактерии этих видов отнесены к группе возбудителей с «критически высоким уровнем приоритетности» [9]. Результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016» показали, что среди нозокомиальных штаммов Enterobacteriales изоляты *K.pneumoniae* составили 47,2% [10].

Одним из вариантов поиска оптимальных путей лечения тяжёлой инфекции, в том числе ортопедической, вызванной *K.pneumoniae* и *Paeruginosa*, является применение новых препаратов с возможной активностью в отношении резистентных штаммов.

Биапенем — это новый парентеральный антибактериальный агент с широким спектром антибактериальной активности *in vitro*, охватывающий многие грамотрицательные и грамположительные аэробные и анаэробные бактерии, включая штаммы, продуцирующие β-лактамазы [11].

Наибольший интерес представляет изучение антибактериального действия биапенема на штаммы бактерий, устойчивые к другим представителям карбапенемов, в частности, к меропенему.

Цель исследования — сравнительная оценка антибактериальной активности биапенема в отношении меропенем-устойчивых *K.pneumoniae* и *Paeruginosa*.

## Материал и методы

В проспективное исследование включали все штаммы *K.pneumoniae* и *Paeruginosa* с минимальной подавляющей концентрацией (МПК) меропенема выше 2 мг/л, выделенные из тканевых биоптатов, аспиратов и удалённых металлоконструкций (части эндопротезов, винты, пластины, цементные спейсеры), полученных от пациентов с хронической ортопедической инфекцией, оперированных в одном центре в период с 10 января по 31 июля 2021 г.

Выделение клинических изолятов *K.pneumoniae* и *Paeruginosa* выполняли в соответствии со стандартными методиками, утверждёнными в клинике центра в соответствии с международными стандартами микробиологических исследований (Standards for microbiology investigations (UK SMI)). Видовую идентификацию выполняли методом MALDI-TOF-MS с использованием системы FlexControl и программного обеспечения MBT Compass 4.1. (Bruker Daltonics, Германия), Score ≥ 2,0.

За первое полугодие 2021 г. было выделено и идентифицировано 14 штаммов *K.pneumoniae* и 18 — *Paeruginosa* с МПК меропенема выше 2 мг/л. Чувствительность *K.pneumoniae* изучали к 14 антибактериальным препаратам (ампициллин/сульбактам, амикацин, меропенем, имипенем, эртапенем, тобрамицин, цефтазидим, цефтриаксон, цефепим, цефотаксим, моксифлоксацин, ципрофлоксацин, триметоприм/сульфометаксазол, фосфомицин, цефтазидим/авибактам, цефтолозан/тазобактам), *Paeruginosa* — к 12 (азтреонам, амикацин, имипенем, меропенем, колистин, левофлоксацин, ципрофлоксацин, тобрамицин, цефепим, цефтазидим, цефтазидим/авибактам, цефтолозан/тазобактам) в соответствии с требованиями EUCAST (2021, v.11.0) [12].

МПК меропенема и биапенема изучали микрометодом, путём последовательных разведений в бульоне Мюллера–Хинтона (Oxoid, Великобритания) с диапазоном концентраций от 0,125 до 512 мг/л. Для биапенема в актуальных версиях российских, европейских (EUCAST) и американских (CLSI) рекомендаций по определению чувствительности к антимикробным препаратам отсутствуют критерии интерпретации результатов определения чувствительности, поэтому для сравнительной оценки активности биапенема и меропенема рассчитывали МПК<sub>50</sub> и МПК<sub>90</sub>. Для меропенема использовали контрольные точки, представленные в EUCAST v.11.0.

Бактериальную ДНК выделяли с использованием набора «ДНК-Сорб-АМ», согласно инструкции производителя (ФБУН ЦНИИЭ, Россия). Детекцию генов приобретённых карбапенемаз групп KPC/OXA-48 и металло-β-лактамаз группы NDM осуществляли методом Real-time PCR с использованием наборов реагентов с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL» и «АмплиСенс MDR MBL-FL» (Интерлабсервис, ФБУН ЦНИИЭ, Россия) на приборе «Амплификатор Real-time CFX96 Touch» (BioRAD, США).

## Результаты исследования

Девять из 14 штаммов *K.pneumoniae* характеризовались наличием гена *bla*<sub>NDM</sub> и 1 изолят продуцировал карбапенемазы групп NDM и OXA-48. Для 4 из 18 культур *Paeruginosa* определена продукция металло-β-лактамазы группы VIM и у 1 — IMP. Закономерности чувствительности к тестируемым препаратам в зависимости от наличия определённых генов карбапенемаз не выявлено, что может быть связано с малой выборкой изученных культур.

Количество чувствительных культур к определённым концентрациям тестируемых препаратов представлено на рис. 1, 2.

Максимальное значение МПК меропенема регистрировали у штамма *K.pneumoniae*, продуцирующего карбапенемазы NDM и OXA-48 — 512 мг/л, при этом МПК биапенема для данного изолята соста-

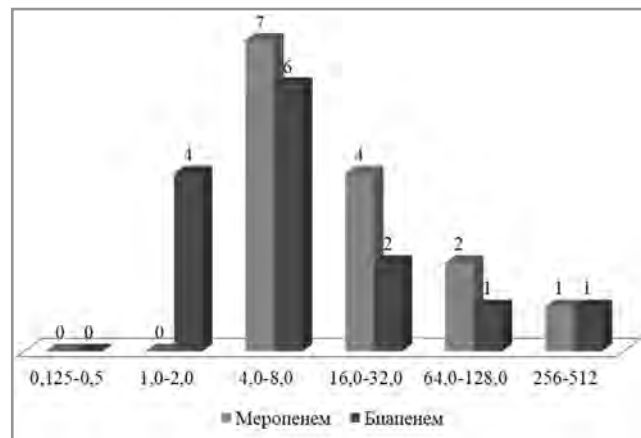


Рис. 1. Активность меропенема и биапенема в отношении *K.pneumoniae* (n=14).

Примечание. Здесь и на рис. 2: по оси абсцисс — МПК, мг/л; по оси ординат — число штаммов.

Fig. 1. Meropenem and biapenem activity against *K.pneumoniae* (n=14).

Note. Here and in fig. 2: on the abscissa axis — MPC, mg/l; on the ordinate axis — the number of strains.

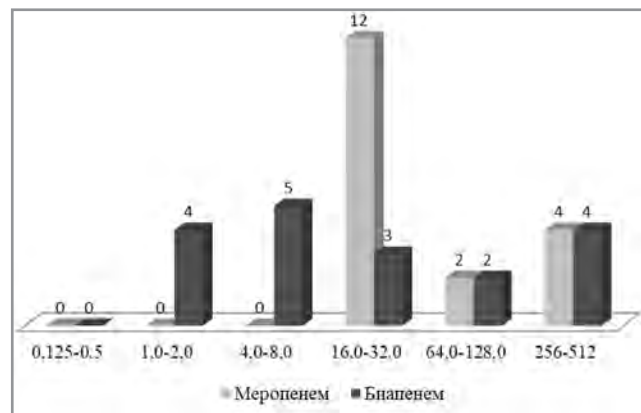


Рис. 2. Активность меропенема и биапенема в отношении *Paeruginosa* (n=18).

Fig. 2. Meropenem and biapenem activity against *Paeruginosa* (n=18).

**Показатели МПК тестируемых антибиотиков в отношении карбапенем-устойчивых изолятов  
MIC of tested antibiotics against carbapenem-resistant isolates**

Показатель	<i>K.pneumoniae</i> (n=14)		<i>Paeruginosa</i> (n=18)	
	биапенем	меропенем	биапенем	меропенем
МПК <sub>50</sub>	4	16	8	16
МПК <sub>90</sub>	16	128	256	512

вила 256 мг/л. МПК<sub>50</sub> меропенема — 16 мг/л, в тоже время данный показатель для биапенема был в 4 раза ниже — 4 мг/л (таблица).

Аналогичная закономерность выявлена в отношении *Paeruginosa*. Так, МПК<sub>90</sub> для меропенема — 512 мг/л, биапенема — 256 мг/л.

Следует отметить, что, среди всех устойчивых к меропенему штаммов, включённых в исследование, 28,6% изолятов *K.pneumoniae* и 22,2% *Paeruginosa* продемонстрировали чувствительность к биапенему, остальные были устойчивы к данному препарату либо чувствительны при увеличенной экспозиции.

### Обсуждение результатов

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) называет антибиотикорезистентность микробных возбудителей инфекции одной из серьёзнейших угроз для здоровья. Повсеместный рост устойчивости патогенов к антимикробным препаратам, включая антибиотики резерва, привёл к разработке и принятию в 2016 г. в Российской Федерации Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности, которая включает несколько глобальных задач, в том числе разработку противомикробных препаратов и альтернативных методов, технологий и средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных заболеваний человека, животных и растений, а также изучение механизмов возникновения антимикробной резистентности и системный мониторинг её распространения.

Глобальное распространение CRE-патогенов происходит быстрыми темпами и осложняется ограниченными вариантами лечения, которые включают полимиксины, тигециклин, аминогликозиды и, в некоторых случаях, карбапенемы в высоких дозах. Однако, несмотря на это, и указанные препараты могут оказаться неэффективными и вызывать множество нежелательных реакций [13].

Биапенем — оригинальный препарат и это его значительное преимущество. К моменту введения препарата в клиническую практику его активность *in vitro* против широкого круга патогенов показана в ряде исследований в Японии, Северной Америке и Европе [14–16]. Биапенем *in vitro* не уступал, а часто и превосходил имипенем по активности в отношении аэробных грамотрицательных бактерий [14, 15]. При этом МПК<sub>90</sub> биапенема была в два–восемь раз ниже, чем для ими-

пенема [15]. Несмотря на повсеместный рост устойчивости к карбапенемам исследование 477 грамотрицательных изолятов, полученных в 18 больницах Санкт-Петербурга, установило, что МПК биапенема в отношении штаммов *K.pneumoniae*, продуцирующих бета-лактамазы групп NDM или ОХА-48, были самыми низкими в сравнении с таковыми у других карбапенемов. Однако МПК всех тестируемых карбапенемов для штаммов-продуцентов КРС-2 регистрировали 64 мг/л и выше [17]. В нашем исследовании более 70% штаммов *K.pneumoniae* характеризовались продукцией бета-лактамаз группы NDM, а в одном случае сочетанной продукцией ОХА-48. При этом значения МПК<sub>50/90</sub> были, соответственно, в 4 и 8 раз ниже, чем для меропенема. Несколько меньшие различия были установлены для биапенема в отношении *Paeruginosa* — МПК<sub>50/90</sub> только в 2 раза были ниже препарата сравнения.

Недавно было опубликовано отечественное многоцентровое исследование активности биапенема и других карбапенемов в отношении грамотрицательных патогенов, выделенных от госпитализированных пациентов с внебольничными и нозокомиальными инфекциями [18]. Авторы отметили схожую с имипенемом и меропенемом активность биапенема в отношении 3139 клинических изолятов Enterobacterales, 793 — *Paeruginosa* и 634 — *Acinetobacter* spp., вне зависимости от наличия различных механизмов ферментативной устойчивости бактерий. При этом для биапенема и имипенема значения МПК<sub>50/90</sub> в отношении *K.pneumoniae*, продуцирующих NDM-ферменты регистрировали, соответственно, 8/32 мг/л и 32/32 мг/л, ОХА-48 — 4/16 мг/л и 4/32 мг/л, КРС — 32/32 мг/л и 32/32 мг/л.

Несмотря на то, что микробиологически более выраженный антибактериальный эффект препарата может быть не столь значителен с клинической точки зрения [12], имеющиеся более ранние публикации демонстрируют высокую клиническую эффективность биапенема при различных нозологиях. Метаанализ восьми рандомизированных контролируемых исследований показал, что биапенем не уступал имипенему и меропену по безопасности и эффективности лечения пациентов с инфекциями нижних дыхательных путей, а также с осложнёнными инфекциями мочевыводящих путей и интраабдоминальными инфекциями [19]. Необходимо также отметить, что данный препарат в сравнении с имипенемом и меропенемом более устойчив к гидролизу почеч-

ной дегидропептидазой-I, а также характеризуется меньшей нейротоксичностью в сравнении с рядом других бета-лактамов, включая имипенем, цефепим и цефазолин [19, 20].

Включённые в наше исследование штаммы были выделены от пациентов с хронической ортопедической инфекцией, однако, по-видимому, определённые перспективы может иметь применение биапенема при сепсисе за счёт подавления высвобождения одного из медиаторов воспаления. Одним из важнейших противовоспалительных цитокинов является негистоновый хромосомный цитокиновый белок HMGB1 (high-mobility group box chromosomal protein 1). Внеклеточная форма HMGB1 участвует во всех фазах воспаления, начиная от повреждения и заканчивая репарацией тканей. Он активирует эндотелиальные клетки и их предшественники. При этом повышаются экспрессия молекул адгезии ICAM-1 и VCAM-1 и синтез противовоспалительных цитокинов, сопровождающийся адгезией моноцитов, нейтрофилов и тромбоцитов к эндотелию, что играет существенную роль в патогенезе сепсиса и развитии полиорганной недостаточности и ДВС-синдрома [21]. В настоящее время подавление высвобождения HMGB1 и восстановление целостности сосудистого барьера рассматривают как потенциально перспективные терапевтические стратегии при сепсисе. В 2021 г. в работе J. Kim и соавт. [22] показали, что биапенем *in vitro* в культуре активированных липополисахаридом эпителиальных клеток человека (HUVEC) подавлял высвобождение белка HMGB1 на 60%. На модели сепсиса, вызванного перевязкой слепой кишки мышам, в группе с применением биапенема было установлено снижение выхода HMGB1 на 54%, подавление гипер-

проницаемости сосудов на 59%, уменьшение на 62% сосудистых нарушений, опосредованных HMGB1. Кроме того, регистрировали снижение смертности лабораторных животных на 50%, а гистологически определялась меньшая степень повреждения ткани лёгких, печени и почек [22].

Полученные результаты в совокупности с клиническими данными о купировании инфекции при применении биапенема у 86,4% пациентов с неэффективностью предшествующей терапии [20] позволяют рассматривать данный антибиотик как альтернативу классическим карбапенемам. В связи с отсутствием в РФ дисков с биапенемом для определения чувствительности к нему бактерий диско-диффузионным методом и контрольных точек для интерпретации полученных результатов, Р. С. Козлов и др. предложили по результатам своего исследования, использовать чувствительность к имипенему как суррогатный маркер биологической чувствительности к биапенему [18].

## Заключение

Сравнительный анализ антибактериальной активности биапенема и меропенема в отношении *K.pneumoniae* и *Paeruginosa*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией, показал, что МПК<sub>50/90</sub> биапенема в несколько раз меньше, чем у меропенема. Для 25% изученных устойчивых к меропенему изолятов (4 — *K.pneumoniae* и 4 — *Paeruginosa*) регистрировали наличие чувствительности к данному препарату, еще 34,8% (6 — *K.pneumoniae* и 5 — *Paeruginosa*) штаммов были чувствительны при увеличенной экспозиции, что расширяет возможность применения препарата в лечении профильных пациентов.

## Литература/References

- Gordillo Altamirano FL., Barr J.J. Phage Therapy in the postantibiotic era. Clin Microbiol Rev. 2019; 32 (2): e00066-18. doi: 10.1128/CMR.00066-18.
- Adar A., Zayyad H., Azrad M., Libai K., Aharon I., Nitzan O., Peretz A. Clinical and demographic characteristics of patients with a new diagnosis of carriage or clinical infection with carbapenemase-producing Enterobacterales: a retrospective study. Front Public Health. 2021; 9: 616793. doi: 10.3389/fpubh.2021.616793.
- Божкова С.А., Гордина Е.М., Шнейдер О.В., Руккина А.Н., Шабанова В.В. Резистентность продуцирующих карбапенемазы штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020; 22 (1): 47–52. doi: 10.36488/cm.2020.1.47-52. [Bozhkova S.A., Gordina E.M., Shnejder O.V., Rukkina A.N., Shabanova V.V. Rezistentnost' productsiruyushchikh karbapenemazy shtammov *Klebsiella pneumoniae*, vydelennykh ot patsientov s ortopedicheskoy infektsiej. Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya. 2020; 22 (1): 47–52. doi: 10.36488/cm.2020.1.47-52. (in Russian)]
- Lasko M.J., Nicolau D.P. Carbapenem-resistant enterobacterales: considerations for treatment in the era of new antimicrobials and evolving enzymology. Curr Infect Dis Rep. 2020; 22: 6. doi: 10.1007/s11908-020-0716-3.
- Richter S.S., Marchaim D. Screening for carbapenem-resistant Enterobacterales: who, when, and how? Virulence. 2017; 8: 417–426. doi: 10.1080/21505594.2016.1255381.
- Johnson A., McEntee L., Farrington N., Kolamunnage-Dona R., Franzoni S., Vezzelli A., Massimiliano M., Knechtle P., Belley A., Dane A., Drusano

- Das S., Hope W. Pharmacodynamics of cefepime combined with the novel extended-spectrum-β-lactamase (ESBL) inhibitor enmetazobactam for murine pneumonia caused by ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2020; 64 (6): e00180–20. doi: 10.1128/AAC.00180-20.
- Wang L., Di Luca M., Tkhalishvili T., Trampuz A., Gonzalez Moreno M. Synergistic activity of fosfomycin, ciprofloxacin, and gentamicin against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Front Microbiol. 2019; 10: 2522. doi:10.3389/fmicb.2019.02522.
- Божкова С.А., Касимова А.Р., Тихилов Р.М., Полякова Е.М., Руккина А.Н., Шабанова В.В., Ливенцов В.Н. Неблагоприятные тенденции в этиологии ортопедической инфекции: результаты 6-летнего мониторинга структуры и резистентности ведущих возбудителей. Травматология и ортопедия России. 2018; 24 (4): 20–31. doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-4-20-31. [Bozhkova S.A., Kasimova A.R., Tikhilov R.M., Polyakova E.M., Rukkina A.N., Shabanova V.V. et al. Adverse Trends in the etiology of orthopedic infection: results of 6-year monitoring of the structure and resistance of leading pathogens. Traumatology and Orthopedics of Russia. 2018; 24 (4): 20–31. doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-4-20-31. (in Russian)]
- Анганова Е.В., Ветохина А.В., Распопина Л.А., Кичигина Е.Л., Савилов Е.Д. Состояние антибиотикорезистентности *Klebsiella pneumoniae*. Микробиология. 2017; 5: 70–77. [Anganova E.V., Vetokhina A.V., Raspopina L.A., Kichigina E.L., Savilov E.D. State of antibiotics resistance of *Klebsiella pneumoniae*. Microbiology. 2017; 5: 70–77. (in Russian)]
- Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Иванчик Н.В., Скленова Е.Ю., Шайдуллина Э.Р., Азизов И.С. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacterales в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016». Клиническая микробиология и антимик-

- робная химиотерапия. 2019; 21 (2): 147–159. doi: 10.36488/смас.2019.2.147-159. [Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Ivanchik N.V., Skleenova E.Y., Shajdullina E.R., Azizov I.S. et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacterales isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON 2015–2016». Clinical Microbiology and Antimicrobial chemotherapy. 2019; 21 (2): 147–159. doi: 10.36488/смас.2019.2.147-159. (in Russian)]
11. Lee W., Baek M.C., Kim K.M., Bae J.S. Biapenem as a novel insight into drug repositioning against particulate matter-induced lung injury. *Int J Mol Sci.* 2020; 21 (4): 1462. doi: 10.3390/ijms21041462.
  12. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0, 2021. URL: <http://www.eucast.org>.
  13. Sheu C.C., Chang Y.T., Lin S.Y., Chen Y.H., Hsueh P.R. Infections caused by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: an update on therapeutic options. *Front Microbiol.* 2019; 10: 80. doi: 10.3389/fmicb.2019.00080.
  14. Raymond N.J., Bremner D.A. The *in-vitro* activity of biapenem against 964 clinical isolates of aerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 1995; 35 (5): 681–686. doi: 10.1093/jac/35.5.681.
  15. Malanoski G.J., Collins L., Wennersten C., Moellering R.C. Jr., Eliopoulos G.M. *In vitro* activity of biapenem against clinical isolates of gram-positive and gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37 (9): 2009–2016. doi: 10.1128/AAC.37.9.2009.
  16. Jia B., Lu P., Huang W., Li C., Huang A., Zhou X., Zhang W., Wu G., Zhang G. A multicenter, randomized controlled clinical study on biapenem and imipenem/cilastatin injection in the treatment of respiratory and urinary tract infections. *Chemotherapy.* 2010; 56 (4): 285–290. doi: 10.1159/000319952.
  17. Ageevets V.A., Partina I.V., Lisitsyna E.S., Ilina E.N., Lobzin Y.V., Shlyapnikov S.A., Sidorenko S.V. Emergence of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Saint Petersburg, Russia. *Int J Antimicrob Agents.* 2014 Aug; 44 (2): 152–155. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.05.004.
  18. Козлов Р.С., Азизов И.С., Дехнич А.В., Иванчик Н.В., Кузьменков А.Ю., Мартинович А.А., Микотина А.В., Сухорукова М.В., Трушин И.В., Эйдельштейн М.В. *In vitro* чувствительность к биапенему и другим карбапенемам клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. и представителей порядка Enterobacterales, выделенных у госпитализированных пациентов в различных регионах России. Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. 2021; 23 (3): 280–291. doi: 10.36488/смас.2021.3.280-291. [Kozlov R.S., Azizov I.S., Dekhnic A.V., Ivanchik N.V., Kuz'menkova A.Yu., Martinovich A.A., Mikotina A.V., Sukhorukova M.V., Trushin I.V., Ejdel'shejn M.V. *In vitro* чувствительность к биапенему и другим карбапенемам клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. и представителей порядка Enterobacterales, выделенных у госпитализированных пациентов в различных регионах России. Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. 2021; 23 (3): 280–291. doi: 10.36488/смас.2021.3.280-291. (in Russian)]
  19. Pei G., Yin W., Zhang Y., Wang T., Mao Y., Sun Y. Efficacy and safety of biapenem in treatment of infectious disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Chemother.* 2016; 28 (1): 28–36. doi: 10.1179/1973947814Y.0000000226.
  20. Hara K., Baba S., Matsumoto E., Ooishi M., Kawada Y., Arata J., Shingawa N., Sasaki J., Hayashi K., Sugihara T., Matsuda S. Clinical evaluation of biapenem in various infectious diseases. *Jpn J Antibiot.* 1999; 52 (11): 629–660.
  21. Кузник Б. И., Хавинсон В. Х., Линькова Н. С., Салль Т. С. Алармин1 (HMGB1) и возрастная патология. Эпигенетические механизмы регуляции. Успехи физиологических наук. 2017; 48 (4): 40–55. [Kuznik B. I., Khavinson V. Kh., Lin'kova N. S., Sall' T. S. Alarmin1 (HMGB1) i vozrastnaya patologiya. Epigeneticheskie mekhanizmy regulyatsii. Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk. 2017; 48 (4): 40–55. (in Russian)]
  22. Kim J., Choo S., Sim H., Baek M.C., Bae J.S. Biapenem reduces sepsis mortality via barrier protective pathways against HMGB1-mediated septic responses. *Pharmacol Rep.* 2021; 73 (3): 786–795. doi: 10.1007/s43440-020-00212-0.

## Информация об авторах

Гордина Екатерина Михайловна — к. м. н., старший научный сотрудник отделения профилактики и лечения раневой инфекции ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р. Р. Вредена», Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-2326-7413. Researcher ID: ABC-4794-2021. eLIBRARY SPIN-код: 9647-8565. Scopus Author ID: 57045942000.

Божкова Светлана Анатольевна — д. м. н., заведующая научным отделением профилактики и лечения раневой инфекции и отделением клинической фармакологии, профессор кафедры травматологии и ортопедии ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р. Р. Вредена», Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-2083-2424. Researcher ID: L-4594-2014. eLIBRARY SPIN-код: 3086-3694. Scopus Author ID: 55531713700.

Шабанова Валентина Владимировна — врач-бактериолог ЦКДЛ ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р. Р. Вредена», Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-5009-3143. eLIBRARY SPIN-код: 1442-8136.

## About the authors

Ekaterina M. Gordina — Ph. D. in medicine, Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-2326-7413. ResearcherID: ABC-4794-2021. eLIBRARY SPIN-код: 9647-8565. Scopus Author ID: 57045942000.

Svetlana A. Bozhkova — D. Sc. in medicine, Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-2083-2424. ResearcherID: L-4594-2014. eLIBRARY SPIN-код: 3086-3694. Scopus Author ID: 55531713700.

Valentina V. Shabanova — bacteriologist; Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-5009-3143. eLIBRARY SPIN-код: 1442-8136.

# Оценка антибактериальной активности экстрактов коры *Betula pendula* (березы повислой) в отношении уропатогенных микроорганизмов

Ю. В. ЧАПУРИН, \*М. Д. А. МБАРГА, А. Н. СЕНЯГИН,  
И. В. ПОДОПРИГОРА, РЕХАЙЛИЯ МАНАР

Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация

## Evaluation of the Antibacterial Activity of Extracts of *Betula Pendula* (Silver Birch) Bark Against Uropathogenic Microorganisms

YURI V. CHAPURIN, \*MBARGA MANGA JOSEPH ARSEN, ALEXANDER N. SENYAGIN,  
IRINA V. PODOPRIGORA, MANAR REHAILIA

RUDN University, Moscow, Russian Federation

### Резюме

**Цель:** оценить антибактериальную активность водного и спиртового экстрактов коры *Betula pendula* (березы повислой) в отношении различных микроорганизмов, вызывающих инфекции мочевыводящих путей.

**Материал и методы.** Были протестированы водный и этанольный экстракты биологически активных соединений из коры *Betula pendula* в отношении десяти клинических уропатогенных штаммов (грамположительные бактерии — *Kocuria rhizophila* 1542, *Staphylococcus simulans* 5882, *Enterococcus avium* 1669, *Enterococcus faecalis* 5960 и *Corynebacterium* spp. 1638; грамотрицательные бактерии — *Enterococcus cloacae*, *Morganella morganii* 6392, *Escherichia coli* 1449, *Serratia mansescens* 6441 и *Achromobacter xylosoxidans* 4892). *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 и *Escherichia coli* ATCC 25922 использовали как референс-стандарты грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Чувствительность опытных штаммов к антибиотику оценивали диско-диффузионным методом Кирби–Бауэра, в то время как антибактериальную активность полученных экстрактов оценивали с использованием метода диффузии в агар. Также определили минимальную подавляющую концентрацию (МПК) и минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) методом серийных разведений.

**Результаты.** Кора *B. pendula* содержала 78,85% сухого вещества. Объёмный выход водного (АЕ) и этанольного экстрактов (ЕЕ) составлял 74,66% и 86,66% (об./об.), соответственно, тогда как их массовые выходы составляли 6,59% и 10,65% (мас./мас.). *K. rhizophila* 1542 и *Corynebacterium* spp. 1638 были наиболее устойчивыми бактериями с индексом множественной лекарственной устойчивости 0,45. АЕ и ЕЕ были активны в отношении всех тестируемых микроорганизмов. МПК АЕ варьировала от 8 до 32 мг / мл, тогда как МПК — от 2 до 16 мг / мл.

**Заключение.** Водный экстракт коры *Betula pendula* проявляет слабую антимикробную активность, тогда как этанольный экстракт проявляет более выраженную антимикробную активность, но обладает бактериостатическим действием.

**Ключевые слова:** *Betula pendula*; береза повислая; антибактериальное средство; инфекции мочевыводящих путей; растительные антибиотики

**Для цитирования:** Чапурин Ю. В., Мбарга М. Д. А., Сенягин А. Н., Подопригора И. В., Манар Рехайлия. Оценка антибактериальной активности экстрактов коры *Betula pendula* (березы повислой) в отношении уропатогенных микроорганизмов. *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 3–4: 29–35. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-29-35.

### Abstract

**The aim** of this work was to evaluate the antibacterial activity of the aqueous and ethanolic extracts of *Betula pendula* (silver birch) bark against various microorganisms causing urinary tract infections.

**Material and methods.** Aqueous and ethanol extracts of biologically active compounds from *Betula pendula* bark were tested against ten clinical uropathogenic strains (gram-positive bacteria — *Kocuria rhizophila* 1542, *Staphylococcus simulans* 5882, *Enterococcus avium* 1669, *Enterococcus faecalis* 5960, and *Corynebacterium* spp. 1638; gram-negative bacteria — *Enterococcus cloacae*, *Morganella morganii* 6392, *Escherichia coli* 1449, *Serratia mansescens* 6441, and *Achromobacter xylosoxidans* 4892). *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Escherichia coli* ATCC 25922 were used as reference standards for Gram-positive and Gram-negative microorganisms. The sensitivity of the experimental strains to the antibiotic was evaluated by the Kirby–Bauer disk diffusion method, while the antibacterial activity of the obtained extracts was evaluated using the agar diffusion method. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) were also determined via the serial dilution method.

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: ул. Миклухо-Маклая, 6,  
РУДН, г. Москва, Российская Федерация, 117198.  
E-mail: josepharsenembarga@yahoo.fr

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 6 Miklukho-Maklaya st., RUDN University, Moscow, 117198 Russian Federation.  
E-mail: josepharsenembarga@yahoo.fr

**Results.** The bark of *B.pendula* contained 78.85% of dry matter. The volume yield of the aqueous (AE) and ethanol extract (EE) was 74.66% and 86.66% (v/v), respectively, while their mass yields were 6.59% and 10.65% (w/w). *K.rizophila* 1542 and *Corynebacterium* spp. 1638 were the most resistant bacteria with a multidrug resistance index of 0.45. AE and EE were active against all microorganisms tested. MIC of AE ranged from 8 to 32 mg/ml, while MIC of EE ranged from 2 to 16 mg/ml. **Conclusion.** An aqueous extract of *Betula pendula* bark exhibits weak antimicrobial activity, while the ethanol extract exhibits a more pronounced antimicrobial activity, but has a bacteriostatic effect.

**Keywords:** *Betula pendula*; silver birch; antibacterial agent; urinary tract infections; herbal antibiotics.

**For citation:** Chapurin Y. V., Mbarga M. J. A., Senyagin A. N., Podoprigora I. V., Manar Rehalia. Evaluation of the antibacterial activity of extracts of *Betula pendula* (Silver birch) bark against uropathogenic microorganisms. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 3–4: 29–35. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-29-35.

## Введение

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) — широко распространённые инфекции, представляют собой существенную проблему для общественного здравоохранения и являются причиной почти 150 млн случаев заболевания ежегодно во всем мире [1]. ИМП возникают на любом уровне мочевыделительной системы: ИМП чаще возникают у женщин [2]. Обычно возбудители, вызывающие ИМП, легко поддаются антибактериальной терапии [3], однако, к сожалению, антибиотикорезистентность, приобретающая всё более широкое распространение в последние десятилетия, значительно усложнила лечение этих инфекций. В нескольких последних исследованиях сообщалось о значительном повышении устойчивости уропатогенных бактерий к антибиотикам и беспрецедентном количестве бактерий с множественной лекарственной устойчивостью во всем мире [4, 5]. Чтобы скорректировать эту опасную ситуацию, исследовательские группы всего мира постоянно оценивают возможность использования альтернативных веществ, лекарственные растения показывают наиболее убедительные доказательства своей эффективности, учитывая то, что растения многими тысячелетиями использовались для профилактики и лечения заболеваний, включая и лечение ИМП [6]. В этом контексте такие широко распространённые (и поэтому доступные) растения, как *Betula pendula*, заслуживают пристального исследования на предмет их антибактериальных свойств.

Цель работы — оценка антибактериальных свойств спиртового и водного экстрактов коры *B.pendula* в отношении некоторых бактерий, ассоциированных с инфекциями мочевыводящих путей.

## Материал и методы

**Растительный материал.** В качестве растительного материала в этом исследовании использовалась внутренняя кора берёзы повислой (*Betula pendula*), отобранной случайным образом. После сбора образцы были высушены при 37°C до постоянной массы, затем рассчитывали массу сухих образцов; измельчали до частиц менее 1 мм для дальнейшего использования.

**Бактериальные штаммы,** использованные для теста на антимикробную активность: 5 грамположительных — *Kocuria rhizophila* 1542, *Staphylococcus simulans* 5882, *Enterococcus avium* 1669, *Enterococcus faecalis* 5960 и *Corynebacterium* spp. 1638 и 5 грамотрицательных микроорганизмов — *Enterococcus cloacae* 6392, *Morganella morganii* 1543, *Escherichia coli*, *Achromobacter xylosoxidans* 4892). *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 и *Escherichia coli* ATCC 25922 использовали как стандартные грамположительные и грамотрицательные, соответственно. Все штаммы предоставлены кафедрой микробиологии и вирусологии Российского университета дружбы народов.

**Химические вещества и питательные среды.** Диметилсульфоксид (ДМСО) был приобретён в BDH Laboratories (VWR International Ltd., США), также использовали питательную среду ВНИВ (HiMedia™ Laboratories Pvt. Ltd., Индия), агар Мюллера–Хинтона (МНА HiMedia™ Laboratories Pvt. Ltd., Индия), бульон Sabouraud Dextrose Broth (SDB, HiMedia™ Laboratories Pvt. Ltd., Индия).

**Экстракция активных соединений.** Для экстракции активных соединений из растений использовали раствор этанола (80%, об./об.) и дистиллированную воду. К 30 г измельчённого растительного материала добавляли 270 мл растворителя, плотно закупоривали и встряхивали на шейкер-инкубаторе (Heidolph Inkubator 1000 в сочетании с Heidolph Unimax 1010, Германия) при температуре 37°C и 300 об/мин в течение 24 ч. Далее смеси подвергали вакуумной фильтрации с использованием фильтровальной бумаги Whatman № 1, после чего концентрировали при 40°C в роторном испарителе (IKA RV8), оборудованном водяной баней IKA HB10 (IKA Werke, Staufen, Германия) и вакуумным насосом IKA. MVP10 (IKA Werke, Штауфен, Германия). Когда объём был достаточно малый, чтобы избежать потерь, предварительно взвешенные экстракты помещали в чашки Петри, затем инкубировали в открытом виде при 40°C до полного испарения жидкости. Окончательно высушенные неочищенные экстракты взвешивали. Объём экстракции и массовый выход определяли по формулам:

$$\text{Объёмный выход (\%)} = \frac{\text{Объём экстракта после фильтрации (мл)}}{\text{Начальный объём растворителя (мл)}} \times 100$$

$$\text{Выход массы (\%)} = \frac{\text{Масса извлечённых растительных материалов (г)}}{\text{Масса образца растительного сырья (г)}} \times 100$$

**Приготовление антимикробного раствора.** Неочищенный растительный экстракт растворяли в рассчитанном объёме ДМСО (5%, об./об.) для получения растворов в концентрации 128 мг/мл. Экстракты стерилизовали методом микрофильтрации на мембране (размер пор фильтра 0,22 мкм). Полученный раствор использовали для приготовления различных разведений, используемых в опытах.

**Приготовление инокулята.** Бактерии культивировали в течение 24 ч при 37°C в 10 мл бульона ВНИ. После инкубации клетки осаждали центрифугированием (7000 g при температуре 4°C, 10 мин), дважды промывали стерильным физиологическим раствором, а затем ресуспендировали в 5 мл стерильного физиологического раствора до достижения концентрации, эк-



**Таблица 1. Сухое вещество, содержание воды, объём и масса экстракции коры *Betula pendula***  
**Table 1. Dry matter, water content, volume, and weight of *Betula pendula* bark extract**

Показатель	Водный экстракт	Этанольный экстракт
Сухое вещество, %	78,85	
Содержание воды, %	21,15	
Объёмный выход, %	74,66	86,66
Массовый выход, %	6,59	10,65

вивалентной 0,5 по стандарту МакФарланда, с использованием денситометра МакФарланда DEN-1 (Грант-био).

**Оценка чувствительности тест-бактерий к антибиотикам.** Для изучения профиля антибиотикорезистентности каждого штамма бактерий использовали ранее описанный модифицированный диско-диффузный метод Кирби–Бауэра [7]. Использовали следующие антибиотики: амоксициллин — 30 мкг/диск; ампициллин (AMP) — 25 мкг/диск; цефазолин (CAZ) — 30 мкг/диск; цефазолин/клавулановая кислота (CAC) — 30/10 мкг/диск; цефтриаксон (CTR) — 30 мкг/диск; ципрофлоксацин (CIP) — 30 мкг/диск; фосфомицин (FO) — 200 мкг/диск; имипенем (IMP) — 10 мкг/диск; нитрофурантоин (NIT) — 200 мкг/диск; тетрациклин (TE) — 30 мкг/диск и триметоприм (TR) — 30 мкг/диск. Зоны задержки роста были измерены и интерпретированы согласно [8]. Определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК), минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) экстрактов, а также соотношение МБК/МПК.

Характеристика антибактериальной активности экстрактов определялась соотношением МБК/МПК, указывающим на бактерицидное (МБК/МПК<4) или бактериостатическое (МБК/МПК≥16) действие в отношении тестируемых штаммов [9].

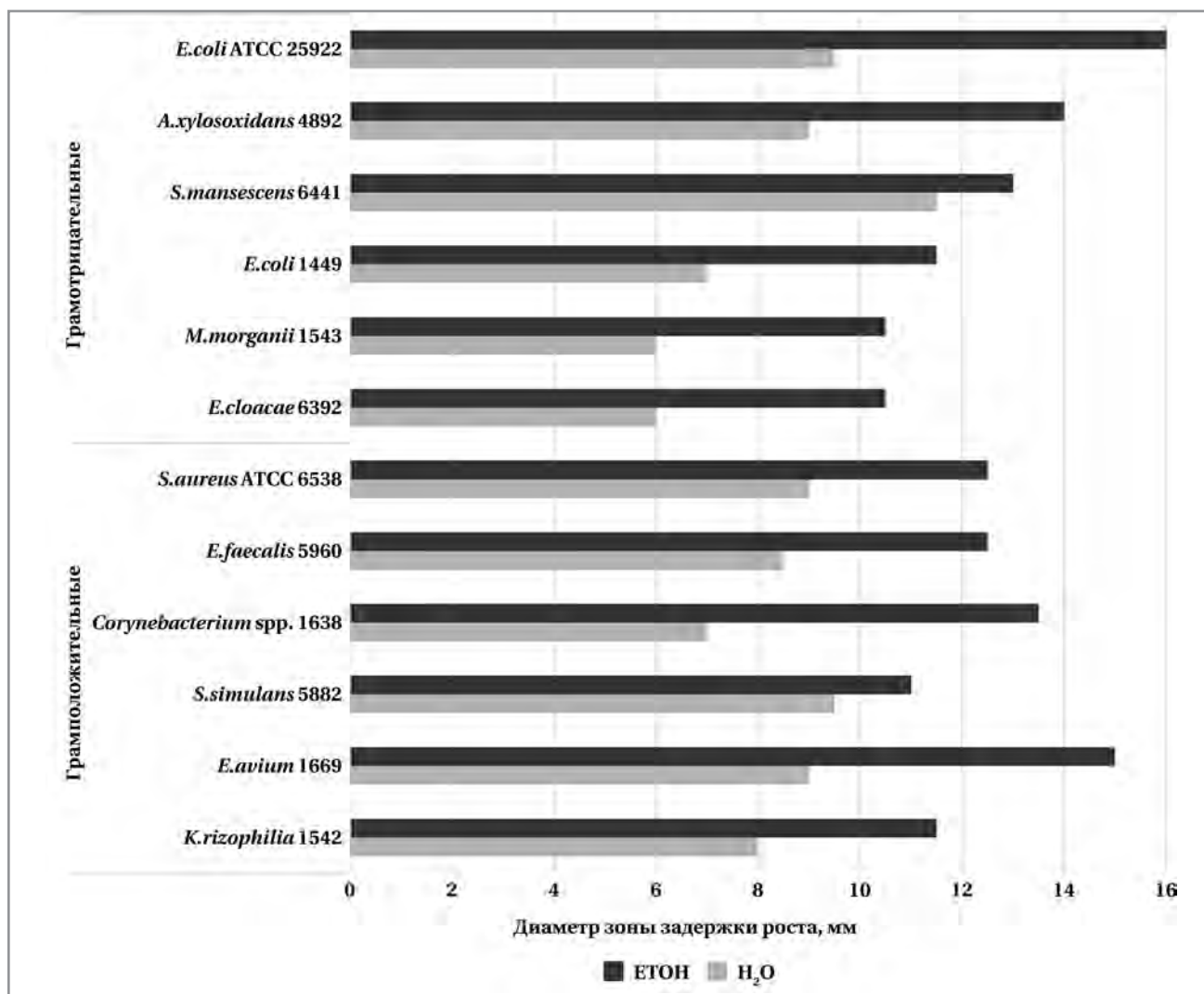
## Результаты и обсуждение

**Сухое вещество и выход экстракции.** Сухое вещество, содержание воды, массовые выходы и объём водного (АЕ) и этанольного (ЕЕ) экстрактов коры *Betula pendula* представлены в табл. 1. Кора *B. pendula* имела содержание сухого вещества 78,85%. Мы получили объёмный выход экстракции 74,66% с дистиллированной водой в качестве растворителя и 86,66% — с этанолом. Разницу в объёмах экстракции можно объяснить потерями в процессе экстракции и разными свойствами растворителей. Как сообщает М. М. J. Arsene и соавт. [10], что фильтрация этанольных экстрактов была быстрее (менее 5 мин для 300 мл) по сравнению с водным экстрактом, который занимал намного больше времени (более 50 мин в среднем для 300 мл) и требовал 6 замен фильтров. Несмотря на фильтрацию, АЕ все ещё оставался мутным, в то время как ЕЕ был полностью прозрачными. Некоторые авторы [10–12] сообщили о аналогичных наблюдениях, в то время как другие [13, 14] пришли к противоположным результатам. Поэтому, как указали М. М. J. Arsene и соавт. [10] в своей недавней работе, эффективность экстракции зависит от нескольких факторов, включая использованный метод, время экстракции, растворители и исполь-

**Таблица 2. Профиль резистентности тестируемых уропатогенных бактерий к антибиотикам**  
**Table 2. Antibiotic resistance profile of tested uropathogenic bacteria**

Микроорганизмы	NIT	TE	CTR	AMC	FO	CAZ	IPM	CAC	CIP	AMP	TR	MDR
<i>K.rizophilila</i> 1542	10±0(R)	13±0(R)	22±0(S)	22±1(S)	28±2(S)	10±0(R)	23±1(S)	6±0(R)	30±1(S)	13±1(R)	21±2(S)	0,45
<i>E.avium</i> 1669	21±1(S)	6±0(R)	30±4(S)	25±3(S)	31±3(S)	23±1(S)	27±4(S)	24±2(S)	15±0(R)	6±0(R)	6±0(R)	0,36
<i>S.simulans</i> 5882	23±1(S)	20±2(S)	19±1(S)	27±3(S)	38±4(S)	11±0(R)	34±3(S)	11±0(R)	26±2(S)	6±0(R)	20±2(S)	0,27
<i>Corynebacterium</i> spp. 1638	20±0(S)	32±4(S)	32±5(S)	36±2(S)	14±1(R)	6±0(R)	27±2(S)	6±0(R)	26±1(S)	9±0(R)	10±0(R)	0,45
<i>E.faecalis</i> 5960	21±1(S)	11±0(R)	22±1(S)	27±1(S)	31±3(S)	17±1(I)	24±2(S)	6±0(R)	32±3(S)	6±0(R)	6±0(R)	0,36
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	22±1(S)	32±3(S)	30±2(S)	35±4(S)	38±2(S)	25±1(S)	28±3(S)	25±2(S)	32±0(S)	20±1(S)	31±2(S)	0,00
Грамотрицательные												
<i>E.cloacae</i> 6392	21±2(S)	6±0(R)	30±4(S)	25±1(S)	31±4(S)	23±0(S)	27±2(S)	24±3(S)	15±0(R)	6±0(R)	6±0(R)	0,36
<i>M.morganii</i> 1543	15±0(I)	6±0(R)	33±2(S)	17±1(I)	13±0(R)	23±1(S)	22±0(S)	23±1(S)	22±2(S)	10±0(R)	6±0(R)	0,36
<i>S.marcescens</i> 6441	12±0(R)	17±0(S)	23±2(S)	23±1(S)	30±2(S)	21±1(S)	33±3(S)	21±1(S)	30±4(S)	10±0(R)	22±2(S)	0,18
<i>A.xylosoxidans</i> 4892	6±0(R)	11±0(R)	23±2(S)	36±4(S)	6±0(R)	16±0(I)	32±3(S)	16±1(I)	20±2(I)	20±1(S)	6±0(R)	0,36
<i>A.xylosoxidans</i> 4892	6±0(R)	11±0(R)	23±2(S)	36±4(S)	6±0(R)	16±0(I)	32±3(S)	16±1(I)	20±2(I)	20±1(S)	6±0(R)	0,36
<i>E.coli</i> ATCC 25922	21±3(S)	30±2(S)	24±1(S)	20±1(S)	40±4(S)	18±1(I)	32±2(S)	16±1(I)	24±0(S)	26±0(S)	24±0(S)	0,00

**Примечание.** AMC — амоксициллин; AMP — ампициллин; CAZ — цефазолин; CIP — цефтриаксон; CTR — цефтриаксон; CIP — ципрофлоксацин; FO — фосфомицин; IMP — имипенем; NIT — Нитрофурантоин; TE — тетрациклин; TR — триметоприм. MDR — множественная лекарственная устойчивость. R — устойчивые; I — промежуточные; S — чувствительные.  
**Note.** AMC — amoxicillin; AMP — ampicillin; CAZ — cefazolin; CIP — ceftriaxone; CTR — ceftazidime; CIP — ciprofloxacin; FO — fosfomicin; IMP — imipenem; NIT — Nitrofurantoin; TE — tetracycline; TR — trimethoprim; MDR — multiple drug resistance. R — resistant; I — intermediate; S — susceptible.



Диаметр зоны задержки роста этанолового и водного экстракта коры *Betula pendula* в отношении уропатогенных бактерий  
 Growth inhibition zone diameter of the ethanolic and aqueous extracts of *Betula pendula* bark in relation to uropathogenic bacteria

зубное оборудование. Кроме того, авторы также заметили, что высокие выходы фитоконпонента не обязательно подразумевают выраженную антибактериальную активность, и это было дополнительно оценено в настоящей работе.

**Чувствительность клинических штаммов к антибиотикам.** В данной работе был использован диско-диффузионный метод Кирби–Бауэра для оценки чувствительности используемых бактериальных штаммов к одиннадцати препаратам. Был рассчитан индекс множественной лекарственной устойчивости (МЛУ/MDR). Результаты оценки чувствительности штаммов к антибиотикам представлены в табл. 2. Как показано в табл. 2, все штаммы бактерий не имели устойчивости к амоксициллину, имипенему и цефтриаксону, в то время как 8/11 были устойчивы к ампициллину, 7/11 — к триметоприму, 7/11 — к тетрациклину, 4/11 — цефазолину/клавулановой кислоте,

фосфомицину и нитрофурантоину, 3/11 — к цефтазидиму и 2/12 — к ципрофлоксацину. Оба референс-штамма бактерий *E.coli* ATCC 25922 и *S.aureus* ATCC 6538 были чувствительны ко всем антибиотикам, в то время как клинические штаммы были устойчивы, по крайней мере, к одному из взятых антибиотиков. Среди клинических штаммов множественная лекарственная устойчивость (МЛУ/MDR) колеблется от 0,18 до 0,45. *K.rizophilina* 1542 и *Corynebacterium* spp. 1638 были наиболее устойчивыми штаммами с МЛУ 0,45 у каждого. Результаты, полученные с этими клиническими штаммами, аналогичны результатам других исследований [4, 5]. Наиболее выраженная устойчивость наблюдалась к ампициллину, не наблюдалось устойчивости к амоксициллину/клавулановой кислоте. Как и в наших результатах, в других исследованиях сообщается о низкой устойчивости уропатогенов к имипенему и цефтриаксону [5, 15].

