

АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН
ОТДЕЛЕНИЕ МЕДИЦИНСКИХ НАУК И ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ ВОЕННОЙ МЕДИЦИНЫ
МИНИСТЕРСТВА ОБОРОНЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**Р. Ш. Магазов, А. В. Степанов,
С. В. Чепур, А. П. Савельев**

**ТОКСИНЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ
(ПРИРОДА, СТРУКТУРА,
БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ И ДИАГНОСТИКА)**

Под редакцией Р. Ш. Магазова

Уфа



2019

УДК 615.9
ББК 52.8
Т51

*Издание осуществлено при содействии
Фонда поддержки научных исследований АН РБ*

Рецензенты:

*Ю. В. Лобзин, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,
А. Р. Мавзютов, доктор медицинских наук, профессор*

Магазов, Р. Ш., Степанов, А. В., Чепур, С. В., Савельев, А. П.
Т51 Токсины биологического происхождения (природа, структура,
биологические функции и диагностика) / под ред. Р. Ш. Магазо-
ва. – Уфа : Башк. энцикл., 2019. – 348 с.
ISBN 978-5-88185-446-1

В монографии приведена характеристика токсинов биологического происхождения, рассмотрены этиология, биологические функции и диагностика, изложены их классификации по происхождению, клиническим проявлениям и химической природе. Особое внимание уделено эпидемиологии, патогенезу, основным клиническим проявлениям и диагностике отравлений токсинами бактериальной природы (ботулизм, столбняк, раневые клостридозы и другие актуальные инфекции). Представлена историческая справка о применении токсинов в качестве поражающего оружия во время войн и с диверсионно-террористическими целями.

Для эпидемиологов, микробиологов, инфекционистов, организаторов здравоохранения и научных сотрудников.

**УДК 615.9
ББК 52.8**

ISBN 978-5-88185-446-1

© Магазов Р. Ш., Степанов А. В.,
Чепур С. В., Савельев А. П., 2019
© «Башкирская энциклопедия», 2019

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ, УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, СИМВОЛОВ, ЕДИНИЦ И ТЕРМИНОВ

АД	– артериальное давление
АТ	– антитела
БЗ	– биологическая защита
БПА	– биологический поражающий агент
БТ	– ботулинический токсин
ВГА	– вирус гепатита А
ВГВ	– вирус гепатита В
ВГС	– вирус гепатита С
ВГЕ	– вирус гепатита Е
ВЭЛ	– вирус энцефалита лошадей
ГО	– генетическое оружие
ЖКТ	– желудочно-кишечный тракт
Иг	– иммуноглобулин
ИЛП	– иммунобиологический лекарственный препарат
ИФА	– иммунофлюоресцентный анализ
КЭ	– клещевой энцефалит
ЛФ	– летальный фактор
МСЗ	– медицинские средства защиты
ОИЗ	– опасное инфекционное заболевание
ОК	– оспа кроликов
ОПН	– острая почечная недостаточность
ООИ	– особо опасная инфекция
ОНД	– оружие нелетального действия
ПА	– протективный антиген
ПДК	– предельно допустимая концентрация
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РИФ	– реакция иммунофлуоресцентная
СИП	– средство иммунопрофилактики
ТА	– тетраанатоксин адсорбированный очищенный жидкий
ФИ	– фагоцитарный индекс
ФЧ	– фагоцитарное число
ЦИК	– циркулирующие иммунные комплексы
ЭП	– экстренная профилактика
ВоNT/A–E	– ботулинические нейротоксины типов А-Е
СВР	– химические, биологические, радиологические компоненты

Перечень сокращений, условных обозначений, символов, единиц и терминов

CDC	– Центр по контролю за заболеваниями (США)
CDV	– цидофовир
ChiSys	– хитозан
CpG	– неметирированная последовательность ДНК
CMRI	– фаза 1 хлороформ-метирированного остатка
CtxB	– В-субъединица холерного токсина
Dstl	– научно-исследовательские учреждения в области биологической защиты и технологические лаборатории (Великобритания)
pAbs	– поликлональные антитела
pcDNASHc	– плазмидная ДНК вакцина
PPMO	– пептид-конъюгированный фосфородиамидный морфолиновый олигомер
pSCARSHc	– плазмидная ДНК реплицированная вакцина
rhAPC	– рекомбинантный активированный протеин С
rPA	– рекомбинантный протективный антиген
rRV	– РТА вакцина
RTA	– А-цепь рицинового токсина
SIN	– Синдбис
scFv	– одноцепочечный Fv
siRNAs	– короткоинтерферирующая РНКs
SFV	– вирус Леса Семлики
TMP-SMX	– триметоприм сульфаметоксазол
VEEV	– вирус венесуэльского энцефаломиеелита лошадей
WEEV	– вирус западного энцефалита лошадей
WHO	– Всемирная организация здравоохранения
F1	– 1 фракция капсульного антигена
flaA–E	– флагелин типов А-Е
G-CSF	– гранулоцитарный колоние-стимулирующий фактор
HE-BAT	– гептавалентный ботулинический антитоксин
IFN	– интерферон
IL	– интерлейкин
IL-1	– интерлейкин-1
IL-2	– интерлейкин-2
LC	– легкая цепь
LT	– термолабильный энтеротоксин
mAbs	– моноклональные антитела
NE	– нетоксичный слизистый адьювант

Предисловие

Заболевания, опосредованные токсинами биологического происхождения, широко распространены среди человеческой популяции. При многих инфекционных болезнях токсины определяют основные клинические симптомы, их выраженность и тяжесть. В последнее время на основе токсинов биологического происхождения разрабатываются лекарственные препараты, с успехом применяемые в косметологии, терапии онкологических заболеваний и других областях медицины. Однако приоритетным является использование биотоксинов в качестве потенциальных поражающих биологических агентов или агентов биотерроризма.

Имеющиеся на сегодняшний день токсические субстраты биологического происхождения являются дериватами животных, растений, микроорганизмов и других форм жизни. Однако их подлинная роль в живой природе на сегодняшний день известна не до конца. Согласно биологическим мишеням воздействия, выделяют нейротоксины, гепатотоксины, нефротоксины, гемотоксины и др. Например, нейротоксины представляют собой токсические агенты или субстанции, которые ингибируют, повреждают или нарушают функционирование и морфологию нервной ткани, преимущественно нейронов, основных клеток нервной системы. Нейротоксические эффекты могут включать серьезные изменения в клетках и тканях нервной системы организма, в конечном итоге приводящие к летальному исходу. Согласно химической структуре, биотоксины можно разделить на небелковые и белковые.

Токсины биологического происхождения могут быть использованы в современных условиях как на благо человека и здравоохранения, так и в качестве потенциальных биологических агентов и агентов биотерроризма. Обусловлено это многообразием и тяжестью вызываемых ими патологических состояний, а также ничтожно малыми концентрациями, способными их вызвать у человека. Например, при попадании в организм ботулинические токсины вызывают параличи мышц, приводящие к смертельному исходу; стафилококковый энтеротоксин В приводит к развитию лихорадки, тошноты, рвоты, диареи, а также обуславливает синдромы со стороны легочной системы. Эпсилон-токсин *Clostridium perfringens* при аэрозольном применении приводит

к развитию острого отека легких; рицин, абрин и другие растительные белковые токсины вызывают проявления со стороны желудочно-кишечного тракта, геморрагические поражения слизистой желудка и кишечника, мышечные некрозы после внутримышечного введения, тяжелые поражения легких при ингаляционном применении и др.

Общеизвестно, что Конвенция о запрещении химического оружия 1993 года относит токсины к химическим агентам и содержит мероприятия по контролю за ними наравне с другими токсическими химикатами. К их числу отнесены: абрин, ботулинические токсины, токсины *Clostridium perfringens*, токсин *Corynebacterium diphtheriae*, микроцистины, токсины *Staphylococcus aureus*, рицин, шигатоксин и столбнячный токсин. С 1985 года на основании исследований австралийской группы ученых в выше приведенный перечень включены конотоксины, веротоксин, холерный токсин, модецин и вискумин.

Все белковые токсины состоят из одной или более линейных или циклических полипептидных цепей. Большинство таких конструкций содержит аминокислоты, соединенные между собой пептидными связями. В плане положительного влияния на здоровье индивидуумов, имевших контакт с биотоксинами, необходимо более детально знать о проявлениях их поражающего действия, патофизиологические и клинические проявления таких поражений, тем самым более эффективно подойти к лекарственной профилактике и терапии каждого из биотоксических поражений. Однако в современной литературе, несмотря на достаточно многочисленные публикации, эти вопросы не получили должного освещения.

Задача нашей работы, которая не претендует на исчерпывающий обзор в любом из затронутых аспектов, – привлечь внимание исследователей и практических врачей к проблеме токсинов биологического происхождения, проанализировать основные достижения в этой области, что может помочь в разработке средств диагностики, профилактики и лечения токсинов.

Общей задачей представленной монографии является рассмотрение актуальных токсинов биологического происхождения, их таксономическое распределение, биологические функции и диагностика, вызываемых ими токсических поражений.

Авторы приносят глубокую благодарность академику РАН Ю.В. Лобзину, доктору медицинских наук, профессору А.Р. Мавзютову и доктору биологических наук профессору О.П. Мисникову за неоценимую помощь на завершающем этапе работы над книгой.

Глава 1

ТОКСИНЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ. ПОНЯТИЕ И КЛАССИФИКАЦИЯ

1.1. Общие сведения о токсинах биологического происхождения

Случайное использование в пищу ядовитых растений, грибов, рыб, укусы ядовитых животных и насекомых, а также сведения об убийствах людей с применением средств природного происхождения позволило с глубокой древности накапливать знания по токсическим свойствам этих средств. В свою очередь полученные данные использовались колдунами, целителями, отравителями, военными для различных ритуальных казней, массовых убийств в военных целях и ликвидации вероятных соперников в политических целях [1].

При этом применялись различные природные соединения из ядовитых растений (дурман, белладонна, белена, болиголов, волчий корень, опиум, мандрагора, наперстянка, чемерис, ломонос, молочай, паслен, рута, ядовитые грибы и др.); животных (слизь старой жабы, трупный яд, слюна бешеной собаки, шпанская мушка, яды змей, кишечнополостных животных, саламандры, тритоны и др.); природных минералов (соединения ртути, мышьяка, таллия и др.).

Термин «яд» известен с глубокой древности, термин «токсин» появился в научном обороте в конце XIX в. Термины несут разную смысловую нагрузку. Токсикологи к ядам относят химические соединения, отличающиеся высокой токсичностью, т.е. способностью в минимальных количествах вызвать тяжелые нарушения жизнедеятельности (отравление) или гибель животного организма. Токсинами после открытия Эмилем Ру и Александром Йерсенем в 1988 г. дифтерийного токсина традиционно называли белковые вещества, образуемые микроорганизмами и некоторыми животными и обладающие ядовитым действием. Одним из характерных качеств токсинов считалось наличие

у них антигенных свойств. Значительное расширение числа токсинов, выделенных из природных объектов в XX в., среди которых оказалось много небелковых, заставили ученых пересмотреть критерии термина «токсин». В настоящее время термин «токсин» чаще всего относят к индивидуальному химическому веществу (независимо от его природы), полученному из микроорганизмов, грибов, растений, животных или биотехнологическим путем, в низких концентрациях токсичного для позвоночных животных. Тем самым разграничиваются действующее начало яда и яд, являющийся, как правило, многокомпонентной смесью различных биологически активных веществ.