**Таблица 3.** МПК и МБК водных и этанольных экстрактов коры *Betula pendula* в отношении тестируемых уропатогенных бактерий

**Table 3.** MIC and MBC of *Betula pendula* bark water and ethanol extracts in relation to the tested uropathogenic bacteria

Микроорганизмы	Водный экстракт			Этанольный экстракт		
	МПК, мг/мл	МБК, мг/мл	МБК/МПК	МПК, мг/мл	МБК, мг/мл	МБК/МПК
<b>Грамположительные</b>						
<i>Krizophilina</i> 1542	16	>64	—	8	>64	—
<i>E.aviium</i> 1669	32	>64	—	4	32	8
<i>S.simulans</i> 5882	32	>64	—	8	16	2
<i>Corynebacterium</i> spp. 1638	16	>64	—	8	64	8
<i>E.faecalis</i> 5960	16	64	4	4	32	8
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	16	64	4	2	16	8
<b>Грамотрицательные</b>						
<i>M.morganii</i> 1543	8	64	8	2	32	16
<i>E.cloacae</i> 6392	32	>64	—	2	32	16
<i>E.coli</i> 1449	16	>64	—	4	>64	—
<i>S.mansescens</i> 6441	32	>64	—	16	>64	—
<i>A.xylosoxidans</i> 4892	32	64	2	8	32	4
<i>E.coli</i> ATCC 25922	8	32	4	4	8	2

Чувствительность всех штаммов к амоксициллину, имипенему и цефтриаксону показывает, что эти три антибиотика эффективны в отношении широкого спектра бактерий, включая клинические штаммы с высокой устойчивостью к другим антибиотикам.

**Зона ингибирования экстрактов в отношении тестируемых бактерий.** На рисунке представлены диаметры ингибирования АЕ и ЕЕ экстрактов коры *Betula pendula* в отношении тестируемых микроорганизмов. И АЕ, и ЕЕ были активны в отношении всех протестированных микроорганизмов: диаметры ингибирования составляли 6–11,5 мм для АЕ и 10,5–16 мм для ЕЕ. ЕЕ в целом проявляли более выраженную активность, чем АЕ. Следовательно, это означает, что этанол извлекает больше соединений с антимикробными свойствами по сравнению с дистиллированной водой. Некоторые авторы сообщили, что соединения с антибактериальной активностью, такие как флавоноиды, полифенолы, дубильные вещества и алкалоиды, обычно нерастворимы в воде, но растворимы в этаноле [16, 17]. Другие авторы также указали, что этанол извлекает больше антимикробных соединений из растительных материалов, чем вода [10, 18]. Как сообщается в работах других исследователей, кора *B.pendula* содержит большое количество флавоноидов, арилбутаноидов, тритерпенов (бетулин и бетулиновая кислота), диарилгептаноидов, простых фенольных соединений, фенольных кислот, лигнанов и процианидинов [19]. Противомикробное действие этого экстракта можно отнести к одному или нескольким фитосоединениям, упомянутым выше, но необходимы дальнейшие исследования для проверки и уточнения этой гипотезы.

**МПК и МБК.** В табл. 3 представлены МПК, МБК и соотношение МБК/МПК двух наших экстрактов. ЕЕ показали лучшую антибактериальную активность. МПК для ЕЕ варьировала

от 2 до 16 мг/мл, а для АЕ — от 8 до 32 мг/мл. Почти все МБК АЕ были >64 мг/мл, в то время как МБК ЕЕ были успешно определены. При использовании дистиллированной воды в качестве растворителя наиболее выраженная антибактериальная активность наблюдалась в отношении *A.xylosoxidans* 4892, *E.coli* ATCC 25922, *E.faecalis* 5960, *M.morganii* 1543 и *S.aureus* ATCC 6538. Хотя МПК и МБК АЕ были высокими, было обнаружено, что у этих же бактерий АЕ показывает бактерицидное действие в отношении *E.faecalis* 5960, *A.xylosoxidans* 4892, *S.aureus* ATCC 6538 и *E.coli* ATCC 25922, поскольку соотношение МБК/МПК для этих бактерий составляло <4. Действительно, А. Н. Mondal и соавт. [9] сообщили, что соотношение МБК/МПК ≥ 16 означает, что антибактериальная эффективность тестируемого агента считается бактериостатической, тогда как МБК/МПК ≤ 4 указывает на бактерицидную активность. Точно так же МПК для ЕЕ были относительно низким, а МБК для этого экстракта были ниже, чем для АЕ. Однако антибактериальная активность ЕЕ была бактериостатической (МБК/МПК ≥ 16) против большинства бактерий, за исключением *S.simulans* 5882, *A.xylosoxidans* 4892 и *E.coli* ATCC 25922. Это различие в активности ЕЕ между грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами может объясняться структурой клеточной стенки грамотрицательных бактерий, которая отличается от структуры грамположительных бактерий тонким слоем пептидогликана, наличием наружной мембраны и лёгкостью обмена на плазматической мембране [10]. Согласно классификации V. Kuete [20], различные экстракты, протестированные в этом исследовании, можно было рассматривать как демонстрирующие слабую антибактериальную активности независимо от экстракционного растворителя и тестируемого штамма, поскольку они имели значение МПК выше 0,625 мг/мл. Для уточнения результа-

тов и более полного описания состава экстрактов необходимы дальнейшие исследования по оценке антибактериальной активности экстрактов коры *B. pendula* с другими растворителями, такими как ацетон, метанол и хлороформ, а также для оценки их синергизма с антибиотиками.

## Заключение

В представленном исследовании мы оценили антибактериальные свойства водных и спиртовых экстрактов коры *Betula pendula* на десяти клинических изолятах бактерий, ассоциированных с заболеваниями мочеполового тракта и двух референс-штаммах бактерий. В ходе исследования было обнаружено, что водный экстракт коры проявляет слабую антимикробную активность,

## Литература/References

1. *Moise D.F.K., Ngaba G.P., Foko L.P.K., Ebongue C.O., Adiogo D.D.* Etiologic profile and sensitivity pattern of germs responsible for urinary tract infection among under-five children in Douala, Cameroon: a Hospital Based Study. *Avicenna J Clin Microbiol Infect.* 2019; 6 (2): 49–56. doi: 10.34172/ajcmi.2019.10.
2. *Walsh C., Collins T.* The pathophysiology of urinary tract infections. *Surgery (Oxf)*, 2020; 38 (4): 191–196. doi: 10.1016/j.mpsur.2017.03.007.
3. *Abou Heidar N.F., Degheili J.A., Yacoubian A.A., Khaulil R.B.* Management of urinary tract infection in women: a practical approach for everyday practice. *Urol Ann.* 2019; 11 (4): 339. doi: 10.4103/UA.UA\_104\_19.
4. *Mbarga M.M.J., Andreevna S.L., Viktorovna P.I.* Evaluation of apparent microflora and study of antibiotic resistance of coliforms isolated from the shells of poultry eggs in Moscow-Russia. *J Adv Microbiol.* 2020; 20 (4): 70–77. doi: 10.9734/jamb/2020/v20i430242.
5. *Суадкия С., Подопригора И. В., Яшина Н. В., Саруханова Л. Е., Кравцов Э. Г.* Антибиотикорезистентные уропатогенные *Escherichia coli*, выделенные от детей с врожденными аномалиями развития мочевыделительной системы 7–8 (23–26). doi: 10.37489/0235-2990-2020-65-7-8-23-26. [Suadkia S., Podoprigrora I.V., Yashina N.V., Sarukhanova L.E., Kravtsov E.G. Antibiotic-resistant uropathogenic *Escherichia coli* isolated from children with birth defects of the urinary system. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2020; 65 (7–8): 23–26. doi: 10.37489/0235-2990-2020-65-7-8-23-26. (in Russian)]
6. *Wojnicz D., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., Kicia M., Tichaczek-Goska D.* Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. *Urol Res.* 2012; 40 (6): 683–97. doi: 10.1007/s00240-012-0499-6.
7. *Manga M.J.A., Viktorovna P.I., Grigorievna V.E., Davares A.K., Sergeevna D.M. et al.* Prolonged exposure to antimicrobials induces changes in susceptibility to antibiotics, biofilm formation and pathogenicity in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 2021; 33 (34B): 140–151. doi: 10.9734/jpri/2021/v33i34B31856.
8. CLSI: Clinical & Laboratory Standards Institute. Control methods. Biological and micro-biological factors: Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. Federal Center for Sanitary and Epidemiological Surveillance of Ministry of Health of Russia; 2019.
9. *Mondal A.H., Yadav D., Mitra S., Mukhopadhyay K.* Biosynthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of *Shewanella* sp. Ary1 and their antibacterial activity. *International Journal of Nanomedicine*, 2020; 15: 8295. doi: 10.2147/IJN.S274535.
10. *Arsene M.M.J., Podoprigrora I.V., Davares A.K.L., Razan M., Das M. S., Senyagin A. N.* Antibacterial activity of grapefruit peel extracts and green-

## Информация об авторах

*Чапурин Юрий Вадимович* — студент, кафедра микробиологии им. В. С. Киктенко, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-3871-9200

*Мбарга Манга Джозеф Арсен* — аспирант, лаборант, кафедра микробиологии им. В. С. Киктенко, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов,

тогда как этаноловый экстракт проявляет более выраженную антибактериальную активность, но в целом обладает бактериостатическим действием. Необходимы дальнейшие исследования для оценки антибактериальной активности исследуемого растительного материала с другими растворителями, другими методами экстракции, а также провести тесты для оценки экстрактов на наличие синергии с антибиотиками.

## Дополнительная информация

**Подтверждение.** Работа поддержана Программой стратегического академического лидерства РУДН.

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

- synthesized silver nanoparticles, *Veterinary World.* 2021; 14 (5): 1330–1341. doi: 10.14202/vetworld.2021.1330-1341.
11. *Ezemokwe G.C., Aguiyi J.C., Chollom F.P.* The antibacterial activity of aqueous and ethanolic leaf extracts of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del plant on some selected clinical human pathogens. *J. Adv. Microbiol.* 2020; 20(10): 51–66. doi:10.9734/jamb/2020/v20i1030290.
  12. *Ibrahim M.A., Emlee A.M.* Anti-fungal study on aqueous and ethanolic leaves extracts of *Piper sarmentosum*. *Matrix Sci. Pharm.* 2020; 4 (1): 13. doi: 10.4103/MTSPMTSP\_3\_20.
  13. *Noshad M.* Evaluation of the effect of aqueous and ethanolic extraction methods on extraction yield, phenolic compounds, and antioxidant and antimicrobial activity of *Stachys schtschegleevii* extract. *Food Sci Technol.* 2020; 17 (100): 117–125.
  14. *Gonfa T., Teketle S., Kiros T.* Effect of extraction solvent on qualitative and quantitative analysis of major phyto-constituents and in-vitro antioxidant activity evaluation of *Cadaba rotundifolia* Forsk leaf extracts. *Cogent Food Agric.* 2020; 6 (1): 1853867. doi: 10.1080/23311932.2020.1853867.
  15. *Shrestha U.T., Shrestha S., Adhikari N. et al.* Plasmid profiling and occurrence of  $\beta$ -lactamase enzymes in multidrug-resistant uropathogenic *Escherichia coli* in Kathmandu, Nepal. *Infect Drug Resist.* 2020; 13: 1905–1917. doi:10.2147/IDR.S250591.
  16. *Onivogui G., Letsididi R., Diaby M., Wang L., Song Y.* Influence of extraction solvents on antioxidant and antimicrobial activities of the pulp and seed of *Anisophyllea laurina* R. Br. ex Sabine fruits. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 2015; 6(1): 20–25. doi:10.1016/j.apjtb.2015.09.023.
  17. *Al Farraj D.A., Abdel Gawwad M.R., Mehmood A., Alsalmeh A., Darwish N.M., Al-Zaqri N., Warad I.* In-vitro antimicrobial activities of organic solvent extracts obtained from *Dipcadi viride* (L.) Moench. *Journal of King Saud University — Science.* 2020; 32 (2020): 1965–1968. doi: 10.1016/j.jksus.2020.01.007.
  18. *Evuomwan L., Chukuwuka E.P., Obazenu E.I., Ilevbare L.* Antibacterial activity of *vernonia amygdalina* leaf extracts against multidrug resistant bacterial isolates. *J Appl Sci Environ Manage.* 2018; 22 (1): 17–21. doi: 10.4314/jasem.v22i1.4.
  19. *Navid M.H., Laszczyk-Lauer M.N., Reichling J., Schnitzler P.* Pentacyclic triterpenes in birch bark extract inhibit early step of herpes simplex virus type 1 replication. *Phytomedicine.* 2014; 21 (11): 1273–1280. doi: 10.1016/j.phymed.2014.06.007.
  20. *Kuete V.* Potential of Cameroonian plants and derived products against microbial infections: a review. *Planta Med.* 2010; 76: 1479–1491. doi: 10.1055/s-0030-1250027.

## About the authors

*Yuri V. Chapurin* — student, Department of Microbiology named after V. S. Kiktenko, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-3871-9200

*Mbarga Manga Joseph Arsen* — postgraduate student, laboratory assistant, Department of Microbiology named after V. S. Kiktenko, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN

Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-9626-9247. Scopus ID: 57222221732

*Сенягин Александр Николаевич* — аспирант, ассистент, кафедра микробиологии им. В.С. Киктенко, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-4981-0149. Scopus ID : 57217030559

*Подопригора Ирина Викторовна* — к. м. н., заведующий кафедрой, кафедра микробиологии им. В. С. Киктенко, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-4099-2967. Scopus ID: 57205375027

*Рехайлия Манар* — аспирант, кафедра агробиотехнологии, Аграрно-технологический институт, Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация. ORCID : 0000-0002-9468-6589

University), Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-9626-9247. Scopus ID: 57222221732

*Alexander N. Senyagin* — postgraduate Student, assistant, Department of Microbiology named after V. S. Kiktenko, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-4981-0149. Scopus ID: 57217030559

*Irina V. Podoprighora* — Ph. D. in medicine, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-4099-2967. Scopus ID: 57205375027

*Manar Rehailia* — postgraduate student, Department of Agrobiotechnology, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-9468-6589

# Медицинская реабилитация больных пожилого и старческого возраста с пневмонией, ассоциированной с коронавирусной инфекцией COVID-19

М. И. ИВАНОВА<sup>1</sup>, В. М. ИВАНОВ<sup>1</sup>, Ю. М. ЩЕГЛОВА<sup>1</sup>,  
А. Л. КОВАЛЕНКО<sup>2</sup>, \*Е. В. ТАЛИКОВА<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Сеть медицинских клиник «ИММА», Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБУ «Научно-консультативный центр токсикологии им. С. Н. Голикова ФМБА России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>3</sup> ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Санкт-Петербург, Российская Федерация

## Medical Rehabilitation of Elderly and Senior Patients with COVID-19-Associated Pneumonia

MARINA I. IVANOVA<sup>1</sup>, VYACHESLAV M. IVANOV<sup>1</sup>, YULIA M. SHCHEGLOVA<sup>1</sup>,  
ALEXEY L. KOVALENKO<sup>2</sup>, \*EKATERINA V. TALIKOVA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Network of medical clinics «IMMA», Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Scientific-Clinical Center of Toxicology named after Academician S. N. Golikov, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>3</sup> St. Petersburg Medical and Social Institute, St. Petersburg, Russian Federation

### Резюме

**Цель исследования** — оценка эффективности включения ремаксола в медицинскую реабилитацию пациентов пожилого и старческого возраста с пневмониями, ассоциированными с коронавирусной инфекцией COVID-19 и изменениями показателей ферментативной активности печени.

**Материал и методы.** Проведено обследование 116 пациентов (56 мужчины и 60 женщин). Всем пациентам на 10–12-й день после выписки из стационара и при наличии 2 отрицательных результатов ПЦР-тестов на SARS-CoV-2 амбулаторно был проведён комплекс медицинской реабилитации, включавший, помимо рекомендованных мероприятий (медикаментозная терапия и лечебная физкультура), вакуумный лабильный массаж по авторской методике и курс гепатопротекторных препаратов. В зависимости от последнего, пациенты были разделены на две группы: I — основная ( $n=60$ ) — в схеме медикаментозного лечения получили ремаксол: 400 мл, в/в, капельно, курс 10 дней, II — сравнения ( $n=56$ ) — адеметионин: 400 мл, в/в капельно, на 0,9% физиологическом растворе, курс 10 дней. До реабилитации и по её окончании проводились пробы Штанге и Генчи, качество жизни оценивалось с помощью опросника SF-36. Лабораторные исследования включали определение уровней аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и их соотношения, щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутаминтранспептидазы (ГГТ), общего и прямого билирубина, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и уровня альбумина и общего белка.

**Результаты.** Включение в схему медицинской реабилитации пациентов данной группы гепатопротекторов способствует уменьшению цитолитического и холестатического синдромов, более выраженное у пациентов получивших ремаксол: снижение АСТ в 1,5 раза (с  $35,4 \pm 1,4$  до  $23,5 \pm 0,7$  МЕ/л), а АЛТ — в 1,8 раза (с  $38,7 \pm 1,3$  до  $21,5 \pm 0,4$  МЕ/л) и нормализации билирубинового обмена: снижение общего билирубина в 2,1 раза (с  $32,1 \pm 0,6$  до  $14,8 \pm 0,9$  мкмоль/л) и прямого — в 2,5 раза (с  $7,1 \pm 0,6$  до  $2,8 \pm 0,1$  мкмоль/л). На фоне терапии препаратом отмечено выраженное повышение устойчивости к гипоксии (по данным Штанге и Генче), что способствовало улучшению по психофизическим показателям качества жизни пациентов (согласно данным опросника SF-36). Полученные результаты, наряду с безопасностью препарата, позволяют рекомендовать его применение у больных с данной патологией.

**Ключевые слова:** коронавирусная инфекция COVID-19; ремаксол; пациенты пожилого и старческого возраста; медицинская реабилитация; гепатопротектор; качество жизни

**Для цитирования:** Иванова М. И., Иванов В. М., Щеглова Ю. М., Коваленко А. Л., Таликова Е. В. Медицинская реабилитация больных пожилого и старческого возраста с пневмонией, ассоциированной с коронавирусной инфекцией COVID-19. *Антибиотики и химиотерапия*. 2022; 67: 3–4: 36–41. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-36-41.

### Abstract

**The aim of the study** was to evaluate the effectiveness of including remaxol in the medical rehabilitation of elderly and senior patients with COVID-19-associated pneumonia and changes in liver enzyme activity.

**Material and methods:** 116 patients (56 men and 60 women) were examined. All patients underwent a complex of medical rehabilitation on an outpatient basis on the 10–12<sup>th</sup> day after discharge from the hospital and in the presence of 2 negative

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: Кондратьевский пр., д. 72, литера. А, Санкт-Петербургский медико-социальный институт, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 195271.  
E-mail: e.talikova@mail.ru

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 72A Kondratievsky prospect, St. Petersburg Medical and Social Institute, St. Petersburg, 195271 Russian Federation. E-mail: e.talikova@mail.ru

results of PCR tests for SARS-CoV-2, which included, in addition to the recommended measures (drug therapy and exercise therapy), vacuum labile massage according to the author's methodology and a course of hepatoprotective drugs. Depending on the latter, the patients were divided into two groups: I — the main group ( $n=60$ ) — received remaxol in the drug treatment regimen: 400 ml, intravenously, drip, in a course of 10 days, II — comparison ( $n=56$ ) — ademetonine: 400 ml, intravenously, drip, in 0.9% saline, in a course 10 days. Before rehabilitation and at its end, the following tests were carried out: Stange and Genchi tests; quality of life was assessed using the SF-36 questionnaire. Laboratory studies included determination of the following indicators levels: ALT, AST, their ratio, alkaline phosphatase, GGT, total and direct bilirubin, LDH, albumin and total protein levels.

**Results.** The inclusion of hepatoprotectors in the medical rehabilitation of the patients of this group contributes to a decrease in cytolytic and cholestatic syndromes, which is more pronounced in patients who received remaxol: (a decrease in AST by 1.5 times (from  $35.4 \pm 1.4$  to  $23.5 \pm 1$ ), and ALT — by 1.8 times (from  $38.7 \pm 1.3$  to  $21.5 \pm 0.4$  IU/l), as well as normalization of bilirubin metabolism: a decrease of total bilirubin by 2.1 times (from  $32.1 \pm 0.6$  to  $14.8 \pm 0.9$   $\mu\text{mol/l}$ ) and of direct — by 2.5 times (from  $7.1 \pm 0.6$  to  $2.8 \pm 0.1$   $\mu\text{mol/l}$ ). A pronounced increase in resistance to hypoxia was noted during the therapy with the drug (according to Stange and Genche), which contributed to an improvement in psychophysiological indicators of patients' quality of life (according to the SF-36 questionnaire). The obtained results, along with the safety of the drug, allow us to recommend its use in patients with this pathology.

**Keywords:** coronavirus infection; COVID-19; remaxol; elderly and senior patients; medical rehabilitation; hepatoprotector; quality of life

**For citation:** Ivanova M. I., Ivanov V. M., Shcheglova Yu. M., Kovalenko A. L., Talikova E. V. Medical rehabilitation of elderly and senior patients with COVID-19-associated pneumonia. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 3–4: 36–41. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-36-41.

## Введение

Восстановление пациентов после новой коронавирусной инфекции (НКИ), вызывающей нарушения функций всей кислородтранспортной системы — от органов дыхания до органов, утилизирующих результаты аэробного и анаэробного окисления, процесс постепенный и требует времени для восстановления всех нарушенных и компенсации утраченных функций [1, 2].

Отмечено, что у пациентов пожилого и старческого возраста пневмонии, ассоциированные с SARS-CoV-2, протекают более тяжело, часто со стойкими расстройствами дыхательной функции лёгких, кислородтранспортной функции крови и сосудов и нарушением функции других жизненно важных органов, в частности печени [3, 4].

Среди возможных факторов развития патологии печени рассматриваются: прямое воздействие SARS-CoV-2, опосредованное воздействие развивающегося системного воспаления и гипоксии, гепатотоксическое воздействие применяемых в лечении инфекции препаратов и наличие возрастных изменений органа у больных пожилого и старческого возраста [1, 5].

В связи с этим медицинская реабилитация этой группы пациентов приобретает решающее значение для конечных результатов специализированной медицинской помощи. Эффективные реабилитационные мероприятия позволяют восстановить дыхательную функцию с одновременной коррекцией метаболических расстройств, возникающих на фоне гипоксии и лекарственной терапии [6, 7].

Одним из препаратов, способствующих коррекции митохондриальной дисфункции гепатоцитов является ремаксол (ООО «НТФФ «ПОЛИСАН», Санкт-Петербург). Янтарная кислота оказывает

антигипоксическое (поддержание активности сукцинатоксидазного звена окисления) и непрямо антиоксидантное (сохранение пула восстановленного глутатиона) действие. Никотинамид, входящий в состав препарата, активизирует НАД-зависимые ферментные системы, а метионин, превращаясь в S-аденозилметионин, активно включается в синтез холина, лецитина и других фосфолипидов. А за счёт инозина достигается увеличение содержания общего пула пуриновых нуклеотидов, которые необходимы не только для ресинтеза макроэргов, но и нуклеиновых кислот, что в конечном итоге, приводит к снижению продукции высокоактивных форм и соединений кислорода и обеспечивает детоксицирующее действие препарата. Поэтому включение ремаксолола в схемы реабилитационных мероприятий может способствовать уменьшению клинических проявлений постковидного синдрома и улучшению прогноза за счёт более выраженной редукции соматовегетативных и различных неврологических проявлений [8–10].

Большую роль в реабилитации этих больных играет лечебный массаж, который оказывает прямое и рефлекторное воздействие на местное и общее кровообращение, что способствует улучшению тканевого обмена, деятельности печени и почек, повышает фагоцитарные свойства крови [6].

Особенно эффективно как общее, так и местное воздействие отмечается при проведении вакуумного массажа, который был известен ещё в древнем Китае. Этот массаж отличается быстрым созданием притока крови к массирующему участку, что вызывает не только расширение функционирующих и раскрытию резервных капилляров, но (рефлекторно) и на большом удалении от него, увеличивая газообмен между кровью и тканью. Было доказано, что этот массаж за

счёт рефлекторного воздействия улучшает функциональную способность ЦНС, усиливает её регулирующую и координирующую функцию, стимулирует регенеративные процессы. Под действием вакуумтерапии повышается эластичность мышечных волокон, их сократительная функция и работоспособность [6].

В связи с вышеизложенным, актуальность совершенствования программы амбулаторной медицинской реабилитации пациентов пожилого и старческого возраста с пневмониями, ассоциированными с коронавирусной инфекцией COVID-19 и изменениями печёночных показателей не вызывает сомнений.

Цель исследования — оценка эффективности включения ремаксола в медицинскую реабилитацию пациентов пожилого и старческого возраста с пневмониями, ассоциированными с коронавирусной инфекцией COVID-19 и изменениями показателей ферментативной активности печени.

## Материал и методы

Проведено обследование 116 пациентов (56 мужчин и 60 женщин) пожилого и старческого возраста, получивших курс медицинской реабилитации после перенесённой пневмонии ковидной этиологии (COVID-19) в сети клиник «ИММА».

*Критерии включения в исследование:* 10–12-й день после выписки из стационара; наличие 2 отрицательных результатов ПЦР-тестов; состояние по шкале реабилитационной маршрутизации (ШРМ) не менее 2–3 баллов; выявленные изменения в уровне печёночных ферментов при выписке из стационара; подписанное информированное согласие на участие.

*Критерии невключения в исследование:* обострение хронического соматического заболевания, гипертермия неясного генеза, тяжёлое общее состояние больного, тахикардия, злокачественное заболевание, ИБС со стенокардией напряжения III и IV функционального класса, артериальная гипертензия 3-й стадии, хроническая сердечная недостаточность IIБ и III стадии; отказ от подписания информированного согласия.

У всех пациентов имелись данные лабораторного исследования (общий анализ крови, биохимические показатели крови с обязательными показателями свёртывающей системы), исследования системы органов дыхания (спирография, пикфлоуметрия и пневмотахометрия).

По возрастному составу пациенты распределялись следующим образом: пожилых (60–74 года) было 47 человек (23 мужчины и 24 женщины), старческого возраста (75–89 лет) — 69 (33 мужчины и 36 женщин).

Из сопутствующих заболеваний были выявлены: гипертоническая болезнь — 75 (64,6%) человек, ИБС со стенокардией — 48 (41,3%) человек, дисциркуляторная энцефалопатия — 40 (34,4%) пациентов, дорсопатии — 72 (62,0%) пациента, сахарный диабет 2 типа — 17 (14,6%) пациентов, а также диффузный пневмосклероз — 37 (31,8%) человек и эмфизема лёгких — 29 (25,0%) пациентов на фоне хронической обструктивной болезни лёгких.

На момент обследования у 15 (12,9%) пациентов было выявлено ожирение: II степень (средний ИМТ составлял 34,3 кг/м<sup>2</sup>) — у 9 пациентов и III степень (средний показатель ИМТ — 44,3 кг/м<sup>2</sup>) — у 6 человек.

Согласно разработанной нами программе, комплекс реабилитационных мероприятий включал на фоне психологической поддержки пациентов медикаментозную терапию (отхаркивающие, общеукрепляющие препараты, а также при необходимости и симптоматическая терапия), лечебную физ-

культуру (ЛФК) и вакуумный лабильный массаж. В зависимости от особенностей схемы лекарственной терапии пациенты были разделены на две группы:

I группа (основная,  $n=60$ ) включала 29 мужчин и 31 женщину, получившие ремаксол: 400 мл, в/в капельно, курс 10 дней;

II группа (сравнения,  $n=56$ ) включала 27 мужчин и 29 женщин, получивших адеметионин: 400 мл, в/в капельно на 0,9% физиологическом растворе, курс 10 дней.

Для контроля эффективности реабилитации по её окончании исследовался уровень основных функциональных показателей печени: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), и их соотношения, щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутаминтранспептидазы (ГГТ), общего и прямого билирубина, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и уровня альбумина и общего белка.

Первое занятие ЛФК проводилось под руководством врача после проведения проб Штанге и Генчи, пульсоксиметрии (пульсоксиметр Armed YX 301, «Армед», Китай), подсчёта пульса и измерения артериального давления. Пациенту вручалась памятка по выполнению комплекса упражнений, подготовленная сотрудниками клиники «ИММА».

При проведении ЛФК внимание уделялось упражнениям, направленным на повышение вентиляции в нижних отделах лёгких, в частности диафрагмальному дыханию. Использовались статические и динамические дыхательные упражнения с задержкой дыхания и удлинённым выдохом, которые чередовались с упражнениями, направленными на расслабление мышц рук, плечевого пояса, шеи. Методика была адаптирована для лиц пожилого и старческого возраста с учётом результатов функции внешнего дыхания, состояния сердечно-сосудистой системы, сопутствующих заболеваний, состояния костно-мышечной системы, состоящей из комплекса статических и динамических дыхательных упражнений в исходных положениях сидя и стоя. Продолжительность занятий составляла 20–30 мин.

Вакуумтерапия проводилась медицинской сестрой, специально обученной работе на изобретённом нами устройстве для проведения вакуумтерапии (патент №204450, заявка №2020139117 приоритет от 30.11.2020 г., дата Государственной регистрации 25 мая 2021 г., Иванова М. И. и соавторы).

Перед проведением массажа в паравертебральные области спины втиралась мазь, содержащая один из НПВП, после чего всю кожу спины обрабатывали любой нейтральной мазью.

Вакуумный лабильный массаж проводился по паравертебральным областям грудной клетки и поясницы в течение 10–15 мин. При этом создавалось отрицательное давление в пределах 10–20 кПа, что важно для больных, получающих антикоагулянты.

При оценке «качества жизни» использовался опросник SF-36 («Medical Outcomes Study Short Form»), согласно которому пациентам предлагалось заполнить его графы на момент начала исследования и в конце реабилитационных мероприятий. Все тридцать шесть пунктов опросника были сгруппированы в 8 шкал. Показатели каждой шкалы варьировали от 0 до 100 баллов.

Количественно оценивались следующие показатели:

1. Физическое функционирование.
2. Роль в функционировании, обусловленное физическим состоянием.
3. Интенсивность боли.
4. Общее состояние здоровья.
5. Жизненная активность.
6. Социальное функционирование.
7. Роль в функционировании, обусловленное эмоциональным состоянием.
8. Психическое здоровье.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием стандартного пакета программы Statistica 7.0. Результаты считались достоверными при  $p < 0,05$ .



**Динамика биохимических показателей у пациентов в зависимости от метода терапии ( $M \pm m$ )**  
**The dynamics of biochemical parameters in patients according to the method of therapy ( $M \pm m$ )**

Показатель	До начала лечения ( $n=116$ )	После лечения	
		группа I ( $n=60$ )	группа II ( $n=56$ )
АСТ, МЕ/л	35,4±1,4	23,5±0,7	32,4±0,5*
АЛТ, МЕ/л	38,7±1,3	21,5±0,4	35,9±1,2*
АСТ/АЛТ	0,9±0,1	1,1±0,1	0,9±0,5
ЩФ, МЕ/л	89,3±1,4	81,2±1,5	85,1±2,1
ГГТ, МЕ/л	38,9±1,4	19,6±1,5	33,1±0,6*
Общий билирубин, мкмоль/л	32,1±0,6	14,8±0,9	22,1±0,8*
Прямой билирубин, мкмоль/л	7,1±0,6	2,8±0,1	3,6±0,4*
ЛДГ, МЕ/л	253,1±4,7	200,8±6,7	238,6±5,3*
Общий белок, г/дл	6,4±0,02	8,1±0,01	7,4±0,03
Альбумин, г/дл	4,2±0,05	4,4±0,02	4,1±0,01

**Примечание.** \* —  $p < 0,05$  при сравнении показателей I и II групп.

**Note.** \* —  $P < 0.05$  upon the comparison of the indicators of the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> groups.

## Результаты исследования

Анализ показателей качества жизни (КЖ) у всех пациентов до начала реабилитации выявил некоторое снижение: беспокоило чувство тревоги, неуверенности в будущем, опасение за своё здоровье и снижение настроения, нарушение сна и аппетита, значительного снижения продуктивности умственной и физической деятельности.

После медицинской реабилитации отмечена положительная динамика, более выраженная в I группе: улучшение общего самочувствия, значительное уменьшение кашля, снижение потливости, уменьшение или полное исчезновение одышки при привычной физической нагрузке, улучшение настроения. У 16 (26,6%) пациентов основной группы исчезли боли в пояснице, которые беспокоили их ранее.

Согласно результатам опросника SF-36 перед началом терапии показатели физического функционирования в I группе составили 61,43±21,45 баллов, после лечения — 67,82±19,38 баллов, в то же время в группе сравнения они были 59,21±22,31 баллов до терапии и 62,30±20,67 баллов — после ( $p > 0,05$ ). В конце периода наблюдения отмечена тенденция к улучшению 3 из 4 компонентов, отражающих общий физический компонент здоровья. Аналогичная динамика прослеживалась и по оценке психического компонента: выявлено достоверное увеличение показателей ролевого функционирования, уменьшение выраженности телесной боли. Помимо этого, зафиксировано улучшение показателей настроения и жизнеспособности, а также социальной активности.

Исследование влияния реабилитации на устойчивость к гипоксии с помощью пробы Штанге выявило, что в I группе произошло достоверное увеличение задержки дыхания на 8,7 с. В группе сравнения этот показатель составил 6,3 с. В основной группе по результатам пробы Генчи также произошло достоверное увеличение времени задержки дыхания — на 9,5 с. В то время как в контрольной группе увеличение произошло

только на 5,6 с. При этом отмечено, что наименее значимая положительная динамика проб Штанге и Генче, независимо от схемы реабилитационных мероприятий, была у пациентов с избыточной массой тела III степени. Так, если в I группе у них по результатам пробы Штанге задержка дыхания увеличилась на 6,3 с, а по данным пробы Генче — на 7,1 с, то во II группе эти показатели были 6,1 с и 7,3 с, соответственно.

Хорошие результаты были отмечены у пациентов с синдромом передней грудной стенки, когда после реабилитации в основной группе боли исчезли через 7,4±2,5 дней, в то время как в группе сравнения несколько позже — через 11,9±1,4 дней ( $p < 0,05$ ).

Анализ динамики уровня печёночных ферментов у пациентов до начала реабилитационных мероприятий показал повышенный средний уровень трансаминаз, ЩФ, ГГТ и ЛДГ и фракций билирубина (таблица). После реабилитации отмечена положительная динамика показателей, более выраженная в группе пациентов, получивших ремасол: у них АСТ снизилась в 1,5 раза (с 35,4±1,4 до 23,5±0,7 МЕ/л), а АЛТ — в 1,8 раза (с 38,7±1,3 до 21,5±0,4 МЕ/л), в то время как в группе сравнения существенных изменений показателей выявлено не было ( $p > 0,5$ ). Уровень ГГТ у пациентов I группы снизился в 2 раза (с 38,9±1,4 до 19,6±1,5 МЕ/л), в то время как в группе сравнения — только в 1,2 раза (с 38,9±1,4 до 33,1±0,6 МЕ/л), ( $p < 0,5$ ).

На фоне этих изменений отмечено снижение билирубина как общего, так и прямой фракции, более выраженное у пациентов, получивших ремасол: в 2,1 раза (с 32,1±0,6 до 14,8±0,9 мкмоль/л) и в 2,5 раза (с 7,1±0,6 до 2,8±0,1 мкмоль/л), соответственно ( $p < 0,5$ ), в то время как в контрольной группе снижение составило 1,4 раза (с 32,1±0,6 до 22,1±0,8 мкмоль/л) и 1,9 раза (с 7,1±0,6 до 3,6±0,4 мкмоль/л), соответственно ( $p > 0,05$ ).

Все пациенты получили терапию в полном объёме, нежелательных явлений на его введение отмечено не было.

Таким образом, включение в схему реабилитационных мероприятий у пациентов пожилого и старческого возраста с пневмониями, обусловленными SARS-CoV-2 ремаксола, способствует уменьшению цитолитического и холестатического синдромов и нормализации билирубинового обмена, улучшает общий метаболизм за счёт повышения устойчивости к гипоксии (по данным Штанге и Генче) и способствует улучшению по психофизическим показателям качества жизни пациентов (согласно данным опросника SF-36). Препарат хорошо переносился пациентами, на его введение не отмечено нежелательных реакций, все пациенты получили терапию в полном объёме.

## Обсуждение результатов

Пациенты пожилого и старческого возраста, перенёвшие НКИ, внебольничную пневмонию, нуждаются в медицинской реабилитации, основными направлениями которой является лёгочная реабилитация и купирование метаболических нарушений, в том числе нарушения работы печени. Среди возможных механизмов последней рассматриваются: иммунно-опосредованное повреждение в результате воспалительной реакции, прямая цитотоксичность в результате активной репликации вируса в клетках биллиарного эпителия где экспрессируются АПФ-2 [1, 3]. Лекарственное поражение печени в связи с большой лекарственной нагрузкой, в том числе с применением противовирусных препаратов, обладающих высокой гепатотоксической активностью. Также возможна реактивация ранее уже существовавшей патологии печени, что также сказывается на её состоянии [5].

Методы лёгочной реабилитации стали стандартным дополнением к медикаментозной терапии у больных с заболеваниями лёгких, позволяя улучшать жизнедеятельность пациентов и повышая толерантность к физической нагрузке, что в конечном итоге улучшает качество жизни больных [7].

Поэтому комплекс реабилитационных мероприятий для пациентов пожилого и старческого возраста должен включать физиотерапевтические (массаж, лечебную физкультуру и др.) и медикаментозные методы, направленные на купирование метаболических нарушений, обусловленных перенесённой инфекцией.

## Литература/References

1. Ильченко Л.Ю., Осканова Р.С., Федоров И.Г. Возможности применения препарата Ремаксол при гепатотоксических поражениях. Терапия. 2015; 2: 72–78. [Il'chenko L.Yu., Oskanova R.S., Fedorov I.G. Vozmozhnosti primeneniya preparata Remaksol pri gepatotoksicheskikh porazheniyakh. Terapiya. 2015; 2: 72–78. (in Russian)]
2. Ильченко Л.Ю., Оковитый С.В. Ремаксол: механизмы действия и применение в клинической практике. Часть I. Архив внутренней медицины. 2016; 28 (2): 16–21. [Il'chenko L.Yu., Okovityj S.V. Remaksol: mekhanizmy dejstviya i primeneniye v klinicheskoy praktike. Chast' I. Arkhiv Vnutrennej Meditsiny. 2016; 28 (2): 16–21. (in Russian)]

Выполнение вакуумтерапии изобретённым нами устройством у пациентов пожилого и старческого возраста хорошо переносится ими и способствует улучшению их общего состояния. Этот способ прост в выполнении и может быть осуществлён в любых условиях (поликлиника, в домашних условиях, профилакторий и т. д.).

Адекватная и своевременная амбулаторная помощь по медицинской реабилитации может иметь решающее значение для сохранения здоровья пациентов пожилого и старческого возраста и позволит разгрузить специализированные отделения стационаров, работающих в этом направлении.

И включение в схемы реабилитации ремаксола — корректора клеточного метаболизма и регулятора энергетического обмена клеток — улучшает клинико-биохимические показатели функции печени (цитолитического, холестатического синдромов), способствует повышению устойчивости организма пациентов к гипоксии и, как следствие, положительно влияет на качество жизни пациентов уменьшая частоту и степень выраженности астеновегетативного синдрома.

## Выводы

Включение в схему медицинской реабилитации пациентов пожилого и старческого возраста с пневмониями, обусловленными SARS-CoV-2 и сохраняющимися изменениями показателей ферментативной активности печени, препарата ремаксол способствует уменьшению цитолитического и холестатического синдромов: снижение АСТ в 1,5 раза (с  $35,4 \pm 1,4$  до  $23,5 \pm 0,7$  МЕ/л), а АЛТ — в 1,8 раза (с  $38,7 \pm 1,3$  до  $21,5 \pm 0,4$  МЕ/л) и нормализации билирубинового обмена: снижение общего билирубина в 2,1 раза (с  $32,1 \pm 0,6$  до  $14,8 \pm 0,9$  мкмоль/л) и прямого — в 2,5 раза (с  $7,1 \pm 0,6$  до  $2,8 \pm 0,1$  мкмоль/л).

На фоне терапии препаратом отмечено выраженное повышение устойчивости к гипоксии (по данным Штанге и Генче), что способствовало улучшению по психофизическим показателям качества жизни пациентов (согласно данным опросника SF-36). Полученные результаты, наряду с безопасностью препарата, позволяют рекомендовать его применение у больных с данной патологией.

3. Ильченко Л.Ю., Никитюк И.Г., Федоров И.Г. COVID-19 и поражения печени. Архив внутренней медицины; 2020; 3: 188–197. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-3-188-197. [Il'chenko L.Yu., Nikityuk I.G., Fedorov I.G. COVID-19 i porazheniya pecheni. Arkhiv vnutrennej meditsiny; 2020; 3: 188–197. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-3-188-197. (in Russian)]
4. Мазина Н.К., Мазин П.В., Суханов Д.С. Клиническая эффективность суццинагосодержащего инфузионного препарата при фармакотерапии поражений печени разного генеза: результаты метаанализа.

- Терапевтический архив. 2013; 1: 56–61. [Mazina N.K., Mazin P.V., Sukhanov D.S. Klinicheskaya effektivnost' suksinatsozderzhashchego infuzionnogo preparata pri farmakoterapii porazhenij pecheni raznogo geneza: rezul'taty metaanaliza. Terapevticheskij arkhiv. 2013; 1: 56–61. (in Russian)]
5. Мишланов В.Ю., Чучалин А.Г., Черешнев В.А., Шубин И.В., Никитин А.Э. Новые технологии в реабилитации больных респираторными заболеваниями. Телемониторинг и телереабилитация. Практическая пульмонология. 2019; 3: 28–31. [Mishlanov V.Ju., Chuchalin A.G., Chereshev V.A., Shubin I.V., Nikitin A.E. Novye tekhnologii v reabilitatsii bol'nykh respiratornymi zabolevaniyami. Telemonitoring i Telereabilitatsiya. Prakticheskaya Pul'monologiya. 2019; 3: 28–31. (in Russian)]
  6. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации. Версия 12 (21.05.2021) М.: 231. [Profilaktika, diagnostika i lechenie novoj koronavirusnoj infektsii (COVID-19). Vremennye metodicheskie rekomendatsii. Versiya 12 (21.05.2021) Moscow: 231. (in Russian)]
  7. Временные методические рекомендации «Медицинская реабилитация при Новой коронавирусной инфекции COVID-19». М.: Версия 2 (31.07.2020), 151. [Vremennye metodicheskie rekomendatsii «Meditsinskaya reabilitatsiya pri Novoj koronavirusnoj infektsii COVID-19». Moscow: Versiya 2 (31.07.2020), 151 s. (in Russian)]
  8. Carda S., Invernizzi M., Bavikatte G. et al. The role of physical and rehabilitation medicine in the COVID-19 pandemic. The clinician's view. Ann Phys Rehabil Med. 2020; 63 (6): 554–556. doi: 10.1016/j.rehab.2020.04.001. Epub 2020 Apr 18.
  9. Liu K., Zhang W., Yang Y. et al. Respiratory rehabilitation in elderly patients with COVID-19: a randomized controlled study Complement Ther Clin Pract. 2020; 39: 101166. doi: 10.1016/j.ctcp.2020.101166. Epub 2020 Apr 1.
  10. Zhang S.S., Dong L., Wang G.M., Tian Y. et al. Progressive liver injury and increased mortality risk in COVID-19 patients: A retrospective cohort study in China World J Gastroenterol. 2021 Mar 7; 27 (9): 835–853. doi: 10.3748/wjg.v27.i9.835.

## Информация об авторах

*Иванова Марина Игоревна* — студентка IV курса РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

*Иванов Вячеслав Михайлович* — д. м. н., Сотрудник сети медицинских клиник «ИММА», Российская Федерация

*Щеглова Юлия Михайловна* — к. м. н., Главный врач медицинской клиники «ИММА», Москва, Российская Федерация

*Коваленко Алексей Леонидович* — д. б. н., к. х. н., Ведущий научный сотрудник химико-аналитического отдела ФГБУ «Научно-консультативный центр токсикологии им. С. Н. Голикова ФМБА России», Санкт-Петербург, Российская Федерация

*Таликова Екатерина Владимировна* — к. м. н., доцент кафедры морфологии, патологии и судебной медицины ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Санкт-Петербург, Российская Федерация

## About the authors

*Marina I. Ivanova* — 4<sup>th</sup> year student at the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

*Vyacheslav M. Ivanov* — D. Sc. in medicine, Network of medical clinics «IMMA», Moscow, Russian Federation

*Yulia M. Shcheglova* — Ph. D. in medicine, Network of medical clinics «IMMA», Moscow, Russian Federation

*Alexey L. Kovalenko* — D. Sc. in biology, Ph. D. in chemistry, Scientific-Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov of the Federal Medico-Biological Agency of Russia, St. Petersburg, Russian Federation

*Ekaterina V. Talikova* — Ph. D. in medicine, St. Petersburg Medical and Social Institute, St. Petersburg, Russian Federation

# Постковидный синдром у детей, проживающих в Кабардино-Балкарской республике

Л. А. ТЕММОЕВА<sup>1</sup>, З. М. АЛИЕВА<sup>1</sup>, \*З. А. КАМБАЧОКОВА<sup>1</sup>,  
Н. М. ТЕММОЕВ<sup>1</sup>, Д. А. КАРДАНОВА<sup>1</sup>, Д. С. ХОЖАЕВА<sup>1</sup>, А. Л. ДЕШЕВ<sup>1</sup>,  
Д. С. МАЛКАРОВА<sup>1</sup>, М. Х. ДЖАБРАИЛОВА<sup>2</sup>, А. В. ШЕРИЕВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет им. А. А. Кадырова», Грозный, Российская Федерация

## Post-COVID Syndrome in Children Residing in the Kabardino-Balkarian Republic

LEYLA A. TEMMOEVA<sup>1</sup>, ZUHRA M. ALIYEVA<sup>1</sup>, \*ZARETA A. KAMBACHOKOVA<sup>1</sup>,  
NAZIR M. TEMMOEV<sup>1</sup>, DIANA A. KARDANOVA<sup>1</sup>, DIANA S. KHOZHAJEVA<sup>1</sup>,  
ASTEMIR L. DESHEV<sup>1</sup>, DARINA S. MALKAROVA<sup>1</sup>,  
MADINA KH. DZHABRAILOVA<sup>2</sup>, AMIRKHAN V. SHERIEV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

<sup>2</sup> Kadyrov Chechen State University, Grozny, Russian Federation

### Резюме

В работе проведено исследование 97 детей, перенёсших COVID-19 в период с сентября 2021 г. по январь 2022 г. Обсуждаются симптомы, которые встречаются после перенесённой инфекции COVID-19. Анализ результатов показал, что среди заболевших детей наибольший удельный вес имели пациенты со сниженными когнитивными функциями, повышенным уровнем невротизации, депрессивным состоянием и эмоциональной неустойчивостью. Наиболее частыми сопутствующими заболеваниями были заболевания желудочно-кишечного тракта, дыхательной и сердечно-сосудистой системы.

**Ключевые слова:** COVID-19; дети; сопутствующие заболевания; когнитивные функции

**Для цитирования:** Теммоева Л. А., Алиева З. М., Камбачокова З. А., Теммоев Н. М., Карданова Д. А., Хожжаева Д. С., Дешев А. Л., Малкарова Д. С., Джабраилова М. Х., Шериев А. В. Постковидный синдром у детей, проживающих в Кабардино-Балкарской республике. *Антибиотики и химиотерапия*. 2022; 67: 3–4: 42–45. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-42-45.

### Abstract

A study which included 97 children who had COVID-19 during the period from September 2021 to January 2022 was conducted. This article discusses the symptoms occurring after COVID-19 infection. The analysis of the results showed that the largest proportion among sick children was in patients with reduced cognitive functions, an increased level of neuroticism, depressed state and emotional instability. The most common comorbidities were the diseases of the gastrointestinal tract, respiratory and cardiovascular systems.

**Keywords:** COVID-19; children; comorbidities; cognitive functions

**For citation:** Temmoeva L. A., Alieva Z. M., Kambachokova Z. A., Temmoev N. M., Kardanova D. A., Khozhaeva D. S., Deshev A. L., Malkarova D. S., Dzhabrailova M. Kh., Sheriev A. V. Post-COVID syndrome in children residing in the Kabardino-Balkarian Republic. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 3–4: 42–45. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-42-45.

### Актуальность

В начале пандемии новой коронавирусной инфекции врачи считали, что COVID-19 у детей протекает преимущественно в лёгкой и бессимптомной форме. Но исследования показали тяжё-

лое течение болезни и долгосрочное негативное влияние на детский организм [1, 2]. «Затяжной COVID-19» или постковидный синдром – это общий термин, который охватывает физические и психические последствия, с которыми сталкиваются пациенты через 4 и более недель после

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: ул. Чернышевского, 173, КБ Государственный университет им. Х. М. Бербекова, г. Нальчик, КБР, Российская Федерация, 360004.  
E-mail: k.zareta.7@mail.ru

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 173 Chernyshevskogo st., Nalchik, Kabardino-Balkarian Republic, 360004 Russian Federation.  
E-mail: k.zareta.7@mail.ru

заболевания [3, 4]. По оценкам национальной статистики Великобритании, 2,9% детей в возрасте от 2 до 11 лет, и 14,5% подростков в возрасте 12–16 лет имели симптомы постковидного синдрома через 5 нед. после заражения новой коронавирусной инфекцией [5, 6]. Многочисленные исследования в различных странах Западной Европы и Америки также выявили данные симптомы [7–9]. По данным российских исследований, у детей встречаются следующие симптомы постковидного синдрома: астения, тревожность, депрессия и соматические расстройства [10–12]. В связи с большой медико-социальной проблемой пандемии новой коронавирусной инфекции сбор любых данных по контролю остаточных симптомов имеет важное значение для прогнозирования исходов инфекции [5, 13, 14].

Цель исследования — изучение психологических особенностей у детей, переболевших новой коронавирусной инфекцией.

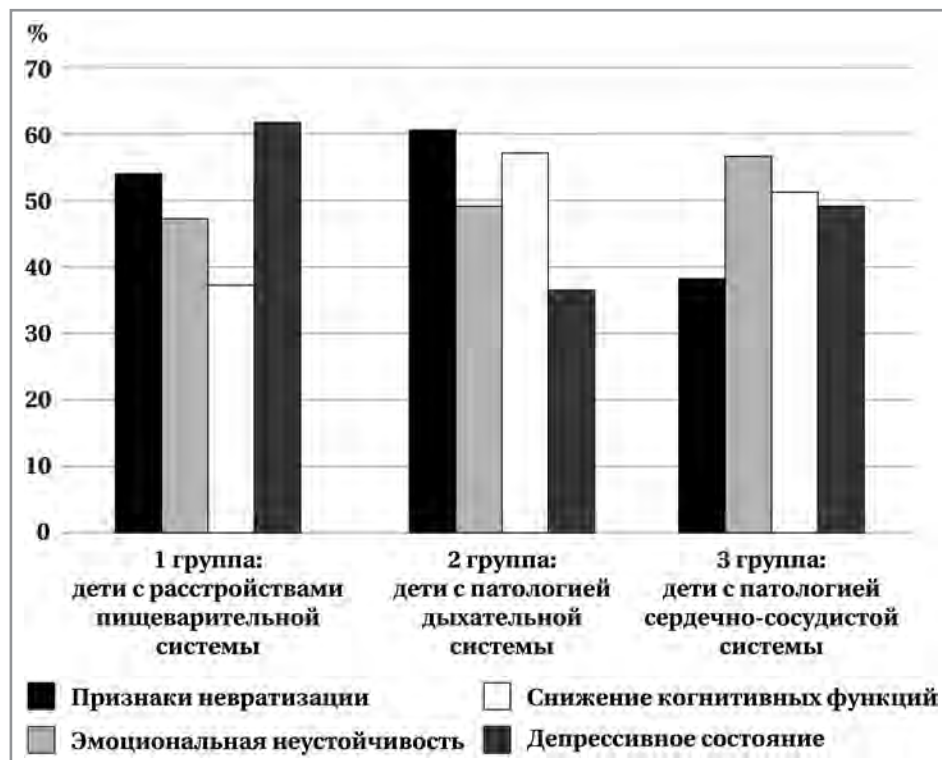
### Материал и методы

В период с сентября 2021 г. по январь 2022 г. под наблюдением находилось 97 пациентов (54 мальчика и 43 девочки от 7 до 15 лет) с перенесённой инфекцией COVID-19, проживающих в Кабардино-Балкарской республике. Обследованные дети в зависимости от сопутствующей патологии составили 3 клинические группы: 1-я группа — 43 ребёнка с расстройствами пищеварительной системы (хронический холецистит и дискинезия желчевыводящих путей, хронический гастродуоденит), 2-я группа — 32 пациента с патологией дыхательной системы (бронхиальная астма, обструктивный бронхит), 3-я группа — 22 больных с патологией сердечно-сосудистой системы (вегетососудистая дистония, признаки миокардита). Исследование проводилось на базе ГБУЗ РДКБ МЗ КБР 4 поликлинического отделения. Больные пациенты обращались с жалобами через 4–8 нед. после перенесённой новой коронавирусной инфекции. Дети были обследованы объективными клиническими методами, подтверждение диагноза проводилось с использованием лабораторных и инструментальных методов диагностики. Пакет психологического обследования включал психологическое интервьюирование, тест Векслера, проективные методики Люшера и «детский рисунок» [15–17]. Тест Векслера предназначен для оценки интеллектуального развития детей в возрасте от 5 до 16 лет и состоит из 12 субтестов вербальной и невербальной групп. Последовательность выполнения субтестов: 1 — «осведомлённость», 2 — «понятливость», 3 — «арифметический», 4 — «сходство», 5 — «словарь», 6 — «повторение цифр», 7 — «недостающие детали», 8 — «последовательные картинки», 9 — «кубики Кооса»,

10 — «складывание фигур», 11 — «кодирование», 12 — «лабиринты». Ответы оцениваются в баллах по каждому субтесту с помощью нормативных таблиц, рассчитывается общий интеллектуальный показатель, вербальный интеллектуальный показатель и невербальный интеллектуальный показатель [16]. Тест Люшера — проективный метод, использующий специальный цветовой материал. Методика выявляет не только эмоционально-характерологический базис личности, но и применяется как инструмент в целях выявления и дифференциально-диагностического исследования невротических расстройств и доболезненного состояния эмоциональной напряжённости [17]. Проективная методика «Детский рисунок» применялась с целью исследования индивидуальных особенностей личности. Графическая деятельность для ребенка естественна, она ему близка и приятна и не требует от него исключительных волевых и интеллектуальных усилий, носит для ребенка игровой характер и не вызывает тревожных переживаний. Данный тест имеет общий момент в проведении, а также интерпретации некоторых особенностей рисунков. Ход проведения теста состоит из двух частей — рисования и беседы после него. Что касается общих моментов интерпретации рисунков, то здесь речь пойдёт о качестве рисунковых линий (нажим, направление, прерывность-непрерывность), о расположении рисунка на листе, о его размерах, наличии дополнительных деталей, а также о выбранной цветовой гамме [15].

### Результаты и обсуждение

Комплексный психологический анализ полученных данных выявил следующие особенности: у больных с хроническим гастродуоденитом и холецистопатиями также наблюдались признаки невротизации — в 54,2%, эмоциональной неустойчивости — в 47,3%, снижение когнитивных функций наблюдалось у 37,5% детей и де-



Психологические особенности у детей после перенесённой инфекции COVID-19. Psychological characteristics in children after the COVID-19 infection

прессивное состояние — в 62% случаев (рисунок). Выраженные нарушения психоэмоциональной сферы не позволяли осуществить рациональную переработку проблем, которая приводила бы к адекватному восприятию ситуации и обеспечивало возможность строить позитивные личностные перспективы, что несомненно являлось серьёзным препятствием для успешной терапии заболевания.

У пациентов с заболеваниями дыхательной системы наблюдалось повышение уровня невротизации в 61% случаев, снижение когнитивных функций — в 57,4%, эмоциональная неустойчивость — в 49,5% и депрессивное состояние — у 36,9% больных. Ярко проявлялась внутренняя напряжённость, стойкое опасение за своё физическое благополучие, отгороженность от окружающей обстановки, которые они объясняли своим «плохим» состоянием. Проективные методики достаточно точно отображали личностные психологические переживания детей, перенёсших инфекцию COVID-19 (см. рисунок).

Результаты психологического анализа у детей с сердечно-сосудистой патологией показали эмоциональную неустойчивость у 57% исследуемых, депрессивное состояние — в 49,3% случаев, признаки невротизации — в 38,5% и снижение когнитивных функций — в 51,6% случаев. При этом наблюдалась утрата интересов к школьной программе, недостаток побуж-

дения к активной деятельности, повышенная сосредоточенность на своих ощущениях болезненности (см. рисунок).

## Выводы

1. После перенесённого COVID-19 у детей в первую очередь начинают страдать «локальные биологические слабые места», которые проявляются различными психологическими нарушениями в зависимости от сопутствующей патологии больных.

2. Проводимая на ранних возрастных этапах диагностика психологических состояний у детей необходима для адекватной коррекции (психотерапии и психотерапии), которая позволяет предотвратить формирование стойких патологических изменений после перенесённой коронавирусной инфекции.

3. Полученные результаты исследования пациентов с COVID-19 могут рассматриваться в аспекте формирования так называемого порочного круга, когда болезнь оказывает патологическое влияние на психологические особенности ребёнка, тем самым усугубляя заболевание.

4. Дети с перенесённой инфекционной патологией должны наблюдаться у педиатра, невролога и психотерапевта одновременно, так как пациентам необходима дополнительная поддержка для адаптации к академической коррекции.

## Литература/References

1. Баздырев Е.Д. Коронавирусная инфекция – актуальная проблема XXI века. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2020; 9 (2): 6–16. doi: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-6-16. [Bazdyrev E.D. Koronavirusnaya infektsiya – aktual'naya problema XXI veka. Kompleksnyye problemy serdечно-sosudistykh zabolevaniy. 2020; 9 (2): 6–16. doi: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-6-16. (in Russian)]
2. Miskowiak K.W., Johnsen S., Sattler S.M. et al. Cognitive impairments four months after COVID-19 hospital discharge: Pattern, severity and association with illness variables. Eur Neuropsychopharmacol. 2021; 46: 39–48. doi: 10.1016/j.euroneuro.2021.03.019.
3. Халлилулина С.В., Анохин В.А., Садыкова Д.И., Макарова Т.П., Самойлова Н.В., Мельникова Ю.С., Назарова О.А., Гумарова Т.В., Алатырев Е.Ю., Винников А.М., Зиятдинова Л. М. Постковидный синдром у детей. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2021; 66 (5): 188–193. [Khaliullina S.V., Anokhin V.A., Sadykova D.I., Makarova T.P., Samojlova N.V., Mel'nikova Jyu.S., Nazarova O.A., Gumarova T.V., Alatyrev E.Jyu., Vinnikov A.M., Ziyatdinova L. M. Postkovidnyj sindrom u detej. Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii. 2021; 66 (5): 188–193. (in Russian)]
4. Баймухамбетова Д.В., Горина А.О., Румянцев М.А., Шихалева А.А., Эль-Тарави Я.А., Бондаренко Е.Д., Капустина В.А., Мунблит Д.Б. Постковидное состояние у взрослых и детей. Пульмонология. 2021; 31 (5): 562–570. [Bajmukhambetova D.V., Gorina A.O., Rumyantsev M.A., Shikhaleva A.A., El'-Taravi Ya.A., Bondarenko E.D., Kapustina V.A., Munblit D.B. Postkovidnoe sostoyanie u vzroslykh i detej. Pul'monologiya. 2021; 31 (5): 562–570. (in Russian)]
5. Thomson H. Children with long covid. New Sci. 2021; 249 (323): 10–11. doi: 10.1016/S0262-4079(21)00303-1. Epub 2021 Mar 3.
6. <https://www.sjdhospitalbarcelona.org/ru/postkovidnyy-sindrom-oslozhneniya-kotorye-mogut-vozniknut-u-detey-i-podrostkov-posle-covid-19>
7. Munblit D., Sigfrid L., Warner J.O. Setting priorities to address research gaps in long-term COVID-19 outcomes in children. JAMA Pediatr. 2021; 115 (11): 1095–1096. doi: 10.1001/jamapediatrics.2021.2281.
8. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dash-board. Available at: [https://covid19.who.int/?gclid=EAIaIQobChMIxs-CobqP8wIVo0aRBR3NvAqUEAAAYASABEgKQ9\\_D\\_BwE](https://covid19.who.int/?gclid=EAIaIQobChMIxs-CobqP8wIVo0aRBR3NvAqUEAAAYASABEgKQ9_D_BwE)
9. Thomas L. Around 5% of children develop long COVID-19 symptoms, suggests new study. Medical News (07.06.2021).
10. COVID-19 rapid guideline: managing the long-term effects of COVID-19: NICE Guideline No.188. London: National Institute for Health and Care Excellence; 2020. Available at: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng188/resources/covid19rapidguidelinemanagingthelongtermeffectsofcovid19pdf66142028400325>.
11. Feldstein L.R., Rose E.B., Horwitz S.M. et al. Multisystem inflammatory syndrome in U.S. children and adolescents. N Engl J Med. 2020; 383 (4): 334–346. doi: 10.1056/nejmoa2021680.
12. Buonsenso D., Munblit D., De Rose C. et al. Preliminary evidence on long COVID in children. Acta Paediatr. 2021; 110 (7): 2209–2211. doi: 10.1111/apa.15870. Epub 2021 Apr 18.
13. Sudre C.H., Murray B., Varsavsky T. et al. Attributes and predictors of Long-COVID: analysis of COVID cases and their symptoms collected by the Covid Symptoms Study App. medRxiv. 2020.10.19.20214494
14. Long COVID and children: the unseen casualties of COVID-19. Medical News Today
15. Настольная книга практического психолога. Часть 1. Система работы психолога с детьми разного возраста. Практическое пособие. Под ред. Е. И. Рогова. М.: Юрайт, 2019; 412. [Nastol'naya kniga prakticheskogo psikhologa. Chast' 1. Sistema raboty psikhologa s det'mi raznogo vozrasta. Prakticheskoe posobie. Pod red. E. I. Rogova. M.: Jyurajt, 2019; 412. (in Russian)]
16. Батышева Т.Т., Квасова О.В., Климов Ю.А., Платонова А.Н., Быкова О.В., Саржина М.Н., Глазкова С.В., Шатилова Н.Н. Коррекция когнитивных нарушений у детей и подростков. Методические рекомендации. 2016; 31: 24. [Batyшева T.T., Kvasova O.V., Klimov Jyu.A., Platonova A.N., Bykova O.V., Sarzhina M.N., Glazkova S.V., Shatilova N.N. Korrektsiya kognitivnykh narushenij u detej i podrostkov. Metodicheskie rekomendatsii. 2016; 31: 24. (in Russian)]
17. Дубровская О.Ф. Восьмицветовой тест Люшера. М.:Когито-Центр». 2018; 63. [Dubrovskaya O.F. Vos'mitsvetovoj test Jlyushera. M.:Kogito-Tsentr». 2018; 63. (in Russian)]

**Информация об авторах**

*Теммоева Лейла Азретовна* — д. м. н., профессор кафедры детских болезней, акушерства и гинекологии медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Алиева Зухра Магомедгаджиевна* — студентка медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

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

*Теммиев Назир Маликович* — студент медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Карданова Диана Аслановна* — студентка медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Хожяева Диана Сафарбиевна* — студентка медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Дешев Астемир Леонидович* — студент медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Малкарова Дарина Солтановна* — студентка медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Джабраилова Мадина Хизаровна* — студентка медицинского института ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет им. А. А. Кадырова», Грозный, Российская Федерация

*Шериев Амирхан Владимирович* — студент медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

**About the authors**

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

*Zuhra M. Alieva* — Medical Faculty student, 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

*Nazir M. Temmoev* — Medical Faculty student, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

*Diana A. Kardanova* — Medical Faculty student, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

*Diana S. Khozhaeva* — Medical Faculty student, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

*Astemir L. Deshev* — Medical Faculty student, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

*Darina S. Malkarova* — Medical Faculty student, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

*Madina K. Dzhabrailova* — Medical Faculty student, Kadyrov Chechen State University, Grozny, Russian Federation

*Amirkhan V. Sheriev* — Medical Faculty student, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

# Аспекты безопасного применения антибактериальных препаратов при внебольничной пневмонии: значение межлекарственных взаимодействий

\*А. А. ТАУБЭ<sup>1</sup>, Б. К. РОМАНОВ<sup>2</sup>, Е. В. ШУБНИКОВА<sup>1</sup>, Р. Н. АЛЮТДИН<sup>1</sup>,  
М. В. ЖУРАВЛЕВА<sup>1</sup>, О. А. ДЕМИДОВА<sup>1</sup>, Е. Ю. ДЕМЧЕНКОВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

## Aspects of the Safe Use of Antibacterial Drugs in Community-Acquired Pneumonia: the Implications of Drug-Drug Interactions

\*ALEXANDRA A. TAUBE<sup>1</sup>, BORIS K. ROMANOV<sup>2</sup>, ELENA V. SHUBNIKOVA<sup>1</sup>,  
RENAD N. ALYAUTDIN<sup>1</sup>, MARINA V. ZHURAVLEVA<sup>1</sup>, OLGA A. DEMIDOVA<sup>1</sup>,  
ELENA YU. DEMCHENKOVA<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

### Резюме

**Актуальность.** Межлекарственные взаимодействия являются важной проблемой фармакотерапии, способной серьезно повлиять на профиль безопасности лекарственного препарата. В условиях старения населения, возрастающей частоты полипрагмазии, распространения самолечения возникают нежелательные явления, которые сложно идентифицировать, установить причинно-следственную связь между приёмом определённого лекарственного препарата и возникновением нежелательных явлений и перевести нежелательные явления в нежелательную реакцию. Риск возникновения межлекарственных взаимодействий возрастает при комбинированной терапии, в результате неправильного применения лекарственного препарата (off-label), а также при отсутствии у врача и пациента полной информации о потенциальных межлекарственных взаимодействиях. Одним из способов выявления нежелательной реакции на лекарственный препарат является метод «спонтанных сообщений», когда карты-извещения установленной формы от субъектов обращения лекарственных средств поступают в национальные центры по фармаконадзору, далее в глобальную базу данных Всемирной организации здравоохранения Vigibase.

**Цель работы** — комплексный анализ соответствия содержания информации, представленной в инструкциях по медицинскому применению антибактериальных препаратов, о потенциальных межлекарственных взаимодействиях с валидированными сигналами из глобальной базы ВОЗ Vigibase.

**Материал и методы.** В исследовании были использованы информационно-аналитические сравнительные количественные, графические, логические методы анализа. Объекты исследования: инструкции по медицинскому применению на международные непатентованные наименования ампициллин, амоксициллин, азитромицин, кларитромицин.

**Результаты.** Было изучено содержание инструкций по применению о возможных взаимодействиях с другими лекарственными препаратами при их совместном приеме. Далее проведен сравнительный анализ полученных данных о межлекарственном взаимодействии антибиотиков с другими лекарственными препаратами с сигналами о межлекарственных взаимодействиях, прошедшими валидацию Vigibase.

**Заключение.** Исследование показало, что подробное описание рисков потенциальных межлекарственных взаимодействий в инструкциях по медицинскому применению с целью информированности врачей, пациентов и лиц, осуществляющих уход, способствует предотвращению применения нежелательных комбинаций, тем самым снижает риски возникновения нежелательных реакций при совместном применении лекарственных препаратов. Исследование выявило, что большая часть выявленной информации по безопасному применению лекарственных препаратов в инструкциях по медицинскому применению отсутствует.

**Ключевые слова:** межлекарственные взаимодействия; внебольничная пневмония; безопасность лекарственных средств; антибактериальные препараты; нежелательная реакция; фармаконадзор

**Для цитирования:** Таубэ А. А., Романов Б. К., Шубникова Е. В., Алютдин Р. Н., Журавлева М. В., Демидова О. А., Демченкова Е. Ю. Аспекты безопасного применения антибактериальных препаратов при внебольничной пневмонии: значение межлекарственных взаимодействий. *Антибиотики и химиотерапия*. 2022; 67: 3–4: 46–52. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-46-52.

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: Петровский б-р, д. 8, стр. 2, НЦЭСМП, г. Москва, Российская Федерация, 127051.  
E-mail: taubeaa@expmed.ru

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 8/2 Petrovsky Boulevard, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, 127051 Russian Federation. E-mail: taubeaa@expmed.ru



## Abstract

**Background.** Drug-drug interactions can seriously affect the safety profile of a drug and are an important problem worldwide. Due to the aging of the population, the increasing frequency of polypharmacy, as well as the spread of self-medication, adverse events that are difficult to identify may occur. It is hard to establish a causal relationship between the administration of a certain drug and the occurrence of an adverse event; it may also lead to the conversion of the adverse event into an adverse drug reaction. The risk of drug-drug interactions increases with combination therapy, as a result of misuse of a drug (off-label use), as well as in the absence of full disclosure from physician and patient about potential drug-drug interactions. One of the ways to detect an adverse reaction to a drug is a method of «spontaneous messages», when notification cards issued according to the regulated form are sent from subjects of drug circulation to the national centers for pharmacovigilance, then to the global database of the World Health Organization *VigiBase*.

**The aim of the work** was a comprehensive analysis of the content compliance of the information presented in the instructions for the medical use of antibacterial drugs on potential drug-drug interactions with validated signals from the WHO global *VigiBase* database.

**Material and Methods.** The study used information and analytical comparative non-quantitative, graphical, logical methods of analysis, as well as regression analysis. Objects of the study: instructions for medical use for international generic drugs ampicillin, amoxicillin, azithromycin, clarithromycin.

**Results.** The contents of the instructions for use concerning possible interactions of ampicillin, amoxicillin, azithromycin, clarithromycin upon administration with other drugs were studied. Subsequently, a comparative analysis of the obtained data on drug-drug interactions of antibiotics with other drugs was carried out with signals of drug-drug interactions were validated by *VigiBase*.

**Conclusion.** The study showed that a detailed description of the risks of potential drug-drug interactions in the instructions for medical use with the aim of informing doctors, patients, and caregivers helps to prevent the use of undesirable combinations, thereby reducing the risk of adverse reactions when drugs are used together. The study found that most of the identified information on the safe use of drugs was missing in the instructions for medical use.

**Keywords:** drug-drug interactions; community-acquired pneumonia; drug safety; antibacterial drugs; adverse reaction, pharmacovigilance

**For citation:** Taube A. A., Romanov B. K., Shubnikova E. V., Alyautdin R. N., Zhuravleva M. V., Demidova O. A., Demchenkova E. Yu. Aspects of the safe use of antibacterial drugs in community-acquired pneumonia: the implications of drug-drug interactions. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 3–4: 46–52. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-46-52.

## Введение

Межлекарственные взаимодействия (МВ) являются важной проблемой фармакотерапии, способной серьезно повлиять на профиль безопасности лекарственного препарата [1]. В условиях старения населения, возрастающей частоты полипрагмазии, распространения самолечения возникают нежелательные явления (НЯ), которые сложно идентифицировать, установить причинно-следственную связь между приемом определённого лекарственного препарата (ЛП) и возникновением НЯ и перевести НЯ в нежелательную реакцию (НР). Риск возникновения МВ возрастает при комбинированной терапии, в результате неправильного применения ЛП (off-label), а также при отсутствии у врача и пациента полной информации о потенциальных МВ [2]. Одним из способов выявления НР на ЛП является метод «спонтанных сообщений», когда карты-извещения установленной формы от субъектов обращения лекарственных средств поступают в национальные центры по фармаконадзору [3].

В России спонтанные сообщения направляются в базу данных Росздравнадзора [4, 5]. Затем выявленные НР на ЛП подаются в международные базы данных. Самой крупной базой, аккумулирующей описание индивидуальных сообщений о НР после применения ЛП, является глобальная база данных ВОЗ, которая

находится в Уппсале — *VigiBase*, Центр сотрудничества ВОЗ по международному мониторингу лекарственных средств [6].

Из национальных центров по фармаконадзору участвующих в программе международного мониторинга ВОЗ, информация направляется в *VigiBase*, где подвергается статистической обработке и отбору по критериям исключения поступающих сигналов. На втором этапе проводится ручная обработка сигналов, расставляются приоритеты в зависимости от текущей политики ВОЗ в отношении сообщений по степени их доказательности. *VigiBase* хранит и поддерживает базу данных, а также проводит статистический и клинический анализ для выявления глобальных сигналов безопасности. Оценка сообщений включает анализ экспертами ВОЗ правильности отражения информации о безопасности в ИМП по каждой комбинации ЛП–ЛП–НР. Сигнал описывается как гипотеза ранее необнаруженного или не полностью задокументированного риска, связанного с применением ЛП, с различными уровнями доказательности и аргументов в поддержку гипотезы. Согласно статистике ВОЗ [7] из 668 поступивших сигналов на комбинации ЛП–ЛП–НР 75 проходят первичный отбор, после валидации окончательно подтверждаются 3 сигнала. Валидированные сигналы поступают в интерфейс *VigiBase* — *VigiLise*, которая до-

ступна национальным центрам по фармаконадзору, участвующим в программе международного мониторинга ВОЗ [8].

На основании полученных и статистически обработанных результатов ВОЗ принимает решения и разрабатывает рекомендации по безопасному применению ЛП и их комбинаций. Если информация о выявленных рисках подтверждается, то посредством процедуры внесения изменений в регистрационное досье попадает в инструкцию по медицинскому применению (ИМП).

Внебольничная пневмония является важной причиной заболеваемости и смертности во всем мире [9], так в США она является восьмой из причин смертности и наиболее частой причиной госпитализаций [10]. При лечении внебольничной пневмонии в рутинной клинической практике рекомендуется эмпирическая антибактериальная терапия. Применение антибактериальных препаратов всегда сопряжено с возникновением НР [11]. Помимо эмпирической антибактериальной терапии предусмотрен комплекс мероприятий, направленных на адекватную респираторную поддержку, а также по показаниям возможно применение неантибактериальной терапии [12]. Кроме того в группе риска по внебольничной пневмонии находятся лица с хроническими заболеваниями [13, 14]. Наряду с лечением внебольничной пневмонии возможна терапия декомпенсаций или обострения хронических сопутствующих заболеваний, поэтому в организм пациента поступают одновременно несколько ЛП разных фармакотерапевтических групп, которые могут вступать в МВ [15].

Цель работы — комплексный анализ соответствия содержания информации представленной в ИМП антибактериальных препаратов о потенциальных МВ с валидированными сигналами из глобальной базы ВОЗ VigiBase.

## Материал и методы

Материалами являлись ИМП, содержащиеся на общедоступном сайте «Государственный реестр лекарственных средств» ([grls.gosminzdrav.ru](http://grls.gosminzdrav.ru)). В качестве объектов были выбраны антибактериальные препараты, широко применяемые для лечения инфекций нижних дыхательных путей, с достаточно хорошо изученной эффективностью и безопасностью: антибиотики широкого спектра действия из группы пенициллинов (амоксициллин и ампициллин), из группы макролидов — азитромицин, из группы фторхинолонов — левофлоксацин. Амоксициллин широко применяется в практике с 1972 г., ампициллин начал коммерческое использование в 1961 г. Согласно классификации антибиотиков ВОЗ, эти препараты относятся к группе выбора (Access) и применяются в первую очередь [16]. Азитромицин разрешён к применению с 1988 г, левофлоксацин был запатентован в 1985 г, оба относятся по классификации ВОЗ к препаратам группы критически важных противомикробных препаратов (Watch) [17]. Амоксициллин, ампициллин, азитромицин включены ВОЗ в список основных лекарственных препаратов [18].

Кроме того в клинических рекомендациях Американского торакального общества и Американского общества по

инфекционным заболеваниям [19], а также в российских рекомендациях [13, 20, 21] в качестве стандартной эмпирической терапии пневмонии рекомендованы, в том числе, антибактериальные препараты следующих групп: бета-лактамы, макролиды и фторхинолоны.

Информация о зарегистрированных сигналах МВ была получена из VigiBase (с момента начала сбора информации для каждого МНН по 15.02.2021 г.). Все НР в VigiBase представляются для конкретного МНН.

В исследовании были использованы сравнительные количественные, графические, логические и информационно-аналитические методы анализа.

## Результаты и обсуждение

ИМП является документом для пациентов и лиц, осуществляющих уход за пациентами, для получения полной информации об эффективности и безопасности применяемого ЛП. Медицинские работники тоже получают основную информацию о ЛП из ИМП. Утверждённая [22] форма ИМП содержит раздел: «Взаимодействие с другими лекарственными препаратами». Держатель регистрационного удостоверения подаёт обновлённую ИМП в составе документов РД при получении новых данных о безопасности ЛП, куда вносит информацию о выявленных и подтверждённых МВ [23].

Вышеуказанный раздел в ИМП не является результатом деятельности по фармаконадзору. Он содержит результаты фармакокинетических и фармакодинамических исследований взаимных влияний ЛП при совместном приёме и включает информацию об особенностях МВ, которые могут повлиять как на эффективность путём синергии или антагонизма, так и на безопасность ЛП вследствие различных механизмов действия. Однако развитие НР, связанных с совместным приёмом ЛП зависит от биодоступности и путей биотрансформации ЛП в организме человека и индивидуальных особенностей пациента. Эти НР выявляются в результате деятельности по фармаконадзору.

МВ могут изменять фармакодинамические и фармакокинетические параметры исследуемых ЛП. В ИМП помещают также информацию о возможном воздействии описываемого ЛП на биодоступность и активность других совместно применяемых ЛП. Также опосредованно информацию о возможных рисках МВ можно получить в разделах ИМП «Противопоказания», «С осторожностью» и «Особые указания».

Информация о МВ в зарегистрированной ИМП на МНН ампициллин (ЛП-004479-280917), амоксициллин (ЛП-006933-130421), азитромицин (ЛП-006971-260421), левофлоксацин (ЛП-007139-280621) была получена на официальном сайте Государственного реестра лекарственных средств [grls.ru](http://grls.ru).

Согласно информации VigiBase МВ на МНН, ампициллин обнаружены с МНН 17 фармакотерапевтических групп (по убыванию): гентамицин, фенитоин, фуросемид, ацетилсалициловая кис-

лота, дигоксин, парацетамол, сальбутамол, амоксициллин, азитромицин, дофетилид, карбамазепин, зопиклон, пантопразол, амитриптилин, спиронолактон, фенобарбитал, амфотерицин В, метформин, рифампицин, флуцитозин. Сравнительный анализ показал, что сведения в Vigibase о МВ совпадают с информацией представленной в ИМП на потенциальные взаимодействия только с 5 фармакотерапевтическими группами: аминоклизидами, диуретиками, нестероидными противовоспалительными средствами (НПВС), макролидами, рифампицином.

Согласно информации Vigibase, у МНН амоксициллин на первом месте по частоте МВ с МНН кларитромицин. Указание на возможное взаимодействие с антибактериальным препаратом из группы макролидов также содержится в изученной ИМП. Совпадают данные из Vigibase о МВ и информация в ИМП в отношении следующих МНН: варфарин (антикоагулянты), фуросемид (диуретики), ацетилсалициловая кислота (НПВС), амлодипин (блокаторы «медленных» кальциевых каналов), аллопуринол (противоподагрическое средство), метотрексат (цитостатик). В ИМП не указана информация о потенциальных МВ, репортированных в Vigibase с ЛП фармакотерапевтической группы ингибиторов протонного насоса (омепразол, пантопразол, лансопразол, эзомепразолом), антибиотиками группы фторхинолов (ципрофлоксацин), селективными адrenoблокаторами (биспролол, метопролол), глюкокортикостероидами (преднизолон), иммунодепрессорами (лефлуномид), АПФ блокатором (лизиноприл), анальгетиками (парацетамол), метронидазолом, симвастатином. Таким образом, информация о большинстве выявленных межлекарственных взаимодействий не попала в ИМП.

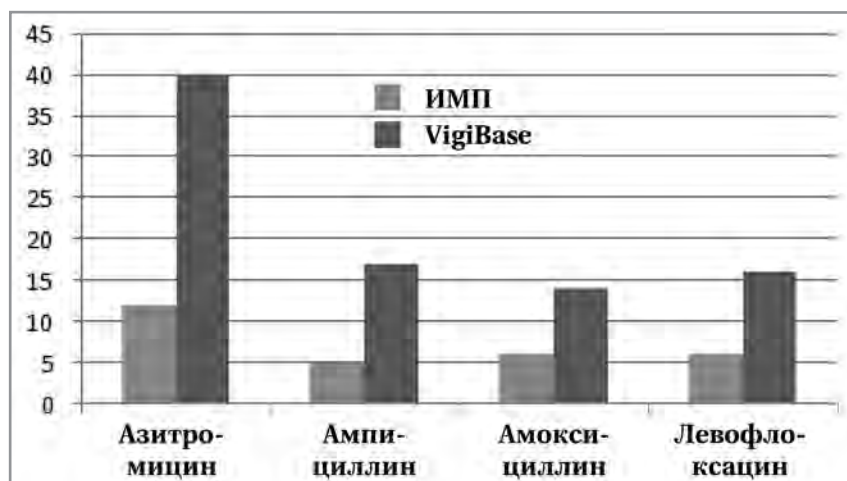
МВ для МНН азитромицин в Vigibase совпадают с информацией в ИМП на азитромицин по 12 из 40 репортированных фармакотерапевтических групп: антикоагулянты непрямого действия (варфарин), антидепрессанты (циталопрам), иммунодепрессанты (циклоспорин), гиполлипидемические средства (аторвастатин), антиаритмические ЛП, антимикробные группы фторхинолонов (фторхинолон, левофлоксацин) и макролидов (эритромицин), нейролептиков, антигистаминные, сердечные гликозиды, анксиолитики, рифампицин. Следует отметить, что в ИМП и в базе данных Vigibase могут находиться сведения о ЛП из одной фармакотерапевтической группы, но с разными МНН. Например, в ИМП содержатся све-

дения о потенциальном неблагоприятном взаимодействии азитромицина с циклоспорином, в Vigibase — указание на такролимус (кальциневрина ингибитор) и микофеноловую кислоту. Антиаритмические лекарственные препараты указаны в ИМП — класса Ia (хинидин, прокаинамид) и III (дофетилид, амиодарон, соталол); в Vigibase репортирован только один МНН — амиодарон. Это может быть связано с тем, что в ИМП подробно описано возможное взаимодействие азитромицина с антиаритмическими ЛП и данные комбинации ЛП в терапевтической практике отсутствуют.

В ИМП на МНН левофлоксацин совпадают сведения с Vigibase о МВ в отношении 6 из 16 фармакотерапевтических групп, зарегистрированных в Vigibase: непрямые антикоагулянты (варфарин), НПВС (Vigibase — только ацетилсалициловая кислота), трициклические антидепрессанты, макролиды, гипогликемические средства — глибенкламид, инсулин (Vigibase — метформин, глимепирид). В ИМП на левофлоксацин отсутствует информация о потенциальных взаимодействиях со следующими МНН: фуросемид, метопролол, пантопразол, ципрофлоксацин, парацетамол, сальбутамол, габапентин, трамадол, симвастатин, левотироксин, сульфаметоксазол, метронидазол, аторвастатин, ондансетрон.

В данном случае также наблюдается явление, когда выявлены МВ препаратов, предназначенных для терапии одной нозологии, но относящихся к разным фармакотерапевтическим группам, так, например, в ИМП указан противоастматический ЛП теофиллин (фосфодиэстеразы ингибитор), в Vigibase — сальбутамол (бета 2 адреномиметик селективный).

На рисунке представлены количества выявленных МЛ на каждый МНН по фармакотерапевтическим группам. Таким образом, ИМП со-



Соотношение количества фармако-терапевтических групп с выявленным межлекарственным взаимодействием [2].

The ratio of the number of pharmacotherapeutic groups with identified drug interactions [2].

держит незначительную часть известной информации, выявленной в результате деятельности по фармаконадзору.

Ограничением данного исследования является то, что для конкретного МНН изучили информацию из одной ИМП. Несмотря на то, что во всех ИМП на одно МНН должны содержаться аналогичные сведения по безопасности, заявления о внесении изменений в регистрационное досье подаются в разное время. В связи с этим у ЛП различных производителей сведения о профиле безопасности, представленные в ИМП, могут отличаться. Кроме того, в исследовании не учитывались разные лекарственные формы и пути введения ЛП, так как они могут существенно изменять профиль безопасности и возможные механизмы МВ.

## Заключение

Исследование показало, что подробное описание рисков потенциальных МВ в ИМП с целью информированности врачей, пациентов и лиц, осуществляющих уход, способствует предотвращению применения нежелательных комбинаций, тем самым снижает риски возникновения нежелательных реакций при совместном применении лекарственных препаратов.

При анализе МВ, возникающих при применении антибактериальных препаратов различных групп — полусинтетических пенициллинов, макролидов, фторхинолонов, обнаружены МВ с непрямыми антикоагулянтами, диуретиками, НПВС, противоязвенными препаратами. Таким образом, анализ всего 4 антибактериальных препаратов, применяемых при лечении инфекций нижних дыхательных путей, выявил общие закономерности МВ, которые можно учитывать при разработке клинических рекомендаций для лечения инфекций нижних дыхательных путей.

Исследование выявило, что ИМП содержат информацию по возможным и вероятным МВ. При этом большая часть выявленной информации по безопасному применению ЛП в ИМП отсутствует. Отчасти это связано с процедурами внесения информации в ИМП. Содержание ИМП утверждает в результате научной экспертизы регистрационного досье на ЛП при его государственной регистрации. В дальнейшем, информация

в ИМП обновляется в результате процедуры внесения изменений в регистрационное досье на ЛП. Длительность процедуры внесения изменений в ИМП занимает по законодательству ЕАЭС до 6 мес. Кроме того, сигналы по НР, попадающие в международную базу данных VigiBase проходят валидацию и оформляются в виде международных решений и рекомендаций, данная процедура также требует временных затрат.

### Дополнительная информация

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учёта НИР 121022000154-2).

**Acknowledgements.** The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022000154-2).

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

**Участие авторов.** А. А. Таубэ — концепция исследования, анализ спонтанных сообщений базы данных VigiBase, анализ и интерпретация полученных результатов, написание текста рукописи, работа с табличным материалом, ответственность за все аспекты работы; Б. К. Романов — анализ спонтанных сообщений базы данных VigiBase, разработка модели, анализ и интерпретация полученных результатов, ответственность за все аспекты выполнения работы, связанные с достоверностью данных, интерпретация полученных результатов; Е. В. Шубникова — написание текста, анализ научной и методической литературы; Р. Н. Аляутдин — обобщение результатов исследования, формулировка выводов; М. В. Журавлева — редактирование текста; редактирование и доработка текста рукописи, финальное утверждение рукописи, ответственность за все аспекты работы; О. А. Демидова — интерпретация результатов исследования, редактирование текста рукописи, критический пересмотр содержания статьи; Е. Ю. Демченкова — анализ научной и методической литературы, анализ и интерпретация результатов, написание и редактирование текста рукописи.

## Литература/References

1. *Grannell L.* Drug interaction resources: mind the gaps. *Aust Prescr.* 2020; 43 (1): 18–23 doi: 10.18773/austprescr.2020.005 Epub 2020 Feb 3.
2. *Таубэ А.А., Журавлева М.В., Александрова Т.В., Демидова О.А., Мазеркина И.А.* Сравнительный анализ межлекарственного взаимодействия антибактериальных препаратов при терапии внебольничной пневмонии. Безопасность и риск фармакотерапии. 2021; 9 (3): 136–143. doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-3-136-143. [Taube A.A., Zhuravleva M.V., Alexandrova T.V., Demidova O.A., Mazerkina I.A. Comparative analysis of drug interactions with antibacterial

- agents in the treatment of community-acquired pneumonia. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy.* 2021; 9 (3): 136–143. doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-3-136-143. [in Russian]
3. *Филлипова О.В., Умерова А.Р., Каштанова О.А., Кирилочев О.О. и др.* Методы повышения выявляемости и структура нежелательных реакций на лекарственные препараты на примере Астраханской области. *РМЖ.* 2019; 27 (8–1): 70–72. [Fillipova O.V., Umerova A.R., Kashtanova O.A., Kirilochev O.O. et al. Structure analysis of manifested adverse events in the drug use in the Astrakhan region. *Russkij Meditsinskij Zhurnal.* 2019; 27 (8–1): 70–72. (in Russian)]

4. Приказ Росздравнадзора от 15.02.2017 N 1071 (ред. от 16.07.2020) «Об утверждении Порядка осуществления фармаконадзора». Доступно по: <https://roszdravnadzor.gov.ru/documents/39003> Ссылка активна на 18.10.2021. [Приказ Росздравнадзора от 15.02.2017 N 1071 (ред. от 16.07.2020) «Об утверждении Порядка осуществления фармаконадзора». Dostupno po: <https://roszdravnadzor.gov.ru/documents/39003> Ssylka aktivna na 18.10.2021. (in Russian)]
5. *Титова А.Р., Пастернак Е.Ю., Асецкая И.Л., Зырянов С.К., Поливанов В.А., Аляутдин Р.Н. и др.* О безопасности антибактериальных препаратов, применяемых в педиатрии. Безопасность и риск фармакотерапии. 2015; 2: 12–22. [Titova A.R., Pasternak E.Yu., Asetskaya I.L., Zyryanov S.K., Polivanov V.A., Alyautdin R.N. et al. The safety of antibacterial drugs used in pediatrics. Safety and Risk of Pharmacotherapy. 2015; 2: 12–22. (in Russian)]
6. *Демченко Е.Ю., Городецкая Г.И., Мазеркина И.А., Журавлева М.В., Казаков А.С., Городецкий М.В. и др.* Актуальные вопросы выявления и мониторинга нежелательных реакций при применении цефалоспориновых антибиотиков. Безопасность и риск фармакотерапии. 2021; 9 (1): 34–42. doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-1-34-42. [Demchenko E.Yu., Gorodetskaya G.I., Mazerkina I.A., Zhuravleva M.V., Kazakov A.S., Gorodetskiy M.V. et al. Major Aspects of Detection and Monitoring of Adverse Reactions Associated with Cephalosporin Antibiotic Treatment. Safety and Risk of Pharmacotherapy. 2021; 9 (1): 34–42. doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-1-34-42. (in Russian)]
7. *Hult S., Bergvall T., Bradley T., Gattepaille L., Grundmark B., Sartori D.* Evaluation of a predictive model for suspected drug-drug interactions in routine signal detection [cited 18.10.2021]. Available from: <https://www.who-umc.org/media/164003/drug-drug-interactionweb.pdf>
8. Uppsala monitoring Centre. [Internet]. Signal detection at UMC [cited 18.10.2021]. Available from: <https://www.who-umc.org/research-scientific-development/signal-detection/signal-detection-at-umc/>
9. *van den Bergh D., Messina A.P., Goff D.A., van Jaarsveld A., Coetzee R., de Wet Y. et al.* A pharmacist-led prospective antibiotic stewardship intervention improves compliance to community-acquired pneumonia guidelines in 39 public and private hospitals across South Africa. Int J Antimicrob Agents. 2020; 56 (6): 106189. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106189.
10. American College of Emergency Physicians Clinical Policies Subcommittee (Writing Committee) on Community-Acquired Pneumonia, Smith M.D., Fee C., Mace S.E., Maughan B., Perkins J.C., Kaji A., Wolf S.J. Clinical policy: critical issues in the management of adult patients presenting to the emergency department with community-acquired pneumonia. Ann Emerg Med. 2021; 77 (1): e1-e57. doi: 10.1016/j.annemergmed.2020.10.024.
11. *Матвеев А.В., Крашенинников А.Е., Егорова Е.А., Коняева Е.И., Бекирова Э.Ю.* Безопасность антибактериальных препаратов в педиатрической практике. Ретроспективный анализ базы данных спонтанных сообщений о нежелательных реакциях лекарственных средств в республике Крым. Детская медицина Северо-Запада. 2020; 8 (1): 222–223. [Matveev A.V., Krashennikov A.E., Egorova E.A., Konayeva E.I., Bekirova E.Yu. Bezopasnost' antibakterial'nykh preparaty v pediatricheskoj praktike. Retrospektivnyi analiz bazy dannykh spontannykh soobshchenii o nezhelatel'nykh reaktsiyakh lekarstvennykh sredstv v respublike Krym. Detskaya meditsina Severo-Zapada. 2020; 8 (1): 222–223. [in Russian]]
12. Внебольничная пневмония у взрослых. Клинические рекомендации. Российское респираторное общество. 2019. [Vnebol'nichnaya pnevmoniya u vzroslykh. Klinicheskie rekomendatsii. Rossiiskoe Respiatornoe Obshchestvo. 2019. [cited 18.10.2021]. Available from: [https://minzdrav.midural.ru/uploads/clin\\_recomend%20%D0%A0%D0%A4.pdf](https://minzdrav.midural.ru/uploads/clin_recomend%20%D0%A0%D0%A4.pdf)
13. *Зайцев А.А., Синопальников А.И.* Практические рекомендации по ведению пациентов с неотяжёлой внебольничной пневмонией. РМЖ. 2020; 4: 19–23. [Zaitsev A.A., Sinopalnikov A.I. Practical guidelines for the patient management with non-severe community-acquired pneumonia. Russkij Meditsinskij Zhurnal=RMJ. 2020; 4: 19–23 (in Russian)]
14. *Bordon J., Slomka M., Gupta R., Furmanek S., Cavallazzi R., Sethi S. et al.* Hospitalization due to community-acquired pneumonia in patients with chronic obstructive pulmonary disease: incidence, epidemiology and outcomes. Clin Microbiol Infect. 2020; 26 (2): 220–226. doi: 10.1016/j.cmi.2019.06.025.
15. *Руженцова Т.А., Хавкина Д.А., Мешкова Н.А., Чухляев П.В., Гарбузов А.А.* Стратегия рациональной терапии острых респираторных инфекций у пациентов с коморбидной соматической патологией. Безопасность и риск фармакотерапии. 2020; 8 (2): 77–83. doi: 10.30895/2312-7821-2020-8-2-77-83. [Ruzhentsova T.A., Khavkina D.A., Meshkova N.A., Chukhlyayev P.V., Garbuzov A.A. Strategiya ratsional'noi terapii ostrykh respiratornykh infektsii u patsientov s komorbidnoi somaticheskoi patologiei. Bezopasnost' i Risk Farmakoterapii. 2020; 8 (2): 77–83. doi: 10.30895/2312-7821-2020-8-2-77-83. [in Russian]]
16. WHO [Internet] Model Lists of Essential Medicine. Access group [cited 29.09.2021] Available from: <https://list.essentialmeds.org/antibiotics/access>
17. WHO [Internet] Model Lists of Essential Medicine. Watch group [cited 29.09.2021]. Available from: <https://list.essentialmeds.org/antibiotics/WATCH>
18. Всемирная организация здравоохранения. (2007). Примерный перечень ВОЗ основных лекарственных средств. 15-й перечень, март 2007 г. Всемирная организация здравоохранения. [cited 29.09.2021]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/90865>
19. *Metlay J.P., Waterer G.W., Long A.C., Anzueto A.* Diagnosis and treatment of adults with community-acquired pneumonia. An Official Clinical Practice Guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America. AJRCCM. 2019; 200 (7): e45–e67. doi: 10.1164/rccm.201908-1581ST.
20. Письмо Министерства здравоохранения Российской Федерации от 06.03.2020 № 30-4/И2-2702 «Об алгоритме оказания медицинской помощи взрослому населению с внебольничными пневмониями». Доступно по: <https://minzdrav.gov.ru/documents>. [Pis'mo Ministerstva zdra-voookhraneniya Rossiiskoi Federatsii ot 06.03.2020 № 30-4/И2-2702 «Ob algoritme okazaniya meditsinskoi pomoshchi vzrosloму naseleniyu s vnebol' nichnymi pnevmoniyami». Dostupno po: <https://minzdrav.gov.ru/documents>. (in Russian)].
21. *Малыарчиков А. В., Шаповалов К. Г., Лукьянов С. А., Терешков П. П., Казанцева Л. С.* Активность системы негативной регуляции Т-клеточного ответа PD-1/PD-L1/PD-L2 у больных пневмониями на фоне гриппа А/Н1N1. Общая реаниматология. 2021; 17 (4): 4–11. doi: 10.15360/1813-9779-2021-4-4-11. [Malyarchikov A.V., Shapovalov K.G., Lukyanov S.A., Tereshkov P.P., Kazantseva L.S. Activity of negative regulation of the PD-1/PD-L1/PD-L2 T-cell response system in patients with pneumonia and influenza A (H1N1). Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology. 2021; 17 (4): 4–11. doi: 10.15360/1813-9779-2021-4-4-11 [in Russian and Engl]]
22. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 88 «Об утверждении требований к инструкции по медицинскому применению лекарственных препаратов и общей характеристике лекарственных препаратов для медицинского применения» (вместе с «Требованиями к инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата и общей характеристике лекарственного препарата для медицинского применения». <http://www.eurasiancommission.org/en/act/txnreg/deptexreg/LSMI/Documents/EEC%20Decision%2088%20SmPC%20Requirements.pdf>. Ссылка активна на 19.10.2021. [EECC Decision №88 on the Adoption of the Requirements for the Medication Guide and Summary of Product Characteristics of medicinal products for human use. <http://www.eurasiancommission.org/en/act/txnreg/deptexreg/LSMI/Documents/EEC%20Decision%2088%20SmPC%20Requirements.pdf>. Ssylka aktivna na 19.10.2021.
23. *Журавлева М.В., Романов Б.К., Городецкая Г.И., Муслимова О.В., Крысанова В.С., Демченко Е.Ю.* Актуальные вопросы безопасности лекарственных средств, возможности совершенствования системы фармаконадзора. Безопасность и риск фармакотерапии. 2019; 7 (3): 109–119. doi: 10.30895/2312-7821-2019-7-3-109-119. [Zhuravleva M.V., Romanov B.K., Gorodetskaya G.I., Muslimova O.V., Krysanova V.S., Demchenko E.Yu. Topical issues of drug safety, possibilities of improving of pharmacovigilance. Safety and Risk of Pharmacotherapy. 2019; 7 (3): 109–119. doi: 10.30895/2312-7821-2019-7-3-109-119. [in Russian]]