Наиболее широкое распространение получили классификации токсинов по их происхождению, клиническим проявлениям отравления и химической природе [2, 3]. В зависимости от источника происхождения все токсины подразделяются на четыре группы:

микотоксины – токсины, образуемые грибами (эрготоксины, трихотеченовые микотоксины, орахотоксины, патуалин и др.), являющиеся природными загрязнителями зерна злаковых, бобовых, семян подсолнечника, овощей и фруктов. Многие из них синтезируют опасные для человека токсические вещества. В организм человека они попадают алиментарным путем при употреблении зараженных продуктов питания. К наиболее опасным микотоксинам относятся: эрготоксины, продуцируемые грибами группы *Claviceps* (спорынья, маточные рожки); афлатоксины, вызываемые грибами группы *Aspergillus*; трихотеченовые микотоксины (более 40 наименований); орахотоксины (В, С), патулин и др.;

зоотоксины – токсические соединения, содержащиеся в ядах животных с высокой поражающей способностью, обусловленной высокой специфичностью действия на определенные биосубстраты [3]. Так, нейротоксины змей нарушают передачу возбуждения в нервно-мышечных синапсах; токсины амфибий (баграхотоксин), рыб (тетродотоксин), простейших (сакситоксин) блокируют распространение нервного импульса по нервному волокну; ферменты ядов гадюк и гремучников воздействуют на систему свертываемости крови. Среди токсических веществ животного происхождения присутствуют алифатические и гетероциклические соединения, алкалоиды, стероиды, незниматические полипептиды и ферментативные белки [4];

фитотоксины – ядовитые химические соединения, содержащиеся в высших растениях. Среди них токсальбумины, алкалоиды, глюкозиды, эфирные масла, органические кислоты, ангидриды органических

кислот (синильная кислота), лактоны и др. Наибольшую известность получил рицин, содержащийся в семенах клещевины;

бактериальные токсины – токсины, синтезируемые бактериями, являются высокомолекулярными соединениями белковой, пептидной или липополисахаридной природы с антигенными свойствами. В настоящее время выделены и изучены более 150 токсинов, многие из которых относятся к числу самых ядовитых веществ. Среди них ботулотоксины, дифтерийный, столбнячный и дифтерийный токсины, стафилококковые токсины и др.

Биотоксины отличаются от классических химических поражающих агентов источником получения, физическими и биологическими характеристиками (табл. 1.1).

Таблица 1.1

Сравнительная характеристика химических агентов и токсинов*

Токсины	Химические агенты
Естественное происхождение	Создаются искусственно
Трудоемкое, мелкосерийное производство	Крупная индустрия
Твердое агрегатное состояние	Жидкость
Не летучие	Летучие
Высокотоксичные	Менее токсичные
Кожно-резорбтивное действие не характерно**	Обладают кожно-резорбтивным действием
Легально используются в медицине	Не используются в медицине
Без вкуса и запаха	Имеют запах и вкус
Большое разнообразие токсических эффектов	Меньшее разнообразие токсических эффектов
Большинство – иммуногенны	Иммуногенность не выражена
Наиболее эффективно поражение аэрозолями 0,5–5 мкм	Аэрозоль 1–5 мкм/туман/капли/дымы
Аэрозолирование взрывом и термической возгонкой неприменимо	Аэрозолирование взрывом и термической возгонкой возможно
Индивидуальная защита – аэрозольный фильтр	Индивидуальная защита – противогаз и средства защиты кожи
Индикация и идентификация в реальном масштабе времени невозможна	Индикация и идентификация в реальном масштабе времени

* по Н.С. Антонову, R. Sidel et al. и D. Franz [цит. по 3]

** за исключением трихотеченовых микотоксинов, лунгбуатоксина (lunghuatoxin), палитоксина и отдельных токсинов сине-зеленых водорослей.

Патогенные бактерии продуцируют загадочные субстанции, которые прямо или косвенно оказывают токсическое действие на клетки и организм хозяина. По определению В. Finlay и S. Falkow, отражающему представления авторов о предназначении таких субстанций для развития инфекционной болезни, токсины – это секретируемые микробные протеины, обычно ферменты, которые убивают клетки хозяина в исключительно маленьких концентрациях [2].

Ю.В. Вертиев, стремясь избежать узкого медицинского толкования функции бактериальных токсинов в природе, определяет их как регуляторные элементы, действующие в гетерологических клеточных системах вне их контроля и сдвигающие равновесие, протекающих в них физиологических процессов. Оба определения, по нашему мнению, справедливы. Первое – для понимания опасности отдельных токсинов, второе – для понимания их сути [5]. При многих инфекционных болезнях токсины действительно определяют их основные симптомы. Это дифтерия, коклюш, холера, сибирская язва, ботулизм, столбняк, гемолитический уремический синдром и др. Однако к настоящему времени уже накоплены данные, показывающие возможность выполнения бактериальными токсинами и других функций. Среди них: защита хозяина от хищников в почвенных (водных) сообществах (токсины синезеленых водорослей защищают их от поедания беспозвоночными животными и рыбами); использование токсинов как средства антагонизма в микробных сообществах (холерный токсин оказывает ингибирующее действие на ряд бактерий); участие токсинов в авторегуляторных процессах в бактериальных популяциях (энтеротоксин *C.perfringens*) и др. [3].

1.2. Химическая природа токсинов животного происхождения, в том числе обитателей морей и океанов

По мнению ряда авторов, ядовитых животных насчитывается более 5000 видов, которые могут быть разделены на 2 большие группы: первично-ядовитые и вторично-ядовитые. К первично-ядовитым относят животных, вырабатывающих ядовитый секрет или имеющих ядовитые продукты метаболизма. К вторично-ядовитым относят животных, вырабатывающих экзогенные яды, проявляющие токсичность

только при приеме их в пищу. В свою очередь первично-ядовитые животные различаются по способам выработки яда и его применения и делятся на активно-пассивно-ядовитых. Активно-ядовитые животные вооружены ранящим устройством. При этом ядовитый аппарат имеет ядовитую железу с выводным протоком и ранящее приспособление: зубы у рептилий, жало у насекомых, колючки и шипы у рыб. Другую группу активно-ядовитых животных составляют организмы, ядовитый аппарат которых лишен ранящего приспособления (кожные железы амфибий, анальные железы насекомых, кювьеровы органы голотурий) и относятся к невооруженным ядовитым животным. Ядовитые секреты таких желез проявляют свой токсический эффект при контакте с покровами тела жертвы.

У другой группы пассивно-ядовитых животных ядовитые метаболиты вырабатываются в различных органах и тканях (рыбы, хвостатые амфибии, моллюски, насекомые). Обе эти группы (пассивно-ядовитые и вторично-ядовитые) представляют опасность только при попадании их яда в пищеварительный тракт.

Химическая структура зоотоксинов имеет характерные отличия, обусловленные эволюцией ядовитости среди животных. Так, многие виды рыб, амфибий, насекомых сохранили черты примитивной ядовитости, выраженной в накоплении ядовитых метаболитов в тканях и органах [3]. У кишечнополостных встречаются яды белковой природы в виде неэнзиматических полипептидов и ферментов с различной субстратной специфичностью (цитокины, нейротоксины).

Между химической природой зоотоксинов, морфологическими особенностями ядовитого аппарата и биологической спецификой действия того или иного яда, естественным отбором поддерживается определенное соответствие (табл.1.2) [3].

Ядовитые секреты большинства активно-ядовитых животных представляют собой смеси токсических полипептидов и ферментов (яды кишечнополостных, змей, перепончатых, пауков, скорпионов и др.). При этом их активность сохраняется при парентеральном введении, при введении через ЖКТ они расщепляются пищеварительными ферментами.

Невооруженные и пассивно-ядовитые животные (амфибии, муравьи, жуки, многоножки и др.) имеют яды небелковой природы (тетродотоксин, суругатоксин, токсины динофлагеллят и др.), эффективные при попадании в организм жертвы с пищей.

Химическая природа зоотоксинов

Токсин	Небелковые		Белковые	
	изо-и гетероциклические	алифатические	олиго- и полипептиды	ферменты
1	2	3	4	5
<i>Тип саркомастигофоры (Sarcostigophora)</i>				
Класс жгутиковые (Mastigophora)	+			
Тип губки (Spongia)	+	+	+	
<i>Тип кишечнополостные (Coelenterata)</i>				
Класс гидрозоны (Hydrozoa)		+	+	+
Класс сифидные медузы (Scyphozoa)		+	+	+
Класс коралловые полипы (Anthozoa)	+	+	+	+
Тип немертины (Nemertini)				
Подкласс невооруженные (Anopla)		+		
Подкласс вооруженные (Eopla)	+			
<i>Тип кольчатые черви (Annelida)</i>				
Класс многощетинковые (Polychaeta)	+	+	+	+
Тип членистоногие (Arthroda)				
Класс ракообразные (Crustacea)	+			
Класс паукообразные (Arachnida)		+	+	+
Класс многоножки (Myriapoda)	+	+	+	+
Класс насекомые (Insecta)	+	+	+	+
<i>Тип моллюски (Mollusca)</i>				
Класс брюхоногие (Gastropoda)	+	+	+	+
Класс двустворчатые (Bivalvia)	+			
Класс головоногие (Cephalopoda)	+		+	+
<i>Тип иглокожие (Echinoderma)</i>				
Класс морские звезды (Asteroidea)	+			

1	2	3	4	5
Класс морские ежи (Echinoidea)			+	
Класс голотурии (Holothuroidea)	+			
<i>Тип хордовые (Chordata)</i>				
Класс круглоротые (Cyclostomata)			+	
Класс хрящевые рыбы (Chondrichthyes)			+	
Класс костные рыбы (Osteichthies)	+	+	+	
Класс амфибии (Amphibia)	+	+	+	+
Класс рептилии (Reptilia)			+	
Класс млекопитающие (Mammalia)			+	

Необходимо обратить внимание на тот факт, что наличие у хищников ядовитого аппарата (кишечнополостные, змеи, скорпионы, пауки, осы, актинии) позволяет обездвиживать жертву с помощью ядов с выраженной нейротропной активностью. В то время как животные с неактивным ядовитым аппаратом продуцируют токсины в основном с отпугивающими свойствами (стероиды, органические кислоты, эфиры и др.).

Зоотоксины при попадании в организм формируют клиническую картину отравления с помощью следующих биологически активных веществ [3]:

- адреналин (кожный секрет жаб) обладает выраженным кардиотоническим, прессорным, гипергликемическим и пирогенным действием;
- алкалоиды (кожа и секреты амфибий – батрахотоксин, тефиро-токсин, самандарин и др.) оказывают нейротоксическое и кардитоксическое действие;
- ацетилхолин в сочетании с гистамином (яд шершня, яд элапид) вызывают сильный болевой (аллогенный) местный эффект. Присутствие в яде биогенных аминов (тирамин, дофамин, норадреналин, гистамин) обуславливают гипотензивное действие яда;
- ацетилхолинэстераза (яд скорпионов, яд элапид) усиливает действие нейротоксинов;

- брадикинин (яд ос, кожа лягушек) вызывает вазодилатацию и падение АД;
- васкулярный эндотелиальный фактор роста – VEGF (яды змей) обладает выраженным гипотензивным эффектом и повышает сосудистую проницаемость у пораженных;
- гиалуронидаза (яд скорпионов, тарантулов, пчел, муравьев, гадюк, ядозуба, рыбы-бородавчатки) гидролизует гиалуроновую кислоту, способствует распространению яда по тканям, вызывает некроз и отек тканей;
- гистамин (яд дискомедуз, скорпионов, шершня, пчел, муравьев, ядовитого секрета гусениц, морских дракончиков и др.) оказывает действие на афферентную парасимпатическую иннервацию (усиливается перистальтика кишечника, развиваются аллергические реакции, повышается проницаемость сосудов, падает АД и др.);
- дофамин (яд шершня, пчел) оказывает влияние на сердечно-сосудистую и нервную системы, что проявляется в повышении АД, спазме периферических артерий, желудочковой экстрасистолии, стенокардии, диспноэ, головной боли, психомоторного возбуждения;
- ингибиторы протеаз (яд змей, насекомых) способствуют защите белковых токсинов от деградации протеиназами тканей жертвы;
- кинины – гипотензивные аллогенные пептиды (брадикинин, веспакинин X, веспакинин M, политескинин и др.) вызывают повышение сосудистой проницаемости и обратимое сокращение гладкой мускулатуры. Отвечают за развитие общих и местных симптомов отравления;
- меллитин (яд пчел) вызывает широкий спектр физиологических реакций (гемолиз эритроцитов, высвобождение гистамина из тучных клеток и др.);
- мембрано-активные пептиды – МАП (яд кобр и бунгарусов) включают гемолизины, цитотоксины и кардитоксины, которые активно воздействуют на мембраны клеток;
- МСД-пептид, пептид 401 (яд ос, пчел) дегранулирует тучные клетки, способствуя освобождению из них гистамина;
- нейротоксины – в это понятие входят различные токсины, специфически действующие на нервные клетки путем взаимодействия с ионными каналами и белками электровозбудимых мембран.