## Информация об авторах

*Таубэ Александра Альбертовна* — к. ф. н., ведущий научный сотрудник Центр планирования и координации научно-исследовательских работ ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-5594-4859. Researcher ID: AAE-7032-2020. eLIBRARY SPIN-код: 7634-4399

*Романов Борис Константинович* — д. м. н., доцент, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Российская Феде-

## About the authors

*Alexandra A. Taube* — Ph. D. in pharmaceuticals, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-5594-4859. Researcher ID: AAE-7032-2020. eLIBRARY SPIN: 7634-4399

*Boris K. Romanov* — D.Sc. in medicine, Associate Professor, Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian

рация. ORCID: 0000-0001-5429-9528; eLIBRARY SPIN-код: 8453-9166

*Алыутдин Ренад Николаевич* — д. м. н., профессор, начальник Управления экспертизы безопасности лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-4647-977X. eLIBRARY SPIN-код: 1722-1817. Scopus: 6701792451. Web of Science Researcher ID L-9261-2014

*Шубникова Елена Владимировна* — к. м. н., ведущий эксперт Управления экспертизы безопасности лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-2888-5993. Researcher ID B-6727-2018. eLIBRARY SPIN-код: 9311-2231. Scopus Author ID: 35622241800

*Журавлева Марина Владимировна* — д. м. н., профессор, заместитель директора центра клинической фармакологии ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России; профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Первого московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-9198-8661. eLIBRARY SPIN-код: 6267-9901. Scopus Author ID: 55878917900

*Демидова Ольга Александровна* — к. ф. н., научный сотрудник Центра клинической фармакологии ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Российская Федерация. eLIBRARY SPIN-код: 3065-3567

*Демченкова Елена Юрьевна* — к. ф. н., старший аналитик Центра клинической фармакологии ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Российская Федерация. eLIBRARY SPIN-код: 1913-9834

Federation. ORCID: 0000-0001-5429-9528. eLIBRARY SPIN: 8453-9166

*Renad N. Alyautdin* — D. Sc. in medicine, Professor, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-4647-977X. eLIBRARY SPIN: 1722-1817. Scopus: 6701792451. Web of Science Researcher ID: L-9261-2014

*Elena V. Shubnikova* — Ph. D. in medicine, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-2888-5993. Researcher ID: B-6727-2018. eLIBRARY SPIN: 9311-2231. Scopus Author ID: 35622241800

*Marina V. Zhuravleva* — D. Sc. in medicine, Professor, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-9198-8661. eLIBRARY SPIN: 6267-9901. Scopus Author ID: 55878917900

*Olga A. Demidova* — Ph. D. in pharmaceuticals, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation. eLIBRARY SPIN: 3065-3567

*Elena Yu. Demchenkova* — Ph. D. in pharmaceuticals, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation. eLIBRARY SPIN: 1913-9834

# Геморрагические лихорадки: противовирусные эффекты и молекулярные мишени биологически активных полисахаридов и лектинов из морских гидробионтов

\*Н. Н. БЕСЕДНОВА<sup>1</sup>, Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ<sup>1</sup>, Б. Г. АНДРЮКОВ<sup>1</sup>, С. П. ЕРМАКОВА<sup>2</sup>,  
Т. А. КУЗНЕЦОВА<sup>1</sup>, С. П. КРЫЖАНОВСКИЙ<sup>3</sup>, М. Ю. ЩЕЛКАНОВ<sup>1,4</sup>

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

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

<sup>3</sup> Медицинское объединение ДВО РАН, Владивосток, Российская Федерация

<sup>4</sup> ФГБУН «Федеральный научный Центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, Владивосток, Российская Федерация

## Hemorrhagic Fevers: Antiviral Effects and Molecular Targets of Biologically Active Polysaccharides and Lectins from Marine Aquatic Organisms

\*NATALIA N. BESEDNOVA<sup>1</sup>, TATIANA S. ZAPOROZHETS<sup>1</sup>, BORIS G. ANDRYUKOV<sup>1</sup>,  
SVETANA P. ERMAKOVA<sup>2</sup>, TATIANA A. KUZNETSOVA<sup>1</sup>, SERGEY P. KRYZHANOVSKY<sup>3</sup>,  
MIKHAIL YU. SHCHELKANOV<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology by Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russian Federation

<sup>2</sup> G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation

<sup>3</sup> Medical Association of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation

<sup>4</sup> Federal Scientific Center of the Eastern Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation

### Резюме

Поиск и создание этиотропных препаратов является одной из важнейших задач современной вирусологии. В настоящем обзоре рассматриваются противовирусные эффекты некоторых природных веществ (сульфатированных полисахаридов и лектинов из морских гидробионтов) по отношению к возбудителям геморрагических лихорадок. Такие соединения могут быть альтернативой синтетическим лекарствам благодаря низкой токсичности, редким побочным эффектам и отсутствию формирования к ним резистентности у вирусов. Кроме сильного противовирусного действия полисахариды и лектины обладают противовоспалительными, иммуномодулирующими, антиоксидантными и антитоксическими свойствами, что является важным для купирования многочисленных нарушений в организме, обусловленных возбудителями вирусных геморрагических лихорадок. В заключительной части обзора рассматриваются перспективы использования этих соединений как основы для создания новых лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище на их основе.

**Ключевые слова:** вирусные геморрагические лихорадки; морские гидробионты; сульфатированные полисахариды; лектины; перспективы использования

**Для цитирования:** Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С., Андрюков Б. Г., Ермакова С. П., Кузнецова Т. А., Крыжановский С. П., Щелканов М. Ю. Геморрагические лихорадки: противовирусные эффекты и молекулярные мишени биологически активных полисахаридов и лектинов из морских гидробионтов. *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 3–4: 53–69. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-53-69.

### Abstract

The search and creation of etiotropic drugs is one of the most important tasks of modern virology. This review examines the antiviral influence of certain natural substances (sulfated polysaccharides and lectins from marine hydrobionts) on the causative agents of hemorrhagic fevers. Such compounds can be used as an alternative to synthetic drugs due to their low toxicity, rare side effects, and the absence of virus resistance. In addition to a strong antiviral effect, polysaccharides and lectins possess anti-inflammatory, immunomodulatory, antioxidant, and antitoxic properties, which are important for the relief of numerous disorders caused by the pathogens of viral hemorrhagic fevers. The prospects

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: ул. Сельская, д. 1,  
НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова,  
г. Владивосток, 690087. E-mail: besednoff\_lev@mail.ru

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 1 Selskaya st., G. P. Somov Research  
Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, 690087  
Russian Federation. E-mail: besednoff\_lev@mail.ru

of using these compounds as the basis for the creation of new drugs and biologically active food additives are considered in the final part of the review.

**Keywords:** viral hemorrhagic fevers; marine hydrobionts; sulfated polysaccharides; lectins; prospects for use

**For citation:** Besednova N. N., Zaporozhets T. S., Andryukov B. G., Ermakova S. P., Kuznetsova T. A., Kryzhanovsky S. P., Shchelkanov M. Yu. Hemorrhagic fevers: antiviral effects and molecular targets of biologically active polysaccharides and lectins from marine aquatic organisms. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 3–4: 53–69. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-53-69.

## Введение

Вирусные геморрагические лихорадки (ГЛ) — смертельно опасные системные природно-очаговые заболевания, сопровождающиеся поражением эндотелия кровеносных сосудов и их повышенной проницаемостью, диффузной сосудистой дисрегуляцией, нарушением свёртываемости крови, интенсивной воспалительной реакцией и выраженными нарушениями со стороны иммунной системы.

Возбудителями ГЛ являются представители различных семейств царства *Virae*: *Arenaviridae* (*Bunyavirales*) (лихорадки аргентинская, боливийская, бразильская, венесуэльская, Ласса, Луйо, Мобала); *Filoviridae* (*Mononegavirales*) (лихорадка Эбола и Марбург); *Flaviviridae* (*Amarillovirales*) (болезнь леса Кьясанур, жёлтая лихорадка, лихорадка Алхурма и денге, омская геморрагическая лихорадка); *Hantaviridae* (*Bunyavirales*) (геморрагическая лихорадка с почечным синдромом); *Nairoviridae* (*Bunyavirales*) (Крымская-Конго геморрагическая лихорадка); *Phenuiviridae* (*Bunyavirales*) (лихорадка долины Рифт). Природные очаги ГЛ распространены на всех континентах, кроме Антарктиды [1–4].

Вирусы-возбудители ГЛ являются оболочечными, их геном представлен одноцепочечными РНК различной сегментированности (1 сегмент — у *Filoviridae*, *Flaviviridae*; 2 — у *Arenaviridae*; 3 — у *Hantaviridae*, *Nairoviridae*, *Phleboviridae*) и полярности (отрицательной — *Filoviridae*, *Hantaviridae*, *Nairoviridae*, *Phleboviridae*; положительной — *Flaviviridae*; амбиполярной — *Arenaviridae*). Клетками-мишенями являются дендритные клетки/ моноциты/макрофаги, в цитоплазме которых эти вирусы реплицируются после проникновения [5–8].

Считается, что около 60% известных и 75% «новых» патогенов человека являются природно-очаговыми [9–11]. Зоонозные вирусы становятся всё более распространёнными в связи с увеличением человеческой популяции [12, 13]. По мере роста населения планеты люди вторгаются в ранее не заселённые районы и всё чаще сталкиваются с животными, в организме которых находятся новые для человека вирусы. Особенно это касается развивающихся стран [14]. Быстрый рост промышленного животноводства предполагает тесные контакты между плотными популя-

циями генетически однородных животных, что позволяет вирусам быстро размножаться и, в конечном итоге, распространяться на человека [14, 15]. Тенденции к появлению новых вирусов из-за урбанизации усугубляются изменениями климата [16, 17].

Природным резервуаром возбудителей ГЛ являются разные отряды животных: грызуны (*Rodentia*) — для аренавирусных и хантавирусных геморрагических лихорадок, болезни леса Кьясанур, Омской геморрагической лихорадки; рукокрылые (*Chiroptera*) — для лихорадки денге и филовирусных геморрагических лихорадок; насекомоядные (*Eulipotyphla*) — для болезни леса Кьясанур; приматы (*Primates*) — для лихорадки денге, болезни леса Кьясанур и жёлтой лихорадки; парнокопытные (*Artiodactyla*) и непарнокопытные (*Perissodactyla*) — для лихорадок Алхурма и долины Рифт; паразитиформные клещи *Ixodida* — для болезни леса Кьясанур, Омской и Крымской-Конго геморрагических лихорадок. Переносчиками геморрагических лихорадок могут выступать кровососущие комары (*Culicidae*) (лихорадки долины Рифт и денге, жёлтая лихорадка), иксодовые клещи (*Ixodidae*) (болезнь леса Кьясанур, Омская геморрагическая лихорадка, Крымская-Конго геморрагическая лихорадка), аргасовые клещи (*Argasidae*) (лихорадка Алхурма) или переносчики могут отсутствовать (аренавирусные, филовирусные и хантавирусные геморрагические лихорадки). Заражение всеми ГЛ может происходить при контакте с биологическими материалами больных животных и людей [2, 3, 16, 18].

До сих пор не существует специфической вакцины (за исключением вакцины против жёлтой лихорадки и лихорадки Эбола), лекарства или метода лечения ГЛ (кроме лихорадки Эбола, для которой по-видимому будут эффективны препараты моноклональных антител) [19]. Разработке терапевтических и профилактических средств препятствует отсутствие адекватных моделей на животных для большинства из этих инфекций, неполные знания о механизмах патогенеза ГЛ, быстрое ухудшение состояния пациентов [8, 20]. Поскольку тяжёлые симптомы при ГЛ в значительной степени обусловлены иммунным ответом хозяина, желательным, чтобы разрабатываемые новые лечебные препараты, кроме антивирусного, проявляли бы иммуномодулирующее, противовоспалительное и антиоксидантное действие, а



также характеризовались наименьшим ассортиментом побочных нежелательных эффектов.

Природные биологически активные вещества (БАВ) с давних пор используются для лечения ГЛ. Так, J. Liu и соавт. [21] показали, что растительное многокомпонентное природное китайское средство Xijiao Dihu (XJDH) исторически использовалось для лечения синдромов ГЛ. Авторы установили, что оно может эффективно регулировать несколько мишеней/путей в сочетании с рядом терапевтических мероприятий — противовоспалительным, противовирусным и гемостатическим лечением.

В последние десятилетия в морских организмах (беспозвоночных животных, цианобактериях, водорослях) были обнаружены многочисленные биологически активные вещества (БАВ) с интересными функциональными свойствами, в том числе с ярко выраженным противовирусным эффектом, в связи с чем появились сообщения и о влиянии биополимеров из морских гидробионтов на жизненный цикл вирусов [22]. Большая часть исследований такого плана посвящена морским водорослям, экстракты и соединения из которых имеют доказанную эффективность против оболочечных и безоболочечных вирусов [23, 24]. Благодаря разнообразию молекул и механизмов их действия, соединения из водорослей инактивируют вирусы и блокируют их, не вызывая формирования резистентности или селекции у этих организмов [25]. В их число входят полисахариды, полифенолы, лектины и другие биологически активные соединения. Сульфатированные полисахариды и лектины из водорослей являются альтернативой синтетическим лекарствам, поскольку обладают низкой токсичностью, а некоторые из них нетоксичны в дозах, действующих на широкий спектр вирусов. Большой интерес в настоящее время исследователи проявляют к лектинам водорослей и цианобактерий.

Настоящий обзор посвящён анализу работ последних лет, касающихся сульфатированных полисахаридов и лектинов из водорослей и цианобактерий, противовирусный эффект которых по отношению к возбудителям ГЛ доказан *in vitro* или *in vivo*.

## Полисахариды из морских водорослей

Морские полисахариды содержатся в животных, растениях и микроорганизмах. Каждые из них имеют свои структурные особенности, которые находят отражение в характере биологического действия. Основными полисахаридами клеточной стенки бурых водорослей являются альгинаты, фукоиданы и запасной/резервный полисахарид — ламинарин. Полисахариды зелёных

водорослей известны как ульваны, а красных — агараны и каррагинаны [26].

Полисахариды составляют более 50% от сухого веса водорослей, в связи с чем эти гидробионты являются важным ресурсом для разработки лекарственных препаратов, биологически активных добавок к пище (БАД) и продуктов функционального питания (ПФП).

Морские животные являются источниками таких перспективных для медицины полисахаридов, как хитозаны из ракообразных, хондроитинсульфаты из хрящевых рыб и гликозаминогликаны из морских рыб и беспозвоночных [27, 28].

Цианобактерии или сине-зелёные водоросли — отдел крупных грамотрицательных бактерий, имеющих ряд общих свойств с водорослями. Эти микроорганизмы могут существовать в морских, пресноводных и наземных условиях, включая экстремальные (высокая засоленность, экстремально низкая и высокая температуры, высокие уровни радиации и пр.). В океанах и морях они развиваются в планктонных, особенно в нанопланктонных организмах, т. е. среди самых мелких форм. Цианобактерии продуцируют широкий спектр БАВ, в том числе, лектины [29, 30].

Морские микробные полисахариды сложны и разнообразны. Наиболее распространёнными компонентами микробных полисахаридов являются глюкоза, галактоза и манноза. Кроме того они содержат глюкуроновую и галактуроновую кислоты, аминсахара и пируват [31].

Установлено, что противовирусные эффекты присущи сульфатированным полисахаридам (СПС) морских макро- и микроводорослей [31, 32]. Эти соединения могут ингибировать репликацию вирусов на разных этапах жизненного цикла, а также усиливать иммунный ответ организма хозяина, проявлять противовоспалительные и антиоксидантные свойства, т.е. действовать на разные мишени и различные сигнальные пути.

Противовирусная активность СПС зависит от вида вируса, содержания сульфатов и молекулярной массы полисахарида [33]. Первоначальный контакт вируса с клеточной поверхностью происходит в результате ионного взаимодействия между положительно заряженным гликопротеином вирусной поверхности и отрицательно заряженными составляющими поверхности клетки-хозяина [34]. Каррагинан может предотвращать проникновение вируса в клетку напрямую ингибируя его связывание с клеточной поверхностью [35]. При действии СПС на поверхности клетки отмечается высокая плотность отрицательного заряда из-за наличия сульфатных остатков, которые взаимодействуют с положительно заряженным доменом вирусного гликопротеина (GP), что не даёт возможности вирусу прикрепиться [31].

Некоторые СПС препятствуют интернализации вируса, взаимодействуя с белками мембраны возбудителя. Они контактируют с углеводными группами, связанными с полипептидными цепями вируса, и ингибируют его проникновение. Кроме того, СПС связываются с аллостерическим участком вирусного капсида, что предотвращает раскрытие оболочки вируса внутри клетки-хозяина. Многие морские полисахариды могут ингибировать процесс транскрипции и репликации вируса после проникновения в клетки-хозяева, препятствуя работе ферментов репликации, таких как обратная транскриптаза, или предотвращая образование белков из матричной РНК в клетке-хозяине [35].

После ферментативной и химических (сульфатирование, фосфорилирование и др.) модификаций полисахариды могут приобретать более сильный эффект или проявлять иную биологическую активность [36]. Так, например, олигосахарид каррагинана, полученный путём химического или ферментативного гидролиза, имеет меньшую М.м. и легче контактирует с вирусом, чем исходный полисахарид, т.к. его биодоступность и биологическая активность значительно повышаются [32].

Сульфатированные полисахариды обладают поливалентностью: несколько повторяющихся единиц или боковых лигандов на полимере могут одновременно связываться с несколькими комплементарными рецепторами биологической мишени. Поливалентные взаимодействия, как правило, намного сильнее, чем моновалентные, поскольку множественные индивидуальные взаимодействия лиганд-рецептор действуют синергетически.

СПС морских водорослей, являясь по фармакологическим свойствам аналогом гепарина, часто обладают антикоагулянтной активностью, и дозолимитирующий эффект является основным ограничивающим фактором для их использования при геморрагических лихорадках [37]. Антикоагулянтная активность СПС может способствовать утечке плазмы у пациентов. Однако оказалось возможным выделить из морских водорослей полисахаридные фракции, не вызывающие геморрагический эффект [38]. Авторы получили сульфатированный полисахарид (фракция Сс-SP1) из зелёной водоросли *Caulerpa cupressoides*, который характеризовался отсутствием геморрагического эффекта и не оказывал цитотоксического действия на клетки Vero и C6/36НТ при СС<sub>50</sub> до 1000мкг/мл. При этом препарат сравнения ацикловир не проявлял токсического действия до 200 мкг/мл, т. е. был более токсичен. Токсическое действие *in vivo* у мышей тоже не было. Противовирусный эффект в отношении вируса денге-1 в клетках Vero со-

ставил 96%. В культуре клеток комара C6/36НТ полисахарид был неэффективен. Фракция Сс-SP1 ингибировала репликацию этого возбудителя, что свидетельствовало о действии соединения на структуры вириона, осуществляющие адсорбцию или проникновение. Индекс селективности для DENV-1 был высоким (>714).

Кроме того, нежелательные антикоагуляционные эффекты СПС могут быть значительно ослаблены путём химической модификации крупных молекул в более мелкие олигосахариды, имеющие минимальный размер для связывания с сайтом гликозаминогликана белка Е, что ведёт к потере антикоагулянтной активности [34].

Ещё одно нежелательное качество СПС — плохая биодоступность — легко преодолевается путём применения соответствующих средств доставки. Улучшить биодоступность можно путём конъюгирования СПС с высокоспецифичными и синергичными соединениями, каковыми, например, являются аптамеры ДНК [39].

## Лектины из морских гидробионтов

Лектины широко распространены в природе и могут быть получены из животных, растений и микроорганизмов. Богатыми источниками лектинов биомедицинской направленности являются морские водоросли и цианобактерии [40].

Отсутствие специфического лечения против возбудителей ГЛ привело к исследованиям эффективности природных лектинов, в том числе, и из цианобактерий. Из морских водорослей (зелёных, бурых и особенно красных) выделен и охарактеризован ряд маннозоспецифичных лектинов [41], наиболее известным из которых является гриффитсин, а из цианобактерий — циановирин-N, микровирин, ситовирин и др. Поскольку лектины водорослей представляют собой молекулы с низкой молекулярной массой, они могут быть менее антигенными при использовании в биологических моделях [42, 43].

Лектины водорослей, специфичные для человека, состоят из различных структурных каркасов, содержащих один или несколько сайтов связывания углеводов, которые специфически распознают гликаны с высоким содержанием маннозы [44]. В их число входит гриффитсин, лектин, полученный из красной водоросли — *Griffithsia* spp. [45]. Лектин состоит из одной полипептидной цепи из 122 аминокислот, содержащей три сайта N-гликозилирования — 46NLS, 72NIS и 105NGS. Лектины связываются не только с олигосахаридами, но и с моносахаридами, хотя и с меньшей аффинностью [46]. Каждая молекула лектина обычно содержит несколько сайтов для одновременного связывания с несколькими еди-

ницами углеводов, на которые они нацелены. Взаимодействие лектинов с углеводами может быть очень избирательным и столь же специфичным, как взаимодействие антиген/антитело.

Молекулярная масса гриффитсина составляет 12,77 кДа. Лектин не проявляет митогенной активности для Т-клеток человека и в отличие от других лектинов не индуцирует продукцию провоспалительных цитокинов в обработанных этим соединением клетках периферической крови человека. Проявляет незначительную токсичность для хозяина *in vitro* и *in vivo* [47,48].

Мощная противовирусная активность гриффитсина по отношению к оболочечным вирусам связана с уникальной структурной особенностью — образованием гомодимерного комплекса с тремя углеводсвязывающими доменами на каждом мономере [49], нацеленными на массивы с высоким содержанием маннозы, присутствующие во многих патогенных оболочечных вирусах. Специфическое взаимодействие лектинов водорослей с гликанами-мишенями на оболочке вирусов подавляет вирусную инфекцию [50]. В связи с широким спектром противовирусного действия и достаточно неплохой изученностью гриффитсин может стать первым клинически доказанным профилактическим средством против различных вирусных инфекций.

## Жизненный цикл оболочечных вирусов

Основные этапы жизненного цикла вирусов:

— Взаимодействие вируса с клеточным рецептором.

— Адсорбция вируса на клеточной мембране.

— Проникновение в клетку. Оболочечные вирусы, в том числе, возбудители вирусных ГЛ, проникают путём слияния вирусной оболочки с клеточной мембраной.

— Депротенинизация вирусных частиц (раздевание вируса) — удаление вирусных оболочек, в результате чего остаётся нуклеокапсид — нуклеиновая кислота (НК) или нуклеиновые кислоты, связанные с белком.

— Синтез компонентов вируса заключается в репликации вирусных НК и синтезе вирусных белков.

— Формирование дочерних вирионов.

— Почкование дочерних вирионов. Если вирус оболочечный, то он отпочковывается от клетки, захватывая часть мембраны клетки хозяина, встроенную в вирусные белки [5, 51].

Каждая стадия репликации вируса является потенциальной мишенью для антивирусного агента [5, 52].

## Механизмы действия морских биополимеров на вирусы-возбудители ГЛ

1. Действие биологически активных соединений водорослей на вирусы-возбудители ГЛ, относящиеся к отряду *Bunyavirales*.

Ортохантовирuses (*Bunyavirales: Hantaviridae, Orthohantavirus*) вызывают две клинические формы вирусных ГЛ: геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС), регистрирующуюся в Европе и Азии [5, 3, 53], и хантавирусный кардиопульмонарный синдром в Америке [5, 54]. Ежегодно в мире регистрируется от 150000 до 200000 случаев ГЛПС [55, 56], большая часть из них происходит в Азии, в основном, в Китае [57]. На Дальнем Востоке России ежегодная заболеваемость ГЛПС обусловлена двумя ортохантовирuses: Хангаан и Сеул [58]. В настоящее время хантавирусные инфекции являются серьёзной угрозой санитарно-эпидемиологическому благополучию населения земного шара, которая в любой момент может осложнить эпидемиологическую ситуацию, что во многом обусловлено изменчивостью генома хантавирусов, приводящей к появлению новых типов и генетических вариантов с высокой вирулентностью в различных регионах мира [59].

Для лечения ГЛПС используют рибавирин и в последнее время — фавипиравир [60]. Оба препарата, несмотря на свою эффективность, имеют немало неблагоприятных побочных эффектов. Таким образом, ограниченный ассортимент противовирусных препаратов и отсутствие лицензированных вакцин против ортохантовиральной инфекции диктуют необходимость разработки новых противовирусных стратегий для лечения ГЛПС.

В литературе есть обнадеживающие материалы, касающиеся влияния полисахаридов водорослей на жизненный цикл ортохантовирuses. Так, И. Д. Макаренко [61] в эксперименте на культуре клеток Vero E6, чувствительной к хантавирусам, была исследована противовирусная активность СПС трёх бурых водорослей: *Fucus evanescens*, *Laminaria japonica* и *L.cichorioides* в концентрации от 100 мкг/мл до 2,0 мг/мл. В этих дозах полисахариды не вызвали морфологических изменений в клетках, т.е. были нетоксичными.

Самое сильное ингибирующее действие на вирус оказывал частично ацетилованный фукоидан из бурой водоросли *L.japonica*, снижавший титр вируса при предварительной обработке клеток Vero E6, а также при обработке вируса на 2,0–3,0±0,28 lg ТКИД<sub>50</sub> по сравнению с контролем (5,0±0,5 lg ТКИД<sub>50</sub>). Близкие результаты получены с высокосульфатированным фукоиданом из водоросли *L.cichorioides*.

Наиболее низким ингибирующим действием обладал фукоидан из водоросли *Fevanescens*, снизивший титр вируса на  $1,5-2,0 \pm 0,28 \lg \text{ТКИД}_{50}$ . Этот полисахарид отличается по типу связи между остатками фукозы и является низкосульфатированным, частично ацетилированным  $1 \rightarrow 3; 1 \rightarrow 4$ - $\alpha$ -L-фуканом, содержащим небольшое количество полиманурановой кислоты, что возможно оказывает влияние на противовирусную активность полисахарида. Использование для исследования биологического действия фукоиданов, выделенных из различных бурых водорослей и отличающихся по структуре, позволяет установить структурные особенности этих уникальных полисахаридов важных для проявления их ингибирующей активности по отношению к вирусу ГЛПС.

Фукоидан действует на первый этап жизненного цикла вируса — адсорбцию. Предварительный контакт хантавирусов с перитонеальными макрофагами мышей в течение 30 мин и 1 ч вызывал подавление адсорбции возбудителя в 3,97 и 6,4 раза (до 25 и 15,6%, соответственно). Так же, как и в предыдущих экспериментах, наименьшие показатели отмечены для *Fevanescens*. Взаимодействие фукоидана из *L.japonica* с хантавирусом снижало количество инфицированных макрофагов мышей в среднем до  $32,88 \pm 2,13\%$  по сравнению с контролем.

Таким образом, противовирусная активность фукоидана по отношению к ортохантавирусам зависит от его химической структуры, концентрации и времени действия в период адсорбции.

Известно, что за взаимодействие хантавируса с рецепторами цитоплазматических мембран отвечают оболочечные гликопротеины G1 и G2 (называемые ещё Gn и Gc), обладающие гемагглютинирующей активностью [62]. Проникновение вируса в клетки осуществляется путём трансформации G1 и G2 и рецепторно-опосредованного эндоцитоза, с помощью интегринов ( $\beta$  1–3), которые являются оболочечными поверхностными рецепторами эндотелиальных клеток, тромбоцитов и макрофагов [63].

По-видимому, при взаимодействии вируса с СПС, в результате конкурентного лиганд-рецепторного взаимодействия происходит блокирование гликопротеинов вируса, что препятствует слиянию клеточной и вирусной мембран и ведёт к ингибированию адсорбции на клетках-мишенях.

В свою очередь, при взаимодействии СПС с макрофагами, механизм их противовирусного действия реализуется за счёт взаимодействия с мембранными рецепторами, и прежде всего с TLRs (толл-подобные рецепторы, от *англ.* Toll-like receptors), что приводит к конформационным изменениям, развитию биохимических процессов, препятствующих адсорбции и проникновению вируса в клетки.

Несмотря на то, что сульфатированные полисахариды в той или иной степени подавляли первичное размножение вируса при экспериментальной хантавирусной инфекции, полного ингибирующего действия на инфекционный процесс они не оказывали. Противовирусная активность сульфатированных полисахаридов в разгар инфекции (10–14 день), по-видимому, связана с активацией NK и NKT-клеток и способностью напрямую или опосредованно через продукцию цитокинов стимулировать выработку специфических антител.

Снижение инфицированных перитонеальных макрофагов у животных может быть связано со способностью сульфатированных полисахаридов блокировать проникновение вируса в клетки путём конкурентного взаимодействия с  $\alpha V\beta 3$ -рецепторами ( $\beta 3$ -интегрины). Однако, учитывая пантропизм хантавируса, резонно предположить, что наличие  $\beta 3$ -интегринов не всегда определяет чувствительность клетки к вирусу. В литературе имеются данные об использовании хантавирусами корецепторов (DAF — decay-accelerating factor — фактор ускорения распада) для инфицирования клеток-мишеней [64]. По-видимому, на клеточных мембранах не существует специфичных, строго гомологичных и высоко аффинных рецепторов к белкам G1 и G2, способных реализовать проникновение вируса в клетки организма человека, и механизм взаимодействия вирус-клетка является многофакторным.

Сравнение в экспериментах *in vitro* антиортохантавирусной активности фукоидана из бурой водоросли *Fevanescens* (FeF) и его высоко- (FeHMP) и низкомолекулярной (FeLMP) фракций позволило установить прямой вирулицидный эффект соединений и повышение устойчивости клеток Vero 6 к инфекции, т. е. подтвердить профилактический эффект полисахаридов [65]. При этом фукоидан и его фракции не влияли на события после проникновения вируса в клетки. Молекулярный докинг показал, что 2-О-сульфатированный тетрасахарид, основной компонент фракции FeLMP, может связываться с эпитопом антитела интегрин  $\beta 3$ , нейтрализуя взаимодействие с оболочечными гликопротеинами Gn/Gc ортохантавируса. Обращает на себя внимание тот факт, что этот сульфатированный тетрасахарид может взаимодействовать с гетеротетрамером Gn/Gc оболочки Amur virus в местах, которые перекрываются эпитопами нейтрализующих антител, что указывает на то, что эти соединения способны блокировать как клеточные рецепторы, так и вирусные белки, препятствуя связыванию вируса и его проникновению в клетки-хозяева. Авторы подтвердили этот механизм действия фукоиданов результатами эксперимента, в котором смесь частиц Amur virus и фукоиданов добавляли

к клеткам Vero, что приводило к наиболее высокому антиортохантовиральному эффекту. Связывание интегрин  $\beta 3$  и эктодоменов Gn/Gc с тетрасахаридом происходило в основном между положительно заряженными участками белков и отрицательно заряженными сульфатными группами олигосахарида, что указывает на большое значение сульфатирования в этом процессе. Интересен и важен ещё следующий факт, продемонстрированный N. V. Krylova и соавт. [65]. Дело в том, что сайты взаимодействия между интегрин  $\beta 3$  и эктодоменами Gn/Gc ортохантавируса относительно малы, т. е. им не требуется высокая ВЗ фукоиданов для их блокировки, что подтверждается экспериментами авторов, согласно которым  $IC_{50}$  для фракции FeLMP ниже по сравнению с FeF и фракцией FeHMP.

Данная работа представляет большой интерес ещё и потому, что в ней авторы использовали полученные путём ферментативного гидролиза производные фукоидана с определённой структурой [65], которые проявляли свою противовирусную активность в основном благодаря их способности блокировать гликопротеины оболочки Amur virus (Gc и Gn) и интегрин  $\beta 1-3$  клеток-хозяев.

Таким образом, сульфатированные полисахариды водорослей могут рассматриваться в качестве потенциальных антивирусных средств при ортохантавирусной инфекции.

*Andes and Sin Nombre viruses* — высокопатогенные хантавирусы, вызывающие тяжёлый хантавирусный лёгочный синдром в Америке (летальность 30–50%). Болезнь распространяется путём вдыхания вируса, находящегося в помёте, моче и слюне заражённых грызунов, через укус грызуна. Может передаваться от человека к человеку. До настоящего времени нет лекарственных средств против этих инфекций, кроме рибавирина, который обладает побочными нежелательными эффектами [66].

P. Shrivastava-Ranjana и соавт. [66] показали, что лектин гриффитсин (GRFT) и его синтетический тримерный тандемер 3mGRFT являются мощными ингибиторами инфекции *Andes orthohantavirus*. Гриффитсин ингибирует функцию белка оболочки вируса во время проникновения его в клетку. При этом 3mGRFT более эффективен, чем GRFT против инфекции, вызванной как *Andes orthohantavirus*, так и *Sin Nombre orthohantavirus*.

Гриффитсин дозозависимо ингибировал *Andes orthohantavirus* на клетках VeroE6 с  $EC_{50}$  5,2 мкг/мл (203 нМ) и проявлял минимальную цитотоксичность в неинфицированных клетках VeroE6 (50% цитотоксическая концентрация —  $CC_{50} > 100$  мкг/мл).

Противовирусный эффект GRFT и 3mGRFT на *Andes orthohantavirus* был подтверждён ещё на двух линиях клеток: Huh7 и HT-1080. Предварительная обработка клеток обеих линий гриффит-

сином и 3mGRFT сопровождалась дозозависимым ингибированием *Andes orthohantavirus*. Значения  $EC_{50}$  для GRFT составляли 180 и 184 нМ, а для синтетического препарата — 62 и 75 нМ, соответственно, в зависимости от дозы. На обоих видах клеток цитотоксического эффекта от GRFT и 3mGRFT не было.

Предварительная инкубация вируса с GRFT или 3mGRFT повышала противовирусную эффективность обоих соединений. При этом эффективность GRFT увеличилась в 2,5 раза, в то время как эффективность 3mGRFT возросла в 3,4 раза.

Через 72 ч после заражения предварительно инкубированных с GRFT и 3mGRFT клеток VeroE6 наблюдалось дозозависимое снижение титра вируса на 2 логарифма  $TCID_{50}$  при обработке GRFT и на 4 логарифма при обработке клеток 3mGRFT.

Авторы оценили также, возможен ли лечебный эффект обоих соединений. Для этого они добавляли GRFT и 3mGRFT к клеткам через два часа после заражения их вирусом. Было установлено, что в этом случае эффект был минимальным, регистрировалось примерно 5- и 8-кратное увеличение  $EC_{50}$  для GRFT и 3mGRFT, соответственно.

Близкие результаты получены и с вирусом *Sin Nombre*. Оба соединения ингибировали этот вирус более эффективно, чем *Andes orthohantavirus* (GRFT — на 75%, 3mGRFT — на 95%).

Различия в эффективности объясняются тем, что GRFT представляет собой гомодимер с заменой доменов с 3 индентичными олигосахаридсвязывающими доменами на каждом мономере. Синтетически сконструированный тримерный тандемер 3mGRFT содержит 9 потенциальных сайтов связывания олигосахаридов, в связи с чем он более эффективен, чем гриффитсин. Авторы полагают, что противовирусный эффект гриффитсина, по-видимому, обусловлен прямым взаимодействием лектина с шиповидными белками вириона, покрывающими всю поверхность вируса и содержащими тетрамеры гетеродимеров Gn-Gc. При этом Gn содержит несколько сайтов N-связанного гликозилирования и имеет положение, открытые для растворителя, что указывает на то, что он может быть основной мишенью гриффитсина.

E. Mittler и соавт. [63] продемонстрировали вирулицидное действие гриффитсина против ВИЧ и вируса японского энцефалита, в связи с чем можно предположить, что такая активность может быть и против хантавирусов. Кроме того, есть данные, что гриффитсин действует на несколько этапов цикла вирусной репродукции, включая слияние клеток и распространение вируса [48, 53, 67]. Эти различия могут объясняться разными клеточными линиями, разными условиями опыта. Что же касается значения данных исследований, то они свидетельствуют о том, что

изученные в этих экспериментах гриффитсин и его синтетический аналог могут служить перспективными кандидатами для создания лекарственных препаратов, БАД к пище и продуктов функционального питания при хантавирусных инфекциях.

Буньявирусы вызывают ещё одну тяжёлую вирусную ГЛ — лихорадку долины Рифт (ЛДР). Это зооантропоноз, поражающий в основном животных, но в последние десятилетия вирус резко расширил свой ареал, перейдя из Африки в Азию. Итогом его встречи с человеком является тяжёлое геморрагическое заболевание с летальностью около 50% [5]. Антивирусную активность каррагинана, выделенного из красной водоросли *Acanthophora specifera*, *Gomaa*, *Soubaky* [68] исследовали в эксперименте на культуре клеток Vero 6. Каррагинан получали горячей экстракцией. Противовирусный эффект оценивали методом уменьшения бляшкообразования, а также при помощи цитометрического анализа.

Предварительная обработка вируса полисахаридом привела к снижению титра вируса. В данном случае, как и в экспериментах с другими оболочечными вирусами, механизм противовирусного действия СПС был связан с блокадой ранней стадии репликации возбудителя.

2. Действие биологически активных веществ водорослей на вирусы-возбудители геморрагических лихорадок, относящихся к роду *Flavivirus* (*Flaviviridae*).

*Dengue virus* (DENV) передаётся человеку комарами (в основном, *Aedes aegypti*, реже — *Aedes albopictus*). Существует четыре серотипа вируса, вызывающие схожие клинические проявления и эпидемиологию в тропических и субтропических регионах мира. Спектр клинических проявлений этой болезни варьирует от бессимптомной инфекции до лихорадки денге, геморрагической лихорадки денге и шокового синдрома денге и может привести к смерти пациента [5, 69]. Лихорадкой денге в мире ежегодно заболевают около 390 млн человек [70]. В последние годы заболеваемость резко возросла и, по данным ВОЗ, в настоящее время более половины населения мира находится в группе риска.

Каждый серотип оболочечного вируса денге по антигенной структуре отличается от других вариантов, что, как предполагают, позволяет рассматривать их как отдельные вирусы [71]. Пожизненный иммунитет вырабатывается только к конкретному серотипу. Гликопротеин E оболочки DENV связывает различные рецепторы клеточных хозяев. В качестве рецепторных молекул для DENV описаны следующие структуры.

Гепарансульфат (HSPG) — белково-углеводные молекулы, каждая из которых состоит из ковалентно присоединены неветвящиеся углеводные цепи сульфатированных гликозаминогликанов, несущие отрицательный заряд, локализованы в основном на поверхности клеток и в составе базальной мембраны.

Связывание с вирусом происходит за счёт электростатических взаимодействий между отрицательными зарядами HSPG и основными аминокислотными частями вирусных поверхностных белков [72]. Несмотря на серьёзные исследования взаимодействия HSPG и вируса, влияние этого взаимодействия на патогенез болезни до конца не изучено. Как полагают V. Cagno и соавт. [72], в некоторых случаях это связывание способствует диссеминации и нейровирулентности, в других, возможно, оно улавливает вирус и приводит к ослаблению инфекции. Поскольку HSPG используются многими вирусами, они представляют собой идеальную противовирусную мишень широкого спектра действия;

Специфичный для дендритных клеток ICAM3-захватывающий неинтегрин (DC-SIGN). Это лектин С-типа, экспрессируемый на плазматической мембране незрелыми дендритными клетками человека, являющийся рецептором для многочисленных вирусов, в том числе, для DENV. Установлено, что рецептор локализован вместе с вирусом денге внутри клеток, что свидетельствует об отсутствии передачи на плазматической мембране другому рецептору, т. е. при инфицировании вирусом денге DC-SIGN действует в качестве полноценного рецептора как для связывания, так и для интернализации возбудителя [73];

CLEC5A — лектин С-типа, сигнальный рецептор, экспрессируемый в высокой степени моноцитами, макрофагами, нейтрофилами и дендритными клетками и напрямую воздействующий с вирионами через терминальные фрагменты фукозы и маннозы вирусных гликанов. Образует мультивалентный гетерокомплекс с DC-SIGN и другими лектинами С-типа при взаимодействии с лигандами [74]. Эксперименты на мышах показали, что этот рецептор отвечает за индуцированный флавивирусами геморрагический шок и невроспаление, а полимофизм его у людей связан с тяжестью заболевания лихорадки денге. CLEC5A тоже является потенциальной терапевтической мишенью для ослабления как септических, так и асептических реакций [67, 74];

Белок 78, регулирующий глюкозу (GRP 78/Bip) у человека содействует внутриклеточной продукции и секреции NS1 DENV. P. Songprakhon и соавт. [75] предсказали потенциальные сайты связывания между комплексом DENV NS1 и GRP 78, которые могут стать потенциальными мишенями для разработки препаратов против вируса денге;

TLR2 вместе с его корецепторами CD14 и TLR6 является врождённым сенсором частиц DENV, индуцирующих экспрессию провоспалительных цитокинов и нарушающих целостность сосудов *in vitro* [76]. Блокирование TLR2 до инфицирования DENV *in vitro* отменяет активацию NF- $\kappa$ B, блокирование же CD14 и TLR6 оказывает умеренный эффект. Блокирование TLR2 до инфицирования вирусом мононуклеарных клеток периферической крови предотвращает активацию эндотелия сосудов человека, что указывает на потенциальную роль TLR2-ответов в целостности сосудов. Экспрессия TLR2 на CD14+-моноцитах, выделенных в острой фазе от детей, инфицированных вирусом денге, коррелирует с развитием тяжёлого заболевания. Эти данные определяют роль TLR2 при лихорадке денге и дают представление о сложном взаимодействии между вирусом и рецепторами врождённого иммунитета, которые могут быть мишенями для разработки препаратов против вируса денге;

Bis(monoacylglycero)phosphate — липид, характерный для поздних эндосом; используется вирусом денге в качестве кофактора для слияния, зависящего от закисления эндосом. Для эффективного слияния вируса с плазматической и внутриклеточной мембранами, а также с безбелковыми липосомами требуется, чтобы мембрана-мишень содержала анионные липиды. Чтобы достичь поздних эндосом, обогащённых анионными липидами, DENV проходит через подкислённые ранние эндосомы. Как показали исследования E. Zaitseva и соавт. [77], зависимость аппарата слияния вируса денге от анионных липидов защищает его от преждевременной инактивации и обеспечивает слияние вируса в поздних эндосомах, где вирус впервые сталкивается с анионными липидами во время проникновения, и это тоже представляет новую мишень для разработки лекарств.

Это далеко не все рецепторы, которые использует вирус денге при проникновении в организм. Но даже этот перечень свидетельствует о сложных взаимоотношениях между возбудителем и организмом и определяет возможность лекарственного воздействия на различные звенья этого процесса [77].

DENV интернализуется посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза [78, 79]. Е-белок является основным компонентом поверхности вириона, обеспечивая проникновение вируса посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза.

У людей и мышей имеет место тканевой тропизм возбудителя [80, 81]. Вирусный антиген был обнаружен в макрофагах и дендритных клетках селезёнки и лимфатических узлах обоих хозяев.

Эти клетки мигрируют в лимфатические узлы, где вирус первоначально размножается и распространяется на ткани вторичной репликации — миелоидные клетки костного мозга и гепатоциты печени.

Наиболее важным клеточным рецептором для DENV у человека является DC-SIGN [37]. Первичными клетками-мишенями в коже являются незрелые дендритные клетки или клетки Лангерганса. Незрелые дендритные клетки (ДК) очень активно захватывают патогены, в то время как зрелые относительно устойчивы к инфекции. Взаимодействие между DC-SIGN и DENV зависит от маннозосодержащих N-гликанов, присутствующих на оболочке DENV. Взаимодействуя с ICAM-2 на эндотелиальных клетках сосудов, ДК мигрируют во вторичные лимфоидные органы. После этого активированные ДК взаимодействуют с ICAM-3 на наивных Т-клетках, что приводит к стимуляции Т-лимфоцитов и затем к продукции хемо- и цитокинов. Ингибирование начального взаимодействия между DENV и ДК может предотвратить иммунный ответ. Таким образом, DC-SIGN можно рассматривать как мишень для противовирусной терапии, прерывая процесс проникновения вируса. Пока ещё роль антагонистов DC-SIGN *in vivo* изучается. В их число входят агенты, связывающие углеводы, которые могут быть выделены из различных природных объектов. Поскольку DENV гликозилирован, такие соединения могут взаимодействовать с гликозилированной оболочкой вируса и предотвращать его проникновение в клетку.

В связи с отсутствием эффективных специфических лекарств, разработка безвредных, эффективных противовирусных средств является настоятельной необходимостью [82]. Инфекцию денге возможно предотвратить, во-первых, путём блокады проникновения вируса в клетки, опосредованного гликопротеином Е клеточной оболочки и, во-вторых, блокированием прикрепления вируса к специфическим клеточным рецепторам, экспрессирующимся на иммунных клетках печени и эндотелия. Одним из рецепторов для DENV является гепарансульфат (HS), взаимодействующий с доменом III Е-белка вируса. Проникновение вируса можно заблокировать путём воздействия на контакт Е-белка-HS с растворимыми гликозаминогликанами [83].

Эффективность сульфатированных полисахаридов из морских водорослей, являющихся миметиками HS, в отношении вируса денге уже давно исследовали и исследуют в настоящее время многие авторы. Ежегодно появляются сообщения, подтверждающие выраженное ингибирующее действие этих соединений на репликацию этого возбудителя. СПС предлагают многообещающую терапию — альтернативу про-

тивовирусным синтетическим препаратам для терапии больных. Они ингибируют первую стадию инфекции клеток оболочечными вирусами, при этом гликопротеин вирусной оболочки использует свои положительные заряды для взаимодействия с отрицательными зарядами гепарансульфата (HS), с которым связывается вирус, т. е. СПС имитируют HS, блокируя проникновение возбудителя в клетку-хозяина [84].

Безопасный и эффективный препарат против вируса денге в идеале должен иметь потенциал для снижения общего числа лиц, у которых развиваются клинические проявления болезни и обеспечивать защиту людей, посещающих регионы, эндемичные по DENV. Он должен действовать на все серологические варианты этого микроорганизма [85]. Однако разработка таких препаратов против DENV пока затруднена из-за необходимости поиска соединения с панзащитными противовирусными свойствами, низкой токсичностью, низкой вероятностью развития устойчивости к ним вирусов и стабильностью для обеспечения абсорбции и распределения в организме [86]. Однако, несмотря на эти трудности, авторы обращают внимание на перспективность таких исследований и необходимость их продолжения.

В цикле работ L. V. Talarico и соавт. [87–89] продемонстрировано сильное ингибирующее действие каррагинанов из красных водорослей *Gymnogongrus griffithsiae* и *Cryptonemia crenulata*, имитирующих гепарансульфат, на DENV 2-го и 3-го серотипов в клетках Vero и HepG2 со значениями эффективной 50% концентрации от 0,14 до 4,1 мкг/мл. Эти соединения оказались селективными ингибиторами размножения DENV 2 в клетках Vero с индексами селективности ( $CC_{50}/IC_{50}$ ) > 1000 [87]. Для DENV 3 and 4 были зарегистрированы более низкие показатели, на DENV 1 соединения не действовали совсем. Оба полисахарида были активными ингибиторами DENV 2 только в том случае, когда их вносили или одновременно с инфицированием, или вскоре после заражения клеточной культуры. Таким образом, мишенями каррагинанов были начальные процессы адсорбции и интернализации нуклеокапсида в цитоплазму.

Каррагинаны, содержащие линейные цепи, построенные из остатков галактопиранозы, были ингибиторами не только DENV 2, но и DENV 3 [88] даже тогда, когда вирусные частицы добавляли после адсорбции DENV (об этом свидетельствовало внутриклеточное нахождение радиоактивно меченных частиц DENV 2 и количественная ОТ-ПЦР). Более 95% вирионов не высвобождались из эндосом. Авторы полагают, что вирионы, обработанные каррагинаном, проникают в клетку, но слияние вирусной и клеточ-

ной мембран приводит к «раздеванию» нуклеокапсида, а выход из эндосомы блокируется, по-видимому, из-за соединения каррагинана с гликопротеином E вируса денге. Каррагинан оказывал очень слабое прямое вирулицидное действие и только в значительно более высоких концентрациях по сравнению с его противовирусной активностью. Инактивация вируса в 55,7% была установлена только при использовании полисахарида в концентрации 50 мкг/мл. Таким образом, по крайней мере, в клетках почек обезьян и печени человека остатки галактопиранозы в клеточной мембране, по-видимому, действуют как медиаторы для проникновения DENV 2, что является перспективной альтернативной мишенью для разработки лекарственных препаратов для терапии flavivirusных инфекций [31].

Противовирусная активность коммерческого каррагинана, полученного из водоросли *Meristiella gelidium*, в состав которого входил преимущественно йота каррагинан (88–90%), была исследована на двух линиях клеток — Vero и C6/36HT (линия клеток комаров) [90]. Каррагинан снижал выход DENV дозозависимо при значениях  $EC_{50}$  —  $4,6 \pm 0,6$  и  $0,93 \pm 0,05$  мкг/мл в клетках C6/36HT и Vero, соответственно. Эксперименты позволили авторам окончательно убедиться в том, что для йота-каррагинана ингибирование размножения DENV 2 в клетках комаров — переносчиков вируса денге — является постоянным свойством. Если на клетках Vero максимальный ингибирующий эффект полисахарида наблюдался в том случае, когда его добавляли вместе с вирусом в течение 1 ч после заражения клеток, на клетках комара такой эффект (ингибирование около 90%) происходил при добавлении его или вместе с вирусом или в любой момент после адсорбции в течение 8 ч. При этом показатели  $EC_{50}$  для клеток C6/36HT в 4,9–17,5 раза выше, чем для клеток Vero. Отсутствие способности каррагинана блокировать адсорбцию DENV 2 на клетках комаров авторы связывают с низким содержанием гепарансульфата на поверхности этих клеток, основывая HS-независимое действие полисахарида на клетки.

В те же годы галактаны из водоросли *G. turulosus* в качестве селективных ингибиторов DENV 2 (индекс селективности — 592–5263) были описаны С. А. Pujol и соавт. [91]. Галактаны нарушали связывание гликопротеина поверхности вирусной оболочки с рецепторами клеток. Однако ни один из галактанов не препятствовал проникновению DENV 2 в клетки, о чём свидетельствовало одинаковое число вирусных частиц в обработанных и необработанных галактанами клетках. Позже С. А. Pujol и соавт. [92] получили СПС из красных, бурых и зелёных водорослей и исследовали их противовирусную ак-



тивность по отношению к четырём серотипам DENV. Наиболее чувствительным к действию полисахаридов был DENV 2, при этом 50% ингибирующая концентрация находилась в диапазоне значений 0,12–20 мкг/мл. Противовирусная активность СПС зависела от содержания сульфатов, положения сульфатных групп, моносакхаридного состава и молекулярной массы полисахарида.

Как сообщают L. E. Piccini и соавт. [93],  $\lambda$ -каррагинан является мощным селективным ингибитором первичной инфекции вируса денге всех четырёх серотипов в миелоидных клетках человека K562 (хроническая миелоидная лейкемия) и U937 (моноклональный лейкоз). При самой высокой использованной концентрации продукция вируса снижалась более чем на 99%. Полисахарид не оказывал действия на жизнеспособность клеток до концентрации 1000 мкг/мл. Кроме того,  $\lambda$ -каррагинан был эффективен для блокирования антителозависимой инфекции, опосредованной Fc $\gamma$ -RII, которая играет основную роль в обострении болезни. Этот эффект наблюдался на обеих клеточных линиях, вызывая при этом 96–99% ингибирование продукции вируса клетками, содержащими иммунные комплексы вируса денге 2-го и 3-го вариантов. Эти авторы подтвердили результаты других учёных о том, что противовирусной мишенью  $\lambda$ -каррагинана в данном случае был ранний этап проникновения вируса в миелоидные клетки человека, в которых происходит вторичная репликация вируса при заболевании человека. Сильный ингибирующий эффект наблюдался, когда каррагинан присутствовал только во время адсорбции при 4°C или интернализации при 37°C. После интернализации вируса каррагинан не действовал. Эти результаты весьма перспективны, поскольку этот полисахарид способен блокировать DENV как при первичной, так и при антителозависимой инфекции миелоидных клеток человека.

Фукоиданы — сульфатированные полисахариды бурых водорослей тоже эффективно ингибировали инфекцию DENV 2 при предварительной обработке вируса [85, 94, 95]. Фукоидан избирательно подавлял вирус денге 2 (но не другие серотипы вируса) в клетках ВНК-21. IC<sub>50</sub> для фукоидана против DENV 2 составила 4,7 мкг/мл, в то время как для DENV — 1, 3 и 4 колебалась от 365 до более, чем 1000 мкг/мл.

Производное фукоидана из морской бурой водоросли *Cladosiphon ocaturanus*, в котором глюконовая кислота заменена глюкозой, не подавляло вирусную инфекцию; ингибирующую активность по отношению к вирусу денге 2 значительно ослабляло удаление сульфатных групп, что свидетельствовало о значении глюконовой кислоты и сульфатных групп в инги-

бирующей активности по отношению к вирусу денге. Частицы вируса связывались с оболочечным гликопротеином (EGP) на DENV 2. Авторы получили результаты антивирусного действия фукоидана на вирус денге в культуре клеток ВНК-21 и предположили, что аргинин-323 оказывает сильное влияние на взаимодействие между DENV 2 и фукоиданом.

Известно, что фукоиданы из многих видов бурых водорослей обладают антикоагулянтной активностью, что нежелательно для соединений, предлагаемых для разработки лекарственных препаратов против лихорадки денге. Однако оказалось возможным выделить из морских водорослей *Caulerpa cupressoides* полисахаридные фракции, не вызывающие геморрагического эффекта [38].

Перспективными в плане разработки анти-DENV-соединений из морских гидробионтов являются лектины красных водорослей. Так, Р. Е. Р. Fuentes и соавт. [96] для получения антивирусного соединения использовали красную водоросль *Hypnea cervicornis*. Водоросли из рода *Hypnea* вызывают большой интерес в настоящее время, т. к. являются источниками к- или l-каррагинана и противовоспалительных и антиноцептивных лектинов, как это описано L. Ding и соавт. [97]. Авторы получили фракцию F20/80 путём осаждения сульфатом аммония. Определение токсичности фракции позволило установить, что на культуре клеток Huh-7 (гепатокарцинома человека) CC<sub>50</sub> соединения составила 2401 мкг/мл, т.е. позволяла рассматривать полисахарид как антивирусное соединение. Далее определяли количество неструктурного секретируемого белка NS1 в супернатанте и содержание вирусного генома в клетках. Инфекция в клетках полностью не подавлялась. Однако исследуемые концентрации F20/80 снижали содержание NS1 в супернатанте на 42 и 43%, соответственно, и уменьшали количество вирусных копий DENV в обработанных соединением клетках: на 1,17 lg по сравнению с положительным контролем при использовании меньшей концентрации (4 мкг/мл) и на 1,01 lg при использовании дозы 8 мкг/мл. Таким образом, достаточно даже небольшой дозы F20/80, чтобы остановить проникновение вируса, во-первых, путём ингибирования прикрепления вируса за счёт GP и, во-вторых, путём связывания рецептора HS в клетках.

Участие лектина в противовирусном процессе подтверждает аффинность и высокий титр фракции в РГА. Тем более, что, как отмечают авторы, осаждение сульфатом аммония предполагает высокое содержание белка в полученном продукте. Возможно, на клетках, несущих только один рецептор, результаты получились ниже, чем это могло быть на других клеточных культурах. В

любом случае это очень интересное соединение, исследование антивирусных свойств которого должно быть продолжено.

3. Действие биологически активных веществ водорослей на вирусы-возбудители геморрагических лихорадок, относящихся к семейству *Filoviridae*.

Филовирусы относятся к BSL-4, т. е. к наиболее смертоносным заболеваниям человека. Природный резервуар филовирусов — рукокрылые (*Chiroptera*), которые переносят инфекцию интранзонтно, но выделяют возбудитель ГЛ со слюной, мочой, фекалиями. Для человека смертельную опасность представляют эболавирусы Заир, Судан, леса Тай, Бундибуге и марбургвирусы озера Виктория. Высокая вирулентность этих вирусов и отсутствие эффективных методов лечения создают постоянную угрозу для здоровья населения и диктуют необходимость поиска малотоксичных или совсем нетоксичных соединений, полученных из природных объектов. Филовирусы вызывают тяжёлую геморрагическую лихорадку, сопровождающуюся высокой летальностью (вплоть до 90–100%) [4, 5, 7, 18, 20].

Все представители *Filoviridae* содержат трансмембранный гликопротеин (GP), гликозилированный по N- и O- типу [5]. Гликопротеин образует тримерные шипы, находящиеся на поверхности вириона.

Гликопротеин (GP) играет центральную роль в слиянии и связывании с поверхностью клетки и является ключевой мишенью для фармакологического вмешательства лектинов в процесс проникновения вируса, где очень перспективными являются эти соединения [46, 98, 99]. Гриффитсин, например, считается самым сильнодействующим ингибитором проникновения ВИЧ на сегодняшний день [100]. Гриффитсин эффективен при концентрациях в пикомолярном диапазоне, безопасен для здоровых клеток [101] и проявляет высокую противовирусную активность против различных оболочечных вирусов [102, 103]. Он взаимодействует с концевыми остатками маннозы структур Man5-9 G1NAc2, связанных с аспарагином (N), в составе филовирусных GP.

L. G. Barrientes и соавт. [104] исследовали противовирусное действие по отношению к эболавирусу Заир циановирина-N (CVN), лектина с молекулярной массой 11 кДа из цианобактерий *Nostoc ellipsosporum*. После добавления лектина в инфицированную вирусом культуру клеток значительно ингибировалось цитопатогенное действие возбудителя. Механизм активности циановирина-N авторы объясняют его способностью связываться с олигосахаридами оболочки вируса, богатыми маннозой. В экспериментах *in vivo* CVN достигал системного кровотока и увеличивал продолжительность жизни мышей, инфициро-

ванных эболавирусом Заир как при подкожном введении, так и в виде прививок смесью лектина и белка. 90% мышей, получавших в день 30 мг/кг CV-N, начиная со дня инокуляции вируса, выжили. Меньшие дозы лектина (20 или 10 мг/кг в день) обуславливали выживаемость, соответственно, 80 и 90% животных. Несмотря на высокую степень защиты мышей от гибели при EBOV-инфекции, отрицательным моментом его применения является его кратковременное нахождение в кровотоке, что требовало введения препарата через каждые 6 ч.

При взаимодействии CVN с разными оболочечными вирусами отмечали тот факт, что противовирусная активность лектина была обусловлена действием на углеводные фрагменты поверхностных вирусных белков [105]. CVN имеет высокое сродство к эпитопу Man1r2Man в форме диманнозида (Man1r2Man) и линейного триманнозида (Man1r2Man1r2Man), расположенных на концевых ответвлениях N-связанных олигосахаридов с высоким содержанием маннозы (Man-8 и Man-9) на поверхностных гликопротеинах вируса.

L. G. Barrientes и соавт. [106] с помощью рекомбинантной системы — псевдочастиц, несущих на своей поверхности GP эболавируса Заир и марбургвируса озера Виктория — исследовали механизм ингибирования циановирином-N проникновения их в клетки HeLa. Для этого вирусы обрабатывали циановирином-N в различных концентрациях в течение 20 мин при комнатной температуре и затем добавляли в монослой клеток HeLa.

Клетки Jurkat, экспрессирующие DC-SIGN (CD209, молекула межклеточной адгезии дендритных клеток-трансмембранный лектин С-типа II с М.м. 44 кДа, содержащий 1 домен распознавания углеводов — CRD), также инфицировали этими рекомбинантными вирусами. Инфекционность измеряли через 48 ч после заражения. EC<sub>50</sub> для CN-V при исследовании живого вируса находилась в диапазоне ~80–100 нмоль/л. Эксперименты подтвердили, что противовирусное действие лектина связано с его взаимодействием с углеводными фрагментами GP вируса. Исследования с MbgV GP показали, что в отношении этого объекта циановирин более эффективен (EC<sub>50</sub> ~6–25 нмоль/л), чем в отношении EboV-Z GP (EC<sub>50</sub> ~40–60 нмоль/л). Авторы связывают этот факт с большим количеством Man-8 и Man-9 на GP марбургвируса, чем на GP эболавируса Заир (эти гликопротеины имеют 24 и 17 сайтов N-гликозилирования, соответственно).

На клеточной культуре Jurkat продемонстрировано, что CN-V препятствует взаимодействию между DC-SIGN и эболавируса Заир (EC<sub>50</sub> ~40–110 нмоль/л). Таким образом, CN-V и DC-SIGN могут конкурировать за связывание GP ви-

руса, предположительно посредством стерической интерференции.

Лектином с высокой противовирусной активностью является также сцитовирин (SVN) — мономерный белок М.м. 9,7 кДа из цианобактерии *Scytonema varius*. Он имеет доказанную эффективность против эболавируса Судан [99]. Механизм противовирусной активности сцитовирина заключается в том, что лектин с высоким сродством связывается с богатыми маннозой олигосахаридами на оболочечном гликопротеине вирусов, в том числе эболавируса Заир, блокируя его проникновение в клетки-мишени. В клеточной культуре Vero-6 лектин в концентрации (EC<sub>50</sub>) 50 нМ с 50% эффектом ингибировал репликацию эболавируса Заир. С такими же показателями EC<sub>50</sub> он был активен против марбургвируса озера Виктория. Через 45 мин после подкожного введения мышам лектин обнаруживался на пиковом уровне в плазме (100 нМ), однако через 4 ч исчезал из кровотока. В том случае, когда сцитовирин SVN в дозе 30 мг/кг/день вводили подкожно мышам, инфицированным эболавирусом Заир, каждые 6 ч, начиная за день до заражения, живыми оставались 9 из 10 животных. Все инфицированные нелеченные мыши погибали. Если лечение начинали через час или через сутки после заражения, выживали 70–90% животных. У леченных лектином мышей наблюдались незначительные патоморфологические изменения в печени и лёгких, в то время как у нелеченных животных имели место обширный некроз и воспаление, регистрировалось большое количество вирусного антигена в гепатоцитах и клетках Купфера.

Несмотря на высокую активность сцитовирина и незначительную токсичность, короткий период полувыведения соединения не позволяет пока надеяться на его разработку в качестве лекарства в ближайшее время. Однако это можно в дальнейшем преодолеть путём различных модификаций для увеличения периода полувыведения в сыворотке [44, 107]. При этом лектин может использоваться как для профилактики, так и для терапии лихорадки Эбола.

## Заключение

Исследования *in vivo* и *in vitro* антивирусных свойств БАВ из водорослей и цианобактерий показали высокий потенциал этих соединений в качестве кандидатов для создания лекарств, парафармацевтиков и продуктов функционального питания для лечения и профилактики различных вирусных заболеваний, в том числе, геморрагических лихорадок.

До сих пор усилия по разработке эффективных препаратов против возбудителей ГЛ не увенчались успехом, а лечение обычно включает па-

тогенетическую, дезинтоксикационную, симптоматическую терапию и дыхательную поддержку. Поиск этиотропных препаратов в настоящее время является одной из важнейших задач современной вирусологии. В своём обзоре мы попытались обратить внимание исследователей на некоторые природные соединения с доказанной противовирусной эффективностью, чтобы в дальнейшем расширить ассортимент доступных противовирусных препаратов, которые могли бы заменить такие синтетические лекарства как, например, рибавирин, который не всегда достаточно эффективен при ГЛ и может давать побочные эффекты.

Относительно управляемой при помощи вакцины является только жёлтая лихорадка. При некоторых заболеваниях, в частности, при лихорадке денге, разработка вакцины затруднена антителизависимым усиливающим эффектом, в связи с чем появление новых препаратов на основе природных веществ против этой болезни было бы удачным альтернативным решением [108].

Соединения из водорослей, в частности СПС, являются альтернативой синтетическим лекарствам благодаря своей низкой токсичности (некоторые из них вообще нетоксичны в дозах, обладающих высоким противовирусным эффектом), противовирусному действию и редким минимальным побочным эффектам.

Благодаря разнообразию биоактивных молекул в этих объектах и разным механизмам действия, они инактивируют вирусы и блокируют их эффекты, не вызывая формирования резистентности или селекции этих микроорганизмов [25]. Кроме сильного противовирусного действия СПС и лектины обладают противовоспалительными, иммуномодулирующими, антиоксидантными и антиоксидантными свойствами, что является чрезвычайно важным для купирования многочисленных нарушений в организме, обусловленных возбудителями геморрагических лихорадок.

Что касается лектинов, то наиболее безопасным является гриффитсин пока только в составе местного применения. Остальные лектины требуют дальнейшего глубокого изучения в плане митогенного действия. Весьма перспективны эти соединения для профилактики и лечения лихорадок Эбола и Марбург как в виде индивидуальных средств, так и в комплексе с антивирусной терапией.

Сульфатированные полисахариды и лектины обладают противовирусным действием, действуя в самом начале вирусной инфекции, препятствуя адсорбции и интернализации вируса [105]. При этом механизм действия этих соединений в основном отличается от применяемых в клинической практике противовирусных препаратов [109, 110].

Оказалось возможным выделить из морских водорослей фракции сульфатированных полисахаридов, не вызывающие геморрагического эффекта [38]. Например, получен сульфатированный полисахарид (фракция Сс-SP1) из зелёной водоросли *Caulerpa cypressoides*, которая характеризовалась отсутствием геморрагического эффекта и не оказывала цитотоксического действия на клетки Vero и C6/36HT при  $CC_{50}$  до 1000 мкг/мл.

К настоящему времени хорошо обосновано действие СПС и лектинов водорослей, а также лектинов цианобактерий для ингибирования проникновения в клетки и репликации хантавирусов [61, 65, 66, 110], флавивирусов [89, 95, 96], филовирусов [99, 106]. Относительно аренавирусов можно предположить, что, например, гликопротеин вируса Ласса не способен связывать гепарин [111], т. е. в этом случае имеет место другой механизм действия, и СПС, по-видимому, будут не эффективны для ингибирования возбудителя.

Необходимо заметить, что в настоящее время внимание учёных направлено в большей степени на SARS-CoV-19, герпесвирусные инфекции и ВИЧ. Геморрагическим лихорадкам уделяется значительно меньше внимания. Однако для развивающихся стран эти болезни, а также отсутствие средств для их эффективного лечения представляет большую проблему. В связи с этим мы обращаем внимание специалистов, занимающихся поиском новых объектов для разработки лекарств среди природных соединений, на реальную возможность получения средств с высокой противовирусной активностью, слаботоксичных или нетоксичных вовсе, растворимых, легко выводящихся из организма, обладающих минимумом побочных эффектов, многие из которых могут достаточно недорого и легко производиться.

Описанные в данном обзоре соединения интересны ещё и тем, что они, являясь ингибиторами проникновения вирусов, обладают способностью усиливать иммунный ответ хозяина,

противовоспалительными, антиоксидантными и антитоксическими свойствами.

Однако есть ряд причин, замедляющих и затрудняющих пока ещё разработку лекарственных препаратов на основе БАВ из морских гидробионтов. Во-первых, большинство положительных результатов было получено с помощью биохимических и клеточных исследований, и лишь ограниченное число результатов получено в экспериментах на лабораторных животных *in vivo*. Ближе всего к внедрению в практику находится гриффитсин, который пока проходит клинические испытания при других инфекциях [66].

Подготовка к созданию лекарственных форм на основе природных соединений требует получения структурно охарактеризованных стандартных соединений, а также всесторонних доклинических исследований на разных видах лабораторных животных. Большой интерес представляет применение природных СПС и лектинов вместе с официальными лекарственными препаратами или другими соединениями из морских гидробионтов. Рассмотрение всех вопросов в комплексе, даст возможность выяснить, можно ли считать СПС и лектины водорослей и цианобактерий альтернативной терапевтической стратегией для дополнения или для замены существующих традиционных подходов к лечению и профилактике геморрагических лихорадок. Соединения, полученные из морских гидробионтов, представляют множество возможностей для создания новых терапевтических средств и эффективных нутрицевтиков. Смещение акцента с синтетически разработанных лекарств на природные, в частности, полученные из морских водорослей, обладающие универсальностью действия и значительным экономическим потенциалом, открывает возможности получения инновационных результатов в различных областях — медицине, фармации, пищевой промышленности.

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

## Литература/References

1. *Аристова В.А., Колобухина Л.В., Щелканов М.Ю., Львов Д.К.* Дифференциация генетических вариантов вирусов Крымской-Конго геморрагической лихорадки. Вопросы вирусологии. 2011; 46 (4): 7–15. [Aristova V.A., Kolobukhina L.V., Shchelkanov M.Jyu., Lvov D.K. Diferentsiatsiya genicheskikh variantov virusov Krymskoj-Kongo gemorragicheskoi likhoradki. Voprosy Virusologii. 2011; 46 (4): 7–15. (in Russian)]
2. *Joniec J., Kolodziej M., Bartoszcz M. et al.* Res. On prevention and treatment of hemorrhagic fever. Ann Agric Environ Med. 2012; 19 (2): 165–171.
3. *Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovskiy S.V., Deryabin P.G.* Zoonotic viruses of Northern Eurasia. Taxonomy and Ecology. Academic Press, 2015; 452.
4. *Щелканов М.Ю., Дедков В.Г., Галкина И.В. и др.* Районирование африканской природноочаговой провинции в отношении филовирусных лихорадок. Вестник РАМН. 2017; 72 (5): 325–335. doi.org/10.15690/vramn804. [Shchelkanov M.Jyu., Dedkov V.G., Galkina I.V. i dr. Rajonirovanie afrikanской prirodnoochagovoj provintsii v otnoshenii filovirusnykh likhoradok. Vestnik RAMN. 2017; 72 (5): 325–335. doi.org/10.15690/vramn804. (in Russian)]
5. Руководство по вирусологии: вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д.К.Львова; М.: Медицинское информационное агентство, 2013; 1197. [Rukovodstvo po virusologii: virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh. Pod red. D.K.L'vova; Moscow: Meditsinskoe Informatsionnoe Agentstvo, 2013; 1197. (in Russian)]
6. *Anishchenko M., Щелканов М.Ю., Алексеев В.В. и др.* Молекулярные маркеры патогенности вируса Западного Нила. Вопросы вирусологии. 2010; 55 (1): 4–10. [Anishchenko M., Shchelkanov M.Jyu., Alekseev V.V. i dr. Molekulyarnye markery patogennosti virusa Zapadnogo Nila. Voprosy Virusologii. 2010; 55 (1): 4–10. (in Russian)]
7. *Щелканов М.Ю., Магассуба Н., Дедков В.Г. и др.* Природный резервуар филовирусов и типы связанных с ними эпидемических вспышек на территории Африки. Вестник РАМН. 2017; 72 (2): 112–119. doi: 10.15690/vramn803. [Shchelkanov M.Jyu., Magassuba N., Dedkov V.G. i dr. Prirodnyj rezervuar filovirusov i tipy svyazannykh s nimi epidemicheskikh vspyshek na territorii Afriki. Vestnik RAMN. 2017; 72 (2): 112–119. doi: 10.15690/vramn803. (in Russian)]
8. *Mariappan V., Pratheesh P., Shanmugam L. et al.* Viral hemorrhagic fever: molecular pathogenesis and current trends of disease management — an update. Current Research in Virological Science. 2021; 2: 100009. doi: 10.1016/j.crviro.2021.100009.

9. Lvov D.K., Butenko A.M., Gromashevsky V.L. et al. West Nile and other emerging-reemerging viruses in Russia. NATO Science Series. Series I. Life and Behavior Sciences. Emerging Biological Threat. V. 370. Amsterdam: IOS Press, 2005; 33–42.
10. Онищенко Г.Г., Топорков В.В., Карнаухова И.Г., Удовиченко С.К. Эпидемия лихорадки Эбола в Западной Африке как чрезвычайная ситуация в области биологической безопасности международного значения. Инфекционные болезни. Новости. Мнения. Обучение. 2016; 1: 61–72. [Onishchenko G.G., Toporkov V.V., Karnaukhov I.G., Udovichenko S.K. Epidemiya likhoradki Ebola v Zapadnoj Afrike kak chrezvychajnaya situatsiya v oblasti biologicheskoy bezopasnosti mezhdunarodnogo znacheniya. Infektsionnyye bolezni. Novosti. Mneniya. Obuchenie. 2016; 1: 61–72. (in Russian)]
11. Parvez M.K., Parveen S. Evolution and emergence of pathogenic viruses: past, present and future. Intervirology. 2017; 60: 1–7. doi: 10.1159/000478729.
12. Львов Д.Н., Щелканов М.Ю., Джаркенов А.Ф. и др. Популяционные взаимодействия вируса Западного Нила (*Flaviviridae*, *Flavivirus*) с членистоногими переносчиками и позвоночными животными в среднем и нижнем поясах дельты Волги (2001–2006 гг.). Вопросы вирусологии. 2009; 2: 36–43. [Lvov D.N., Shchelkanov M.Yu., Dzharke-nov A.F. i dr. Populyatsionnye vzaimodejstviya virusa Zapadnogo Nila (*Flaviviridae*, *Flavivirus*) s chlenistonogimi perenoschikami i pozvo-nochnymi zhivotnymi v srednem i nizhnem pooyasakh del'ty Volgi (2001–2006 gg.) Voprosy Virusologii. 2009; 2: 36–43. (in Russian)]
13. Sikkema R.S., Koopmans M.P.G. Preparing for emerging zoonotic viruses. Encyclopedia of Virology. 2021: 256–266. doi: 10.1016/B978-0-12-814515-9.00150-8.
14. Hassel J.M., Begon M., Ward M.J., Fevre E.M. Urbanization and disease emergence: dynamics at the wildlife-livestock-human interface. Trends Ecol Evol. 2017; 32: 55–67. doi: 10.1016/j.tree.2016.09.012
15. Терновой В.А., Щелканов М.Ю., Шестопалов А.М. и др. Выявление вируса Западного Нила в птицах на территории Барабинской и Ку-лундинской низменностей (Западно-Сибирский пролетный путь) в летне-осенний период 2002 г. Вопросы вирусологии 2004; 49 (3): 52–56. [Ternovoj V.A., Shchelkanov M.Yu., Shestopalov A.M. i dr. Vyvav-lenie virusa Zapadnogo Nila v ptitsakh na territorii Barabinskoy i Kulun-dinskoy nizmennostej (Zapadno-Sibirskij proletnyj put') v letne-osennij period 2002 g. Voprosy Virusologii 2004; 49 (3): 52–56. (in Russian)]
16. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В. и др. Серологический мониторинг арбовирусных инфекций в дельте р. Кубань (данные 2006–2007 гг.). Вопросы вирусологии. 2008; 53 (4): 30–35. [Lvov D. K., Shchelkanov M. Yu., Kolobukhina L. V. i dr. Serologicheskij monitoring arbovirusnykh infektsij v del'te r. Kuban' (dannye 2006–2007 gg.) Voprosy Virusologii. 2008; 53 (4): 30–35. (in Russian)]
17. Mirsaedi M., Motaahari H., Khamesi M.T. et al. Climate change and respi-ratory infections. Ann Am Thorac Soc. 2016; 13: 1223–1230. doi: 10.1513/AnnalsATS.201511-729PS. doi: 10.1513/AnnalsATS.201511-729PS.
18. Щелканов М.Ю., Зюманигуй Н., Воиро М.У., Малеев В.В. Пять мифов о лихорадке Эбола: где кончается вымысел? РМЖ Медицинское обо-зрение. 2015; 2: 58–66. [Shchelkanov M.Yu., Zoumanigui N., Boiro M.Y., Maleev V.V. Pyat' mifov o likhoradke Ebola: gde konchaetsya vymysel? Russkij Meditsinskij Zhurnal. Meditsinskoe Obozrenie. 2015; 2: 58–66. (in Russian)]
19. Rijal P., Elias S.C., Machado S.R. et al. Therapeutic monoclonal antibodies for Ebola virus infection derived from vaccinated humans. Cell. Reports. 2019; 27(1): 172–186.e7. doi: 10.1016/j.celrep.2019.03.020.
20. Щелканов М.Ю., Магассоуба Н.Ф., Воиро М.У., Малеев В.В. Причины развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке. Lvrach. 2014; (11): 30–36. <http://www.lvrach.ru/2014/11/15436092/> [Shchelka-nov M.Yu., Zoumanigui N., Boiro M.Y., Maleev V.V. Pyat' mifov o likho-radke Ebola: gde konchaetsya vymysel? RMZh Meditsinskoe obozrenie. 2015; 2: 58–66. <http://www.lvrach.ru/2014/11/15436092/> (in Russian)]
21. Liu J., Pei T., Mu J. et al. Systems pharmacology uncovers the multiple mechanisms of Xijiao Dihuang Decoction for the treatment of viral hem-orrhagic fever. Res. Article. 2016; 2016: 9025036. doi: 10.1155/2016/9025036.
22. Reis J.G., Cadamuro R.D., Cabral A.C. et al. Broad spectrum algae com-pounds against viruses. Front Microbiol. 2022; 12: 809296. doi: 10.3389/fmicb.2021.809296.
23. Alam M. A., Parra-Saldivar R., Bilal M. et al. Algae-derived bioactive molecules for the potential treatment of SARS-CoV-2. Molecules. 2021; 26: 2134. doi: 10.3390/molecules26082134.
24. Reynolds D., Huesemann M., Edmundson S. et al. Viral inhibitors derived from macroalgae, microalgae and cyanobacteria: a review of antiviral throughout pathogenesis. Algal Res. 2021; 57: 102331. doi: 10.1016/j.algal.2021.102331.
25. Hamed I., Ozogul F., Ozogul Y., Regenstein J.M. Marine bioactive com-pounds and their health benefits: a review. Compr Rev Food Sci. 2015; 14: 446–465. doi: 10.1111/1541-4337.12136.
26. Zhong H., Gao X., Cheng C. et al. The structural characteristics of seaweed polysaccharides and their application in gel drug delivery systems. Mar Drugs. 2020; 18: 658. doi: 10.3390/md18120658.
27. Valcarcel J., Nova-Carballal R., Perez-Martin R.I. et al. Glycosaminoglycans from marine sources as therapeutic agents. Biotechnology Ad-vances. 2017; 35 (1): 711–725. doi: 10.1016/j.biotechadv.2017.07.008.
28. Arima K., Fujita H., Toita R. et al. Amounts and compositional analysis of glycosaminoglycans in the tissue of fish. Carbohydrate Res. 2013; 336: 25–32. doi: 10.1016/j.carres.2012.11.010.
29. Zahra Z., Choo D.H., Lee H., Parveen A. Cyanobacteria: review of current potentials and applications. Environments. 2020; 7 (2): 13. doi: 10.3390/environments7020013
30. Nandagopal P., Steven A.N., Chan L-W. et al. Bioactive metabolites pro-duced by cyanobacteria for growth adaptation and their pharmacological properties. Biology. 2021; 10 (10): 1061. doi: 10.3390/biology10101061.
31. Wang W., Wang S-X., Guan H.-S. The antiviral activities and mechanisms of marine polysaccharides: an overview. Mar Drugs. 2012; 10 (12): 2795–2816. doi: 10.3390/md10122795.
32. Alvarez-Vinas M., Souto S., Florez-Fernandez N. et al. Antiviral activity of carrageenans and processing implications. Mar Drugs. 2021; 19: 437. doi: 10.3390/md19080437.
33. Asker M.S., Kady E.M., Mahmoud M.G. New trends of the polysaccharides as a drug. World J Agr Soil Sci. 2019; 3 (5): 000572. doi: 10.33552/WJASS.2019.
34. Shi D., Sheng A., Chi L. Glycosaminoglycan-protein interactions and their roles in human disease. Front Mol Biosci. 2021 Mar 9; 8: 639666. doi: 10.3389/fmolb.2021]
35. Hans N., Malik A., Naik S. Antiviral activity of sulfated polysaccharides from marine algae and its application in combating COVID-19: mini review. Bioessour. Technol Rep. 2021; 13: 100623. doi:10.1016/j.biteb.2020.100623.
36. Claus-Desbonnet H., Nikly E., Nalbantova V. et al. Polysaccharides and their derivatives as potential antiviral molecules. Viruses. 2022; 14: 426. doi: 10.3390/v14020426.
37. Allen M.M.E., Schols D. Dengue virus entry as target for antiviral therapy. J Trop Med. 2012; 628475. doi: 10.1155/2012/628475.
38. Rodrigues J.A.G., Eloy Y.R.G., Oliveira E. de Sousa et al. An anti-dengue and antihyperglycemic polysulfated fraction isolated from the green seaweed *Caulerpa cupressoides* inhibits thrombin generation *in vitro*. Acta Scien-tiarum. Biological Sciences. 2017; 3 (2): 149–159. doi: 10.4025actascibi-olsci.v39i2.28081.
39. Kim S.Y., Li B., Linhardt R.J. Pathogenesis and inhibition of flaviviruses from a carbohydrate perspective. Pharmaceuticals. 2017; 10 (2): 44. doi: 10.3390/ph10020044.
40. Fernandez-Romero J.A., Paglini M.G., Priano C. et al. Algal and cyano-bacterial lectins and their antimicrobial properties. Mar Drugs. 2021; 19: 687. doi: 10.3390/md19120687.
41. Huskens D., Schols D. Algal lectins as potential HIV microbicide candi-dates. Mar Drugs. 2012; 10: 1476–1497. doi: 10.3390/md10071476.
42. Singh R.S., Walia A.K. Lectins from red algae and their biomedical poten-tial. J Appl Phycol. 2018; 30: 1833–1858. doi: 10.1007/s10811-017-1338-5.
43. Abel J., Romero J.A.E., Paglini M.Q. et al. Algal and cyanobacterial lectins and their antimicrobial properties. Mar Drugs. 2021; 19: 687. doi: 10.3390/md19120687.
44. Mitchell C.A., Ramessar K., O'Keefe B.R. Antiviral lectins: selective inhib-itors of viral entry. Antiviral Res. 2017; 142: 37–54. doi:10.1016/j.antivi-ral.2017.03.007.
45. Barre A., Simplicien M., Benoist H. et al. Mannose-specific lectins from marine algae: diverse structural scaffolds associated to common virucidal and anti-cancer properties. Mar Drugs. 2019; 17 (8): 440. doi: 10.3390/md17080440.
46. Romero F.J.A., Paglini M.G., Priano C. et al. Algal and cyanobacterial lec-tins and their antimicrobial properties. Mar Drugs. 2021; 19: 687; doi: 10.3390/md19120687.
47. Barton C., Kouocam J.C., Lasnik A.B. et al. Activity of and effect of sub-cutaneous treatment with the broad-spectrum antiviral lectin griffitsin in two laboratory rodent models. Antimicrob Agents Chemother. 2014; 58 (1): 120–127. doi: 10.1128/AAC.01407-13.
48. Lusvarghi S., Bewley C. Griffitsin: an antiviral lectin with outstanding therapeutic potential. Viruses. 2016; 8 (10): 296. doi: 10.3390/v8100296.
49. Lee C. Griffitsin, a highly potent broad-spectrum antiviral lectin from red algae: from discovery to clinical application. Mar Drugs. 2019; 17 (10): 567. doi: 10.3390/md17100567.
50. Singh R.S., Thakur S.R., Bansal P. Algal lectins as promising biomolecules for biomedical research. Crit Rev Microbiol. 2013; 1–12. Early online4.
51. Ryu W-S. Molecular virology of human. Pathogenic Viruses. 2017; 31–45. doi: 10.1016/B978-0-12-800838-6.00003-5.
52. Bianculli R.H., Mase J.D., Schulz M.D. Antiviral polymers: past approaches and future possibilities. Macromolecules. 2020; 53: 9158–9186. doi: 10.1021/acs.macromol.0c01273.
53. Bi X., Yi S., Zhang A. et al. Epidemiology of hemorrhagic fever with renal syndrome in Taian area. Sci Rep. 2021; 11 (1): 11596. doi: 10.1038/s41598-021-91029-1.
54. Noack D., Goeijenbier M., Reusken C.B.E.M. et al. Orthohantavirus patho-genesis and cell tropism. Front Cell Infect Microbiol. 2020; 10: 399. doi:10.3389/fcimb.2020.00399.
55. Lupusoru G., Lupusoru M., Allincai I. et al. Hemorrhagic fever with renal syndrome: a pathology in whose diagnosis kidney biopsy plays a major role. Exp Ther Med. 2021; 22 (3): 984. doi.org/10.3892/etm.2021.10416.

56. Mir S. Hantavirus induced kidney diseases. *Front Med (Lausanne)*. 2022; 8: 795340. doi: 10.3389/fmed.2021.795340.
57. Liang W, Gu X, Li X. et al. Mapping the epidemic changes and risks of hemorrhagic fever with renal syndrome in Shaanxi Province, China, 2005–2016. *Sci Rep*. 2018; 8: 749. doi: 10.1038/s41598-017-18819-4.
58. Yashina L.N., Smetannikova N.A., Kushnareva T.V. et al. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Vladivostok city, Russia. *Front. Publ Health*. 2021; 9: 620279. doi: 10.3389/fpubh.2021.620279.
59. Иванова А.В., Попов Н.В., Карнаухова И.Г., Чумачкова Е.А. Хантавирусные болезни: обзор эпидемиологической ситуации и эпидемиологических рисков в регионах мира. Проблемы особоопасных инфекций. 2021; 1: 23–31. doi: 10.21055/0370-1069-2021-1-23-31. [Ivanova A.V., Popov N.V., Karnaukhov I.G., Chumachkova E.A. Khantavirusnye bolezni: obzor epidemiologicheskoy situatsii i epidemiologicheskikh riskov v regionakh mira. Problemy Osoboopasnykh Infektsij. 2021; 1: 23–31. doi: 10.21055/0370-1069-2021-1-23-31. (in Russian)]
60. Mayor J., Engler O., Rothenberger S. Antiviral efficacy of ribavirin and fapiravir against hantaan virus. *Microorganisms*. 2021; 9 (6): 1306. doi: 10.3390/microorganisms9061306.
61. Макаренкова И.Д. Молекулярно-клеточные механизмы активации врожденного иммунитета сульфатированными полисахаридами бурых водорослей. Дисс. ... докт. мед. наук. М. 2013; 231. [Makarenkova I.D. Molekulyarno-kletochnye mekhanizmy aktivatsii vrozhdenного immuniteta sul'fatirovannymi polisakharidami burykh vodoroslej. Diss. ... dokt. med. nauk. Moscow: 2013; 231. (in Russian)]
62. Cifuentes-Munoz N., Salazar-Quiroz N., Tishler N.D. Hantavirus Gn and Gc envelope glycoproteins: key structural units for virus cell entry and virus assembly. *Viruses*. 2014; 6 (4): 1801–1822. doi: 10.3390/v6041801.
63. Mittler E., Dieterle M.E., Kleinfelder L.M. et al. Hantavirus entry: perspectives and recent advances. *Adv Virus Res*. 2019; 104: 185–224. doi: 10.1016/bs.aivir.2019.07.002.
64. Dietele M.E., Sola-Riera C., Ye C. et al. Genetic depletion studies inform receptor usage by virulent hantaviruses in human endothelial cells. *eLife*. 2021; 10: e69708. doi: 10.7554/eLife.69708.
65. Krylova N.V., Silchenko A., Pott A.B. et al. In vitro anti-orthohantavirus activity of the high- and low-molecular-weight fractions of fucoidan from the brown alga *Fucus evanescens*. *Mar Drugs*. 2021; 19 (10): 577. doi: 10.3390/md19100577.
66. Shrivastava-Ranjan P., Lo M.K., Chatterjee P. et al. Hantavirus infection is inhibited by griffitsin in cell culture. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020; 10: 561502. doi: 10.3389/fcimb.2020.561502.
67. Lo Y-L., Liou G-G., Lyu J-H. et al. Dengue virus infection is through a cooperative interaction between a mannose receptor and CLEC5A on macrophage as a multivalent hetero-complex. *PLoS ONE*. 2016; 11 (11): e0166474. doi: 10.1371/journal.pone.0166474.
68. Goma H., Elshoubaky G.A. Antiviral activity of sulfated polysaccharides carrageenan from some marine seaweeds. *Int J Curr Pharm Res Rev*. 2015; 7 (1): 34–42.
69. Hasan M.J., Tabassum T., Sharif M. et al. Comparison of clinical manifestation of dengue fever in Bangladesh: an observation over a decade. *BMC Infect Dis*. 2021, 21 (1): 1113. doi: 10.1186/s12879-021-06788-z.
70. Soneja S., Tsarouchi G., Lumbroso D. et al. A review of dengue's historical and future health risk from a changing climate. *Curr Envir Health Rpt*. 2021; 8: 245–265. doi: 10.1007/s40572-021-00322-8.
71. Murugesan A., Manoharan M. Emerging and reemerging viral pathogens. Chapter 16 — Dengue virus. 2020; 281–359. doi: 10.1016/B978-0-12-819400-3.00016-8.
72. Cagno V., Tseligka E.D., Jones S.T., Tapparel C. Heparan sulfate proteoglycans and viral attachment: true receptors or adaptation Bias?. *Viruses*. 2019; 11 (7): 596. doi: 10.3390/v11070596.
73. Liu P., Ridilla M., Patel P. et al. Beyond attachment: roles of DC-SIGN in dengue virus infection. *Traffic*. 2017; 18 (4): 218–231. doi: 10.1111/tra.12469.
74. Sung P-S., Chang W.C., Hsieh S-L. CLEC5A: a promiscuous pattern recognition receptor to microbes and beyond. *Lectin in Host Defense against Microbial Infections*. 2020; 1204: 5773. doi: 10.1007/978-981-15-1580-4\_3.
75. Songprakhon P., Limjindaporn T., Perng G.C. et al. Human glucose-regulated protein 78 modulates intracellular production and secretion of nonstructural protein 1 of dengue virus. *J Gen Virol*. 2018; 99 (10): 1391–1406. doi: 10.1099/jgv.0.001134.
76. Aguilar-Briseno J.A., Upasani V., Bram M. et al. TLR2 on blood monocytes senses dengue virus infection and its expression correlates with disease pathogenesis. *Nat Commun*. 2020; 11: 3177. doi: 10.1038/s41467-020-16849-7.
77. Zaitseva E., Yang S.T., Melikov K. et al. Virus ensures its fusion in late endosomes using compartment-specific lipids. *PLoS Pathog*. 2010; 6 (10): e1001131. doi: 10.1371/journal.ppat.1001131.
78. Sreanong P., Mongkolsapaya J., Yacoub S., Roberts C. New insight into the immunopathology and control of dengue virus infection. *Nat Rev Immunol*. 2015; 15 (12): 745–759. doi: 10.1038/nri3916.
79. Acosta E.G., Bartenschlager R., Baumert T., Schuster C. The quest for host targets to combat dengue virus infections. *Curr Opin Virol*. 2016; 20: 47–54. doi: 10.1016/j.coviro.2016.09.003.
80. Balsitis S.J., Coloma J., Castro G. et al. Tropism of dengue virus in mice and humans defined by viral nonstructural protein 3-specific immunostaining. *Am J Trop Med Hyg*. 2009; 80 (3): 416–424.
81. Begum F., Das S., Mukherju D. et al. Insight into the tropism of dengue virus in humans. *Viruses*. 2019; 11 (2): 1136. doi: 10.3390/v11121136.
82. Roy S.K., Bhattacharjee S. Dengue virus: epidemiology, biology and disease aetiology. *Can J Microbiol*. 2021; 67 (10): 687–702. doi: 10.1139/cjm-2020-0572.
83. Nedjadi T., El-Kafrawy S., Sohrab S.S. et al. Tackling dengue fever: current status and challenges. *Virol J*. 2015; 12: 212. doi: 10.1186/s12985-015-0444-8.
84. Lopes J.L., Quinteiro V.S.T., Wouk J. et al. Sulfonated and carboxymethylated  $\beta$ -glucan derivatives with inhibitory activity against Herpes and Dengue viruses. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (20): 11013. doi: 10.3390/jms22011013.
85. Koishi A.C., Zanello P.R., Bianco E.M. et al. Screening of Dengue virus antiviral activity of marine seaweeds by an in situ enzyme-linked immunosorbent assay. *PLoS ONE*. 2012; 7 (12): e51089. doi: 10.1371/journal.pone.0051089.
86. Trost B., Smit J.M. Recent advances in antiviral drug development towards dengue virus. *Curr Opin Virol*. 2020; 43: 9–21. doi: 10.1016/j.coviro.2020.07.009.
87. Talarico L.B., Pujol C.A., Zibetti R.G.M. et al. The antiviral activity of sulfated polysaccharides against dengue virus is dependent on virus serotype and host cell. *Antiviral Res*. 2005; 66 (2–3): 103–110. doi: 10.1016/j.antiviral.2005.02.001.
88. Talarico L.B., Damonte E.B. Interference in dengue virus adsorption and coating by carrageenans. *Virology*. 2007; 363 (2): 473–485. doi: 10.1016/j.virol.2007.01.043.
89. Talarico L.B., Noseda M.D., Ducatti D.R.B. et al. Differential inhibition of dengue virus infection in mammalian and mosquito cells by iota-carrageenan. *J Gen Virol*. 2011; 92: 1332–1342. doi: 10.1099/vir.0028522-0.
90. Wikan N., Kuadkitkan A., Smith D.R. The Aedes aegypti cell line CCL125 is dengue virus permissive. *J Virol Methods*. 2009; 157 (2): 227–230. doi: 10.1016/j.jviromet.2008.12.019. Epub 2009 Jan 19.
91. Pujol C.A., Estevez J.M., Carlucci M.J. et al. Novel DL-galactan hybrids from the red seaweed *Gymnogongrus torulosus* are potent inhibitors of herpes simplex virus and dengue virus. *Antivir Chem Chemother*. 2002; 13: 83–89. doi: 10.1177/095632020201300202.
92. Pujol C.A., Ray S., Ray B., Damonte E. Antiviral activity against dengue virus of diverse classes of algal sulfated polysaccharides. *Int J Biol Macromol*. 2012; 51 (4): 412–416. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.05.028.
93. Piccini L.E., Carro A.C., Quintana V.M., Damonte E.B. Antibody-independent and dependent infection of human myeloid cells with dengue virus is inhibited by carrageenan. *Virus Res*. 2020; 290: 198150. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198150.
94. Hidari K.I.P.J., Takahashi N., Arihara M. et al. Structure and anti-dengue virus activity of sulfated polysaccharide from a marine alga. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008; 376 (1): 91–95. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.08.100.
95. Hidari K.I.P.J., Abe T., Suzuki T. Carbohydrate-related inhibitors of dengue virus entry. *Viruses*. 2013; 5 (2): 605–618. doi: 10.1177/095632020201300202.
96. Fuentes P.E.P., Benito J.S.S., Ruiz C.H.M. et al. Actividad anti-dengue in vitro del alga marina *Hypnea cervicornis*. *Rev Mex Cienc Farm*. 2017; 48 (1).
97. Ding L., Ma Y., Huang B., Chen S. Effects of seawater salinity and pigment contents in *Hypnea cervicornis*. *J. Agardh (Gigartinales, Rhodophyta)*. *Biomed Res Int*. 2013; 594308. doi: 10.1155/2013/594308.
98. Alexandre K.B., Gray E.S., Mufhandu H. et al. The lectins griffitsin, cyanovirin-N and scytovirin inhibit HIV-1 binding to the DC-SIGN receptor and transfer to CD4+ cells. *Virology*. 2012; 423 (2): 175–186. doi: 10.1016/j.virol.2011.12.001.
99. Garrison A.R., Giomarelli B.G., Lear-Rooney C.M. et al. The cyanobacterial lectin scytovirin displays potent *in vitro* and *in vivo* activity against Zaire Ebola virus. *Antivir Res*. 2014; 0: 1–7. doi: 10.1016/j.antiviral.2014.09.0123.
100. Mazalowska M., Kouokam J.C. Lectins as promising therapeutics for the prevention and treatment of HIV and other potential coinfections. Review article. *Open Access. Hindawi BioMed Res Int*. 2018; 2018: 3750646. doi: 10.1155/2018/3750646.
101. Kouokam J.C., Lasnik A.B., Palmer K.E. Studies in a murine model confirm the safety of griffitsin and advocate its further development as a microbicide targeting HIV-1 and other enveloped viruses. *Viruses*. 2016; 8: 311. doi: 10.3390/v8110311.
102. De Clercq E. Ebola virus (EBOV) infection: therapeutic strategies. *Biochem Pharmacol*. 2015; 93 (1): 1–10. doi: 10.1016/j.bcp.2014.11.008.
103. Singh R.S.; Walia A.K. Lectins from red algae and their biomedical potential. *J Appl Phycol*. 2018, 30: 1833–1858. doi: 10.1007/s10811-017-1338-5.
104. Barrientos L.G., O'Keefe B.R., Bray M., Sanchez A., Gronenborn A.M., Boyd M.R. Cyanovirin-N binds to the viral surface glycoprotein GP1,2 and inhibits infectivity of Ebola virus. *Antiviral Res*. 2003; 58: 47–56. doi: 10.1016/s0166-3542(02)00183-3.
105. El-Shafei R., Hegazy H., Acharya B. A review of antiviral and antioxidant activity of bioactive metabolite of macroalgae within an optimized extraction method. *Energies*. 2021; 14: 3092. doi: 10.3390/en14113092.