Выделяют 3 группы нейротоксинов животных: аксональные, пресинаптические и постсинаптические.

Аксональные нейротоксины (батрахотоксин, лофотоксин, макулотоксин, палитоксин, сакситоксин, сигуатоксин, тетродотоксин) яв-

ляются механизмом блокирования прохождения нервного импульса по аксону – через блокирование ионных каналов, что приводит к параличу проведения импульсов через нервные волокна.

Пресинаптические нейротоксины (β -бунгаротоксин, тайпоксин, нотексин и др., содержащиеся в ядах актиний, паука-каракурта, гремучих и гадюковых змей, тайванской кобры, тигровой змеи и др.) проявляют свое действие двухфазно. Первая фаза воздействия нейротоксина на синаптическую передачу заключается в усилении выброса медиатора (нейротрансмиттера) в ответ на одиночное раздражение нерва, приводящее к усилению амплитуды возбуждающего постсинаптического потенциала и усилению постсинаптической реакции. Вторая фаза воздействия нейротоксина на синаптическую передачу связана с развитием стойкой деполяризации мембраны и блокированием проведения возбуждения. Пресинаптические нейротоксины действуют медленнее, чем аксональные. Гибель, получивших яд, наступает не в течение нескольких часов, а суток и более.

Постсинаптические нейротоксины (яд морских змей, кобр рода *Naja*, бунгарусов, мамб, некоторых австралийских змей) специфически блокируют Н-холинорецепторы субсинаптической мембраны скелетной мускулатуры и некоторых отделов ЦНС и ВНС. Отравление постсинаптическими нейротоксинами по скорости развития симптомов и клинике напоминает отравление аксональными нейротоксинами.

Норадреналин (яд шершня, пчел, морских ежей) – катехоламин, местное действие проявляется некрозом, сужением периферических сосудов и повышением АД.

Оптоидные пептиды, дермофины (кожа жабы) – их анальгезирующая активность больше, чем у морфина до 11 раз.

Протеазы змеиных ядов (гадюки, гремучики) – обладают фибринолитическим, фибринолитическим, коагулирующим и брадикининлибераторным действием и играют ведущую роль в развитии местных повреждений тканей, геморрагических отеков, мионекрозов.

Серотонин (яд дискомедуз, скорпионов, ос, шершня, морских дракончиков, ядозуба, кожа лягушек) оказывает влияние на нервную деятельность, вызывает сокращение гладкой мускулатуры кишечника, матки, бронхов.

Синильная кислота (многоножки) блокирует дыхательный фермент цитохромоксидазу и вызывает кислородное голодание тканей.

Стероиды (кожа и секреты амфибий) вызывают брадикардию, повышение АД. В больших дозах может вызвать остановку сердца.

Сфингомиелиназа Д (аранеоморфные пауки) приводит к дерматонекрозу у позвоночных, лизису эритроцитов, высвобождению серотонина из тромбоцитов, в результате чего происходит агрегация тромбоцитов и развивается внутрисосудистое свертывание крови.

Тахикинины (кожа лягушек) – их действие не отличается от брадикинина, аналогичным действием обладает и уперолеин (кожа жаб).

Фасцикулин (яд зеленой мамбы) является сильным ингибитором ацетилхолинэстеразы полипептидной природы. Блокирует нейромышечное соединение.

Фибринолизин (яд фезалий) относится к факторам свертываемости крови, растворяет тромбы.

Физалемин (филломедузы, кожа жаб *Physalaemus fuscumaculatus*) вызывает вазодилатацию и длительную гипотензию, оказывает выраженное деполаризующее действие на мотонейроны.

Фосфодиэстераза (яд скорпионов, яд скатов) оказывает кардиотоксическое действие.

Фосфолипаза А (яд скорпионов, муравьев, морских змей, элапид, ядозуба) оказывает миотоксический эффект, вызывает структурные нарушения в диафрагме.

Фосфолипаза А₂ (яд шершня, пчел, гадюк, грумучих змей) обладает выраженными гемолитическими свойствами.

Цитотоксины (яд физалий, коралловых полипов, нематоцист цианеи, дискомедуз, горгонарий, немертин) обладает мембранотропным действием в отношении определенных участков клетки.

Холин (яд беспозвоночных) действует на парасимпатическую нервную систему как антагонист адреналина.

1.3. Химическая природа токсинов растительного происхождения, в том числе грибов

1.3.1. Фитотоксины

Токсичность ядовитых растений для человека и животных зависит от образования и наличия в них ядовитых химических соединений. Действующими веществами ядовитых растений являются алка-

лоиды, гликозиды, эфирные масла, органические кислоты лакитоны и токсальбумины.

Алкалоиды представляют собой сложные органические гетероциклические основания с атомами азота в цикле. Простейшие алкалоиды содержат до 10 атомов углерода, в отдельных случаях – до 50. Большинство из них содержит кислород. В отдельных алкалоидах кислорода нет (кониин, никотин, анабазин и др.). В растениях алкалоиды находятся в виде солей различных растительных кислот (яблочной, лимонной, щавелевой, янтарной) и легко всасываются, попадая в желудочно-кишечный канал человека и животных.

Во флоре земного шара алкалоиды распространены неравномерно: например, в семействах маковых, пасленовых, лютиковых число их может достигать до 20 и меняться в зависимости от условий произрастания растения [3]. Распространение алкалоидов представлено в табл. 1.3.

Особое место занимают соланины (гликоалкалоиды), у которых агликоном служит стероидный алкалоид соланидин. Их углеводная часть представлена 1–3 моносахаридами (глюкоза, галактоза, рамноза). Содержатся в растениях рода *Solanum* семейства пасленовых (картофель, безвременник). Обладают горьким вкусом.

Гликозиды представляют собой соединения циклических 5- и 6-членных сахаров с веществами типа спиртов или фенолов. Различают S-, O- или N- гликозиды в зависимости от гликозидной связи с участием атомов S, O или N. O- или N- гликозиды наиболее распространены в тканях растений и животных.

Классификацию гликозидов затрудняет разнообразие веществ, выступающих в роли аглюкона, определяющего специфическое биологическое действие гликозида. Гликозиды, содержащие глюкозу, называются глюкозидами.

Гликозиды легко распадаются на углеводную часть (глюкоза, галактоза, рамноза) и аглюконы, которые по химическому составу можно разделить на:

– гликозиды с аглюконами, не содержащими азот. Из этой группы гликозидов отравление могут вызывать гликозиды растений группы наперстянки (наперстянка, ландыш, зимовник, олеандр);

– гликозиды с аглюконами, содержащими азот (нитрилглюкозиды, цианглюкозиды). Они имеют важное токсикологическое значение, так как при их расщеплении образуется синильная кислота;

Основные группы алкалоидов и продуцирующие их растения*

Группа алкалоидов	Важнейший представитель	Растение
Пиридиновые и пиперидиновые	Конин Никотин Лобелин	Болиглов Табак Лобелин
Пирролидиновые и пиперидиновые	Гиосциамин Скополамин	Белена Скополия
Пирролизидиновые	Платифиллин Сенецифиллин	Крестовник То же
Хинолиновые	Эхинопсин	Мордовник
Бензилизохинолиновые	Папаверин	Мак
Фенантренизохинолиновые	Морфин Кодеин	Мак
Дибензилизохинолиновые	Даурицин	Луносемянник
Бензофенантридиновые	Хелидонин Сангвинарин	Чистотел Тоже
Индольные	Галантамин Винканин Эрготамин	Подснежник Воронова Барвинок Спорынья
Имидазольные	Пилокарпин	Пилокарпус
Пуриновые	Кофеин Теофиллин	Чай То же
Дитерпеновые	Аконит Дельсимин	Борец Тоже
Стероидные	Соланин Йервин	Картофель Чемерица Лобеля
Ациклические	Эфедрин	Эфедра
Колхициновые	Колхицин	Безвременник

* по Б.Н. Орлову с соавт. (1990) [цит. по 3].

– гликозиды с аглюконом, содержащим азот и серу (тиогликозиды, горчичные гликозиды), способными при расщеплении образовывать горчичные масла;

– особую группу гликозидов составляют сапонины, которые распадаются на сахаристую и несхаристую часть – сапогенин (стероидный и тритерпеноидный). Сапонины, которые обладают токсическими свойствами, называют сапотоксинами.

Эфирные масла представляют собой смесь углеводов (главным образом, терпены) и составных частей в виде спиртов, альдегидов, кетонов и соединений, содержащих серу. В растениях они содержатся или в чистом виде, или в виде гликозидов (горчичные гликозиды).

Из органических кислот токсикологическое значение имеют:

– синильная кислота, являющаяся продуктом ферментативного распада цианогенных гликозидов некоторых дикорастущих и культивируемых растений;

– щавелевая кислота, содержащаяся в щавелях, кислице, листьях свеклы и др. в виде солей.

Лактоны являются ангидридами γ -оксикислот. Токсикологическое значение имеют полыни (таврическая, цитварная) и лютики.

Токсальбумины представляют собой растительные токсические вещества белкового характера в виде гемитоксинов (сапорин, бриодин I, боунганин, гелонин) и голотоксинов (рицин, абрин, лектин, омелы, вискумин, волькенсин, модецин). Они обладают иммуногенными свойствами, т.е. способностью при соответствующих методах введения их животным вызывать в организме образование антител.

В настоящее время распространение получила клиническая классификация ядовитых растений И.Л. Гусынина [3]. Она выглядит следующим образом:

1. Растения, вызывающие преимущественно симптомы поражения ЦНС:

– растения, вызывающие возбуждение ЦНС (красавка белладонна, белена, дурман, скополия, пузырница, хвойник, соляноколосник, секуринага, вех);

– растения, вызывающие возбуждение ЦНС и одновременно действующие на пищеварительный тракт, сердце и почки (можжевельник, пижма, туя, багульник, полынь, лютик, рогозлавник, калужница, ветреница, прострел, ломонос, воронец, борщевик, девясил, ясенец);

– растения, вызывающие угнетение и паралич ЦНС (мак, чистотел, глациум, хохлатка, ремерия, дымянка, плевел, пикульник, антиринум, железница, чистец, посконник, латук, молокан, ленец, чина, конопля, датиска, ковыль, опьяняющий);

– растения, вызывающие угнетение и паралич ЦНС и одновременно действующие на ЖКТ и ССС (аконит, живость, табак, анабазис, безвременник, чемерица, тисс, термопсис, раkitник, жарновец, пузырик, софора, аммодрон, аммотамус, пажитник, пинтант,

лонтита, самшит, хамедафне, подбел, могильник, козлятник, чернокорень, окопник, синяк, анхуза, нарцисс, панерий, подснежник, блоцветник, штернбергия, унгерния, болиголов, бутень, кокорыш, омежник, поручейник, рододендрон, клещевина, робиния, кирказон, хлопчатник).

2. Растения, вызывающие преимущественно симптомы поражения ЖКТ и одновременно действующие на ЦНС и почки (норичник, мытник, льнянка, погребок, марьянник, молочай, пролесник, аронник, блокрывльник, эминиум, переступень, очиток, тамус, дискорея, мыльнянка, тысячеголов, смолевка, колючелистник, очный цвет, дряква, плющ, скабиноза, эремурус, триллиум, стальник, золототысячник, каперцы, ворсянка, гледичий, подмаренник, патриния, володушка, клопоген, лен слабительный, парнолистник, марь, горец, вьюнок, куколь, паслен, повидика).

3. Растения, вызывающие преимущественно симптомы поражения органов дыхания и пищеварительного тракта – растения, образующие горчичные масла (резушка, жерушник, горчица, капуста, сурепка, редька, репник, ярутка, клоповник, дескурения, вайда).

4. Растения, вызывающие преимущественно симптомы поражения сердца (наперстянка, ландыш, горицвет, желтушник, желтофиоль, олеандр, морозник, сирения, вороний глаз, птицемлечник, купена, лаконос, волчье лыко, кендырь, клопытень, бересклет, обвойник, джут, цинанхум, ластовень, вязель, будра, тюльпан).

5. Растения, вызывающие преимущественно симптомы поражения печени (крестовник, золотарник, нардосмия, люпин, гелиотроп, триходесма).

6. Растения, вызывающие при определенных условиях аноксемические явления (явления удушения):

а) растения, образующие синильную кислоту (сорго, манник, колоняк, бор, бухарник, триостренник, лен, вика, клевер, лядвенец, миндаль, абрикос, черемуха);

б) растения, образующие низшие окислы азота (свекла, дуб, крапива).

7. Растения, сенсibiliзирующие (повышающие чувствительность) животных к воздействию солнечного света (зверобой, гречиха, якорцы, просо, клевер, муреция).

8. Растения, вызывающие признаки геморрагического диатеза (донник, смолоносица).

9. Растения, вызывающие нарушения половой деятельности животных (псоралей, воробейник, клевер, паслен птичий, юкка, подсолнечник).

10. Растения, вызывающие заболевания с характером витаминной недостаточности (папоротник-орляк, хвощ).

11. Растения, вызывающие симптомы нарушения солевого обмена (щавель, кислица, гребенщик, кумарчик, галагетон).

1.3.2. Микотоксины

Грибы относятся к группе низших растений, лишенных хлорофилла с признаками как растений (способность к синтезу витаминов, наличие клеточных стенок и др.), так и животных (тип питания, наличие хитина в клеточных стенках, запасы углеводов в виде гликогена, образование мочевины и др.). Они являются гетеротрофными организмами, так как для своего развития нуждаются в готовых органических веществах.

В зависимости от способа питания грибы подразделяются на паразитов и сапрофитов. Они обычно поселяются на растениях, животных или их остатках.

Классификация грибов предусматривает 4 класса [3]:

– 1 класс составляют низшие грибы или фикомицеты (*Phycomycetes*). У них мицелий неклеточный или с небольшим количеством перегородок;

– 2 класс – сумчатые грибы или аскомицеты (*Ascomycetes*). Для них характерно образование сумок с аэкоспорами (орган размножения). Мицелий многоклеточный, галоидный, на нем развиваются конидиальные спороношения;

– 3 класс – базидиомицеты (*Basidiomycetes*) с многоклеточным мицелием. Для них характерно образование базидий, несущих на стеригмах базидиоспоры. Является самым распространенным классом;

– 4 класс составляют несовершенные грибы (*Deuteromycetes* или *Fungi imperfecti* родов *Fusarium*, *Aspergillus*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Penicillium* и др.). Полового размножения не имеют.

Большинство микотоксинов попадает в организм людей и животных через пищеварительный тракт. Детоксикация их осуществляется в печени. Продукты метаболизма микотоксинов с желчью выводятся в экскременты или с мочой.

Токсические характеристики некоторых микотоксинов приведены в табл. 1.4.

Процесс преобразования микотоксинов в организме осуществляется 2 путями – метаболизации (гидролиз, окисление, восстановление)

Таблица 1.4

Токсические характеристики отдельных токсинов*

Организм-продуценты	Микотоксин	Природный субстрат	Характер токсического действия
Грибы из рода <i>Aspergillus</i> (<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>)	Афлатоксины В1, В2, G1, G2	Арахис, кукуруза и др. зернобобовые (семена), семя хлопчатника, орехи, овощи, растительные корма	Гепатоксическое и гепатокарциногенное, мутагенное и иммунодепрессивное
Грибы рода <i>Aspergillus</i> и <i>Penicillium</i> , способность к охратоксигенезу наиболее выражена у <i>A. ochraceum</i> и <i>P. viridicatum</i>	Охратоксины А, В и С	Зерновые кофе, сыры, корма	Нефротоксическое, тератогенное
В основном гриб <i>P. expansum</i> . Однако и другие виды микромицетов из родов <i>Penicillium</i> и <i>Aspergillus</i> могут выделять этот метаболит	Патулин	Фрукты, овощи, и продукты их переработки (соки, пюре, джемы и др.)	Нейротоксическое, мутагенное, тератогенное
Грибы из родов <i>Fusarium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Trichothecium</i> , <i>Myrothecium</i> и <i>Stachybotrys</i>	Трихотеценовые микотоксины (более 40)	Зерновые, корма, сено и т.п.	Нейротоксическое, геморрагическое, лейкопеническое, иммунодепрессивное, дерматотоксическое
<i>F. graminearum</i>	Зеараленон	Кукуруза, ячмень, пшеница, сорго, корма	Эстрогенное, тератогенное
<i>Claviceps purpurea</i>	Эрготоксины	Зерновые	Нейротоксическое

* по Б.Н. Орлову [цит. по 3].

ние) или конъюгации (соединение метаболитов с аминокислотами, серной, глюконовой кислотами).

Токсины грибов могут накапливаться в мицелии, органах спороношения и питательном субстрате.

Фузариотоксины (трихотецены, зеараленон, монилиформин) из рода *Fusarium* продуцируют более 40 трихотеценовых токсинов и зеараленон. Трихотецены также продуцируют грибы родов *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Myrothecium* и *Stachybotrys*.

Трихотеценовые микотоксины подразделяют на две группы: группа А включает Т-2, НТ-2, неосоланиол, Т-2 тетраол, изоноосолениол, скипентриол, диацетотоксискирпенол, моноацетоксискирпенол, а группа В – ниваленол, дезоксиниваленол, фузаренон-Х, ниваленолдиацетат, моноацетоксидезоксиниваленол. Большинство штаммов грибов, продуцирующих трихотецены, вырабатывают несколько токсинов (табл. 1.5).

Трихотеценовые микотоксины ингибируют как синтез белка, так и подавляют активность пептидотрансфераз путем конкуренции за места связывания на рибосомах. Отдельные трихотецены могут ингибировать синтез ДНК и оказывать повреждающее действие на

Таблица 1.5

Продуцирование некоторых трихотеценов различными видами *Fusarium*

Вид гриба	Трихотеценовые микотоксины					
	Тип А			Тип В		
	Т-2-токсин	неосоланиол	диацетотоксискирпенол	ниваленол	фузаренон-Х	дезоксиниваленол (вомитоксин)
<i>F. tricinctum</i>	+	+	+	–	–	–
<i>F. sporotrichioides</i>	+	+	+	–	–	–
<i>F. poae</i>	+	+	+	–	–	–
<i>F. acuminatum</i>	+	+	–	–	–	–
<i>F. graminearum</i>	–	–	–	+	+	+
<i>F. nivale</i>	–	–	–	+	+	–
<i>F. lateritium</i>	–	+	+	+	–	–
<i>F. equiseri</i>	–	+	+	+	+	–
<i>F. semitectrum</i>	–	+	+	+	+	–

«+» – продукция токсина установлена; «–» – не установлена

лизосомы клеток кроветворных и иммунокомпетентных органов. Общими проявлениями алиментарного отравления трихотеценами у людей обычно бывает подавление иммунного ответа, тошнота и рвота. Вспышки трихотеценовых микотоксикозов обычно связаны с длительным употреблением загрязненного микотоксинами зерна (преимущественно *F. sporotrichioides*).

Стахиботриотоксины из группы трихотеценов (роридин E, сатратоксин H, сатратоксин D, сатратоксин C, сатратоксин F, веррукарин A) имеют сходство с сердечными ядами растительного и животного происхождения. Различные штаммы продуцируют неодинаковые токсины. Стахиботриотоксины устойчивы к воздействию высоких температур, действию света, ультрафиолетовых лучей и минеральных органических кислот.

Зеараленон, или F-2 токсин, является лактоном резорциловой кислоты. Многочисленные производные зеараленона (дегидрозеараленон, зеарален, диметилзеараленон и др.) отличаются отсутствием острого токсического действия и наличием гормоноподобных свойств.

Афлатоксины образуются грибами из рода *Aspergillus* и относятся к классу вторичных метаболитов. Они образуют эндо- и экзотоксины. Известны четыре основных представителя афлатоксинов – B1, B2, G1, G2 и более десяти соединений, производных основной группы.

Афлатоксины слабо растворимы в воде, хорошо растворяются в хлороформе, этаноле. Устойчивы к воздействию высоких температур. В основе действия афлатоксинов лежит взаимодействие с ДНК, блокирование синтеза ДНК и ДНК-зависимого синтеза РНК.

Миротециотоксины (дондродохины) выделяются грибами *Murothecium verrucaria*, *M. rigidum*, *M. leucotrichum* и продуцируют веррукарин A и роредин A. Эти вещества обладают выраженным дерматическим действием.

Эрготоксины образуются грибами *Claviceps purpurea* (спорынья) и *Cl. paspali* и представлены двумя видами клавиналкалоидов и пептидными алкалоидами (табл. 1.6).

Алкалоиды спорыньи и их производные отличаются фармакологическими и токсическими свойствами. Одни из них (эрготоксин, эрготамин, эргозин) суживают зрачок и кровеносные сосуды, парализуют двигательные симпатические нервы, а другие (аргометрин) вызывают сильное сокращение мускулатуры матки.

Гриб *Cl. paspali* паразитирует на злаковых растениях и имеет тот же цикл развития, что и спорынья. Токсические вещества (треморгеновые микотоксины и алкалоиды) содержатся в склероциях гриба и вместе с ними попадают в пищу животного или человека.

Охратоксины продуцируются грибами *Aspergillus* и *Penicillium*, в частности, *A. ochraceum* и *P. viridicatum*. Эти микотоксины являются изокумаринами, связанными амидами с L-фенилаланином. В кормах животных обычно встречаются охратоксин А и редко охратоксин В [2].

Микотоксины грибов рода *Penicillium* достаточно широко распространены. Гриб *P. islandicum* продуцирует более 20 токсических метаболитов, из которых наиболее известны лютеоскирин и циклохлоритин.