106. *Barrientos L.G., Lasala E, Otero J.R. et al.* In vitro evaluation of cyanovirin-N antiviral activity, by use of lentiviral vectors pseudotyped with Filovirus envelope glycoproteins. *J Infect Dis.* 2004; 189 (8): 1440–1443. doi: 10.1086/382658.
107. *Liu J., Obaidi I., Nagar S et al.* The antiviral potential of algal-derived macromolecules. *Curr Res Biotechnol.* 2021; 3: 120–134. doi: 10.1016/j.crbiot.2021.04.003.
108. *Walia S., Singh M.* Tracing plants potential effective against dengue virus: a review. *Int J Innovat Res Multidisciplinary Field.* 2021; 7 (5): available online on-www.IJRMFCOM.
109. *Ray B., Ali I., Jana S. et al.* Antiviral strategies using natural source-derived sulfated polysaccharides in the light of the COVID-19 pandemic and major human pathogenic viruses. *Viruses* 2021; 14 (1): 35. doi: 10.3390/v14010035.
110. *Pavliga S.N., Kompanets G., Tsygankov V.Y.* The experimental research (in vitro) of carrageenans and fucoidans to decrease activity of Hantavirus. *Food Environ Virol.* 2016; 8: 120–124. doi: 10.1007/s12560-016-9233-9.
111. *Salvador B., Sexton N.R., Carrion R. et al.* Filoviruses utilize glycosaminoglycans for their attachment to target cells. *J Virol.* 2013; 87 (6): 3295–3304. doi: 10.1128/JVI.01621-12.

## Информация об авторах

*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

*Запорожец Татьяна Станиславовна* — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории иммунологии «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-2760-9778. ResearcherID: Y-9425-2018. eLIBRARY SPIN-код: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

*Андрюков Борис Георгиевич* — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-4456-808X. ResearcherID: J-3752-2018. eLIBRARY SPIN-код: 7757-3838. Scopus Author ID: 57191370698

*Ермакова Светлана Павловна* — д. х. н., главный научный сотрудник лаборатории химии ферментов, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Российская Федерация

*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

*Крыжановский Сергей Петрович* — д. м. н., ученый секретарь медицинского объединения ДВО РАН, Владивосток, Российская Федерация

*Щелканов Михаил Юрьевич* — д. б. н., директор «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора; заведующий лабораторией вирусологии ФГБУН «Федеральный научный Центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН; ведущий научный сотрудник ФГБУН «Национальный научный Центр морской биологии» ДВО РАН, Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-8610-7623. ResearcherID: L-6164-2016. eLIBRARY SPIN-код: 5736-7230. Scopus Author ID: 7004251692.

## About the authors

*Natalia N. Besednova* — D. Sc. in medicine, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-2760-9778. eLIBRARY SPIN: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

*Tatyana S. Zaporozhets* — D. Sc. in medicine, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-2760-9778. ResearcherID: Y-9425-2018. eLIBRARY SPIN: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

*Boris G. Andryukov* — D. Sc. in medicine, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-4456-808X. ResearcherID: J-3752-2018. eLIBRARY SPIN: 7757-3838. Scopus Author ID: 57191370698

*Svetlana P. Ermakova* — D. Sc. in chemistry, G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation

*Tatyana A. Kuznetsova* — D. Sc. in medicine, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-4315-6959. ResearcherID: I-8399-2018. eLIBRARY SPIN: 2359-1132. Scopus Author ID: 7202571979

*Sergey P. Kryzhanovskiy* — D. Sc. in medicine, Medical Association of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation

*Mikhail Yu. Shchelkanov* — D. Sc. in biology, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Federal Scientific Center of the Eastern Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-8610-7623. Researcher ID: L-6164-2016. eLIBRARY SPIN: 5736-7230. Scopus Author ID: 7004251692.

# Вакцинопрофилактика *Herpes zoster* при ревматических заболеваниях: пересмотр парадигмы и новые возможности

\*Г. И. ГРИДНЕВА, Б. С. БЕЛОВ, Е. С. АРОНОВА

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

## Vaccine Prophylaxis of *Herpes Zoster* In Rheumatic Diseases: Paradigm Revision and New Opportunities

\*GALINA I. GRIDNEVA, BORIS S. BELOV, EVGENIA S. ARONOVA

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

### Резюме

**Актуальность.** Вопросы вакцинации против герпесвирусной инфекции по-прежнему важны для ревматологической практики. Данная инфекция часто развивается у пациентов, получающих иммуносупрессивное лечение, особенно ингибиторами янус-киназы (класс-специфическая нежелательная реакция) и генно-инженерными биологическими препаратами.

**Цель обзора** — осветить современное состояние вопроса вакцинации против *Herpes zoster* (HZ).

**Материал и методы.** Проанализировано 37 печатных работ (4 отечественных, 33 зарубежных), в которых рассмотрены механизмы патогенеза и клинические особенности герпесвирусной инфекции у пациентов с иммунодефицитом, как с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями (ИВРЗ), так и без таковых, частота и разнообразие поствакцинальных реакций, осложнений и обострений течения ИВРЗ.

**Результаты.** В настоящее время имеет место тенденция к переоценке отношения ревматологического сообщества к вакцинации против HZ, в том числе живой вакциной. Данные литературы позволяют выразить оптимизм в отношении эффективной профилактики опоясывающего лишая у больных, которым планируется назначение, в первую очередь, препаратов из группы ингибиторов янус-киназы. К преимуществам адъювантной рекомбинантной субъединичной вакцины (Shingrix®) следует отнести возможность её применения на фоне лечения антиревматическими препаратами без существенных ограничений, в том числе не откладывая инициацию необходимой терапии.

**Заключение.** Публикации по проблеме вакцинации против HZ немногочисленны. Необходимо проведение тщательно контролируемых исследований по эффективности и безопасности противогерпетических вакцин с акцентом на поствакцинальное течение ИВРЗ у больных ревматологического профиля, в том числе на территории Российской Федерации.

**Ключевые слова:** вакцинация; *Herpes zoster*; ревматические заболевания; генно-инженерные биологические препараты; поствакцинальные реакции; безопасность

**Для цитирования:** Гриднева Г. И., Белов Б. С., Аронова Е. С. Вакцинопрофилактика *Herpes zoster* при ревматических заболеваниях: пересмотр парадигмы и новые возможности. *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 3–4: 70–76. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-70-76.

### Abstract

**Background.** The issues of vaccination against the herpesvirus infection are still important in rheumatological practice. This infection often develops in patients receiving immunosuppressive treatment, especially Janus kinase inhibitors (a class-specific adverse reaction) and genetically engineered biologics.

**The aim of this review** is to highlight the current state of the issue of vaccination against *Herpes zoster* (HZ).

**Materials and Methods.** 37 publications (4 domestic, 33 foreign) were analyzed, in which the mechanisms of pathogenesis and clinical features of herpesvirus infection in patients with immunodeficiency, both with and without immunoinflammatory rheumatic diseases (IIRD), the frequency and variety of post-vaccination reactions, complications and exacerbations of the course of IIRD were considered.

**Results.** There is currently a trend towards reassessment of the rheumatological community's opinion about HZ vaccination, including live vaccine. Literature data allow us to express optimism regarding the effective prevention of herpes zoster in patients who plan to take drugs, primarily from the group of Janus kinase inhibitors. The advantages of the adjuvant recombinant subunit vaccine (Shingrix®) include the possibility of its use against the background of treatment with antirheumatic drugs without significant restrictions, as well as no need to postpone the initiation of the necessary therapy.

© Коллектив авторов, 2022

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

© Team of Authors, 2022

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



**Conclusions.** Publications on the issues of HZ vaccination are few. It is necessary to conduct carefully controlled studies on the efficacy and safety of antiherpetic vaccines with an emphasis on the post-vaccination course of IIRD in patients with rheumatological profile, including in the Russian Federation.

**Keywords:** vaccination; Herpes zoster; rheumatic diseases; genetically engineered biological preparations; post-vaccination reactions; security

**For citation:** Gridneva G. I., Belov B. S., Aronova E. S. Vaccine prophylaxis of Herpes Zoster in rheumatic diseases: paradigm revision and new opportunities. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 3–4: 70–76. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-70-76.

## Введение

Herpes zoster (HZ) — заболевание вирусной природы, характеризующееся односторонними герпетическими (пузырьковидными полиморфными зудящими) высыпаниями на коже с сильным болевым синдромом. Вирус ветряной оспы — *Varicella zoster virus* (VZV) — высококонтагиозный вирус семейства Herpesviridae, который вызывает ветряную оспу у детей и опоясывающий лишай (ОЛ) по достижении взрослого возраста [1].

Вирус проникает в организм через верхние отделы респираторного тракта или конъюнктиву. После первичного инфицирования VZV остаётся в латентном состоянии в нервных ганглиях и может активизироваться позднее в течение жизни, вызывая ОЛ.

Иммунологический ответ при VZV обусловлен, в первую очередь, CD4+ и цитолитическими CD8+ Т-клетками. Примечательно, что на сателлитных глиальных клетках ганглиев наблюдается активация экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости класса I (МНС-I) и МНС-II. Следовательно, эти клетки играют активную роль в управлении иммунным ответом при HZ [2].

Напомним, что иммунологическая память — это способность иммунной системы быстро и целенаправленно распознавать антиген, с которым организм ранее сталкивался, и инициировать соответствующий иммунный ответ [3]. Риск обсуждаемой инфекции увеличивается с возрастом, что, как полагают, связано с уменьшением клеточного иммунитета против HZ. A. Weinberg и соавт. [4] смоделировали ответ на HZ у молодых и пожилых людей, чтобы лучше понять иммунные характеристики, которые могут способствовать повышенной восприимчивости к HZ в пожилом возрасте. Молодые (25–40 лет,  $n=25$ ) и пожилые (60–80 лет,  $n=33$ ) взрослые имели аналогичную по выраженности реакцию иммунологической памяти, но у последних ответы были отсрочены. Увеличение бифункциональных VZV-специфических CD4+ и CD8+ эффекторных Т-клеток после стимуляции живой вакциной наблюдалось только у молодых людей. У пожилых лиц увеличение VZV-стимулированных CD4+ и CD8+Т-клеток от исходного уровня до поствакцинального было связано с одновременным снижением VZV-па-

мяти и CD8+ эффекторных реакций, соответственно. Авторы сделали вывод, что высокая доля стареющих и истощённых VZV-специфических Т-клеток у пожилых людей способствует их слабому эффекторному ответу на провокацию VZV. Это может лежать в основе их неспособности сдерживать реактивацию VZV и предотвращать развитие HZ [4].

Таким образом, у пожилых людей и лиц с ослабленным иммунитетом HZ может активизироваться и вызвать опоясывающий герпес или ОЛ. Заражение возможно от человека, который болен опоясывающим герпесом или ветряной оспой. Пути передачи вируса — воздушно-капельный, контактный, также возможен трансплацентарный путь. Вирус нейродермототропный, то есть может поражать клетки нервной системы и эпителия кожи. Встречаются диссеминированные формы, которые могут быть ограничены кожей или протекать с вовлечением центральной нервной системы, описано также поражение лёгких и других органов. Осложнения данной инфекции могут быть дерматологическими (например, вторичный бактериальный процесс), неврологическими (длительная боль, сегментарный парез, инсульт), офтальмологическими (кератит, иридоциклит, вторичная глаукома) или висцеральными (пневмония, гепатит) [5].

Наиболее частые причины активизации инфекции следующие: приём препаратов, снижающих иммунитет, хронические стрессы и изнуряющий физический труд, локальное переохлаждение, онкологические заболевания (лимфогранулематоз, злокачественные опухоли), последствия лучевой терапии, пересадка органов и костного мозга, а также стадия перехода в синдром приобретённого иммунного дефицита (СПИД) у больных ВИЧ-инфекцией. Предрасполагающими факторами принято считать возраст старше 55 лет (по разным источникам, от 50 до 60 лет), беременность, состояние после длительного лечения антибиотиками, цитостатиками, глюкокортикоидами (ГК).

Обязательным компонентом активизации инфекции является своеобразный вирусный ганглионеврит с поражением межпозвоночных ганглиев (или ганглиев черепных нервов) и задних корешков. Вирус может вовлекать в процесс вегетативные ганглии и обуславливать менингоэнцефалит. Могут поражаться внутренние ор-

ганы. Таким образом, в картине ОЛ в отличие от ветряной оспы на первый план выступают главным образом нейротропные патогенные свойства вируса. Примерно у трети пациентов развивается постгерпетическая невралгия, которая может продолжаться в течение нескольких недель и месяцев [5–7].

По данным ВОЗ, смертность от герпетических энцефалитов и диссеминированных форм болезни (15,8%) занимает II место после такового показателя при гриппе и ОРВИ [8].

## Риск НЗ при ревматических заболеваниях

Инфекция НЗ — область особого интереса в ревматологии. Заболеваемость опоясывающим герпесом в разных группах пациентов с аутоиммунными и воспалительными заболеваниями колеблется от 6,8 на 1000 пациенто-лет у больных подагрой до 19,9 на 1000 пациенто-лет при системной красной волчанке (СКВ) [9]. Показано, что риск заболевания НЗ у пациентов с ревматоидным артритом (РА) и псориатическим артритом (ПСА) в 1,5–2 раза выше, чем в популяции и является более высоким у лиц старше 61 года по сравнению с больными в возрасте 50–60 лет [9, 10].

По данным сотрудников Торонтского университета, при обследовании когорты из 422 больных СКВ у 83 зарегистрированы явления НЗ. 35,4% больных сообщили о развитии НЗ в течение первых трёх лет от момента постановки диагноза СКВ, 14,6% — через 6–10 лет, 50% — более чем через 10 лет. Большинство пациентов (84,2%) никогда не получали противогерпетическую вакцинацию [11].

Согласно работе корейских авторов, использовавших данные общенациональной базы пациентов с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями (ИВРЗ), были идентифицированы 1869 больных НЗ, у которых такие коморбидные состояния, как гематологические злокачественные новообразования, артериальная гипертензия, сахарный диабет и хронические заболевания лёгких и печени приводили к увеличению риска развития данной инфекции. Риск НЗ был выше у пациентов с СКВ (относительный риск — ОР 4,29, 95% ДИ 3,49, 5,27) и болезнью Бехчета (ОР 4,54, 95% ДИ 3,66, 5,64), чем с ревматоидным артритом (РА). Применение стандартных базисных противовоспалительных препаратов (БПВП), иммунодепрессантов, ингибиторов фактора некроза опухоли- $\alpha$  (иФНО- $\alpha$ ), ГК и даже нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) увеличивало риск развития ОЛ. Помимо широкого спектра БПВП (метотрексат — МТ, сульфасалазин, лефлуноמיד, гидроксихлорохин, такролимус, циклоспорин, циклофосфамид, азатиоприн, микофенолата мофетил) оценивали

влияние некоторых ГИБП (инфликсимаб — ИНФ, этанерцепт, адалимумаб, ритуксимаб — РТМ). ИНФ и ГК (в дозе более 15 мг/сут в пересчёте на преднизолон) обладали наиболее высоким риском развития НЗ (ОР 2,91, 95% ДИ 1,72, 4,89; ОР 2,85, 95% ДИ 2,15, 3,77, соответственно), в то время как применение РТМ не вызывало повышения риска данной инфекции [12].

D. Schub и соавт. [13] проанализировали состояние VZV-специфического Т-клеточного иммунитета в 98 образцах от 90 пациентов с ревматическими заболеваниями, включая 70 больных (78 образцов) РА и 20 — серонегативными спондилоартритами (СпА) различных типов, с оценкой влияния заболевания и противоревматической терапии продолжительностью не менее 12 нед. на клеточные показатели. Контрольную группу составили здоровые иммунокомпетентные лица. Пациенты, которые не получали противоревматическую терапию (кроме ГК) в течение как минимум 12 нед. до взятия крови, составили группу так называемых нелеченых больных. Реактивные CD4 Т-клетки идентифицировали по ко-экспрессии маркера активации CD69 и IFN- $\gamma$  после стимуляции. Количество CD4 Т-клеток у пациентов с РА и СпА было ниже, чем в контрольной группе. Более низкий процент реактивных CD4 Т-клеток у пациентов с РА не был связан с активностью заболевания, другими клиническими параметрами, приёмом ГК и/или их дозировкой. Уровень VZV-специфических Т-клеток был уменьшен у пациентов, получающих стандартные БПВП (сБПВП), по сравнению с нелечеными пациентами с РА, и в большей степени снижен у больных, получающих ГИБП.

Пациенты, получающие комбинацию сБПВП и ГИБП, имели самые низкие показатели VZV-специфических Т-клеток по сравнению с нелечеными больными. Уровни Т-клеток не отличались между пациентами на терапии МТ и без него. Также не наблюдалось различий в уровнях VZV-специфического IgG. VZV-специфические CD4 Т-клетки у пациентов не проявляли каких-либо признаков функционального нарушения. Отмечена обратная корреляция уровней VZV-специфических Т-клеток с возрастом. Авторы приходят к заключению, что значимо более низкое содержание VZV-специфических CD4 Т-клеток у пациентов с РА может быть основным объяснением повышенной частоты реактивации VZV. Значение роли клеточного звена адаптивного иммунитета подчёркивается тем фактом, что IgG к VZV у пациентов не отличались от группы здорового контроля. Это согласуется с данными S. Rondaan и соавт. [14], которые отметили у больных СКВ значимое снижение частоты VZV-специфических Т-клеток даже при наличии повышенных уровней VZV IgG.

Следовательно, подтверждается предположение о том, что низкий VZV-специфический клеточный (но не гуморальный) иммунитет может быть основной причиной повышенной заболеваемости ОЛ пациентов с РА.

В ходе анализа японской когорты из 7815 больных РА стандартизованный показатель заболеваемости HZ составил 8,5 случаев на 1000 пациенто-лет. При использовании регрессионной модели Кокса основными факторами риска развития HZ при РА были увеличение возраста на каждые 10 лет (коэффициент риска — Hazard ratio-HR 1,14, 95% ДИ 1,03–1,26,  $p < 0,05$ ), интервал 0,5–1,5 балла в соответствии с японской версией опросника по оценке состояния здоровья — J-NAQ (HR 1,51, 95% ДИ 1,09–2,10,  $p < 0,05$ ), применение MT (HR 1,58, 95% ДИ 1,06–2,36,  $p < 0,05$ ) и ГИБП (HR 1,88; 95% ДИ 1,44–2,47,  $p < 0,01$ ) [15].

Обобщённые данные о применении ингибиторов янус-киназ (иJAK) тофацитиниба (ТОФА) ( $n=5888$ ), барицитиниба (БАРИ) ( $n=3520$ ) и упадацитиниба ( $n=1736$ ) в рамках клинических исследований фаз II и III продемонстрировали значимое увеличение частоты развития HZ-инфекции для всей группы препаратов в целом (ОР 1,7, 95% ДИ 1,02–2,83) и БАРИ в частности (ОР 2,86; 95% ДИ 1,26–6,50). Зарегистрировано восемь случаев диссеминированной HZ-инфекции в группах ТОФА и БАРИ, по четыре в каждой, и три в группе плацебо [16]. Потенциальная реактивация латентной HZ-инфекции на сегодняшний день рассматривается как класс-специфическая нежелательная лекарственная реакция иJAK [17]. Так, ТОФА при РА снижает продукцию интерферона- $\gamma$ , способствуя уменьшению его противовирусного эффекта, уменьшает пролиферацию и активацию HZ-специфических CD4<sup>+</sup>-Т-клеток, подавляет экспрессию специфических рецепторов CXCR3 на указанных клетках. Вакцинация, выполненная до начала применения препарата, может повысить контроль над данной инфекцией [18].

Согласно опубликованным в январе 2022 г. результатам наблюдения 13 991 пациента из немецкого регистра RABBIT, частота HZ с поправкой на экспозицию (exposure-adjusted event rate — EAER, т. е. число пациентов, испытавших как минимум один эпизод HZ за период наблюдения, деленное на общее количество человеко-лет, подверженных риску HZ) была максимальной при приёме иJAK (21,5), в меньшей степени — у пациентов, получающих анти В-клеточную терапию, (10,3), иФНО- $\alpha$ , кроме этанерцепта (9,3), ингибиторы интерлейкина-6 (8,8), этанерцепт (8,6), абатацепт (8,4) и синтетические БПВП (7,1). Результаты свидетельствуют о 3,6-кратном увеличении риска HZ, связанного с применением иJAK, и повышенном риске HZ при лечении ГИБП по сравнению с БПВП [19].

Долгое время в ревматологическом сообществе господствовало негативное, или, по крайней мере, настороженное отношение к применению противогерпетических вакцин у пациентов, принимающих цитостатические препараты; фокус внимания был смещён на превентивное лечение или полноценную терапию обострений ОЛ [20]. Однако в последние годы такая парадигма претерпевает значительные изменения.

## Существующие вакцины против HZ

В настоящее время в клинической практике доступны две вакцины для профилактики HZ и постгерпетической невралгии у пациентов в возрасте  $\geq 50$  лет. Атенуированная живая вакцина против опоясывающего лишая (Zostavax®; в англоязычной литературе упоминается как LZV) [21] для однократного введения и бустерной вакцинации стала доступна в 2006 г. Адьювантная рекомбинантная субъединичная вакцина (Shingrix®; в англоязычной литературе упоминается как HZ/su) вводится в двух инъекциях с разницей в 2–6 мес., применяется с 2017 г. [22].

HZ/su не содержит живой вирус, но в состав вакцины входит адьювант для усиления иммунного ответа. Это позволяет ей, по данным производителя, в 97% случаев быть эффективной для предотвращения ОЛ, независимо от возраста человека. Данная вакцина лицензирована Европейским медицинским агентством в марте 2018 г. и после проведения клинических исследований, вероятно, заменит живую вакцину у больных с ИРВЗ [23]. В Российской Федерации вакцина пока не зарегистрирована.

До настоящего времени HZ/su считалась эффективной в течение, как минимум, 4 лет после вакцинации. В июне 2020 г. было начато исследование 1 фазы Persistence of Protection by Shingrix [24], заключающееся в сопоставлении профилактической эффективности у лиц, вакцинированных LZV или HZ/su, после внутрикожного введения вируса ветряной оспы vOka. Имеющиеся данные исследований свидетельствуют о более высокой эффективности HZ/su по сравнению с LZV, однако при назначении первой чаще наблюдаются локальные постинъекционные реакции [25].

## Вакцинация против HZ при ИРВЗ

Согласно рекомендациям различных медицинских ассоциаций всего мира, применение живых вакцин противопоказано пациентам, принимающим иммуносупрессивную терапию. В 2016 г. Американская коллегия ревматологов (ACR) рекомендовала введение LZV пациентам старше 50 лет

перед применением таргетных БПВП или ГИВП [26]. Ранее Корейское общество инфекционистов (Korean Society of Infectious Diseases) рекомендовало применение LZV для лиц старше 60 лет за один месяц до начала терапии ГИВП, либо через месяц после её отмены с возможностью вакцинации на фоне лечения низкими дозами ГК и/или МТ [27, 28].

J. R. Curtis и соавт. [29] выполнили РПКИ по изучению LZV у 617 пациентов с РА, у которых лечение иФНО- $\alpha$  было начато не менее чем за 30 дней до рандомизации. Критерием включения для первых 100 больных было отсутствие терапии ГК в течение 30 дней до рандомизации и положительный титр IgG к вирусу HZ. В подгруппе участников с РА ( $n=368$ ) активность основного заболевания не нарастала в течение 6 нед. после вакцинации, на протяжении этого же срока не выявлено ни одного случая HZ. К шестому месяцу HZ развился у 10 человек в группе LZV и 10 — плацебо. К завершению годовичного наблюдения у 12 участников предполагалось развитие ОЛ (7 в группе LZV и 5 — плацебо); из них 8 были тестированы на наличие вируса HZ, все результаты были отрицательными. Четверо участников не тестировались: у 1 не было никаких видимых изменений кожи; у 2 с большой вероятностью имели место аллергические реакции, а не ОЛ; 1 был осмотрен местным врачом и не связывался с координационным центром для тестирования [29].

Национальный фонд псориаза (National Psoriasis Foundation, США) — крупнейшая в мире некоммерческая организация, занимающаяся проблемами лиц с псориазом (ПСО) и ПСА, — рекомендует назначение LZV пациентам старше 50 лет, которые либо не проводят системную терапию, либо получают иммуносупрессивные препараты в низких дозах, например, ГК <20 мг/день в эквиваленте по преднизолону или МТ <0,4 мг/кг/нед. При выборе вакцины предпочтение рекомендуется отдавать HZ/su, которая показана всем больным ПСО/ПСА старше 50 лет и пациентам моложе 50 лет, получающим ТОФА, системные ГК или комбинированную (ГИВП+БПВП) терапию. Применение этой вакцины оптимально до начала активной системной терапии, но также возможно на фоне продолжающегося лечения БПВП и ГИВП. Для пациентов моложе 50 лет, получающих иную иммуносупрессивную терапию, иммунизация данной вакциной обсуждается в каждом конкретном случае с индивидуальной оценкой риска [30].

Мультидисциплинарный комитет канадских специалистов рекомендует назначать LZV пациентам с аутоиммунными заболеваниями за 2–4 нед. до начала иммуносупрессивной терапии либо во время её проведения лицам с высоким риском, но перед вакцинацией считает целесообразным

оценить уровень антител к HZ. Комитет также отдаёт предпочтение вакцине HZ/su [31].

В обновленных рекомендациях Европейского Альянса ревматологических ассоциаций (EULAR) по вакцинации (2019 г.) подчёркивается, что иммунизация против HZ может быть рассмотрена для больных ИВРЗ из групп высокого риска (дерматомиозит/полимиозит и СКВ) в любом возрасте. Здесь же указано, что LZV можно вводить пациентам с ИВРЗ за 4 нед. до начала ГИВП или и/АК, но не во время лечения этими препаратами. Однако в упомянутом документе отсутствуют рекомендации относительно применения HZ/su из-за недостаточного количества данных [32].

В недавно опубликованном крупном клиническом обзоре авторы делают общий вывод о том, что пациенты с низким уровнем иммуносупрессии могут быть вакцинированы LZV за 4 нед. до начала иммуномодулирующей терапии, однако препаратом выбора в большинстве случаев признаётся HZ/su [33].

Перед использованием LZV следует учитывать серологический статус по ветряной оспе, чтобы предотвратить первичное инфицирование после введения вакцины [32]. Исследование иммунного статуса перед вакцинацией LZV рекомендует также австралийская техническая консультативная группа по иммунизации (Australian Technical Advisory Group on Immunization — ATAGI) [34]. Смысл серологического тестирования перед вакцинацией заключается не столько в выявлении антител, указывающих на перенесённую герпесвирусную инфекцию, сколько в обнаружении недавнего контакта с HZ, а также в необходимости определения с выбором препарата. В частности, в качестве бустерной вакцинации применяют исключительно LZV и только в случае перенесённой ранее герпесвирусной инфекции. Кроме того, определение серологического статуса среди пациентов младше 50 лет является возможностью выявить лиц, не имеющих антител к HZ, в отношении которых могут быть расширены рамки применения вакцины [31, 32].

## Сложные вопросы при вакцинации против HZ

К основным проблемам, связанным с вакцинацией против HZ, следует отнести недостаточный охват пациентов, соотношение эффективности и безопасности и риски обострения основного заболевания. Охват вакцинацией против HZ в большинстве стран остаётся недостаточным (субоптимальным). К наиболее частым причинам этого относят отсутствие рекомендаций со стороны лечащего врача, недоверие к вакцине или боязнь нежелательных реакций [33]. Ретроспективный анализ, проведённый в США

по материалам 2006–2009 гг., показал, что факторами, положительно влияющими на охват вакцинацией, являлись возраст 60–64 лет, отсутствие приёма иФНО- $\alpha$ , меньшее число коморбидных заболеваний и отсутствие факта госпитализации в течение последних 6 мес. [35].

Данные об эффективности и безопасности обсуждаемых вакцин при ИВРЗ, к сожалению, немногочисленны. J. H. Koh и соавт. [36] провели наблюдательное исследование, в котором 41 пациент с РА (95% из них находились в ремиссии) был вакцинирован LZV. Через 12 нед. после вакцинации 36 пациентов (87,8%) оставались в ремиссии, у 3 (7,3%) диагностирована низкая активность заболевания ( $2,6 \leq \text{DAS28} \leq 3,2$ ) и у 2 (4,9%) — умеренная активность ( $3,2 < \text{DAS28} \leq 5,1$ ). У 6 пациентов с РА (14,6%) наблюдали обострение артрита ( $\Delta \text{DAS28} > 1,1$ ) в интервале 6–12 нед. после вакцинации; у 4 из них были преходящие артриты, которые купировались спонтанно или после назначения низких доз ГК, тогда как 2 больным были назначены иФНО- $\alpha$  [36].

В ретроспективном исследовании, включавшем 403 пациента с РА, обострения отмечены в 5,7 и 2,3% случаев после введения 1 и 2 дозы HZ/su, соответственно. Под обострением РА понимали состояние, возникшее через 12 нед. после вакцинации, при котором требовалось введение дополнительных доз ГК. Наиболее распространёнными поствакцинальными реакциями были болезненность в месте инъекции, сыпь, лихорадка, боли в животе, тошнота и гриппоподобные симптомы. Все указанные реакции протекали легко и полностью разрешились [37].

В РПКИ 2 фазы, включавшем 112 пациентов с РА, ТОФА был назначен через 2–3 нед. после вакцинации LZV. Случаев HZ не отмечено, однако у одного пациента, не имевшего антител к HZ, зафиксирована диссеминированная вакцинальная реакция. Выработка антител и Т-клеточный ответ в группе ТОФА и плацебо были аналогичными [38].

## Литература/References

1. Вакцина против ветряной оспы и опоясывающего лишая: документ по позиции ВОЗ, июнь 2014. ВОЗ. Еженедельный эпидемиологический бюллетень 20 июня 2014 года. 2014; 25: 265–288. [https://www.who.int/immunization/position\\_papers/varicella\\_herpes\\_zoster\\_vaccine\\_pp\\_ru\\_2014.pdf](https://www.who.int/immunization/position_papers/varicella_herpes_zoster_vaccine_pp_ru_2014.pdf) [Vaktsina protiv vetryanoj ospy i opoyasvayushchego lishaya: dokument po pozitsii VOZ, iyun' 2014. VOZ. Ezhenedel'nyj epidemiologicheskij byulleten' 20 iyunya 2014 goda. 2014; 25: 265–288. [https://www.who.int/immunization/position\\_papers/varicella\\_herpes\\_zoster\\_vaccine\\_pp\\_ru\\_2014.pdf](https://www.who.int/immunization/position_papers/varicella_herpes_zoster_vaccine_pp_ru_2014.pdf) (in Russian)]
2. Steain M., Sutherland J.P., Rodriguez M. et al. Analysis of T cell responses during active varicella-zoster virus reactivation in human ganglia. *J Virol*. 2014; 88 (5): 2704–2716. doi: 10.1128/JVI.03445-13.
3. Murphy K. Janeway's immunobiology (8th ed.). Garland Science. 2012; 892.
4. Weinberg A., Canniff J., Roupel N. et al. Varicella-Zoster virus-specific cellular immune responses to the live attenuated zoster vaccine in young and older adults. *J Immunol*. 2017; 199 (2): 604–612. doi: 10.4049/jimmunol.1700290.
5. Johnson R.W., Alvarez-Pasquin M-J., Bijl M. et al. Herpes zoster epidemiology, management, and disease and economic burden in Europe: a

## Заключение и выводы

Обобщая изложенное, авторы обращают внимание на происходящую в настоящее время переоценку отношения ревматологического сообщества к вакцинации против HZ, в том числе живой вакциной. Данные литературы представляются оптимистичными в отношении эффективной профилактики ОЛ у больных, которым планируется назначение, в первую очередь, препаратов из группы иJAK. К преимуществам HZ/su следует отнести возможность её применения на фоне лечения антиревматическими препаратами без существенных ограничений, что позволяет не задерживать инициацию терапии основного заболевания. Общее количество публикаций по проблеме вакцинации против HZ пока представляется недостаточным. Следовательно, необходимо проведение тщательно контролируемых исследований по эффективности и безопасности противогерпетических вакцин с акцентом на поствакцинальное течение ИВРЗ у больных ревматологического профиля, в том числе на территории Российской Федерации.

## Дополнительная информация

Статья подготовлена в рамках научно-исследовательской работы ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой». № Государственного задания 1021051503137-7.

**Конфликт интересов.** Конфликт интересов отсутствует. Работа не имела спонсорской поддержки. Авторы не получали гонорар за статью.

**Участие авторов.** Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

- multidisciplinary perspective. *Ther Adv Vaccines*. 2015; 3: 10–20. doi: 10.1177/2051013615599151.
6. Nagel M.A., Gilden D. Neurological complications of varicella zoster virus reactivation. *Curr Opin Neurol*. 2014; 27: 356–60. doi: 10.1097/WCO.0000000000000092.
7. Alakloby O.M., Aljabre S.H., Randha W.A. et al. Herpes zoster in eastern Saudi Arabia: clinical presentation and management. *J Drugs Dermatol*. 2008; 7: 457–62.
8. Викулов Г.Х. Иммунологические аспекты герпесвирусных инфекций. Клиническая дерматология и венерология. 2015; 5: 104–114. doi: 10.17116/klinderma2015145104-114. [Vikulov G.Kh. Immunologicheskie aspekty herpesvirusnykh infektsij. Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya. 2015; 5: 104–114. doi: 10.17116/klinderma2015145104-114. (in Russian)]
9. Yun H., Yang S., Chen L. et al. Risk of herpes zoster in autoimmune and inflammatory diseases: implications for vaccination. *Arthritis Rheumatol*. 2016; 68: 2328–2337. doi: 10.1002/art.39670.
10. Marra E., Parhar K., Huang B., Vadlamudi N. Risk Factors for Herpes Zoster Infection: A Meta-Analysis. *Open Forum Infect Dis*. 2020 Jan 9; 7 (1): ofaa005. doi: 10.1093/ofid/ofaa005.
11. Kwan A., Rayes H.A., Lazova T. et al. Herpes zoster in SLE: prevalence, incidence and risk factors. *Lupus Sci Med*. 2022 Jan; 9 (1): e000574. doi: 10.1136/lupus-2021-000574.

12. Ryu H.J., Han J.O., Lee S.A. et al. Risk factors for herpes zoster in patients with rheumatic diseases: a nationwide cohort study in Korea. *Rheumatology*. 2021; 60 (5): 2427–2433. doi: 10.1093/rheumatology/keaa636.
13. Schub D., Assmann G., Sester U. et al. VZV-specific T-cell levels in patients with rheumatic diseases are reduced and differentially influenced by antirheumatic drugs. *Arthritis Res Ther*. 2018; 20 (1): 252. doi: 10.1186/s13075-018-1742-5.
14. Rondaan C., de Haan A., Horst G. et al. Altered cellular and humoral immunity to varicella-zoster virus in patients with autoimmune diseases. *Arthritis Rheum*. 2014; 66 (11): 3122–3128. doi: 10.1002/art.38804.
15. Yamaguchi R., Tanaka E., Nakajima A. et al. Risk of herpes zoster in patients with rheumatoid arthritis in the biologic's era from 2011 to 2015 and its association with methotrexate, biologics, and corticosteroids. *Mod Rheumatol*. 202232 (3): 522–527. doi: 10.1093/mr/roab026.
16. Bechman K., Subesinghe S., Norton S. et al. A systematic review and meta-analysis of infection risk with small molecule JAK inhibitors in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2019 Oct 1; 58 (10): 1755–1766. doi: 10.1093/rheumatology/kez087.
17. Atzeni E, Talotta R., Nucera V. et al. Adverse events, clinical considerations and management recommendations in rheumatoid arthritis patients treated with JAK inhibitors. *Expert Rev Clin Immunol*. 2018; 14 (11): 945–956. doi: 10.1080/1744666X.2018.1504678.
18. Almanzar G., Kienle F., Schmalzing M. et al. Tofacitinib modulates the VZV-specific CD4+ T cell immune response in vitro in lymphocytes of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2019; 58 (11): 2051–2060. doi: 10.1093/rheumatology/kez175.
19. Redeker L., Albrecht K., Kekow J. et al. Risk of herpes zoster (shingles) in patients with rheumatoid arthritis under biologic, targeted synthetic and conventional synthetic DMARD treatment: data from the German RABBIT register. *Ann Rheum Dis*. 2022; 81: 41–47. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-220651.
20. Муравьев Ю.В., Гриднева Г.И. Отношение к риску возникновения опоясывающего герпеса (*Herpes zoster*) на фоне лечения ревматоидного артрита метотрексатом. Безопасность и риск фармакотерапии. 2014; 1 (2): 27–30. [Murav'ev Yu.V., Gridneva G.I. Otnoshenie k risku vozniknoveniya opoyasyvayushchego gerpesa (*Herpes zoster*) na fone lecheniya revmatoidnogo artrita me-totrekstatom. Bezopasnost' i Risk Farmakoterapii. 2014; 1 (2): 27–30. (in Russian)]
21. US Food and Drug Administration: Zostavax® (zoster vaccine live): high lights of prescribing information. 2019. Available at: <https://www.fda.gov/media/119879/download>. Accessed 04 May 2021.
22. US Food and Drug Administration: Shingrix: highlights of prescribing information. 2019. Available at: [https://www.gsksource.com/pharma/content/dam/GlaxoSmithKline/US/en/Prescribing\\_Information/Shingrix/pdf/SHINGRIX.PDF](https://www.gsksource.com/pharma/content/dam/GlaxoSmithKline/US/en/Prescribing_Information/Shingrix/pdf/SHINGRIX.PDF). Accessed 22 June 2021
23. Белов Б.С., Тарасова Г.М., Муравьева Н.В. Современные подходы к вакцинации больных с ревматическими заболеваниями. Терапевтический архив. 2021; 93 (5): 622–627. doi: 10.26442/00403660.2021.05.200794. [Belov B.S., Tarasova G.M., Murav'eva N.V. Sovremennye podkhody k vaktsinatsii bol'nykh s revmaticheskimi zabolovaniyami. Terapevticheskij Arkhiv. 2021; 93 (5): 622–627. doi: 10.26442/00403660.2021.05.200794. (in Russian)]
24. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Persistence+of+Protection+by+Shingrix+&term=&cntry=&state=&city=&dist=/> Accessed 25 June 2021.
25. Tricco A.C., Zarin W., Cardoso R. et al. Efficacy, effectiveness, and safety of herpes zoster vaccines in adults aged 50 and older: systematic review and network meta-analysis. *BMJ*. 2018; 363: k4029. doi: 10.1136/bmj.k4029.
26. Singh J.A., Saag K.G., Bridges S.L. J.R. et al. 2015 American College of Rheumatology guideline for the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2016; 68: 1–26. doi: 10.1002/art.39480.
27. Choi W.S., Choi J.-H., Kuon K.T. et al. Revised adult immunization guideline recommended by the Korean Society of Infectious Diseases, 2014. *Infect Chemother* 2015; 47: 68–79. doi: 10.3947/ic.2015.47.1.68.
28. Choi W.S. Herpes zoster vaccine in Korea. *Clin Exp Vaccine Res*. 2013; 2: 92–6. doi: 10.7774/cevr.2013.2.2.92.
29. Curtis J.R., Cofield S.S., Bridges S.L. Jr. et al. The Safety and immunologic effectiveness of the live varicella-zoster vaccine in patients receiving tumor necrosis factor inhibitor therapy: a randomized controlled trial. *Ann Intern Med*. 2021; 174 (11): 1510–1518. doi: 10.7326/M20-6928.
30. Baumrin E., Van Voorhees A., Garg A. et al. A systematic review of herpes zoster incidence and consensus recommendations on vaccination in adult patients on systemic therapy for psoriasis or psoriatic arthritis: From the Medical Board of the National Psoriasis Foundation. *J Am Acad Dermatol*. 2019; 81 (1): 102–110. doi: 10.1016/j.jaad.2019.03.017.
31. Papp K.A., Haraoui B., Kumar D. et al. Vaccination guidelines for patients with immune-mediated disorders on immunosuppressive therapies. *J Cutan Med Surg*. 2019; 23: 50–74. doi: 10.1177/1203475418811335.
32. Furer V., Rondaan C., Heijstek M.W. et al. 2019 update of EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*. 2020; 79 (1): 39–52. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215882.
33. Winthrop K.L., Tanaka Y., Lee E.B. et al. Prevention and management of herpes zoster in patients with rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis: a clinical review. *Clin Exp Rheumatol*. 2022; 40 (1): 162–172. doi: 10.55563/clinexprheumatol/cpu6r9.
34. Australian Government Department Of Health: Australian Immunisation Hand book: Zoster (herpes zoster). 2018. Available at: <https://immunisationhandbook.health.gov.au/vaccine-preventable-diseases/zo>
35. Zhang J., Delzell E., Xie F. et al. The use, safety, and effectiveness of herpes zoster vaccination in individuals with inflammatory and autoimmune diseases: a longitudinal observational study. *Arthritis Res Ther* 2011; 13: R174. doi: 10.1186/ar3497. Epub 2011 Oct 24.
36. Koh J.H., Lee J., Kim S.H. et al. Safety, and humoral and cell-mediated immune responses to Herpes Zoster vaccine in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2018; 45 (4): 465–469. doi: 10.3899/jrheum.170936.
37. Stevens E., Weinblatt M., Massarotti E. et al. Safety of the zoster vaccine recombinant adjuvanted in rheumatoid arthritis and other systemic rheumatic disease patients: a single center's experience with 400 patients. *ACR Open Rheumatol*. 2020; 2: 357–61. doi: 10.1002/acr2.11150.
38. Winthrop K.L., Wouters A.G., Choy E.H. et al. The safety and immunogenicity of live zoster vaccination in patients with rheumatoid arthritis before starting tofacitinib: a randomized phase II trial. *Arthritis Rheumatol*. 2017; 69: 1969–77. doi: 10.1002/art.40187.

## Информация об авторах

Гриднева Галина Игоревна — к. м. н., научный сотрудник лаборатории коморбидных инфекций и вакцинопрофилактики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-0928-3911. ResearcherID: AFN-9929-2022. eLIBRARY SPIN-код: 2849-5029. Scopus Author ID: 56381565500

Белов Борис Сергеевич — д. м. н., заведующий лабораторией коморбидных инфекций и вакцинопрофилактики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-7091-2054. ResearcherID: ABD-2219-2020. eLIBRARY SPIN-код: 3298-4315. Scopus Author ID: 7004592537

Аронова Евгения Сергеевна — к. м. н., научный сотрудник лаборатории коморбидных инфекций и вакцинопрофилактики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-1833-5357. Researcher ID AAD-1849-2019. eLIBRARY SPIN-код: 8993-5795. Scopus Author ID 55913403200

## About the authors

Galina I. Gridneva — Ph. D. in medicine, V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-0928-3911. ResearcherID: AFN-9929-2022. eLIBRARY SPIN: 2849-5029. Scopus Author ID: 56381565500

Boris S. Belov — D. Sc. in medicine, V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-7091-2054. Researcher ID: ABD-2219-2020. eLIBRARY SPIN: 3298-4315. Scopus Author ID: 7004592537

Evgenia S. Aronova — Ph. D. in medicine, V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-1833-5357. Researcher ID AAD-1849-2019. eLIBRARY SPIN: 8993-5795. Scopus Author ID 55913403200

# Антибиотикотерапия бруцеллёза. Современное состояние и перспективы совершенствования

И. А. ЩИПЕЛЕВА, \*Е. И. МАРКОВСКАЯ, О. Ф. КРЕТЕНЧУК

ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

## Antibiotic Therapy of Brucellosis. Current State and Prospects for Improvement

IRINA A. SHCHIPELEVA, \*E. I. MARKOVSKAYA, O. F. KRETENCHUK

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

### Резюме

Бруцеллёз человека — особо опасная социально значимая инфекция, по-прежнему представляющая серьёзную угрозу для здоровья населения, в связи с широким спектром клинических проявлений, тяжёлым течением и развитием серьёзных осложнений инфекции, приводящих к инвалидизации, что в свою очередь приносит значительный ущерб экономике. Вопросы лечения остаются дискуссионной проблемой, так как способность возбудителя к внутриклеточному паразитированию осложняет проведение эффективной антибиотикотерапии. В обзоре представлены данные об активности *in vitro* и эффективности при использовании в качестве средств монотерапии тетрациклинов, рифампицина, фторхинолонов, аминогликозидов, карбапенемов, макролидов, цефалоспоринов, хлорамфеникола и триметоприма/сульфаметоксазола. Приведены данные об эффективности использования антибактериальных препаратов в различных комбинациях, о включении в схему лечения иммуномодуляторов. Рассмотрена информация о перспективных современных разработках, способствующих лучшему проникновению антибактериальных препаратов в фагоцитарные клетки. Представлены некоторые результаты поиска источников новых средств антибактериальной терапии бруцеллёза.