Лютеоскирин подавляет синтез информационной РНК путем взаимодействия с ДНК, нарушает функции митохондрий клеток печени, что приводит к накоплению в них триглицеридов. В результате развивается некроз и дегенерация печени. Микотоксин нерастворим в воде, но хорошо растворяется в органических соединениях.

Таблица 1.6

Алкалоиды спорыньи

Алкалоиды лизергиновой и изолизергиновой кислот	Клавиновые алкалоиды
Эргин	Агроклавин
Эргинин	Секаклавин (хиноклавин-1)
Эргокорнин	Хиноклавин-2
Эргокорнинин	Костаклавин
Эргокристин	Циклоклавин
Эргокристинин	Дигидролозергол-1
α -, β -эргокриптины	Элимоклавин
β -эргокриптины	Элимоклавин-О-Р-Д-фруктозид
Эргометрин, эргометринин	Фестуклавин
Эргосекалин, эргосекалинин	Фумигаклавины А и В
Эргозин, эргозинин	Изоханоклавин-1
Эргостин, эргостинин	Изолизергол
Эрготамин, эрготаминин	Изоленниклавин, пенниклавин
Лизергиновая кислота	Изосетоклавин
Изолизергиновая кислота	Лизергин, лизерген, лизергол
Лизергид	Сетоклавин, норсетоклавин

Циклохлоритин характеризуется высокой токсичностью в отношении печени и выраженной канцерогенной активностью. Хорошо растворяется в воде.

Цитреовиридин является токсичным метаболитом гриба *P. citreoviridae*. Характеризуется выраженным нейротоксическим действием, сопровождающимся нарушениями центральной нервной, сердечно-сосудистой и дыхательной систем, развитием параличей. Метаболит не растворяется в воде, но хорошо растворим в эфире, этаноле, бензоле, ацетоне.

Цитринин продуцируется *P. citrinum*, *P. Purpurogenum* и другими грибами из рода *Penicillium*. Вызывает дегенеративные изменения почечных канальцев.

Рубратоксин А и рубратоксин В относятся к высокотоксичным метаболитам, продуцируемым грибами *P. rubrum* и *P. Purpurogenum*. Рубратоксины ингибируют активность микросомальных оксидаз, оказывают активное действие на митохондрии, обладают гепатотоксическим, мутагенным и тератогенным действием.

Патулин продуцируется в основном грибом *P. expansum*. Хорошо растворим в воде и органических растворителях. Обнаруживается в подгнивших фруктах, ягодах и овощах.

1.3.3. Яды грибов

В обычной жизни люди чаще сталкиваются с макромицетами (шляпочные грибы), которые по вышеприведенной классификации относятся к классу 2 – (сумчатые грибы или аскомицеты) и классу 3 (базидиомицеты). Они состоят из мицелия (грибницы) и плодового тела (шляпка и ножка гриба). Грибница (мицелий) – вегетативное тело гриба, состоит из тонких разветвленных нитей (гиф). Он может быть неклеточным (у фикомицетов) и многоклеточным (у сумчатых, базидиальных и несовершенных грибов) и выполняет роль питающих корней в образовании тела гриба.

Шляпка содержит органы, которые производят споры – носители наследственности гриба. Споры являются источником роста мицелия и в последующем плодового тела на новом участке почвы.

Грибы макроцеты могут продуцировать токсины с различной химической структурой, которые определяют специфический тропизм к отдельным органам и системам животных и человека. В зависимо-

сти от этого развиваются синдромы отравлений, которые в свою очередь подразделяются на следующие синдромы.

Фаллоидиновый синдром формируется при отравлении ядовитыми грибами, в которых действующими веществами являются аманитотоксины. Все грибы, содержащие аманитотоксины, делят в зависимости от количеств токсических веществ на 2 группы:

1 группа включает высокотоксичные грибы с летальной дозой 0,5–1,5 г/кг веса (мухоморы: бледная поганка, *Amanita phalloides*; мухомор весенний, *A. verna*; мухомор зловонный, *A. virosa*; мухомор двуспоровый, *A. bisporigen*);

2 группа – токсичные грибы с летальной дозой от 5 до 8 г/кг (грибы рода лепиота: лепиота гельвеола, *Lepiota helveola*; лепиота брүннеолилацина, *L. brunneolilacina*; лепиота гребенчатая, *L. cristata*; лепиота субинкарната, *L. subincarnata*; галерина осенняя, *Galerina autumnalis*; галерина маргината, *G. marginata*; Коносиб филарис, *Conocybe filaris*).

К аманитотоксинам относятся следующие токсические вещества [3]:

– аманиты – циклопептиды, состоящие из 8 аминокислот с достаточно сложной химической структурой, включающей изолейцин, глицин, триптофан, цистеин, радикал аспарагина, соединений гидроксипролина, окись серы и др. Содержание аманитотоксинов в различных видах бледных поганок существенно отличается, что и определяет клиническое течение отравления. Летальная доза аманитотоксинов для взрослого человека с массой 70 кг составляет 7 мг. Такое количество яда содержится в 3–50 г свежей бледной поганки и в 150–200 г мухомора весеннего;

– фаллоидины – циклические олигопептиды, состоящие из 7 аминокислот. В эту группу входят фаллоидин, фаллоин, профаллоин, фаллизин, фаллацин, фаллацидин, фаллизацин, отличающиеся по степени токсичности при изменении хотя бы одного из пептидных колец или серного мостика. Все фаллоидины разрушаются в кислой среде, по этой причине бледная поганка и мухомор весенний, обладающие токсическими свойствами, не являются токсичными для человека при попадании в организм через желудок;

– фаллин (фаллолизин) теряет свою активность при нагревании свыше 60 °С и разрушается в кислой среде. При поступлении в организм вызывает почечно-печеночную недостаточность и острый гемолиз;

– виротоксины представляют собой циклические олигопептиды, содержатся в мухоморе зловонном. Выделены разновидности: виroidин, дезоксивиroidин, виroidин, дезоксивиroidин. По химической структуре и токсическому воздействию близки к фаллоидинам [4].

Гиромитриновый синдром вызывают грибы класса аскомицетов рода гиромитра (*Gyromitra*): строчок обыкновенный (*G. esculenta*), строчок гигантский (*G. gigas*), строчок осенний (*G. infula*). Отравление могут также вызвать грибы из класса сморчков. Основным действующим токсическим веществом, вызывающим гиромитриновый синдром, является гирометрин.

Паксиллюсный синдром вызывают грибы семейства свинушковых (*Paxillaceae*), рода свинушки: свинушка тонкая (*P. involutes*) и свинушка толстая (*P. atrotomentosus*). В этой группе выраженными токсическими свойствами обладает свинушка тонкая.

Орелланиновый синдром развивается при употреблении в пищу грибов семейства паутинниковых, род паутинник (*Cortinarius*). Токсические вещества (орелланин) являются сложными полипептидами, устойчивыми к действию высокой температуры, изменению кислотности и высушиванию.

Проксимановый синдром развивается при употреблении в пищу мухомора насущного (*Amanita proximo*) и проявляется острым гастроэнтеритом с последующим развитием острой почечной недостаточности и гепатопатией.

Судориновый синдром развивается после употребления в пищу грибов с высоким содержанием мускарина:

- грибы рода волоконниц (*Inocybe*): волоконница пагуйяра (*In. patouillardii*), волоконница земляная (*In. geophilla*), волоконница разорванная (*In. lacera*) и волоконница волокнистая (*In. fastigiata*);
- грибы рода говорушка (*Clitocybe*): говорушка восковатая (*Cl. cerussata*), говорушка беловатая (*Cl. dealbata*), говорушка ривузолья (*Cl. rivusola*).

Действующими веществами с токсическими свойствами являются: мускарин и его изомеры (эпимускарин, алломускарин, эпиалломускарин, мусказон, мусцимол).

Мускарин – алкалоид состоит из одного гидрофильного кольца и образования, напоминающего по структуре ацетилхолин. Мускарин и его производные водорастворимы, термостабильны, очень легко при варке выходят в раствор с сохранением биологической активно-

сти. Смертельная доза для человека около 500 мг [3, 6]. В организме человека оказывает М-холиномиметическое действие, возбуждая холинэргические рецепторы мускаринового типа.

Психомиметические синдромы (психотонический, психодислептический, псилоцибиновый, стерилпириновый, индоламинный) развиваются при употреблении грибов, воздействующих на нейросенсорные отделы коры головного мозга, вызывая при этом специфическую разнонаправленность. Одни виды грибов повышают двигательную активность; другие – вызывают галлюциногенный эффект, а третьи – оказывают наркотическое действие.

Психотонический (микоатропиновый) или мускариновый синдром развивается при употреблении мухомора красного (*A. muscaria*), мухомора пантерного (*A. pantherina*), мухомора желтого (*A. junquilla*), мухомора пышного (*A. regalis*). Наиболее тяжелые отравления с 4–10 % летальным исходом наблюдаются после употребления мухомора пантерного. Синдром развивается после воздействия следующих токсических веществ:

- иботеновая кислота воздействует на глутаминчувствительные рецепторы головного мозга, приводя к судорогам;
- мусцимол образуется после декарбоксилирования иботеновой кислоты. Участвует в передаче нервного импульса в головном мозге, блокируя рецепторы вызывает угнетение эмоционально-психической сферы деятельности головного мозга;
- метилтетрагидрокарболикарбоновая кислота оказывает галлюциногенное действие;
- мускарин и его изомеры не имеют важного значения в клинике отравления, так как их содержание в мякоти грибов несущественно (до 2 %).

Кроме того, в развитии интоксикации определенную роль играют и другие малоизученные вещества: мусказон, мускарин, стизолобная и стизолобиновая аминокислоты, холин, бетаин, герцинин.

Психодислептический синдром развивается при употреблении более 100 видов грибов и проявляется в развитии психических расстройств и галлюцинаций зрительных, слуховых и зрительно-слуховых.

Псилоцибиновый синдром сопровождается симптомами наркотического опьянения с синестическими галлюцинациями. В развитии синдрома важное значение имеют псилоцин, псилоцибин, триптамин. Эти вещества обнаружены в грибах семейства строфариевых

рода псилоцибе (*Psilocybe*): псилоцибе мексикана (*P. mexicana*), псилоцибе запотекорум (*P. zapotecorum*), псилоцибе полуланцевидная (*P. semilanceata*), псилоцибе каллоза (*callosa*), псилоцибе пелликулеза (*P. pelliculosa*), а также в грибах панеолус сфинктринус (*Panaeolus sphinctrinus*), панеолус суббалтеатус (*P. subbalteatus*), коносиб цианопус (*Conocybe cyanopus*).

Стерилпириновый синдром сопровождается зрительными галлюцинациями. Действующим веществом грибов, вызывающих этот синдром, является меконовая кислота. Она содержится строфарии синезеленой (*Stropharia aeruginosa*), строфарии украшенной (*S. coronilla*), чешуйчатке ворсистой (*Pholiota squarrosa*), гимнопиле видном (*Gymnopilus spectabilis*).

Индоламиновый синдром развивается при приеме некоторых грибов рода дождевик (*Lycoperdon*): дождевик кандидум (*L. candidum*), дождевик круциатум (*L. stuciatum*), дождевик микстекорум (*L. mixtecogum*), дождевик маргинатум (*L. marginatum*) и сопровождается слуховыми галлюцинациями.

1.4. Химическая природа токсинов бактериальной природы

В инфекционной патологии определенный интерес представляет группа болезней, вызываемых не микроорганизмом, а продуктами его жизнедеятельности, в том числе накопленными вне макроорганизма в различных субстратах (например, ботулотоксин в продуктах питания). В патогенезе этих болезней, как правило, отсутствует инфекционный процесс, а клинические проявления определяются лишь его составной частью процессом интоксикации, степень тяжести которого определяются видом и количеством токсина [1].