**Ключевые слова:** *Brucella*; бруцеллёз; антибиотики; лечение; резистентность

**Для цитирования:** Шчипелева И. А., Марковская Е. И., Кретенчук О. Ф. Антибиотикотерапия бруцеллёза. Современное состояние и перспективы совершенствования. *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 3–4: 77–84. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-77-84.

### Abstract

Human brucellosis is a particularly dangerous socially significant infection that still poses a serious threat to public health due to a wide range of clinical manifestations, severe course, and the development of serious complications of infection that may lead to disability, which, in turn, causes significant damage to the economy. Treatment issues remain debatable, since the pathogen's ability to cause intracellular parasitism complicates effective antibiotic therapy. The review presents the data on *in vitro* activity and efficacy when using tetracyclines, rifampicin, fluoroquinolones, aminoglycosides, carbapenems, macrolides, cephalosporins, chloramphenicol, and trimethoprim/sulfamethoxazole as monotherapy agents. The data on the effectiveness of the use of antibacterial drugs in various combinations, and the inclusion of immunomodulators in the treatment regimen are presented. Information concerning promising modern developments that facilitate better penetration of antibacterial drugs into phagocytic cells is considered. Some results of searching for sources of new means of antibacterial therapy of brucellosis are presented.

**Keywords:** *Brucella*; brucellosis; antibiotics; treatment; resistance.

**For citation:** Shchipeleva I. A., Markovskaya E. I., Kretenchuk O. F. Antibiotic therapy of brucellosis. Current state and prospects for improvement. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2022; 67: 3–4: 77–84. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-77-84.

Бруцеллёз — общая для человека и животных болезнь, характеризующаяся неспецифической клинической картиной с системным пора-

жением опорно-двигательного аппарата, нервной, сердечно-сосудистой, мочеполовой систем и других органов. Затяжное, склонное к хрони-

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: ул. М. Горького, д. 117/40, Ростовский-наДону противочумный институт, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация, 344002.  
E-mail: markovskay2014@yandex.ru

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 117/40 M.Gorkogo st., Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, 344002 Russian Federation. E-mail: markovskay2014@yandex

зачастую приводит человека к инвалидности. В мире ежегодно регистрируется свыше 500 тыс. случаев заболеваний людей бруцеллёзом в более чем 170 странах [1, 2]. Возбудители бруцеллёза (*Brucella* spp.) обладают высокой инвазивностью, что обусловлено его способностью проникать через неповреждённые слизистые покровы [3]. Основным путями заражения людей бруцеллёзом являются непосредственный контакт с инфицированными животными или употребление в пищу сырых мясных и молочных продуктов, контаминированных бруцеллами. Однако в литературе описаны случаи инфицирования человека половым путём, а также факты заражения бруцеллёзом при переливании крови или пересадке костного мозга [4]. Значимым обстоятельством в патогенезе инфекции является способность возбудителей выживать и размножаться в фагоцитарных и нефагоцитарных клетках хозяина [3]. Внутриклеточное паразитирование обеспечивает возбудителям бруцеллёза защиту от обычных форм лекарственных веществ и иммунной системы организма, что заметно снижает эффективность лечения [5].

Способность возбудителей бруцеллёза длительно персистировать в окружающей среде; возможность быстрой передачи различными путями, включая аэрозольный; высокая степень инвазивности при невысокой заражающей дозе (10–100 микробных клеток); сложности этиотропной терапии бруцеллёза дают основания считать их вероятными агентами биотерроризма (категории В) [6].

Всё вышеперечисленное определяет актуальность разработки новых и совершенствования имеющихся средств и методов лечения бруцеллёза и, в частности, антибиотикотерапии.

Цель обзора — анализ и обобщение данных литературы об экспериментальной чувствительности возбудителей бруцеллёза к различным антибактериальным препаратам; их эффективности при лечении бруцеллёза в качестве средств монотерапии и в различных комбинациях, включая комбинации с различными иммуномодуляторами; о современных перспективных разработках, направленных на поиск возможностей, обеспечения лучшего проникновения антибактериальных препаратов в фагоцитарные клетки; и поиске источников новых средств этиотропной терапии бруцеллёза.

Клинические исследования разных лет и результаты научных экспериментов представляются достаточно широкий спектр данных об имеющемся опыте и перспективности применения различных антибиотиков (тетрациклинов, рифампицина, аминогликозидов, фторхинолонов,

бета-лактамов, макролидов, хлорамфеникола и триметоприма/сульфаметоксазола) в качестве средств противобруцеллёзной монотерапии и в различных комбинациях.

Согласно многочисленным данным изучения чувствительности бруцелл к антибиотикам *in vitro*, показано, что наибольшую антибактериальную активность проявляют препараты группы тетрациклинов (тетрациклин, доксициклин, миноциклин) [7, 8]. Тигециклин, структурно сходный с тетрациклинами препарат, относящийся к классу глицилциклинов, продемонстрировал в исследованиях ряда учёных активность *in vitro* в отношении *Brucella melitensis* и *B. abortus* [9, 10]. Также установлена высокая чувствительность возбудителей бруцеллёза к рифампицину, триметоприму/сульфаметоксазолу [11], к аминогликозидам [8, 12]. Большое количество работ *in vitro* посвящены оценке перспектив использования хинолонов, в том числе их фторированных производных II–IV поколений. При этом были получены неоднозначные, иногда противоречивые сведения об активности этих препаратов в отношении возбудителей бруцеллёза [8, 13–17]. Представители группы бета-лактамов также не были обойдены вниманием учёных. Установлено, что пенициллины, в том числе полусинтетические и ингибиторозащищённые, не обладают выраженными антимикробными свойствами в отношении возбудителей бруцеллёза в экспериментах *in vitro* [18–20]. К цефалоспорином третьего поколения чувствительность была несколько выше [21]. В сравнении с цефалоспорином, у карбапенемов (меропенем, имипенем) в отношении возбудителей бруцеллёза регистрировали более высокую активность, сходную с таковой у тетрациклина и рифампицина [11, 15].

Таким образом, показано, что возбудители бруцеллёза, в целом, проявляют достаточно высокую чувствительность к антибактериальным препаратам, однако в литературе достаточно примеров о регистрирующихся случаях появления устойчивости возбудителей к средствам антибиотикотерапии. Так, имеются данные об устойчивости изолятов бруцелл к триметоприму/сульфаметоксазолу [22]. Тестирование *in vitro* антимикробной восприимчивости изолятов *B. melitensis* у людей из Внутренней Монголии Китая выявило резистентность к триметоприму/сульфаметоксазолу у 7% изученных культур возбудителей [8]. В настоящее время зарегистрирована чёткая тенденция к появлению большого процента изолятов либо устойчивых к рифампицину, либо проявляющих к нему промежуточную чувствительность [7, 8, 12, 20, 22–24].

Определение антибиотикочувствительности бруцелл является основным условием при выборе антибактериального средства для лечения



бруцеллёза. Тем не менее, необходимо учитывать, что данные о чувствительности возбудителей бруцеллёза к антибактериальным препаратам, полученные *in vitro*, не всегда коррелируют с эффективностью этиотропной терапии инфекционного заболевания. Причинами этого распространённого в медицине явления, в том числе, является преимущественно внутриклеточная локализация возбудителей бруцеллёза, затрудняющая доставку антибиотика к чувствительным бактериальным мишеням [2], а также его способность к биоплёнкообразованию [25].

Среди современных антибиотиков тетрациклинового ряда, являющихся самыми доступными и удобными в применении препаратами, наиболее перспективными для лечения бруцеллёза признаны доксицилин и метациклин [2, 26], так как их применение обеспечивает не только высокую эффективность, но и наименьшую частоту последующих рецидивов. Имеются данные о том, что тигециклин может применяться в качестве средства монотерапии бруцеллёза, обеспечивая возможность сокращения продолжительности лечения [27]. Также эффективным средством антибактериальной терапии при бруцеллёзе является рифампицин [26].

Высокую степень эффективности тетрациклинов и рифампицина в отношении внутриклеточных возбудителей бруцеллёза исследователи связывают с их хорошей активностью в кислой среде макрофагов [28]. Целесообразность использования триметоприма/сульфаметоксазола была подтверждена положительными результатами лечения, отсутствием осложнений и побочных реакций у пациентов, в том числе детского возраста [29]. Описаны данные об отсутствии эффективности применения в качестве средства лечения бруцеллёза активных в отношении бруцелл *in vitro* цефалоспоринов третьего поколения, в частности цефтриаксона. Авторы подчёркивают возможность рецидива в случае монотерапии этим препаратом [21].

В экспериментах О. В. Малецкой с соавт. [30] по восстановлению исследуемых цитохимических показателей периферической крови до исходного уровня и данным бактериологического анализа подтверждена эффективность антибактериальной терапии бруцеллёза меропенемом. Карбапенемы рекомендованы авторами в случае неэффективности других препаратов для терапии бруцеллёза у госпитализированных больных. Фторхинолоны, несмотря на свою активность в отношении внутриклеточных возбудителей, оказались недостаточно эффективны для эрадикации бруцелл и предотвращения развития рецидива бруцеллёза человека, вызванного *B. elizabethis* [31, 32]. Даже подтверждённая *in vitro* активность фторхинолонов не всегда кор-

релировала с результатами лечения бруцеллёза этими препаратами [19, 33, 34]. В экспериментах на мышинной модели бруцеллёза была доказана неэффективность монотерапии ципрофлоксацином, офлоксацином, пефлоксацином и левофлоксацином в сравнении с эффективным доксицилином [35, 36]. Достаточно дискуссионным остаётся вопрос о целесообразности применения для лечения бруцеллёза макролидов [19]. Несмотря на недостаточную эффективность эритромицина, ряд исследователей рекомендует применять его в качестве альтернативного препарата в лечении бруцеллёза особенно у маленьких детей и беременных женщин [37].

Перспективность применения азитромицина при бруцеллёзе доказана в экспериментах *in vitro* и в опытах на животных [15, 38]. Так, установлено, что лечение экспериментальной бруцеллёзной инфекции азитромицином характеризовалось восстановлением исследуемых цитохимических показателей периферической крови до исходного уровня [30]. Результаты других исследователей, напротив, свидетельствуют о недостаточной эффективности азитромицина при лечении бруцеллёза [39], что авторы связывают со сниженной концентрацией препарата в кислой среде макрофагов.

В связи с необходимостью проведения длительных курсов антибиотикотерапии при лечении бруцеллёза крайне важное значение имеет возможность появления побочных реакций на антибиотик. Так, установлено, что продолжительное применение хлорамфеникола, проявлявшего активность в экспериментах *in vitro*, но не обеспечившего полной санации организма от инфекционного агента, оказывало очень серьёзное токсическое воздействие на костный мозг [40]. Известно, что длительные курсы аминогликозидами могут сопровождаться ото-, нефро- и нейротоксичностью. Имеются данные о негативных побочных последствиях антибруцеллёзной монотерапии рифампицином, таких как острый интерстициальный нефрит [41] и др.

Многочисленными исследованиями установлено, что использование в качестве стратегии лечения монотерапии достаточно часто приводит к рецидивам [2]. При этом показано, что даже продление сроков монотерапии не обеспечивает положительного результата [28].

Стремление к снижению затрат и исключению неудобств длительных госпитализаций, связанных с необходимостью парентерального введения препаратов, стимулируют исследования, направленные на сокращение курсов антибактериальной терапии бруцеллёза [42, 43]. Конечная цель этих усилий состоит в том, чтобы посредством коротких курсов достичь показателей излечения, сопоставимых с теми, которые на-

блюдаются при использовании традиционных методов лечения.

С целью преодоления устойчивости возбудителя, снижения риска возникновения рецидивов и предотвращения осложнений, связанных с длительной антибиотикотерапией, в клинической практике применяется достаточно большой спектр разнообразных схем лечения бруцеллёза [44]. Ещё в 1986 г. ВОЗ выпустила рекомендации, действующие до настоящего времени, по применению доксициклина в сочетании с рифампицином или стрептомицином для лечения бруцеллёза человека [19]. Рядом исследователей показано, что комбинация доксициклина с рифампицином обеспечивает наибольшую терапевтическую эффективность при лечении бруцеллёза [32, 45]. Другие считают, что у больных острым бруцеллёзом данную комбинацию превосходит сочетание доксициклина или тетрациклина со стрептомицином [46–50]. Также установлено, что комплекс доксициклина и гентамицина является эффективной и хорошо переносимой терапией инфекции [27, 51]. Кроме вышеперечисленных схем, в настоящее время в терапии бруцеллёза используются сочетания других антибактериальных препаратов, таких как рифампицин с фторхинолонами или рифампицин с ко-тримоксазолом, доксициклин с соединением сульфаметоксазол/тобрамицин [3, 52–55].

М. Акова с соавт. [33] свидетельствуют о том, что эффективность комбинации офлоксацина с рифампицином в одинаковых условиях не уступала сочетанию доксициклина с рифампицином. По данным О. Karabay с соавт. [56], сочетанное применение офлоксацина с рифампицином при совпадающей степени эффективности имеет преимущества в более короткой продолжительности лечения, чем лечение доксициклином в сочетании с рифампицином. Однако стоимость курса офлоксацина с рифампицином выше, чем курса доксициклина с рифампицином. Поэтому, в случае ограниченных ресурсов, препаратами выбора между этими двумя схемами, по мнению авторов исследования, является комбинация доксициклина с рифампицином. Рядом авторов показано, что клинический ответ на сочетание ципрофлоксацина с рифампицином не отличается от эффективности доксициклина со стрептомицином, но с учётом стоимости указанных курсов классическое применение доксициклина со стрептомицином, по-прежнему, признано комбинацией препаратов первой линии. В качестве альтернативных методов второй линии названы сочетания доксициклина с рифампицином или офлоксацина с рифампицином [57, 58]. Также в случае невозможности использования вышеперечисленных препаратов предложено включать в комбини-

рованные схемы лечения цефалоспорины третьего поколения [55].

Исследования, посвящённые изучению синергических комбинаций антибактериальных препаратов, предназначенных для лечения бруцеллёза, осуществлялись рядом учёных. Так, S. Kilic с соавт. [59] сообщили о выраженной синергидной активности комплекса рифампицина с тетрациклином и рифампицина с триметопримом/сульфаметоксазолом. Также синергизм был обнаружен данными авторами у комбинаций ципрофлоксацина с триметопримом/сульфаметоксазолом, моксифлоксацина с тетрациклином и тетрациклина с триметопримом/сульфаметоксазолом. Антагонизм был зарегистрирован для нескольких штаммов при использовании тетрациклина со стрептомицином. В. Ozhak-Baysan с соавт. [9] показали, что синергизмом обладала только комбинация стрептомицина с рифампицином. Комбинации же рифампицина с доксициклином, стрептомицина с доксициклином, гентамицина с доксициклином, рифампицина с триметопримом/сульфаметоксазолом проявляли антагонистическую или индифферентную активность. Для полноценной интерпретации этих, иногда противоречивых данных, необходима дальнейшая работа, включающая рандомизированные контролируемые клинические испытания.

Применение различных вариантов лечения бруцеллёза с использованием двух или трёх антибактериальных препаратов не дают однозначных результатов в пользу того либо иного метода. В тоже время, высказываются мнения, что трёхлекарственная терапия превосходит по эффективности профилактики рецидивов двухлекарственную; но уступает ей в краткосрочности лечения [44, 60].

В настоящее время работы по совершенствованию антибактериальной терапии бруцеллёза развиваются в нескольких направлениях [28]. Усилия учёных направлены на создание новых антибиотиков и (или) поиск способов обеспечения проникновения имеющихся препаратов в макрофаги; разработку методов, повышающих активность антибактериальных препаратов в кислой внутриклеточной среде; поиск новых эффективных комбинаций антибактериальных препаратов, которые позволят надёжно предотвратить хронизацию болезни и появление рецидивов; подбор адекватной длительности лечения; подбор схем терапии, включающих недорогие препараты с пероральным способом применения; разработку методов оценки антибиотикочувствительности возбудителей бруцеллёза, способных максимально точно предсказать эффективность препаратов.

Санация организма хозяина от внутриклеточных патогенов, таких как возбудители бруцеллёза, осложнена, так как большинство антибак-

териальных препаратов, хотя и обладают высокой активностью *in vitro*, испытывают затруднение при преодолении клеточных мембран фагоцитарных клеток. Эта проблема, наряду с обеспокоенностью в связи с нарастающей множественной антибиотикорезистентностью бактерий, делает крайне актуальным направлением использования в лечении инфекционных болезней наноантибиотиков. Таким образом, важнейшим направлением совершенствования методов лечения бруцеллёза является поиск возможностей продления периода высвобождения антибиотиков с целью уменьшения их дозировки и снижения токсического влияния, а также разработка методов доставки лекарственных средств внутрь фагоцитарной клетки.

Предпринимаются попытки по изучению возможности инкапсулировать, инкорпорировать или даже конъюгировать биологически активные молекулы в различные семейства наноносителей, таких как липосомы или наночастицы, для внутриклеточной доставки антибиотиков и, следовательно, для лечения инфекций [61]. С целью повышения эффективности антибактериальной терапии предлагается использовать липосомальные комплексы. Так, при лечении экспериментального бруцеллёза доксициклином его включение в липосомы обеспечивает возможность замены инъекционного способа введения препарата пероральным. Применение азитромицина в липосомальной форме позволяет, не снижая терапевтической эффективности, уменьшить дозу антибиотика в два раза [62].

Установлено, что липосомальные формы меропенема и азитромицина имеют преимущество перед их свободными формами при лечении экспериментальной бруцеллёзной инфекции. Так, липосомальные антибактериальные препараты как при парентеральном, так и при пероральном пути их введения в организм позволяют достигать терапевтического эффекта в два раза меньшей дозе, чем доза свободного препарата [63]. На сегодняшний день уже накоплена информация, доказывающая перспективность использования нескольких классов антимикробных наночастиц и наноразмерных носителей при лечении инфекционных болезней [64]. Например, для усиления способности гентамицина проникать в фагоцитарную клетку предложено использование биоактивного гидрофобного носителя, обеспечивающего длительное высвобождение препарата [65, 66]. Установлено, что микроинкапсулированный гентамицин способен более эффективно бороться с внутриклеточными возбудителями бруцеллёза [67]. Применение макромолекулярных наноконструкций стрептомицина и доксициклина с анионными гомо-сополимерами и блок-сополимерами обеспечило улучшение показателей

эффективности терапии бруцеллёза по сравнению со свободными препаратами [68]. В опытах *in vivo* применение доксициклин-инкапсулированных твёрдых липидных наночастиц оказывало положительное воздействие на лечение хронического бруцеллёза и было рекомендовано для лечения бруцеллёза и предотвращения его рецидивов [69]. Применение наночастиц, нагруженных рифампицином, было эффективным в эксперименте на инфицированных бруцеллами мышечных фагоцитарных клетках [70]. Осуществляются работы по поиску новых терапевтических мишеней для лечения бруцеллёза [71]. Экспериментально доказано, что модификация кислой внутриклеточной среды фагоцитарных клеток, в которых находятся бруцеллы, может обеспечить повышение эффективности антибиотиков [27].

Представляют интерес результаты изучения влияния иммуномодуляторов на терапевтическую активность антибиотиков при лечении бруцеллёза. В частности, доказана возможность повышения эффективности этиотропной терапии инфекции посредством иммунокорректирующих препаратов глутоксима, ликопида и полиоксидония [72]. При лечении экспериментальной бруцеллёзной инфекции азитромицином или пefлоксацином установлено, что пероральное введение в организм биопробных животных липосомальных форм иммуномодуляторов (левamisола или ликопида) более эффективно, чем обработка их свободными формами [73]. Также в экспериментах *in vivo* показано, что лечение включёнными в общую липосомальную везикулу данными антибактериальными препаратами и иммуномодулятором (левamisолом или ликопидом), повышает эффективность этиотропной терапии, в сравнении с лечением свободными формами аналогичных препаратов при пероральном пути их введения в организм биопробных животных [74]. Хорошие результаты продемонстрировал левamisола (антигельминтное средство, обладающее также свойствами иммуномодулятора), включённый в схему классической антибактериальной терапии при лечении хронического бруцеллёза [75]. При бруцеллёзной инфекции мышцей отмечен терапевтический эффект, обусловленный применением в качестве иммуномодулятора линолевой кислоты [76].

Актуальным направлением совершенствования антибиотикотерапии бруцеллёза является поиск источников для создания новых антибактериальных препаратов. Так, отобран ряд растений, обладающих антибруцеллёзной активностью (*Salvia sclarea*, *Oliveria decumbens*, *Ferulago angulata*, *Vitex pseudo-negundo*, *Teucrium polium* и *Crocus sativus*). Синергидный эффект отмечен при комбинированном применении доксициклина или тетрациклина с экстрактом оливеры декум-

бенс [77]. Обнадёживающие результаты получены при оценке антибруцеллезной активности женьшеня. Так, показано, что различные фракции женьшеня ингибируют адгезию и проникновение возбудителей бруцеллеза в клетки [78], а также подавляют фагоцитарную активность и внутриклеточную репликацию бруцелл [79, 80]. Описаны и другие перспективные для борьбы с бруцеллезом растения, которые содержат биологически активные ингредиенты (флавоны, флавоноиды, антоцианы и танины). К таким представителям относятся *Teucrium polium*, *Scophularia deserti*, *Alhagi*, эвкалипт, чеснок и корни барбариса [81].

В современном мире — мире прогресса, передовых инновационных технологий и молекулярного конструирования, инфекционные болезни продолжают оставаться одной из самых больших проблем здравоохранения во всех странах. И даже, казалось бы, такие известные болезни, как бруцеллез, не отступают и требуют к

себе неусыпного внимания. По-прежнему актуальными остаются жизненно важные вопросы совершенствования средств и методов лечения и профилактики этой особо опасной болезни.

### Дополнительная информация

Статья ранее не была опубликована, а также не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при подготовке данной статьи.

**Вклад авторов.** [Щипелева И. А.] — подбор литературы для написания текста рукописи, разработка концепции статьи и интерпретации данных, написание и коррекция текста рукописи. Марковская Е. М. — участие в разработке концепции статьи и интерпретации данных, написание и коррекция текста рукописи. Кретенчук О. Ф. — участие в написании и коррекции текста рукописи.

## Литература/References

1. Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N., Christou L., Tsianos E. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis.* 2006; 6 (2): 91–99. doi: 10.1016/S1473-3099(06)70382-6.
2. Бруцеллёз. Современное состояние проблемы. Под ред. Г. Г. Онищенко, А. Н. Куличенко. Ставрополь: ООО «Губерния»; 2019. [Brucellosis. The current state of the problem. G.G. Onishchenko, A.N. Kulichenko. Stavropol: ООО «Gubernia»; 2019. (in Russian)]
3. Glowacka P., Rakowska D., Naylor K., Niemcewicz M., Bielańska-Dróżd A. Brucella — virulence factors, pathogenesis and treatment. *Pol J Microbiol.* 2018; 67 (2): 151–161. doi: 10.21307/pjm-2018-029.
4. МУК 4.2.3010-12 Порядок организации и проведения лабораторной диагностики бруцеллеза для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней. М.: 2012. [МУК 4.2.3010-12 Poryadok organizatsii i provedeniya laboratornoi diagnostiki brutselleza dlya laboratorii territorial'nogo, regional'nogo i federal'nogo urovnei. Moscow: 2012. (in Russian)]
5. Figueiredo P.D., Ficht T.A., Rice-Ficht A., Rossetti C.A., Adams L.G. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of Brucella-host interactions. *J Pathol.* 2015; 185 (6): 1505–17. doi: 10.1016/j.jpath.2015.03.003.
6. Bossi P., Tegnell A., Baka A., Van Loock F., Hendriks J., Werner A. et al. Bichat guidelines for the clinical management of brucellosis and bio-terrorism-related brucellosis. *Euro Surveill.* 2004; 15 (9 (12)): E15–16. doi: 10.2807/esm.09.12.00506-en.
7. Сыздыков М.С., Кузнецов А.Н., Дүйсенова А.К., Шевцов А.Б. Фенотипические свойства и чувствительность к антибактериальным препаратам клинических изолятов бруцелл, выделенных в Казахстане. *Вестник КазНМУ.* 2016; 3: 32–35. [Syzykov M.S., Kuznetsov A.N., Duseynova A.K., Shevtsov A.B. Fenotipicheskie svoistva i chuvstvitel'nost' k antibakterial'nym preparatam klinicheskikh izolyatov brutsell, vydelennykh v Kazakhstane. *Vestnik KazNMU.* 2016; 3: 32–35.]
8. Liu Z.G., Di D.D., Wang M., Liu R.H., Zhao H.Y., Piao D.R. et al. In vitro antimicrobial susceptibility testing of human *Brucella melitensis* isolates from Ulanqab of Inner Mongolia, China. *BMC Infect Dis.* 2018; 18 (1): 43. doi: 10.1186/s12879-018-2947-6.
9. Ozhak-Baysan B., Ongut G., Ogunc D., Gunseren F., Sepin-Ozen N., Ozturk F. et al. Evaluation of in vitro activities of tetracycline and various antibiotics against *Brucella* spp. *Polish journal of microbiology.* 2010; 59 (1): 55–60. doi: 10.33073/pjm-2010-008.
10. Bayram Y., Korkoca H., Aypak C., Parlak M., Cikman A., Kilic S. et al. Antimicrobial susceptibilities of *Brucella* isolates from various clinical specimens. *Int J Med Sci.* 2011; 8 (3): 198–202. doi: 10.7150/ijms.8.198.
11. Gutiérrez A.A., Díez Enciso M., Peña García P., Campos Bueno A. In vitro activity of N-formimidoyl thienamycin against 98 clinical isolates of *Brucella melitensis* compared with those of cefoxitin, rifampin, tetracycline, and co-trimoxazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 1982; 21 (3): 501–3. doi: 10.1128/AAC.21.3.501.
12. Shevtsov A., Syzykov M., Kuznetsov A., Shustov A., Shevtsova E., Berdimuratova K. et al. Antimicrobial susceptibility of *Brucella melitensis* in Kazakhstan. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2017; 6: 130. doi: 10.1186/s13756-017-0293-x.

13. Garcia-Rodriguez J.A., Garcia-Sanchez J.E., Trujillano I. Lack of effective bactericidal activity of new quinolones against *Brucella* spp. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991; 35: 756–759. doi: 10.1128/AAC.35.4.756.
14. Rubinstein E., Lang R., Shasha B., Hagar B., Diamantstein L., Joseph G. et al. In vitro susceptibility *Brucella melitensis* to antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991; 35 (9): 1925–1927. doi: 10.1128/AAC.35.9.1925.
15. Малецкая О.В. Эффективность некоторых новых антибиотиков при лечении экспериментального бруцеллеза. *Антибиотики и химиотер.* 2002; 47 (11): 4–7. [Maletskaya O.V. Effektivnost' nekotorykh novykh antibiotikov pri lechenii eksperimental'nogo brutselleza. *Antibiotiki i khimioter.* 2002; 47 (11): 4–7. (in Russian)]
16. Kocagöz S., Akova M., Altun B., Gür D., Haşçelik G. In vitro activities of new quinolones against *Brucella melitensis* isolated in a tertiary-care hospital in Turkey. *Clin Microbiol Infect.* 2002; 8 (4): 240–242. doi: 10.1046/j.1469-0691.2002.00416.x.
17. López-Merino A., Contreras-Rodríguez A., Migranas-Ortiz R., Orrantia-Gradín R., Hernández-Oliva G.M., Gutiérrez-Rubio A.T. et al. Susceptibility of Mexican brucella isolates to moxifloxacin, ciprofloxacin and other antimicrobials used in the treatment of human brucellosis. *Scand J Infect Dis.* 2004; 36 (9): 636–638. doi: 10.1080/00365540410020767.
18. Mc Devitt D.G. Ampicillin in the treatment of brucellosis. A controlled therapeutic trial. *Br J Ind Med.* 1970; 27: 67–71.
19. Turkmani A., Ioannidis A., Christidou A., Psaroulaki A., Loukaides F., Tselentis Y. In vitro susceptibility of *Brucella melitensis* isolates to eleven antibiotics. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2006; 5(1): 24. doi: 10.1186/1476-0711-5-24.
20. Alamian Saeed, Dadar Maryam, Etemadi Avshar, Davoud Afshar, Alamian Mohammad Mehdi. Antimicrobial susceptibility of *Brucella* spp. isolated from Iranian patients between 2016 and 2018. *Iran J Microbiol.* 2019; 11 (5): 363–367. doi: 10.18502/ijm.v11i5.1953.
21. Lang R., Dagan R., Potasman I., Einhorn M., Raz R. Failure of ceftriaxone in the treatment of acute brucellosis. *Clin Infect Dis.* 1992; 14 (2): 506–509. doi: 10.1093/clinids/14.2.506.
22. Baykam N., Esenin N., Ergonul O., Eren S., Shelikbas A.K., Dokuzoguz B. In vitro antimicrobial susceptibility of *Brucella* species. *Intern J Antimicrob Agents.* 2004; 23 (4): 405–407. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2003.09.024.
23. Marianelli C., Ciuchini E., Tarantino M., Pasquali P., Adone R. Genetic bases of the rifampin resistance phenotype in *Brucella* spp. *J Clin Microbiol.* 2005; 42 (12): 5439–5443. doi: 10.1128/JCM.42.12.5439-5443.2004.
24. Meng F., Pan X., Tong W. Rifampicin versus streptomycin for brucellosis treatment in humans: A meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS ONE* [serial online]. 2018; 3 (2): e0191993. doi: 10.1371/journal.pone.0191993.
25. Godefroid M., Svensson M.V., Cambier P., Uzureau S., Mirabella A., De Bolle X. et al. *Brucella melitensis* 16M produces a mannan and other extracellular matrix components typical of a biofilm FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2010; 20; 59 (3): 364–377. doi: 10.1111/j.1574-695X.2010.00689.x.
26. Nunan T.O., Eykyn S.J., Jones N.F. Brucellosis with mesangial IgA nephropathy: successful treatment with doxycycline and rifampicin. *Br Med J (Clin Res Ed.)*. 1984; 288 (6433): 1802. doi: 10.1136/bmj.288.6433.1802.
27. Pappas G., Solera J., Akritidis N., Tsianos E. New approaches to the antibiotic treatment of brucellosis. *Intern J Antimicrob Agents.* 2005; 26 (2): 101–105. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2005.06.001.

28. *Ranjbar M.* Treatment of brucellosis. Additional information is available at the end of the chapter. 2015; 171–184. doi: 10.5772/61093.
29. *Gómez-Reino F.J., Mateo I., Fuertes A., Gómez-Reino J.J.* Brucellar arthritis in children and its successful treatment with trimethoprim-sulphamethoxazole (co-trimoxazole). *Ann Rheum Dis.* 1986; 45 (3): 256–258. doi: 10.1136/ard.45.3.256.
30. Патент РФ на изобретение №2206898, 20.06.03. Малецкая О.В., Логвиненко О.В., Лямкин Г.И., Ляпустина Л.В., Соколова И.А. Способ контроля эффективности антибиотика при лечении бруцеллёза. Доступно по: javascript:load\_article(37914988). Ссылка активна на 12.06.2020. [Patent RUS №2206898, 20.06.03. Maletskaia O.V., Logvinenko O.V., Ljamkin G.I., Ljapustina L.V., Sokolova I.A. Method for control of antibiotic efficiency in treatment of brucellosis. Dostupno po: javascript:load\_article(37914988). Ssylka aktivna na 12.06.2020. (in Russian)]
31. *Al-Sibai M.B., Halim M.A., El-Shaker M.M., Khan B.A., Qadri S.M.* Efficacy of ciprofloxacin for treatment of *Brucella melitensis* infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992; 36 (1): 150–152. doi: 10.1128/AAC.36.1.150.
32. *Еренчина Э.Р., Эйсмонт А.Р., Утешева Н.М.* Этиотропная терапия острого бруцеллёза и эрадикация бруцелл. Вестник Казахского национального медицинского университета. 2015; 2: 237–240. [*Erenchina E.R., Eismont A.R., Utesheva N.M.* Etiotropnaya terapiya ostrogo brutselleza i eradikatsiya brutsell. Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo Meditsinskogo Universiteta. 2015; 2: 237–40.
33. *Akova M., Uzun O., Akalin H.E., Hayran M., Unal S., Gür D.* Quinolones in treatment of human brucellosis: comparative trial of ofloxacin-rifampin versus doxycycline-rifampin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37 (9): 1831–1834. doi: 10.1128/AAC.37.9.1831.
34. *Pappas G., Christou L., Akritidis N., Tsianos E.V.* Quinolones for brucellosis: treating old diseases with new drugs. *Clin Microbiol Infect.* 2006; 12 (9): 823–825. doi: 10.1111/j.1469-0691.2006.01442.x.
35. *Lang R., Shasha B., Rubinstein E.* Therapy of experimental murine brucellosis with streptomycin alone and in combination with ciprofloxacin, doxycycline, and rifampin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37 (11): 2333–2336. doi: 10.1128/aac.37.11.2333.
36. *Artan C., Özbal Y.* Comparison of the effectiveness of doxycycline and levofloxacin in an experimental model of mouse brucellosis. *Nobel medicus.* 2011; 7 (1): 56–60.
37. *Felek S., Demirdag K., Kalkan A., Akbulut A.* Therapeutic effects of rifampin and erythromycin in experimental murine brucellosis. *Clin Microbiol Infect.* 2000; 6 (2): 111–114. doi: 10.1046/j.1469-0691.2000.00016-4.x.
38. *Qadri S.M., Halim M.A., Ueno Y., Abumustafa E.M., Postle A.G.* Antibacterial activity of azithromycin against *Brucella melitensis*. *Chemotherapy.* 1995; 41 (4): 253–256. doi: 10.1159/000239353.
39. *Solera J., Beato J.L., Martínez-Alfaro E., Segura J.C., de Tomas E. et al.* Azithromycin and gentamicin therapy for the treatment of humans with brucellosis. *Clin Infect Dis.* 2001; 32: 506–509. doi: 10.1086/318503.
40. *Rizzo-Naudi J., Griscti-Soler N., Ganado W.* Human brucellosis: an evaluation of antibiotics in the treatment of brucellosis. *Postgrad Med J.* 1967; 43: 520–526. doi: 10.1136/pgmj.43.502.520.
41. *Salih S.B., Kharal M., Qaharani M., Dahneem L., Nohair S.* Acute interstitial nephritis induced by intermittent use of rifampicin in patient with brucellosis. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2008; 19 (3): 450–452.
42. *Abramson O., Abu-Rashid M., Gorodischer R., Yagupsky P.* Failure of short antimicrobial treatments for human brucellosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997; 41 (7): 1621–1622. doi: 10.1128/AAC.41.7.1621.
43. *Masoomeh Sofian M., Velayati A.A., Aghakhani A., McFarland W., Farazi A.A., Banifazl M. et al.* Comparison of two durations of triple-drug therapy in patients with uncomplicated brucellosis: A randomized controlled trial. *Scandinavian J Infect Dis.* 2014; 46 (8): 573–577. doi: 10.3109/00365548.2014.918275.
44. *Solis J., del Pozo G., Solers J.* Treatment of human brucellosis — a review of data from clinical trials. In book: Updates on brucellosis, Publisher: Intech, Ed. Manal Mohammad Baddou. 2015; 185–99. doi: 10.5772/61223.
45. *Taghvae M.R., Nozadi M.S., Hassani M.* Comparison between doxycycline-rifampin-amikacin and doxycycline-rifampin regimens in the treatment of brucellosis. *Indian J Med Sci.* 2011; 65 (10): 436–443.
46. *Ariza J., Gudíol F., Pallarés R., Rufi G., Fernández-Viladrich P.* Comparative trial of rifampin-doxycycline versus tetracycline-streptomycin in the therapy of human brucellosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985; 28 (4): 548–551. doi: 10.1128/AAC.28.4.548.
47. *Colmenero J.D., Fernández-Gallardo L.C., Agúndez J.A., Sedeño J., Benítez J., Valverde E.* Possible implications of doxycycline-rifampin interaction for treatment of brucellosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994; 38 (12): 2798–2802. doi: 10.1128/AAC.38.12.2798.
48. *Solera J., Rodríguez-Zapata M., Geijo P., Largo J., Paulino J., Sáez L. et al.* Doxycycline — rifampin versus doxycycline — streptomycin in treatment of human brucellosis due to *Brucella melitensis*. The GECMEI Group. Grupo de Estudio de Castilla-la Mancha de Enfermedades Infecciosas. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995; 39 (9): 2061–2067. doi: 10.1128/aac.39.9.2061.
49. *Cisneros J.M., Viciano P., Colmenero J., Pachón J., Martínez C., Alarcón A.* Multicenter prospective study of treatment of *Brucella melitensis* brucellosis with doxycycline for 6 weeks plus streptomycin for 2 weeks. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 34 (5): 881–883. doi: 10.1128/AAC.34.5.881.
50. *Mani S.S.R., Gunasekaran K., Iyyadurai R., Prakash J.A.J., Veeraraghavan B., Mishra A.K. et al.* Clinical spectrum, susceptibility profile, treatment and outcome of culture-confirmed brucellosis from South India. *Indian J Med Microbiol.* 2018; 36 (2): 289–292. doi: 10.4103/ijmm.IJMM\_18\_236.
51. *Solera J., Espinosa A., Martínez-Alfaro E., Sánchez L., Geijo P., Navarro E. et al.* Treatment of human brucellosis with doxycycline and gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997; 41 (1): 80–84. doi: 10.1128/AAC.41.1.80.
52. *Skalsky K., Yahav D., Bishara J., Pitlik S., Leibovici L., Paul M.* Treatment of human brucellosis: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ.* 2008; 336 (7646): 701–704. doi: 10.1136/bmj.39497.500903.25.
53. *Unuvar G.K., Kilic A.U., Doganay M.* Current therapeutic strategy in osteoarticular brucellosis. *North Clin Istanbul.* 2019; 6 (4): 415–420. doi: 10.14744/nci.2019.05658.
54. *Llorens-Terol J., Busquets R.M.* Brucellosis treated with rifampicin. *Arch Dis Child [serial online].* 1980; 55 (6): 486–488. doi: 10.1136/adc.55.6.486.
55. *Liu Z., Shen T., Wei D., Yu Y., Huang D., Guan P.* Analysis of the epidemiological, clinical characteristics, treatment and prognosis of human brucellosis during 2014–2018 in Huludao, China. *Infect Drug Resist.* 2020; 13: 435–445. doi: 10.2147/IDR.S236326.
56. *Karabay O., Sencan I., Kayas D., Sahin I.* Ofloxacin plus rifampicin versus doxycycline plus rifampicin in the treatment of brucellosis: a randomized clinical trial. *BMC Infect Dis.* 2004; 4 (1): 18. doi: 10.1186/1471-2334-4-18.
57. *Alp E., Koc R.K., Durak A.C., Yildiz O., Aygen B., Sumerkan B. et al.* Doxycycline plus streptomycin versus ciprofloxacin plus rifampicin in spinal brucellosis. *BMC Infect Dis.* 2006; 6 (1): 72. doi: 10.1186/1471-2334-6-72.
58. *Hashemi S.H., Gachkar L., Keramat F., Mamani M., Hajilooi M., Janbakhsh A. et al.* Comparison of doxycycline-streptomycin, doxycycline-rifampin, and ofloxacin-rifampin in the treatment of brucellosis: a randomized clinical trial. *Int J Infect Dis.* 2012; 16 (4): 247–251. doi: 10.1016/j.ijid.2011.12.003.
59. *Kilic S., Dizbay M., Hizel K., Arman D.* *In vitro* synergistic activity of antibiotic combinations against *Brucella melitensis* using E-test methodology. *Braz J Microbiol.* 2008; 39 (2): 233–237. doi: 10.1590/S1517-83822008000200006.
60. *Alavi S.M., Alavi L.* Treatment of brucellosis: a systematic review of research over the past twenty years. *Caspian J Intern Med.* 2013; 4 (2): 636–641.
61. *Abed N., Couvreur P.* Nanocarriers for antibiotics: a promising solution to treat intracellular bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents.* 2014; 43 (6): 485–496. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.02.009.
62. *Исмаилова Г.К., Жилченко Е.Б., Ефременко Д.В., Головченко Т.В., Малецкая О.В., Одинец А.В. и др.* Эффективность применения липосомальных форм антибиотиков при лечении некоторых инфекционных заболеваний в эксперименте. Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2007; 1 (21): 69–72. [*Ismailova G.K., Zhilchenko E.B., Efremenko D.V., Golovchenko T.V., Maletskaia O.V., Odinets A.V. et al.* Efficiency of liposomal antibiotics in treatment of experimental infectious diseases. *Journal Volgograd State Medical University.* 2007; 1 (21): 69–72. (in Russian)]
63. *Малецкая О.В., Таран Т.В., Ефременко В.И., Лямкин Г.И., Мисетова Е.Н., Умнов А.В. и др.* Новые подходы к лечению бруцеллёза. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2003; 6: 34–36. [*Maletskaia O.V., Taran T.V., Yefremenko V.I., Lyamkin G.I., Misetova Ye.N., Umnov A.V. et al.* New approaches to treating brucellosis *Epidemiology and Infectious Diseases.* 2003; 6: 34–36. (in Russian)].
64. *Ха А.Л., Квон У.Л.* «Nanoantibiotics»: a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *J Control Release.* 2011; 156 (2): 128–145. doi: 10.1016/j.jconrel.2011.07.002.
65. *Lecaroz M.C., Blanco-Prieto M.J., Campanero M.A., Salman H., Gamazo C.* Poly (D,L-lactide-coglycolide) particles containing gentamicin: pharmacokinetics and pharmacodynamics in *Brucella melitensis*-infected mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51 (4): 1185–1190. doi: 10.1128/AAC.00809-06.
66. *Imbuluzqueta E., Elizondo E., Gamazo C., Moreno-Calvo E., Veciana J., Ventosa N. et al.* Novel bioactive hydrophobic gentamicin carriers for the treatment of intracellular bacterial infections. *Acta Biomater.* 2011; 7 (4): 1599–1608. doi: 10.1016/j.actbio.2010.11.031.
67. *Prior S., Gander B., Lecaroz C., Irujo J.M., Gamazo C.* Gentamicin-loaded microspheres for reducing the intracellular *Brucella abortus* load in infected monocytes. *Antimicrob Chemother.* 2004; 53 (6): 981–988. doi: 10.1093/jac/dkh227.
68. *Seleem M.N., Jain N., Pothayee N., Ranjan A., Riffle J.S., Sriranganathan N.* Targeting *Brucella melitensis* with polymeric nanoparticles containing streptomycin and doxycycline. *FEMS Microbiol Lett.* 2009; 294 (1): 24–31. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01530.x.
69. *Hosseini S.M., Farmany A., Abbasalipourkabir R., Asl S.S., Nourian A., Arabestani M.R.* Doxycycline-encapsulated solid lipid nanoparticles for the enhanced antibacterial potential to treat the chronic brucellosis and preventing its relapse: *in vivo* study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2019; 18 (1): 33. doi: 10.1186/s12941-019-0333-x.

70. *Bodaghabadi N., Hajjigholami S., Vaise Malekshahi Z., Entezari M., Najafi F., Shirzad H. et al.* Preparation and evaluation of rifampicin and co-trimoxazole-loaded nanocarrier against *Brucella melitensis*. *Infection*. Iran Biomed J. 2018; 22 (4): 275–282. doi: 10.22034/ibj.22.4.275.
71. *Smith J.A., Khan M., Magnani D.D., Harms J.S., Durward M., Radhakrishnan G.K.* Brucella induces an expanded protein response via TcpB, which supports intracellular replication in macrophages. *PLoS Path [serial online]*. 2013; 9 (12): e1003785. doi: 10.1371/journal.ppat.1003785.
72. *Малецкая О.В.* Влияние иммуномодулирующих препаратов на эффективность этиотропной терапии при экспериментальном хроническом бруцеллёзе. *Иммунология*. 2003; 24 (3): 182–184. [*Maletskaya O.V.* The influence of immune-modulating drugs on the efficiency of etiotropic therapy in an experimental chronic brucellosis. *Immunology*. 2003; 24 (3): 182–184. (in Russian)].
73. Патент РФ на изобретение №2239416/ 10.10.04. Малецкая О.В., Ефременко В.И., Таран Т.В., Лямкин Г.И., Ляпустина Л.В., Соколова И.А. Способ лечения бруцеллёза. Доступно по: javascript:load\_article(37929353). Ссылка активна на 12.06.2020. [Patent RUS №2239416/ 10.10.04. Maletskaya O.V., Taran T.V., Efremenko V.I., Ljamkin G.I., Sokolova I.A., Ljapustina L.V. Method for treatment of brucellosis. Dostupno po: javascript:load\_article(37929353). Sылka aktivna na 12.06.2020. (in Russian)]
74. Патент РФ на изобретение №2234311/ 20.08.04. Малецкая О.В., Таран Т.В., Ефременко В.И., Лямкин Г.И., Соколова И.А., Ляпустина Л.В. Способ лечения бруцеллёза. Доступно по: javascript:load\_article(37929353). Ссылка активна на 12.06.2020. [Patent RUS №2234311/ 20.08.04. Maletskaya O.V., Taran T.V., Efremenko V.I., Ljamkin G.I., Sokolova I.A., Ljapustina L.V. Method for treatment of brucellosis. Dostupno po: javascript:load\_article(37929353). Sылka aktivna na 12.06.2020. (in Russian)]
75. *Irmak H., Buzgan T., Karahocagil M.K., Evirgen O., Akdeniz H., Demiröz A.P.* The effect of levamisole combined with the classical treatment in chronic brucellosis. *Tohoku J Exp Med*. 2003; 201 (4): 221–228. doi: 10.1620/tjem.201.221.
76. *Reyes A.W.B., Vu S.H., Huy T.X.N., Min W., Lee H.J., Chang H.H. et al.* The modulatory effect of linoleic acid during *Brucella abortus* 544 infection in a murine macrophage RAW264.7 cell and a murine model BALB/c mice. *Microb Pathog*. 2018; 119: 255–259.
77. *Motamedi H., Darabpour E., Gholipour M., Seyyed Nejad S.M.* In vitro assay for the anti-Brucella activity of medicinal plants against tetracycline-resistant *Brucella melitensis*. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2010; 11 (7): 506–511. doi: 10.1631/jzus.B0900365.
78. *Arayan S.T., Simborio H.L., Reyes A.W., Hop H.T., Min W., Li H.J.* The effect of red ginseng-a saponin fraction (RGSF-a) on phagocytosis and intracellular signaling in Brucella abortus infected RAW 264.7 cells. *FEMS Microbiology Letters [serial online]*. 2015 June; 362 (11). doi: 10.1093/femsle/fnv070.
79. *Reyes A.W., Simborio H.L., Hop H.T., Arayan L.T., Min W.G., Lee H.J. et al.* Inhibiting effect of red ginseng acid polysaccharide from Korean red ginseng on phagocytic activity and intracellular replication of Brucella abortus in raw 264.7 cells. *J Vet Sci*. 2016; 17 (3): 315–321. doi: 10.4142/jvs.2016.17.3.315.
80. *Huy T.X., Reyes A.W., Hop H.T., Arayan L.T., Min W., Li H.J.* Intracellular modulation of ginsenoside Rg3 trafficking inhibits the uptake of abortus Brucella and intracellular survival within raw 264.7 cells. *J Microbiol Biotechnol*. 2017; 27 (3): 616–623. doi: 10.4014/jmb.1609.09060.
81. *Naghdi N., Hassanzadazar H., Delpisheh A.* The most important medicinal plants for the treatment of brucellosis. *J Prev Epidemiol*. 2016; 1 (2): e30.