Важнейшей характеристикой токсинов является токсичность – свойство химического вещества в минимальном количестве вызывать патологические изменения, ведущие к нарушению основных процессов жизнедеятельности организма и зачастую приводящие к его гибели.

По определению В. Finlay, S. Falkow, токсины – это «секретируемые микробные протеины, обычно ферменты, которые убивают клетки хозяина в исключительно маленьких концентрациях» [2]. В настоящее время к токсинам бактериальной природы относят и структур-

ные компоненты белковой и липополисахаридной природы. Токсины можно синтезировать *in silico*, вследствие чего они являются предметом изучения токсинологии, как раздела классической токсикологии. Вместе с тем по сравнению с другими синтетическими токсикантами токсины не обладают летучестью, в большей степени иммуногенны и характеризуются большим разнообразием токсических эффектов в зависимости от путей поступления в организм.

Из достаточно представительной группы токсинов бактериальной природы наибольшую известность получили бета-токсин (*St. aureus*), ботулотоксины (*Cl. botulinum*), гемолизин (*E. coli*), дифтерийный (*C. diphtheriae*) и коклюшный (*B. pertussis*) токсины, токсины перфрингенс (*Cl. perfringens*), столбнячный нейротоксин (*Cl. tetani*), холерный токсин (*V. cholerae*), шигатоксин (*Sh. dysenteriae*) и многие другие.

Подлинная роль биологических токсинов в живой природе на сегодняшний день известна не до конца. Сложность и многофункциональность молекул токсинов свидетельствуют об их длительном эволюционном пути и позволяют рассматривать токсичность как частное проявление первичной функции сигнальных молекул отдельных бактерий. В настоящее время выделяют 5 типов токсинов (повреждающие мембраны; ингибиторы белкового синтеза; образование вторичных мессенджеров; активаторы иммунного ответа; протеазы) [3].

Одинаково направленное действие отбора привело к конвергентным гомологиям отдельных структур токсических молекул, а также выполняющих сходную функцию структур белков эукариотов и вирусов. Максимальная токсичность ботулинического токсина сопряжена с предельным увеличением размера и сложности молекулы.

Применительно к возбудителям клостридиальных инфекций особый интерес вызывают *Clostridium botulinum* и *Clostridium tetanus* как продуценты самых сильных ботулинического и столбнячного токсинов.

Ю.В. Вертиев отмечает, что бактериальные токсины, интерфероны, бактериоцины и гормоны обнаруживают сходство в отношении целого ряда важных свойств [5]:

– синтезируются одним типом клеток, а воздействуют на другие типы клеток;

– действуют на клетки в чрезвычайно низкой концентрации (10–11 – 10–14 М);

– обладают сходной молекулярной организацией, то есть состоят как минимум из двух функционально и структурно различных белков (доменов) – энзиматического и рецептурного;

– имеют сходные звенья молекулярного механизма действия (связывание с рецепторами, активация, транслокация внутрь клетки и модификация клеточных мишеней);

– обнаруживают сходную кинетику биологического эффекта – одноударный эффект;

– все эти вещества токсичны.

Токсины бактерий представляют собой либо отдельные белки, либо олигомерные белковые комплексы, организованные в А-В-структуры. В этом случае в наличии имеются два компонента: А и В-субъединицы (бинарные).

А-субъединица проявляет энзиматическую (токсическую) активность в клетке хозяина. В-субъединица доставляет А-субъединицу в клетку-мишень. Она состоит из двух функциональных доменов: рецептор-связывающего домена, определяющего тропизм молекулы токсина к определенным клеткам, и транслокационного домена, доставляющего А-субъединицу через липидный бислой, либо на плазматическую мембрану или в эндосому клетки-мишени [3].

Наличие А- и В-субъединиц (доменов) в структурах молекул большинства белковых токсинов свидетельствует о том, что они, как правило, являются крупными функциональными белковыми агрегатами. Эволюционно образование таких агрегатов стало возможным путем объединения двух или более белков в результате как нековалентных взаимодействий (сибиреязвенный, коклюшный и др. токсины), так и путем образования ковалентной связи между ними (ботулинический и столбнячный токсины).

Существует несколько классификаций бактериальных токсинов, мы в своей работе используем работу С. Schmitt et al. [6] (табл. 1.7).

Как видно из табл. 1.7 по механизму действия токсины разделяются на порообразующие, на токсины, ингибирующие синтез белка, на токсины, генерирующие образование вторичных мессенджеров, протеолитические, гибридные, модифицированные и активаторы иммунного ответа.

Порообразующие токсины. К ним относят бактериальные токсины, функционирующие посредством вставки в плазматическую мембрану хозяина и формирующие в ней трансмембранные поры,

Таблица 1.7

Характеристика бактериальных токсинов

Микро-организм / токсин	Механизм действия	Мишень	Болезнь	Участие токсина в болезни	LD ₅₀ на кг
1	2	3	4	5	6
Повреждающие мембраны					
A. hydrophila / Аэролизин	Порофор-мирующий	Гликопротеин	Диарея	(Да)	-7 мкг (м)
C. perfringens / Перфринголизин O	То же	Холестерин	Газовая гангрена	?	
E. coli / Гемолизин	То же	Плазматическая мембрана	Инфекция уринарного тракта	(Да)	–
L. monocytogenes / Листерiolизин O	То же	Холестерин	Пищевые инфекции, менингиты	(Да)	3–12 мкг (м)
S. aureus / α-токсин	То же	Плазматическая мембрана	Абсцессы	(Да)	40–60 нг (м)
S. pneumoniae / Пневмолизин	То же	Холестерин	Пневмония	(Да)	-1,5 мкг (к)
Ингибиторы белкового синтеза					
C. diphtheriae / Дифтерийный токсин	АДФ-рибозил-трансфераза	Фактор элонгации -2	Дифтерия	Да	-1,6 мкг(м) 1000 нг(ч)
E. coli / S. dysenteriae Шигатоксин	N-гликозида	N-гликозида	Геморрагический, гемолитический, уремиический синдром	Да	–
P. aeruginosa / Экзотоксин А	АДФ-рибозил-трансфераза	Фактор элонгации -2	Пневмония	(Да)	-3 мкг (м)

1	2	3	4	5	6
Активация путей вторичных мессенджеров					
E.coli: Цитотоксический некротизирующий фактор	Деамидаза	Rho G-белки	Инфекция уринарного тракта	?	–
Термостабильный токсин	Стимуляция Гуанилатциклазы	Гуанилатциклязный рецептор	То же	Да	–
Термолабильный токсин	АДФ-рибозил-трансфераза	G-белки	Диарея	Да	–
EAST	ST-подобный	Неизвестна	То же	?	–
V.anthraxis / Отечный фактор	Аденилатциклаза	АДФ	Сибирская язва	Да	–
V.pertussis/ Коклюшный токсин	АДФ-рибозил-трансфераза	G-белки	Коклюш	Да	–
Дермонекротический токсин	Деамидаза	Rho-белки	Риниты	(Да)	–
C.botulinum / C2-токсин	АДФ-рибозил-трансфераза	Мономерный G-актин	Ботулизм	?	–
C.botulinum/ C3-токсин	То же	Rho G-белок	Ботулизм	?	–
C. Difficile / Токсин А	Гликозил-трансфераза	Rho G-белок	Диарея/РС	(Да)	–
Токсин В	То же	То же	То же	?	–
V. cholerae / Холерный токсин	АДФ-рибозил-трансфераза	G-белок	Диарея / РС	Да	-250 мкг(м)
Активаторы иммунного ответа					
S.aureus/ Энтеротоксины	Суперантиген	TCR и МНС	Пищевое отравление	Да	20–50 мкг (о)

1	2	3	4	5	6
Эксфолиативный токсин	Суперантиген (и сериновая кислота)	То же	Синдром шелушения кожи	Да	–
<i>S. pyogenes</i> / Пирогенный экзотоксин	То же	То же	Скарлатина / синдром токсического шока	Да	3–6 мг (м)
Токсин синдрома токсического шока	Суперантиген	То же	Синдром токсического шока	Да	–
Протеазы					
<i>V. anthracis</i> / Летальный фактор	Металло-протеаза	МАРКК1 / МАРКК2	Сибирская язва	Да	<114 мкг(м)
<i>S. botulinum</i> / Нейротоксины А-С	Цинк-металлопротеазы	VAMP / синаптобревин SNAP – 25, синтаксин	Ботулизм	Да	0,5–1,2 нг (м)
<i>S. tetani</i> / Столбнячный токсин	То же	VAMP / синаптобревин	Столбняк	Да	-1 нг (м)

Примечание. Да – строго доказанная связь между токсином и болезнью; (Да) – роль в патогенезе доказан на животных моделях или клеточных культурах; VAMP – везикуло-ассоциированный мембранный белок; SNAP-25 – синаптосомально-ассоциированный белок [7].

приводящие клетку к лизису. Такие токсины еще называют RTX-семейством из-за наличия в их молекулах большого количества повторов [8]. Механизм их действия хорошо прослеживается на примере альфа-токсина *S. aureus*, рассматриваемого как прототип олигомеризирующегося пороформирующегося цитотоксина [6].

Альфа-токсин синтезируется как прекурсорная молекула из 319 аминокислот, содержащая N-терминальную последовательность из 26 аминокислот. Секретируемый бактерией «зрелый» токсин (протомер) является гидрофильной молекулой с массой 33 кДа, утратившей цистеиновые остатки [9]. При этом протомер «узнает» клетку-мишень по высокоаффинным рецепторам или не специфически

сорбируется в участках плазматической мембраны, содержащих фосфатидилхолин или холестерин. На мембране семь протомерных токсинов собираются в пору, формируя грибоподобный гептамер (232 кДа), включающий три различных домена [9]. Шляпка и ободочная область гептамера альфа-токсина располагаются на поверхности плазматической мембраны, в то время как ножка служит трансмембранным каналом. Образовавшаяся пора позволяет маленьким молекулам и ионам двухстороннее движение, что в конечном итоге приводит клетку к вздутию и гибели от осмотического шока [10].

Альфа-токсин является цитолитическим в отношении различных типов клеток. У человека он способен лизировать моноциты, клетки, но точная его роль в стафилококковом заболевании людей неизвестна [9]. К другим членам RTX-семейства относят гемолизин *E. coli* (HlyA), аденилатциклазу *V. pertussis*, лейкотоксин *Pasterella haemolitica*. Это семейство токсинов является также частью консервативного механизма секреции I типа, который отвечает за их транспорт из бактериальной клетки [8]. Образование поры включает целый каскад вторичных реакций, приводящих к другим патологическим последствиям. Среди них активация эндонуклеаз, высвобождение цитокинов и медиаторов воспаления, синтез эйкозаноидов [9].

Токсины, ингибирующие синтез белка. Субстратами для этих токсинов служат факторы элонгации и рибосомальная РНК [11]. Дифтерийный токсин и экзотоксин А псевдомонад являются дифтаמיד специфическими АДФ-рибозилтрансферазами, которые рибозилируют фактор элонгации 2 и, таким образом инактивируя его, подавляют синтез белка в клетках. Шигатоксин (Stx-токсин), также называемый веротоксином, продуцируется *S. disenteriae* первого серотипа и недавно появившимися Stx-продуцирующими штаммами *E. coli* (STEC) [5]. Рассмотрим на его примере механизм действия таких токсинов. Stx-токсины имеют типичную А-В-структуру. Энзиматически активная А-субъединица (35 кД) нековалентно связана с В-субъединицей (7,5 кДа). Голотоксин содержит 5 В-субъединиц. В-субъединичный пентамер связывает голотоксин с эукариотической клеткой через специфические гликолипидные рецепторы. После интернализации, полипептид А расщепляется на энзиматическую часть (А1) и фрагмент А2, остающиеся связанными через дисульфидный мостик. А2-фрагмент связывает А1 с В-пентамером [6]. А1 проявляет N-гликозидазную активность и расщепляет N-гликозидную связь

у аденина в положении 4324 на 28S рибосомальной РНК. В результате происходит отщепление 400 нуклеотидов с 3-конца рРНК, что служит препятствием для присоединения аминоацил-тРНК, синтез белка прекращается, и клетка гибнет [5].

Токсины, генерирующие образование вторичных мессенджеров (посредников). Бактериальные токсины могут влиять на функцию; отдельных белков эукариотической клетки, не приводя ее к гибели. Для этого они активируют так называемых вторичных посредников, которые способны в большой степени усиливать и искажать клеточную реакцию на внеклеточные сигналы [8].

Механизм действия таких токсинов представлен на примере цитотоксического некротического фактора (CNF). CNF первого и второго типов (CNF1/2) относятся к группе бактериальных токсинов, модифицирующих Rho – субсемейство маленьких ГТФ-связывающих белков, участвующих в модификации регуляторов актина цитоскелета [12]. Ген CNF1 у *E. coli* закодирован на хромосоме и располагается на «острове патогенности» [13]. Токсин синтезируется как гидрофильный полипептид (115 кДа). Он остается цитоплазматическим из-за отсутствия сигнальной последовательности и имеет связывающий (N-терминальная половина CNF1) и ферментативный (C-терминальная половина CNF1) домены [14]. Видимо, в клетки хозяина он попадает с помощью секреторного механизма III типа. Недавно было показано, что CNF1 деаминирует глутаминовый остаток Rho в положении 64. Такая модификация приводит к преобладанию активности Rho, неспособного гидролизовать связанный с ним ГТФ. Эукариотические клетки, подвергнутые воздействию CNF1, приобретают характерный вид. У них наблюдается «рифление» мембраны, формируется локальное сжатие актиновых нитей. Репликация ДНК при отсутствии клеточного деления, приводит к образованию многоядерных клеток. Внутрикожное введение CNF1 вызывает длительное воспаление и образование некротического очага [8]. Установлена критическая роль небольших ГТФ-связывающих белков не только в регуляции цитоскелета (семейство белков Rho), но и в везикулярном транспорте (семейство Rab), и в регуляции роста и дифференциации клеток (семейство Ras).

Вероятно, что существуют пока еще неизвестные токсины, способные воздействовать на основные клеточные процессы через эти белки [8].

Протеолитические токсины. Ботулинический и столбнячный (оба цинк-металлоэндопротеазы), в опытах на животных обнаруживают наименьшую из известных LD_{50} . Удивительно, насколько различную клиническую картину дают поражения этими токсинами, имеющими столь значительное сходство в структуре, энзиматической активности и мишенях среди клеток нервной системы, но при этом различающиеся путями проникновения в макроорганизм. Например, ботулинический токсин проникает в организм энтерально и вызывает вялые параличи периферических нервов. Столбнячный же токсин, образуясь на поверхностях ран, колонизированных *S. tetani*, приводит к спастическим параличам через поражение ЦНС [8].

Эти токсины имеют и наиболее сложную молекулу. Оба синтезируются в виде неактивных полипептидов массой 150 кДа и высвобождаются из лизированных клеток. Затем они активируются посредством протеолитического расщепления открытой петли в структуре своей молекулы. Каждая активная молекула нейротоксина включает тяжелую (100 кДа) и легкую (50 кДа) цепи, связанные посредством межцепочечной дисульфидной связи. Тяжелые цепи обоих токсинов содержат два домена – регион, необходимый для транслокации токсина (N-терминальная последовательность) и регион, необходимый для связывания с клеткой (C-терминальная последовательность). Легкие цепи обоих токсинов содержат цинк-связывающий мотив, необходимый для цинк-зависимой протеазы, активирующей молекулу [15].

Ботулинические токсины связываются с рецепторами на поверхности пресинаптической мембраны двигательных нейронов периферической нервной системы и вызывают протеолиз белков в нейронах. Это приводит к ингибированию высвобождения ацетилхолина и к предотвращению мышечных сокращений – возникает вялый паралич [16]. Столбнячный токсин сначала связывается с рецепторами на пресинаптической мембране моторных нейронов, но затем с помощью ретроградного везикулярного транспорта он перемещается в нейроны спинного мозга. Спастический паралич возникает из-за того, что рассечение везикуло-ассоциированных белков и синаптобревина в нейронах, нарушает высвобождение глицина и гамма-аминобутировой кислоты, прекращающих мышечное сокращение [17].

Активаторы иммунного ответа. Отдельные бактериальные токсины могут действовать непосредственно на Т-клетки и антигенпрезен-

тирующие клетки иммунной системы. Самое большое семейство токсинов данного типа называют токсинами-суперантигенами (PTSAg).

Как правило, иммуностимулирующий потенциал таких токсинов является следствием их способности связывать различные участки белков главного комплекса гистосовместимости II типа, экспрессированных на поверхности антигенпрезентирующих клеток и Vбета-элементы на T-клеточном рецепторе [6]. В частности, В-домен стафилококкового TSST-1 связывает альфа-цепь антигена DR1 человеческого лейкоцита, одновременно его А-домен специфически связывается с Vбета-элементами T-клеточного рецептора [18]. Связывание TSST-1 с Vбета2 приводит к массивной пролиферации более 20% периферических T-клеток. Следствием T-клеточной экспансии является массивное высвобождение интерлейкинов (1, 2 и 6 типов), гамма-интерферона, факторов некроза опухолей (альфа и бета) и др. [18]. Совместно эти цитокины вызывают гипотензию, высокую температуру и диффузные эритематозные высыпания [16]. Токсины данного типа характерны для случайных и факультативных паразитов.

Трехсоставные токсины (гибридные и модифицированные). К ним относятся структуры типа A1-B-A2, где В – это субъединица, участвующая в связывании токсина с рецептором, А1 – и А2 – субъединицы, проявляющие различную энзиматическую (токсическую) активность в клетке хозяина. Наиболее изученным токсином данного типа является сибиреязвенный. Он состоит из В-субъединицы, называемой протективным антигеном (ее используют для иммунизации против *V. anthracis*) и двух ферментативных субъединиц (А-субъединиц), одна из которых – отечный фактор (кальмодулинзависимая аденилатциклаза), индуцирует образование вторичных мессенджеров (цАМФ); другая – летальный фактор, является металлопротеазой.

Введение чувствительным животным любой из этих субъединиц по отдельности, не приводило ни к каким патологическим последствиям. Внутривенная инъекция комбинации В-субъединицы и отечного фактора способствовала развитию кожных отеков у морских свинок и кроликов. Смесь В-субъединицы и летального фактора при внутривенном введении вызывала гибель мышей и крыс, но не давала образования отеков при внутривенном введении. При введении смеси трех компонентов токсина они действовали синергически в тестах проверки летальности на мышах [19]. В более поздних исследованиях было показано: что отечный фактор вызывает только

кратковременное повышение внутриклеточного уровня цАМФ, поскольку он быстро разрушается клеточными протеазами [20]. Таким образом, развитие сибиреязвенной интоксикации предполагает обязательное участие всех трех компонентов сибиреязвенного токсина.

Были установлены тонкие механизмы этого процесса. В-субъединица (протективный антиген – ПА, РА) сибиреязвенного токсина представляет длинную плоскую молекулу, размером $100 \times 50 \times 30$ ангстрем, состоящую из 4 доменов [21]. Связывание ПА с рецептором клетки-мишени начинается с домена 4. Этот домен (остатки 596–735) имеет первичную шпильку и спираль, за которыми следует бета-сендвич с иммуноглобулиновой складкой. Домены 1, 2 и 3 тесно связаны между собой, но домен 4 имеет с ними ограниченный контакт. Внутри иммуноглобулиновой складки домена 4 содержится доступная петля из 19 аминокислотных остатков, аналогичная антигенсвязывающей CDRS-петле антител и рецепторсвязывающей петле дифтерийного токсина. Протеолитическая активация происходит на клеточной поверхности. Протеаза фурин (она же используется для протеолитической активации дифтерийного токсина, экзотоксина А псевдомонад и некоторых вирусов) расщепляет поверхностную петлю внутри домена 1. В результате высвобождается N-терминальный 20 кДа фрагмент (ПА20). Этот фрагмент не играет какой-либо дополнительной роли в интоксикации. Однако его удаление приводит к образованию большой гидрофобной поверхности на оставшемся фрагменте ПА (ПА63). Остальная часть домена 1, называемого теперь домен 1', образует N-окончание активного ПА63. После утраты ПА20 ПА63 формирует гептамер, который вставляется в мембраны при кислых значениях pH, формируя катионселективные каналы как в искусственных липидных бислоях, так и в клетках. Новая гидрофобная поверхность домена 1' полностью обнажается, формируя часть большого, плоского гидрофобного пятна на «вершине» гептамера. Эта поверхность обеспечивает открытый сайт для связывания фактора отека и летального фактора, которые теперь связывают ПА63 с высоким аффинитетом. Схема этого процесса представлена на рис. 1.1.

То есть трехкомпонентные токсины используют общую В-субъединицу, обеспечивающую ферментативным субъединицам единый механизм проникновения в цитозоль. Видимо, это необходимо для проявления синергидного эффекта токсического действия ферментативных субъединиц.

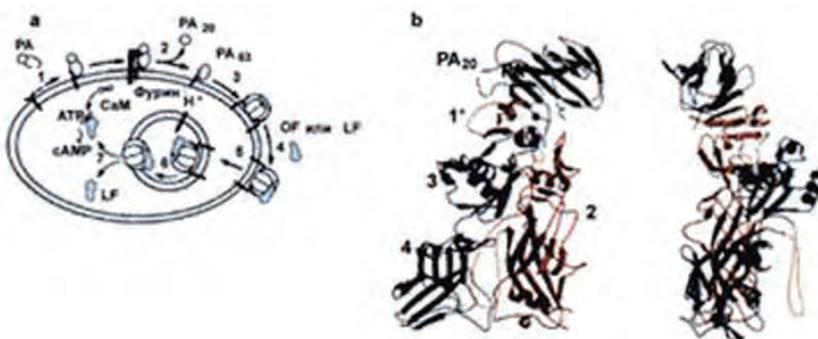


Рис. 1.1. Стадии сибирязезвенной интоксикации: а) 1 – РА связывается с рецептором клетки хозяина; 2 – фузин расщепляет и высвобождает ПА20; 3 – ПА 63 формирует гептамер; 4 – токсические ферменты связываются с ПА63; 5 – опосредованный рецептором эндоцитоз; 6 – подкисление эндосомы приводит к мембранной вставке ПА63; 7 – транслокация токсических ферментов в цитозоль. LF – летальный фактор; EF – фактор отека. б) ортогональные проекции РА, окрашенного по доменам. Домен 1 включает РА плюс домен 1' и два иона Ca^{2+} . ПА20 отщепляясь, больше не играет роли в процессе интоксикации. Образовавшаяся гидрофобная поверхность домена 1' формирует участок связывания для LF и EF [21].

В литературе дискутируется вопрос о максимально возможной токсичности продуцентов микроорганизмов. По мнению отдельных авторов, существует возможность снижения летальных доз биологических токсинов с помощью методов генной инженерии [22, 23]. Н.С. Антонов в 1994 г. установил эффект возрастания биологической активности токсина в зависимости от молекулярной массы (рис. 1.2).