## Информация об авторах

**Щипелева Ирина Александровна** — к. б. н., начальник научного отдела — учёный секретарь, ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-6263-8155. eLIBRARY SPIN-код: 4067-8591, Scopus Author ID: 22958485500

**Марковская Елена Ивановна** — к. м. н., старший научный сотрудник, ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-5360-951X

**Кретенчук Оксана Фёдоровна** — к. б. н., старший научный сотрудник, ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-5299-0243, eLIBRARY SPIN-код: 6275-4113.

## About the authors

**Irina A. Shchipeleva** — Ph. D. in biology, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-6263-8155. eLIBRARY SPIN: 4067-8591, Scopus Author ID: 22958485500

**Elena I. Markovskaya** — Ph. D. in medicine, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-5360-951X

**Oksana F. Kretenchuk** — Ph. D. in biology, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-5299-0243, eLIBRARY SPIN: 6275-4113.

# К 80-летию создания грамицидина С: от изучения асимметрии бактериальных молекул к открытию антимикробных пептидов

\*Б. Г. АНДРЮКОВ<sup>1,2</sup>, Н. Н. БЕСЕДНОВА<sup>1</sup>, Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора Российской Федерации, Владивосток, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБНУ «Дальневосточный филиал государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины» МО РФ, Владивосток, Российская Федерация

## To the 80<sup>th</sup> Anniversary of Gramicidin C Creation: From the Study of the Asymmetry of Bacterial Molecules to the Discovery of Antimicrobial Peptides

\*BORIS G. ANDRYUKOV<sup>1,2</sup>, NATALIA N. BESEDNOVA<sup>1</sup>, TATYANA S. ZAPOROZHETS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russian Federation

<sup>2</sup> Far Eastern Branch of the State Research and Testing Institute of Military Medicine, Vladivostok, Russian Federation

### Резюме

В 1942 г. Г. Ф. Гаузе и М. Г. Бражникова создали один из первых в Советском Союзе антибиотиков — грамицидин С. С этого же года его стали успешно использовать во фронтовых госпиталях при лечении осложнений раневых инфекций. Благодаря ему были спасены жизни сотен тысяч солдат и офицеров. Грамицидин С прошёл проверку временем, и в наши дни этот антибиотик эффективно используется при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний и гнойных ран. В связи с этим, 80-летний юбилей — хороший повод вспомнить об истории создания этого пептидного антибиотика, в основе бактерицидного действия которого лежит наличие у бактерий-продуцентов D-изомера аминокислоты фенилаланина. Однако в настоящее время в повестке дня актуальны исследования способов преодоления распространяющейся резистентности к антибиотикам у бактерий, а также поиск альтернативных антимикробных стратегий. По этой причине уместно напомнить, что изучение молекулярной структуры грамицидина С дало толчок не только к открытию целого семейства циклических пептидных антибиотиков, но и обнаружению способности различных организмов к нерибосомальному синтезу биологически активных пептидов, содержащих D-аминокислоты с выраженным антимикробным действием. Их разработка уже в наши дни является жизненно необходимой задачей, а использование пептидов считается реальной и многообещающей альтернативой традиционным антибиотикам. Таким образом, полученный на заре эры антибиотиков грамицидин С стал предвестником рождения принципиально новой и перспективной антимикробной стратегии.

**Ключевые слова:** грамицидин С; Г. Ф. Гаузе; М. Г. Бражникова; пептидные антибиотики; асимметрия клеточных биомолекул; D-аминокислоты; антибиотикорезистентность; антимикробные пептиды (АМР)

**Для цитирования:** Андрюков Б. Г., Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С. К 80-летию создания грамицидина С: от изучения асимметрии бактериальных молекул к открытию антимикробных пептидов. *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 3–4: 85–92. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-85-92.

### Abstract

In 1942, G. F. Gause and M. G. Brazhnikova created one of the first antibiotics in the Soviet Union — gramicidin C. In the same year, its successful use started in front-line hospitals in the treatment of complications of wound infections. Thanks to it, the lives of hundreds of thousands of soldiers and officers were saved. Gramicidin C has passed the test of time, and today this antibiotic is effectively used in the treatment of infectious and inflammatory diseases, as well as purulent wounds. In this regard, the 80<sup>th</sup> anniversary is a good reason to recall the history of the creation of this peptide antibiotic possessing bactericidal action based on the presence of the D-isomer of the amino acid phenylalanine in the producing bacteria. However, the study of ways to overcome the spreading antibiotic resistance in bacteria, as well as the search for alternative antimicrobial strategies are currently on the agenda. For this reason, it is appropriate to recall that the study of the molecular structure of gramicidin C gave impetus not only to the discovery of a whole family of cyclic peptide antibiotics, but also to the discovery of the ability of various organisms to nonribosomal synthesis of biologically active peptides containing D-amino acids with a pronounced antimicrobial effect. Their development is already a vital task today, and the use of peptides is considered a real and promising alternative to traditional antibiotics.

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: ул. Сельская, д. 1, НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, г. Владивосток, 690087. E-mail: andrukov\_bg@mail.ru

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 1 Selskaya st., G.P.Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, 690087 Russian Federation. E-mail: andrukov\_bg@mail.ru

Thus, gramicidin C, obtained at the dawn of the era of antibiotics, became a harbinger of the birth of a fundamentally new and promising antimicrobial strategy.

**Keywords:** gramicidin C, G. F. Gause, M. G. Brazhnikova, peptide antibiotics, asymmetry of cellular biomolecules, D-amino acids, antibiotic resistance, antimicrobial peptides (AMPs)

**For citation:** Andryukov B. G., Besednova N. N., Zaporozhets T. S. To the 80<sup>th</sup> anniversary anniversary of gramicidin C creation: from the study of the asymmetry of bacterial molecules to the discovery of antimicrobial peptides. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 3–4: 85–92. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-85-92.

## Введение

Вторая четверть XX века была отмечена значительными успехами биологических наук, которые в содружестве с другими дисциплинами, прежде всего, экологией, математикой, физикой и химией способствовали накоплению научных знаний. В ряду замечательных открытий этого исторического периода особая роль принадлежит достижениям в культивировании микроорганизмов и микробиологической систематике, доказательствам их ключевой роли в экологии, а также работам А. Флеминга, З. Ваксмана, Э. Чейни, Х. Флори и Р. Дюбо, определивших начало наступления новой эры антибиотиков [1–4].

Конечно, эра антибиотиков возникла не внезапно и не на пустом месте. Доказательством тому является вся предшествующая история микробиологии, включая фундаментальные кристаллографические исследования молекулярной хиральности бактериальных клеток Л. Пастера, а также работы П. Эрлиха по систематическому скринингу химических веществ на наличие у них необходимых для химиотерапевтических препаратов свойств [5, 6]. Стала известна тысячелетняя традиционная медицинская практика использования антимикробных средств в Древнем Египте и на Ближнем Востоке, а также Китае и Индии, где были давно открыты антимикробные свойства плесени и некоторых растений [7, 8]. Кроме того, в пользу многовековой истории существования антимикробных субстанций свидетельствует и обнаружение генов устойчивости к антибиотикам в микроорганизмах, циркулирующих в человеческой популяции ещё задолго до появления первых антимикробных препаратов [7]. Например, молекулярный филогенез многих генов устойчивости, расположенных на мобильных генетических элементах (плазмидах и интегронах), установил, что появление этих локусов произошло более миллиона лет назад, а их передача и получение различными видами бактерий давали последним определённое эволюционное преимущество [9–11].

Появление принципиально нового типа лечебных препаратов — антибиотиков — открыло широкие перспективы для лечения инфекционных заболеваний. Вслед за созданием пеницил-

лина последовали открытия стрептомицина, сульфаниламидов и тиротрицина, которые быстро доказали свою эффективность в лечении туберкулёза и кокковых инфекций [7, 8].

В многолетней борьбе человечества и патогенных бактерий принимали активное участие и отечественные учёные. Ещё в 1872 г. врач-дерматолог А. Г. Полотебнов описал антибактериальную активность плесени, указав на перспективность её использования для лечения гнойных ран. Советские микробиологи Н. А. Красильников и А. И. Коренько в 1939 г. открыли первый в мире актиноциклетный антибиотик мицетин. Наконец, З. В. Ермольева с коллегами в 1942 г. получили первый отечественный грибковый антибиотик — пенициллин (крустоцин), отлично проявивший себя в период Великой Отечественной войны и превосходивший по эффективности зарубежный аналог [7, 8, 12].

Однако целью настоящего обзора является обсуждение другого достижения отечественной науки — создание в 1942 г. Г. Ф. Гаузе и М. Г. Бражниковой первого в стране пептидного антибиотика бактериального происхождения грамицидина С. Этот антимикробный препарат успешно проявил себя во фронтовых госпиталях при лечении гнойных осложнений ран и уже в течение 80 лет с успехом применяется для лечения кокковых инфекций. Изучение молекулярной структуры грамицидина С дало толчок не только к открытию целого семейства циклических бактериальных антибиотиков, но и позднее к обнаружению способности различных организмов к синтезу антимикробных пептидов (АМП), содержащих D-аминокислоты [12, 13].

Применение АМП в период нарастающей антибиотикорезистентности патогенных бактерий, ставшей одной из главных проблем современного здравоохранения, и в условиях угрозы наступления пост-антибиотической эры, является перспективной антимикробной стратегией, альтернативой использованию традиционных антибиотиков. Обнаружение и применение этих пептидов является ярким продолжением истории создания и изучения стереометрических основ структуры и бактерицидных механизмов действия грамицидина С, а также всего класса пептидных бактериальных антибиотиков.



## История создания и изучения грамицидина С

По воспоминаниям профессора Я. М. Галла, в получении и последующем изучении структуры и механизмов действия грамицидина С сыграли роль несколько факторов, предопределивших феноменальный успех его применения [3, 4].

Ключевую роль, на наш взгляд, сыграл чрезвычайно продуктивный союз двух замечательных учёных-супругов — эколога-эволюциониста Г. Ф. Гаузе и микробиолога М. Г. Бражниковой, которые в процессе создания грамицидина С, а также в последующие годы проявили себя незаурядными и талантливыми исследователями-экспериментаторами. Приобретённый опыт, помноженный на удачное сочетание фундаментальных теоретических, экспериментальных и практических исследований, позволил им и в годы войны, и в послевоенный период определять основные векторы технологии создания новых пептидных циклических антибиотиков в нашей стране [3, 4, 12, 13].

Широта научных интересов Георгия Францевича Гаузе впечатляла не только современников, коллег-учёных, но и многочисленных учеников, а также исследователей его научного наследия. Пытаясь разделить неразделимое, они рассматривали экспериментальные и теоретические работы этого гениального учёного в связи с трансформацией его научных интересов (от экологии к изучению асимметричности биомолекул в бактериальной протоплазме, а затем к открытию и изучению антибиотиков), хотя сам Г. Ф. Гаузе считал эту смену вполне логичной: «Антибиотики играют важную экологическую роль, защищая микроорганизмы в борьбе за ресурсы» (цит. по [3]).

Действительно, совмещение этих разных биологических направлений, применительно к современной эволюционной концепции множеств межвидовых взаимодействий в микробных сообществах, выглядит вполне последовательным [14]. Однако гениальность Г. Ф. Гаузе состоит в том, что он увидел логичность этой связи ещё в 30–40-х годах прошлого века, когда свойства и динамика микробных сообществ во временных масштабах традиционно считались чисто экологическими категориями [14, 15]. Мало того, в те же годы совместно с А. А. Витте он впервые заложил основы современного математического моделирования при изучении эволюции бактериальных сообществ, обозначив сходства и различия между эволюционными и экологическими подходами [3, 14–16].

Такие же подходы Г. Гаузе использовал для изучения конкурентного взаимодействия микроорганизмов, асимметрии протоплазмы бактерий и механизма действия пептидных антибиотиков [17–19]. Разные разделы биологических наук он рассматривал с единой эколого-эволюцион-

ной точки зрения, показав, что два совместно существующих вида микроорганизмов не могут занимать одну и ту же экологическую нишу, имея одинаковые потребности [18, 20]. Такое смелое для 30-х годов XX века утверждение послужило отправной точкой для перехода Г. Ф. Гаузе к изучению механизмов действия антибиотиков, очевидность которого проявилась в экспериментах по макромолекулярной асимметрии протоплазмы бактерий, проводимых им в биохимической лаборатории Политехнического музея [19, 21–23].

В этих исследованиях были подтверждены стереоизометрические теоретические суждения Л. Пастера об асимметрии (хиральности — от *греч. χειρ* — «ладонь») биомолекул в клетках бактерий, а также установлена универсальность и принципиальность этой характеристики для живого мира. В наши дни феномен хиральной чистоты биомолекул считается одним из фундаментальных свойств протистов и эукариот, в значительной степени, по отношению к аминокислотам и нуклеиновым кислотам [24, 25]. Такое разделение обеспечивает, в частности, строгое соблюдение одного из основных принципов генетики: «Направление передачи информации внутри организма всегда идёт только в одном направлении от ДНК к белкам» [25].

Гаузе установил, что возникновение оптической активности, связанной с переходом от рацематной протоплазмы (с равным количеством среди биомолекул D- и L-изомеров) к асимметричной (где количество D- и L-изомеров никогда не бывает равным), является прогрессивным биологическим явлением, поскольку даёт существенные эволюционные и конкурентные преимущества клеточным структурам [18, 21, 22]. Кроме того, феномен биологической асимметричности макромолекул обеспечивает протекание каталитических биохимических процессов в клетках живых систем [21, 22].

Примерами хиральности (асимметрии зеркального отражения) в бактериальных клетках являются наличие в системе трансляции только L-изомеров аминокислот (за исключением глицина), а в нуклеиновых кислотах — только D-(P-D-) рибоз-углеводов. Заслуга Гаузе заключается в том, что он представил доказательство значения асимметрии в экологическом аспекте и дал определение эволюционной важности хиральности для функционирования живых систем [25, 26].

В частности, им было установлено доминирование в биологических системах L-изомеров аминокислот. Однако показано, что возможное присутствие D-аминокислот изменяло биологические свойства вторичных метаболитов бактерий, выполняющих антагонистические функции в конкурентных межвидовых отношениях с другими микроорганизмами [25, 27–29]. Следовательно, получение и терапевтическое применение этих метаболитов

для борьбы с патогенными бактериями равносильно использованию природных эволюционных антагонистических процессов, отработанных прокариотами в течение миллионов лет [25, 27, 28].

Стереоизометрические выводы об асимметрии приобрели иной смысл и значение после открытия в 1940 г. французским микробиологом Рене Дюбо (René Jules Dubos) первого терапевтического пептидного антибиотика — тиротрицина, полученного из почвенного штамма бактерии *Bacillus brevis*. Новый антибиотик проявлял выраженные бактерицидные свойства в отношении грамположительных бактерий (стафилококков и стрептококков), а его открытие стало заметным событием в медицине того времени [3, 4, 12].

На первый взгляд, этот факт круто изменил вектор последующих научных интересов Г. Ф. Гаузе, однако, по существу, он стал блестящим практическим подтверждением выводов его предшествующих стереометрических экспериментов. Они объясняли биохимический и молекулярный механизмы бактерицидных свойств нового пептидного антибиотика из бактерий, как оказалось, имеющего в своей структуре «извращённые» D-изомеры аминокислоты фенилаланина (D-фенилаланина) [4, 12]. По мнению профессора Я. М. Галла, «Сама судьба подготовила Гаузе к тому, чтобы стать одной из важнейших мировых фигур в области изучения антибиотиков» [3, 12].

Изучение химического строения тиротрицина позволило раскрыть его полипептидную природу и установить, что он обладал линейной структурой и имел в своём составе две фракции: тироцидин и грамицидин. Последняя составляла не более 15%, но именно эта фракция опосредовала бактерицидную активность нового антибиотика. Однако её выделение в чистом виде было связано с технологическими трудностями и низким выходом препарата (около 40 мг/л бактериальной культуры) [3].

В создании нового антибиотика Г. Гаузе и М. Бражникова использовали другой серовар почвенной бактерии, позже названный их именем — *Bacillus brevis* var. *Gause-Brajnikova*, которая являлась обитателем подмосковных почв [17, 23]. Новый бактериальный штамм-продуцент обеспечивал выход кристаллического грамицидина до 300 мг/л, а выделенный антимикробный препарат не содержал тироцидиновой фракции [3].

Первый отечественный пептидный антибиотик, полученный в 1942 г. практически в лабораторных условиях, получил название грамицидин С (грамицидин советский). В отличие от своего



**Рис. 1. Грамицидин С, полученный в полузаводских условиях Г. Ф. Гаузе и М. Г. Бражниковой в 1942 г., сразу прошел клинические испытания в условиях фронтовых госпиталей, которые показали его высокую эффективность**

**Fig. 1. Gramicidin C, obtained in semi-factory conditions by G. F. Gause and M. G. Brazhnikova in 1942, immediately passed clinical trials in front-line hospitals, which showed its high efficiency.**

французского аналога, новый антибиотик имел циклическую структуру и расширенный спектр бактерицидного действия (рис. 1) [17, 23].

Клинические испытания нового препарата прошли в этом же году, в условиях фронтовых госпиталей, и показали его высокую терапевтическую эффективность, превосходившую тиротрицин Р. Дюбо [3, 12]. Грамицидин С обладал выраженным бактериостатическим действием на возбудителей анаэробной, менингококковой и гонококковой инфекций, а в высоких дозах оказывал бактерицидный эффект в отношении *Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp., а также был эффективен при лечении раневых инфекций. В короткие сроки его удалось внедрить в практическую военную хирургию, и уже через год он стал широко использоваться как во фронтовых и тыловых госпиталях, так и в медико-санитарных батальонах для лечения раневых инфекций [3, 17, 20, 23].

Результаты первых клинических наблюдений за ранеными, прошедшими курс лечения грамицидином С, были доложены и обсуждены в 1943 г. на конференции в Военно-медицинской академии. Они содержали подробный анализ микробиологических, цитологических и клинических данных, обзор отдалённых последствий лечения, всестороннюю оценку антибактериальных биомедицинских свойств препарата, а также высокие оценки военных хирургов и терапевтов [17].

Так творческий и семейный союз теоретика-эволюциониста Г. Ф. Гаузе и микробиолога М. Г. Бражниковой позволил очень быстро получить важные практические результаты и общественное признание в виде присуждения его создателям Сталинской премии третьей степени в 1946 г. Отечественная и мировая медицина полу-

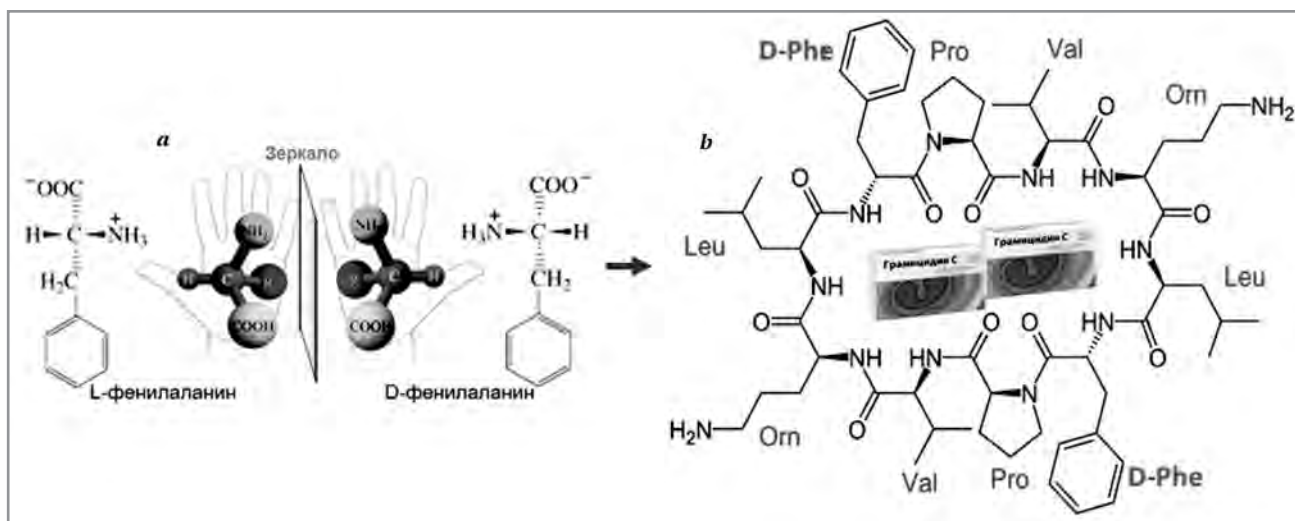


Рис. 2. Доминирование в биологических системах L-аминокислот (асимметрия зеркального отражения) является фундаментальным признаком живых систем (а). Однако возможное присутствие «извращённых» D-изомеров аминокислот (b) является ключевым условием, опосредующим бактерицидные свойства пептидного антибиотика грамицидина С.

Fig. 2. The dominance of L-amino acids in biological systems (mirror reflection asymmetry) is a fundamental feature of living systems (a). However, the possible presence of «false» D-isomers of amino acids (b) is a key condition mediating the bactericidal properties of the peptide antibiotic gramicidin C.

чили высокоэффективный первый пептидный антибиотик грамицидин С, который в 1979 г. на международной итоговой конференции, проводимой при поддержке Американского института истории фармацевтики, был назван в числе трёх (наряду с пенициллином и стрептомицином) важнейших антибиотиков [3, 12].

### Грамицидин С — современное продолжение истории: от хиральности аминокислот бактериальных клеток — к выделению антимикробных пептидов

Работая над созданием грамицидина С, Г. Ф. Гаузе убедился в правоте своих эколого-популяционных теоретических концепций о роли антибиотиков в эволюции микромира. Показательна в этом смысле одна из его статей с красноречивым названием: «Борьба за существование у микробов на службе лечения ран», опубликованная в 1943 г. [19], в которой он впервые показал, что наличие в структуре «извращённого» D-изомера является ключевым условием, опосредующим бактерицидные свойства всех пептидных антибиотиков (рис. 2) [19, 21].

В послевоенные годы эта важнейшая концепция стала теоретической основой для изучения структуры грамицидина С и поиска продуцентов новых антибиотиков, а также систематизации полученных результатов его клинического применения [22, 23].

Результаты последующих открытий пептидных бактериальных антибиотиков и изучение механизмов их действия блестяще подтвердили теорию Гаузе об их роли в качестве внеклеточных бактериальных эффекторов, своего рода оружия в межвидовой борьбе за существование в мире прокариот. В послевоенные годы, под руководством Г. Ф. Гаузе и при непосредственном участии М. Г. Бражниковой, в лабораториях Всесоюзного научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков АМН СССР было создано множество новых антибактериальных, противовирусных (мономицин, ристомицин, линкомицин, канамицин, гелиомицин) и противоопухолевых (оливомицин, брунеомицин, рубомицин, карминомицин, блеомицин А5) препаратов [3, 12, 22, 23]. Многие из них длительно и эффективно использовались в клинической практике [3, 12].

Таким образом, создание новых пептидных антибиотиков стало естественным продолжением прежних исследований Г. Ф. Гаузе по экологии и теории эволюции микроорганизмов, которые стали своего рода фундаментом для дальнейшего поиска продуцентов новых антимикробных средств. Современными источниками для разработки новых антибиотиков являются D-аминокислоты бактерий и других организмов — внеклеточные эффекторы нового типа. Для их внутриклеточного производства бактерии используют нерибосомальный синтез и посттрансляционные модификации, а в дальнейшем применяют его для ремоделирования клеточной стенки, в межклеточной коммуникации и адаптации к изменяющимся условиям среды обитания [24–26].

Благодаря применению современных молекулярных методов стала понятна важная роль D-изомеров аминокислот в жизни бактериальных клеток. Помимо внеклеточной эффекторной секреции в качестве пептидных агентов для межвидового взаимодействия, эти «извращённые» биомолекулы используются бактериями для синтеза пептидогликана собственной мембраны (D-аланин, D-глутамат и несколько неканонических аминокислот) [25, 27, 28].

В 2018 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) опубликовала приоритетный список устойчивых к антибиотикам бактерий, чтобы стимулировать исследования и разработку эффективных лекарств против этих патогенов [30]. Однако, несмотря на большую клиническую потребность, открытие и разработка новых антибиотиков остаётся серьёзной проблемой. Например, за последние десятилетия только два новых класса антибиотиков были одобрены для лечения грамположительных бактерий: оксазолидиноны и циклические липопептиды [29, 30]. Следовательно, существует острая необходимость в разработке новых антимикробных агентов, активных в отношении микробных патогенов и с меньшей вероятностью вызывающих развитие лекарственной устойчивости [30, 31].

Среди приоритетных антимикробных стратегий экспертами ВОЗ определены разработка и внедрение антимикробных пептидов (АМП) бактерий и некоторых эукариотических организмов, содержащих D-аминокислоты [29, 30]. Эти метаболитические субстанции обладают выраженной антимикробной активностью, уникальным механизмом биологического действия, структурным разнообразием и рассматриваются в качестве наиболее перспективных терапевтических агентов [32–35]. Основным их отличием от антибиотиков является способность АМП проникать в клетку непосредственно путём эндоцитоза с последующим ингибированием синтеза ДНК, РНК, белка и протеаз бактерий. Отсюда — второе отличие, связанное с тем, что пептиды, как правило, обладают бактерицидным действием, а не бактериостатическим, как большинство антибиотиков [36–39].

В последние годы выделение природных и синтетических новых и эффективных АМП является жизненно необходимым и важным биотехнологическим направлением, и некоторые из них уже активно применяются в клинике для лечения бактериальных инфекций. Например, некоторые из широко используемых современных антибиотиков, такие как полимиксин, ванкомицин, даптоми-

цин и тейксобактин, являются пептидами природного происхождения, а другие АМП находятся на различных стадиях клинических испытаний [40–43]. Полученные результаты клинической апробации показывают заманчивые перспективы этих антибиотиков в качестве потенциальных препаратов для лечения инфекций благодаря их быстрой и выраженной бактерицидной способности, структурному разнообразию и мощной активности широкого спектра действия [42, 44–46].

## Заключение

Восемь десятилетий использования грамицидина С является достаточным сроком, чтобы сделать выводы и обсудить будущие перспективы. Безусловно, создание грамицидина С давно вышло за пределы конструирования очередного антибиотика. По данным ВОЗ (2018 г.), доля резистентных изолятов бактерий к некогда распространённым природным антибиотикам (пенициллину, стрептомицину и ципрофлоксацину) в настоящее время достигает, соответственно, 60, 56 и 65%. На этом фоне использование первого отечественного пептидного антибиотика, как и всё теоретическое наследие Г. Ф. Гаузе, не потеряли своего значения и в наши дни.

Полученный на заре эры антибиотиков грамицидин С стал, в свою очередь, предвестником рождения принципиально новой антимикробной стратегии, с актуальностью и перспективностью которой связывают надежду на будущее существование человечества, что является, по сути, ярким продолжением истории этого антибиотика [45–50].

Гениальность научного предвидения Г. Ф. Гаузе и уникальность его творческого наследия, лежащие в основе создания пептидных природных антибиотиков, заключается не только в том, что они пережили своего создателя. В наши дни значительно возрастает роль климатических трансформаций естественных экосистем, резко повышается значимость экологического подхода к описанию природных явлений, в том числе таких, как устойчивость к противомикробным препаратам. В этих условиях значительно вырос научный интерес к эпигенетическим модификациям бактерий, изменяющих экспрессию генов без трансформации геномных последовательностей, роли мобильных генетических элементов, которые имеют значение не только в эволюционных процессах, но и в распространении генов устойчивости к антибиотикам.

## Литература/References

1. Aminov R.I. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Front Microbiol.* 2010; 1: 134. doi: 10.3389/fmicb.2010.00134.

2. Hutchings M.I., Truman A.W., Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol.* 2019; 51: 72–80. doi: 10.1016/j.mib.2019.10.008.
3. Галл Я.М. Г.Ф. Гаузе (1910–1986): творческий образ. экология и теория эволюции. *Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера».* 2011; 3 (3): 423–444. [Gall Ya.M. G.F. Gauze (1910–1986): tvor-

- cheskij obraz. ekologiya i teoriya evoljyutsii. Mezhdistsiplinarnyj nauchnyj i prikladnoj zhurnal «Biosfera». 2011; 3 (3): 423–444. (in Russian)
4. *Kodash N., Fischer M.* Georgy Gause's shift from ecology and evolutionary biology to antibiotics research: reasons, objectives, circumstances. *Theory Biosci.* 2018; 137 (1): 79–83. doi: 10.1007/s12064-018-0262-9.
  5. *Flack H.D.* Louis Pasteur's discovery of molecular chirality and spontaneous resolution in 1848, together with a complete review of his crystallographic and chemical work. *Acta Crystallogr A.* 2009; 65 (Pt 5): 371–89. doi: 10.1107/S0108767309024088.
  6. *Valent P., Groner B., Schumacher U., Superti-Furga G., Busslinger M., Kralovics R., Zielinski C., Penninger J.M., Kerjaschki D., Stingl G., Smolen J.S., Valenta R., Lassmann H., Kovar H., Jäger U., Kornek G., Müller M., Sörgel F.* Paul Ehrlich (1854–1915) and his contributions to the foundation and birth of translational medicine. *J Innate Immun.* 2016; 8 (2): 111–20. doi: 10.1159/000443526.
  7. *Gould K.* Antibiotics: from prehistory to the present day. *J Antimicrob Chemother.* 2016; 71 (3): 572–575. doi: 10.1093/jac/ckv484.
  8. *Luepke K.H., Suda K.J., Boucher H., Russo R.L., Bonney M.W., Hunt T.D. et al.* Past, present, and future of antibacterial economics: increasing bacterial resistance, limited antibiotic pipeline, and societal implications. *Pharmacotherapy.* 2017; 37: 71–84. doi: 10.1002/phar.1868.
  9. *Adesoji A.T., Ogunjobi A.A., Olatoye I.O.* Characterization of integrons and sulfonamide resistance genes among bacteria from drinking water distribution systems in Southwestern Nigeria. *Chemotherapy.* 2017; 62 (1): 34–42. doi: 10.1159/000446150.
  10. *Chen B., Liang X., Nie X., Huang X., Zou S., Li X.* The role of class I integrons in the dissemination of sulfonamide resistance genes in the Pearl River and Pearl River Estuary, South China. *J Hazard Mater.* 2015; 282: 61–67. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.06.010.
  11. *Acman M., Wang R., van Dorp L. et al.* Role of mobile genetic elements in the global dissemination of the carbapenem resistance gene blaNDM. *Nat Commun.* 2022; 13: 1131. doi: 10.1038/s41467-022-28819-2.
  12. *Gall Y.M., Konashev M.B.* The discovery of Gramicidin S: the intellectual transformation of G.F. Gause from biologist to researcher of antibiotics and on its meaning for the fate of Russian genetics. *Hist Philos Life Sci.* 2001; 23 (1): 137–50.
  13. *Сазыкин Ю.О., Орехов С.Н.* Грамицидин S и история изучения антибиотиков в России (к 90-летию со дня рождения лауреата Государственной премии профессора М.Г.Бражникова и 60-летию первого применения грамицидина S в годы Великой Отечественной войны. Антибиотики и химиотер. 2003; 48 (12): 3–4. [Sazykin I.O., Orekhov S.N.] Gramicidin S and a history of antibiotic research in Russia (on the 90th birthday of the State Prize laureate, professor M.G. Brazhnikova and 60 years since the first use of gramicidin S during the Great Patriotic War. *Antibiot and Khimioter.* 2003; 48 (12): 3–4 (in Russian))
  14. *Gortler E.A., Manhart M., Ackermann M.* Understanding the evolution of interspecies interactions in microbial communities. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2020 May 11; 375 (1798): 20190256. doi: 10.1098/rstb.2019.0256.
  15. *Castledine M., Sierocinski P., Padfield D., Buckling A.* Community coalescence: an eco-evolutionary perspective. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2020; 375 (1798): 20190252. doi: 10.1098/rstb.2019.0252.
  16. *Kohl K.D.* Ecological and evolutionary mechanisms underlying patterns of phyllosymbiosis in host-associated microbial communities. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2020; 375 (1798): 20190251. doi: 10.1098/rstb.2019.0251.
  17. *Гаузе Г.Ф., Бражникова М.Г.* Некоторые новые антибактериальные вещества, вырабатываемые микроорганизмами. Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунологии 1943; 4–5: 74–77. [Gauze G.F., Brazhnikova M.G.] Nekotorye novye antibakterial'nye veshchestva, vyrabatyvayemye mikroorganizmami. *Zhurnal Mikrobiologii i Epidemiologii i Immunologii* 1943; 4–5: 74–77. (in Russian))
  18. *Гаузе Г.Ф., Бражникова М.Г.* Грамицидин и его свойства. Советский грамицидин и лечение ран. Под ред. П.Г.Сергиева. М.: Медгиз, 1943; 256. [Gauze G.F., Brazhnikova M.G.] Gramitsidin i ego svojstva. *Sovetskij gramitsidin i lechenie ran.* Ed. P.G.Sergiev. Moscow: Medgiz, 1943; 256. (in Russian))
  19. *Гаузе Г.Ф.* Борьба за существование у микробов на службе лечения ран. Успехи современной биологии. 1943; 16 (5): 530–552. [Gauze G.F.] Bor'ba za sushchestvovanie u mikrobov na sluzhbe lecheniya ran. *Uspekhi Sovremennoj Biologii* 1943; 16 (5): 530–552. (in Russian))
  20. *Гаузе Г.Ф., Бражникова М.Г., Белозерский А.Н., Пасхина Т.С.* Биологическая и химическая характеристика кристаллического грамицидина С. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1944; 13 (10–11): 3–6. [Gauze G.F., Brazhnikova M.G., Belozerskij A.N., Pashkina T.S.] Biologicheskaya i khimicheskaya kharakteristika kristallicheskogo gramitsidina S. *Bjulleten' Eksperimental'noj Biologii i Meditsiny.* 1944; 13 (10–11): 3–6. (in Russian))
  21. *Гаузе Г.Ф., Бражникова М.Г., Лисовская Н.П.* Получение и свойства кристаллического грамицидина С. Доклады АН СССР. 1944; 53 (5): 228–231. [Gauze G.F., Brazhnikova M.G., Lisovskaya N.P.] Poluchenie i svojstva kristallicheskogo gramitsidina S. *Doklady AN SSSR.* 1944; 53 (5): 228–231. (in Russian))
  22. *Гаузе Г.Ф.* Антибиотики и оптическая активность. Успехи современной биологии. 1947; 23 (3): 404–412. [Gauze G.F.] Antibiotiki i opticheskaya aktivnost'. *Uspekhi Sovremennoj Biologii.* 1947; 23 (3): 404–412. (in Russian))
  23. *Гаузе Г.Ф.* Грамицидин С и его применение. Moscow: ГИМЛ, 1952; 154. [Gauze G.F.] Gramitsidin S i ego primeneniye. M.: GIML, 1952; 154. (in Russian))
  24. *Manabe T., Kawasaki K.* D-form KLKLLLLLKLK-NH2 peptide exerts higher antimicrobial properties than its L-form counterpart via an association with bacterial cell wall components. *Sci Rep.* 2017; 7: 43384. doi: 10.1038/srep43384.
  25. *Kapil S., Sharma V.* d-Amino acids in antimicrobial peptides: a potential approach to treat and combat antimicrobial resistance. *Can J Microbiol.* 2021; 67 (2): 119–137. doi: 10.1139/cjm-2020-0142.
  26. *Rajni Hatti-Kaul, Lu Chen, Tarek Dishisha, Hesham El Enshasy.* Lactic acid bacteria: from starter cultures to producers of chemicals, *FEMS Microbiology Letters.* 2018; 365 (20): 213. doi: 10.1093/femsle/fny213.
  27. *Mathis R., Ackermann M.* Asymmetric cellular memory in bacteria exposed to antibiotics. *BMC Evol Biol.* 2017; 17 (1): 73. doi: 10.1186/s12862-017-0884-4.
  28. *Zhong C., Zhu N., Zhu Y., Liu T., Gou S., Xie J., Yao J., Ni J.* Antimicrobial peptides conjugated with fatty acids on the side chain of D-amino acid promises antimicrobial potency against multidrug-resistant bacteria. *Eur J Pharm Sci.* 2020; 141: 105123. doi: 10.1016/j.ejps.2019.105123.
  29. *Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A., Harbarth S., Mendelson M., Monnet D.L. et al.* Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis.* 2018; 18: 318–327. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30753-3.
  30. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2017. Antimicrobial/antimicrobial resistance (AR/AMR) [online]. Available from <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>, 19 September 2017. Archived from the original on 8 March 2022 (accessed 8 March 2022).
  31. WHO (World Health Organization). 2018. High levels of antibiotic resistance found worldwide, new data shows [online]. Available from <https://www.who.int/news-room/detail/29-01-2018-high-levels-of-antibiotic-resistance-found-worldwide-new-data-shows> [accessed 18 June 2019].
  32. *Lee T.H., Hall K.N., Aguilar M.I.* Antimicrobial Peptide Structure and Mechanism of Action: A Focus on the Role of Membrane Structure. *Curr Top Med Chem.* 2016; 16 (1): 25–39. doi: 10.2174/1568026615666150703121700.
  33. *Cava F.* Divergent functional roles of D-amino acids secreted by *Vibrio cholerae*. *Int Microbiol.* 2017; 20 (3): 149–150. doi: 10.2436/20.1501.01.296.
  34. *Espaillet A., Carrasco-López C., Bernardo-García N., Pietrosemoli N., Otero L.H., Álvarez L., de Pedro M.A., Pazos F., Davis B.M., Waldor M.K., Hermoso J.A., Cava F.* Structural basis for the broad specificity of a new family of amino-acid racemases. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 2014; 70 (Pt 1): 79–90. doi: 10.1107/S1399004713024838.
  35. *Alvares L., Cava F.* Ecological role of microbial racemases of amino acids. *BioProtoc.* 2018; 8 (7): e2787. doi: 10.21769/BioProtoc.2787.
  36. *Yin L.M., Lee S., Mak J.S., Helmy A.S., Deber C.M.* Differential binding of L- vs. D-isomers of cationic antimicrobial peptides to the biofilm exopolysaccharide alginate. *Protein Pept Lett.* 2013; 20 (8): 843–847. doi: 10.2174/0929866511320080001.
  37. *Lima P.G., Oliveira J.T.A., Amaral J.L., Freitas C.D.T., Souza P.F.N.* Synthetic antimicrobial peptides: Characteristics, design, and potential as alternative molecules to overcome microbial resistance. *Life Sci.* 2021; 278: 119647. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119647.
  38. *Greber K.E., Dawgul M.* Antimicrobial Peptides Under Clinical Trials. *Curr Top Med Chem.* 2017; 17 (5): 620–628. doi: 10.2174/1568026616666160713143331.
  39. *Андрюков Б.Г., Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н.* Перспективные стратегии поиска новых средств борьбы с инфекционными заболеваниями. Антибиотики и химиотер. 2018; 63 (1–2): 44–55. doi: 10.5281/zenodo.1306245. [Andrjukov B.G., Zaporozhets T.S., Besednova N.N.] Perspektivnye strategii poiska novykh sredstv bor'by s infektsionnymi zabolevaniyami. *Antibiotiki i khimioter.* 2018; 63 (1–2): 44–55. doi: 10.5281/zenodo.1306245. (in Russian))
  40. *Domhan C., Uhl P., Kleist C., Zimmermann S., Umstätter F., Leotta K., Mier W., Wink M.* Replacement of l-amino acids by d-amino acids in the antimicrobial peptide ranalexin and its consequences for antimicrobial activity and biodistribution. *Molecules.* 2019; 24 (16): 2987. doi: 10.3390/molecules24162987.
  41. *Nuti R., Goud N.S., Saraswati A.P., Alvalla R., Alvalla M.* Antimicrobial peptides: a promising therapeutic strategy in tackling antimicrobial resistance. *Curr Med Chem.* 2017; 24 (38): 4303–4314. doi: 10.2174/0929867324666170815102441.
  42. *Robles-Loaiza A.A., Pinos-Tamayo E.A., Mendes B., Ortega-Pila J.A., Proaño-Bolaños C., Plisson F., Teixeira C., Gomes P., Almeida J.R.* Traditional and computational screening of non-toxic peptides and approaches to improving selectivity. *Pharmaceuticals (Basel).* 2022; 15 (3): 323. doi: 10.3390/ph15030323.
  43. *Belloitto O., Semeraro S., Bandiera A., Tramer F., Pavan N., Marchesan S.* Polymer conjugates of antimicrobial peptides (AMPs) with d-amino acids (d-aa): state of the art and future opportunities. *Pharmaceutics.* 2022; 14 (2): 446. doi: 10.3390/pharmaceutics14020446.
  44. *Batoni G., Maisetta G., Esin S.* Antimicrobial peptides and their interaction with biofilms of medically relevant bacteria. *Biochim Biophys Acta.* 2016; 1858 (5): 1044–1060. doi: 10.1016/j.bbame.2015.10.013.

45. Patel S., Akhtar N. Antimicrobial peptides (AMPs): the quintessential 'offense and defense' molecules are more than antimicrobials. *Biomed Pharmacother.* 2017; 95: 1276–1283. doi: 10.1016/j.biopha.2017.09.042.
46. Aliashkevich A., Alvarez L., Cava F. New Insights into the mechanisms and biological roles of D-amino acids in complex eco-systems. *Front Microbiol.* 2018; 9: 683. doi: 10.3389/fmicb.2018.00683.
47. Riber L., Hansen L.H. Epigenetic Memories: The hidden drivers of bacterial persistence? *Trends Microbiol.* 2021; 29 (3): 190–194. doi: 10.1016/j.tim.2020.12.005.
48. Liu L., Zhang Y., Jiang D., Du S., Deng Z., Wang L., Chen S. Recent advances in the genomic profiling of bacterial epigenetic modifications. *Biotechnol J.* 2019; 14 (1): e1800001. doi: 10.1002/biot.201800001.
49. Bierne H., Hamon M., Cossart P. Epigenetics and bacterial infections. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012; 2 (12): a010272. doi: 10.1101/cshperspect.a010272.
50. Motta S.S., Cluzel P., Aldana M. Adaptive resistance in bacteria requires epigenetic inheritance, genetic noise, and cost of efflux pumps. *PLoS One.* 2015; 10 (3): e0118464. doi: 10.1371/journal.pone.0118464.

## Информация об авторах

*Андрюков Борис Георгиевич* — д. м. н, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-4456-808X. ResearcherID: J-3752-2018. eLIBRARY SPIN-код: 7757-3838. Scopus Author ID: 57191370698

*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

*Запорожец Татьяна Станиславовна* — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-2760-9778. ResearcherID: Y-9425-2018. eLIBRARY SPIN-код: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

## About the authors

*Boris G. Andryukov* — D. Sc. in medicine, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Far Eastern Branch of the State Research and Testing Institute of Military Medicine, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-4456-808X. ResearcherID: J-3752-2018. eLIBRARY SPIN: 7757-3838. Scopus Author ID: 57191370698

*Natalia N. Besednova* — D. Sc. in medicine, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-2760-9778. eLIBRARY SPIN: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

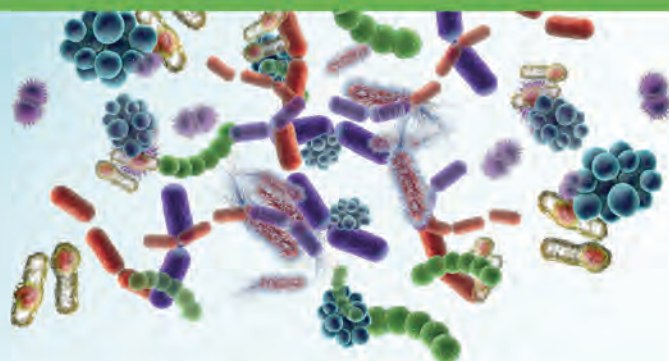
*Tatyana S. Zaporozhets* — D. Sc. in medicine, G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-2760-9778. ResearcherID: Y-9425-2018. eLIBRARY SPIN: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123



# БИАНЕМ-АФ

Биапенем 300 мг и 600 мг

НОВЫЙ ЭФФЕКТИВНЫЙ И БЕЗОПАСНЫЙ КАРБАПЕНЕМ В РОССИИ



Карбапенем для эмпирической терапии тяжелых нозокомиальных инфекций, вызванных Гр+ и Гр- полирезистентными штаммами бактерий (включая БЛРС-продуценты и *Pseudomonas aeruginosa*)<sup>1,2,4</sup>

- Активен против широкого спектра возбудителей нозокомиальных инфекций (в т.ч. образующих биопленки)<sup>2,4</sup>
- Характеризуется благоприятным профилем безопасности<sup>1,2</sup>
- Демонстрирует выраженный пост-антибиотический эффект<sup>2,3</sup>
- Имеет повышенную устойчивость к карбапенемазам<sup>1,3</sup>
- Обладает низкой нефротоксичностью<sup>1,2</sup>
- Имеет сниженный проконвульсивный эффект<sup>1,3</sup>

Краткая инструкция по медицинскому применению препарата Бианем-АФ (биапенем). Фармакотерапевтическая группа: антибиотик-карбапенем. Лекарственная форма: порошок для приготовления раствора для инфузий. Показания: применяется при лечении следующих заболеваний, вызванных чувствительными к биапенему микроорганизмами: пневмония; инфекции мочевыводящей системы (осложнённый цистит, пиелонефрит); перитонит; хронические респираторные заболевания. Противопоказания: повышенная чувствительность к биапенему или другим препаратам группы карбапенемов в анамнезе; выраженная гиперчувствительность (анафилактические реакции, тяжёлые кожные реакции) к любому антибактериальному средству, имеющему бета-лактаманную структуру (т.е. к пенициллинам, цефалоспорином); одновременное применение с препаратами вальпроевой кислоты; детский возраст до 18 лет. Способ применения и дозы: биапенем предназначен только для внутривенного инфузионного введения. Доза и продолжительность терапии должны устанавливаться в зависимости от типа и тяжести инфекции и состояния пациента. Обычно суточная доза препарата составляет 0,6 г, разделённая на 2 введения каждые 12 ч, внутривенно капельно в течение 30–60 минут. При тяжёлых инфекциях доза может быть увеличена. Максимальная суточная доза не должна превышать 1,2 г. Продолжительность терапии препаратом не должна превышать минимально необходимый срок для лечения заболевания. Условия отпуска: по рецепту. Срок годности: 3 года. Производитель: ООО «Рузфарма», Россия. РУ – ЛП-007122. Перед назначением лекарственного препарата Бианем-АФ ознакомьтесь с инструкцией по медицинскому применению. Литература: 1. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Бианем-АФ, ЛП-007122. 2. Data on file 3. Biapenem. Caroline M. Perry and Tim Ibbotson. ADIS NEW DRUG PROFILE, Drugs 2002; 62 (15): 2221–2234 Chemother 1995; 43 (1): 63–84. 4. P.C., Дехнич А.В. с соавторами «In vitro чувствительность к биапенему клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. и представителей порядка Enterobacterales. 2020

ООО «АлФарма»  
127247, г. Москва, вн.тер.г. муниципальный округ Восточное Дегунино, ш Дмитровское, д. 100, стр. 2, помещ. 4541г4  
На правах рекламы

**AP**  
ALPHARMA

Б-018/ПМ-03.2022