Из рисунка видно, что максимальная токсичность супертоксинов достигается за счет предельного увеличения размеров и сложности их молекул. Эффект возрастания биологической активности по мере увеличения молекулярной массы отмечался ранее Н.И. Кобозевым у алкалоидов, гликозидов, гормонов, витаминов и синтетических лекарственных веществ. Им было показано, что путем вариации состава и строения молекул можно добиться некоторого увеличения активности веществ. Но если требуется добиться увеличения активности в десятки и более раз, одних структурных изменений молекул



Рис. 1.2. График токсиды по Н.С. Антонову [24]

уже недостаточно, требуется переход к соединениям с большей величиной молекулярной массы, т.е. более сложно организованных [24].

На основании полученных данных были сделаны следующие предположения:

1) токсичность ботулинического токсина является предельной не только для бактериальных токсинов, но и для природных токсических веществ;

2) LD_{50} рекомбинантных токсинов не будет достигать данной величины для ботулинического токсина.

Таким образом, подлинная роль биологических токсинов в живой природе на сегодняшний день известна не до конца. Сложность и многофункциональность молекул токсинов свидетельствуют об их длительном эволюционном пути. Максимальная токсичность достигнута ботулиническим токсином за счет предельного увеличения размера и сложности молекулы.

Литература

1. *Магазов Р.Ш.* Эпидемиология и профилактика управляемых инфекций / Р.Ш. Магазов, А.П. Савельев, С.В. Чепур и др. – Уфа: Башк. энцикл., 2017. – 688 с.
2. *Finlay B.B.* Common themes in microbial pathogenicity / B.B. Finlay, S. Falkow // *Microbiol. Rev.* – 1989. – V. 53, № 2. – P. 210–230.
3. *Супотницкий М.В.* Биологическая война: введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов и биологических поражений / М.В. Супотницкий. – М.: Русская панорама: Кафедра, 2013. – 1135 с.
4. *Савельев А.П.* К вопросу о молекулярно-генетических особенностях действия токсинов бактериального происхождения / А.П. Савельев, Н.Н. Степанов, О.П. Мисников и др. // Актуальные направления развития медицинских средств защиты от экстремальных факторов: сб. Всероссийской научно-практической конференции, приуроченной к 25-летию ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России, 22 ноября 2017 г. – М.: Спектр, 2017. – С. 184–194.
5. *Вертнев Ю.В.* Бактериальные токсины: биологическая сущность и происхождение / Ю.В. Вертнев // *Журн. микробиол.* – 1996. – № 3. – С. 43–46.
6. *Schmitt C.K.* Bacterial toxin: friends or foes? / C.K. Schmitt, K.C. Meysick, A.D. Brien // *Emerg. Infect. Dis.* 1999. – V. 5, № 2. – P. 224–234.
7. *Супотницкий М.В.* Микроорганизмы, токсины и эпидемии / М.В. Супотницкий. – М., 2005. – 376 с.
8. *Finlay B.B.* Common Themes in Microbial Pathogenicity Revisited / B.B. Finlay, S. Falkow // *Microbiol. and Molecular Biology Reviews.* – 1997. – V. 61, № 2. – P. 136–169.
9. *Bhakdi S.* Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus* / S. Bhakdi, J. Trantum-Jensen // *Microbiological Reviews.* – 1991. – Vol. 55, №3. – P. 733–751.
10. *Song L.* Structure of staphylococcal alpha-hemolysin, a heptameric transmembrane pore / L. Song, M. Hobaugh, C. Shustak et al. // *Science.* – 1996. – V. 274, № 14. – P. 1859–1866.
11. *Езенчук Ю.В.* Патогенность как функция биомолекул / Ю.В. Езенчук. – М., 1985. – 312 с.
12. *Aktories K.* Rho proteins: targets for bacterial toxins / K. Aktories // *Trends Microbiol.* – 1997. – V. 5, № 2. – P. 282–288.
13. *Blum G.* Gene clusters encoding the cytotoxic necrotizing factor type 1, Prs-fimbriae and – hemolysin form the pathogenicity island II of the uropathogenic *Escherichia coli* strain J96. / G. Blum, V. Falbo, A. Caprioli et al. // *FEMS Microbiol. Lett.* – 1995. – V. 126, № 1. – P. 189–196.

14. *Lemichéz E.* Molecular localization of the Escherichia coli cytotoxic necrotizing factor CNF1 cell-binding and catalytic domains / E. Lemichéz, G. Flatau, M. Bruzzone et al. // Mol. Microbiol. – 1997. – V. 24, № 7. – P. 1061–1070.
15. *Schiavo G.* The structure and mode of action of botulinum and tetanus toxins / G. Schiavo, C. Montecucco. – San Diego: Academic Press; 1997. – P. 295–322.
16. *Halpern J.* Neurospecific binding, internalization and retrograde axonal transport / J. Halpern, E. Neale // Curr. Top Microbiol. Immunol. – 1995. – V. 195, № 1. – P. 221–241.
17. *Arnon S.* Human tetanus and human botulism. – San Diego: Academic Press; 1997. – P. 95–115.
18. *Schlievert P.* Searching for superantigens / P. Schlievert // Immunol. Invest. – 1997. – V. 26, № 2. – P. 283–290.
19. *Бургасов П.Н.* Сибирезвённая инфекция / П.Н. Бургасов, Г.И. Рожков. – М., 1984. – С. 311.
20. *Montecucco C.* Bacterial protein toxins penetrate cells via a four-step mechanism / C. Montecucco, E. Papini, G. Schiavo // FEBS Letters. – 1994. – V. 346, № 1. – P. 92–98.
21. *Petosa C.* Crystal structure of the anthrax toxin protective antigen / C. Petosa, P. Collier, K.R. Klimpel et al. // Nature. – 1997. – V. 385, № 6619. – P. 833–838.
22. *Гайслер Э.* Биологическое и токсинное оружие сегодня / Э. Гайслер. – Oxford University Press, 1986 (цит. по п.7).
23. *Tucker J.* Historical Trends Related to Bioterrorism: An Empirical Analysis / J. Tucker // Emerging Infectious Diseases. – 1999. – V. 5, № 4. – P. 526–529.
24. *Антонов Н.С.* Химическое оружие на рубеже двух столетий / Н.С. Антонов. – М., 1994. – С. 247.

Глава 2

ПРИРОДА, МЕХАНИЗМ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ, КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ, ДИАГНОСТИКА ОТРАВЛЕНИЙ ТОКСИНАМИ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Важным источником белковых и небелковых токсинов являются представители животного мира. К основным видам животных, имеющих специальные органы структуры (железы) и способность синтезировать в них и выделять токсические продукты, следует отнести улиток, пауков, скорпионов, змей и морских животных. Образование подобных токсинов соответствующим видом животных может осуществляться посредством употребляемых ими в пищу продуктов, а сами токсины в последствии могут накапливаться в организме этих животных и при последующем их повреждении или других способах нарушения их целостности – выделяться в окружающую среду, контаминировать продукты питания или объекты окружающей среды и вызывать опасность поражения человека. Благодаря современному уровню развития химического синтеза и биотехнологии многие из известных биотоксинов животного происхождения могут быть воспроизведены в лабораторных условиях. Животные токсины могут быть интересны и в плане их использования в качестве потенциальных агентов биотерроризма благодаря высокой токсичности. К их числу следует отнести батрахотоксин, эпибатидин, зетекитоксин АИ и другие алкалоиды из секретов кожи лягушек, относящихся к семействам *Dendrobatidae* и *Bufo* *sp.*; некоторые активные компоненты секретов змей, такие как тайпоксин (*Oxyuranus scutallatus*), бунгаротоксин (*Bungarus multicinctus*), а также α -кобротоксин (*Naja siamensis*), токсины пауков (например, α -латротоксин, выделенный из пауков вида *Latrodectus mactans*), а также ряд других биологически опасных токсинов животного происхождения.

2.1. Биологические токсины ядовитых змей

2.1.1. Эволюция яда змей

Ядовитые змеи представляют собой достаточно обширную группу (~2500) видов земноводных рептилий, которые широко распространены во всех частях света. Змеи преимущественно используют яд для захвата добычи, хотя в некоторых случаях при угрозе им или при провоцировании их они используют его в плане обороны, что имеет место в случае змеиного укуса человека.

Система змеиного ядовитого аппарата состоит из желез, которые располагаются преимущественно в области головы, а именно в пасти змеи, и продуцируют секрет. Они соединены протоками, по которым яд из желез поступает к модифицированному клыку, используемому для впрыска его в объект поражения.

Многочисленными исследованиями доказано, что яд возник в организме предков змей примерно 60 миллионов лет назад. Однако вопреки этим эволюционным воззрениям были обнаружены определенные различия в токсичности ядов, выявленных у различных видов змей. Яды представляют собой комплексную смесь протеиновых компонентов (около 50–200), которые преимущественно действуют как токсины. Эволюционно токсины развивались из многочисленных нетоксичных субстратов и в дальнейшем через альтернативный отбор, рекомбинацию и простую модификацию экспрессии приобретали новые функциональные свойства.

Благодаря эволюционным преобразованиям древние ядовитые токсины прошли достаточно большой путь, прежде чем достигли синтезируемых в современных условиях животных токсинов. Схема подобной эволюции представлена на рис. 2.1 [1].

Предшественники змей, которые были не способны продуцировать яды в своих ядовитых железах, либо продуцировали их в очень незначительных количествах, но ранние предшественники ядовитых змей способствовали наработке многочисленных типов токсинов благодаря синтезу ядов.

Определенно эти различные токсические компоненты обладают функциональной активностью и поддерживают эту активность применительно к самому яду. Яды змей могут быть классифицированы,

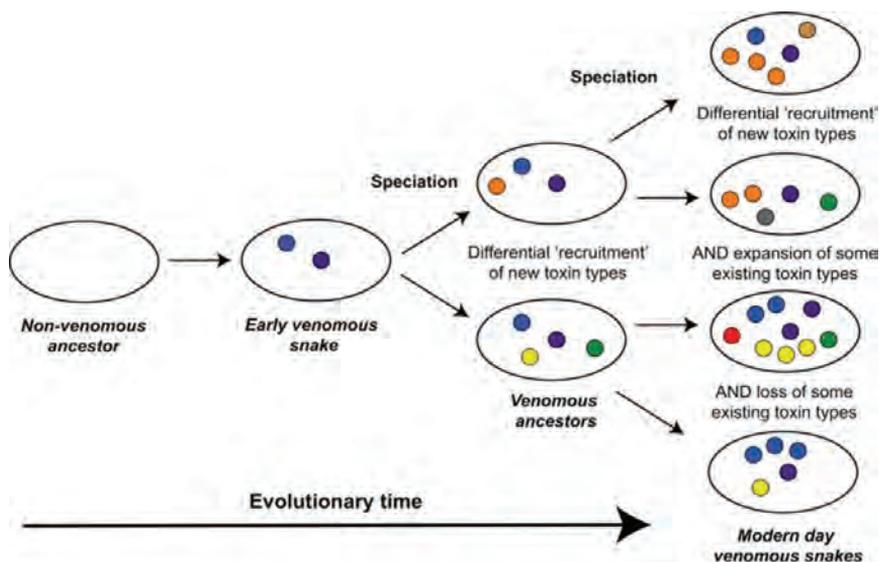


Рис. 2.1. Простая схема, демонстрирующая каким образом яды змей образуют различные токсические смеси, эволюционирующие самостоятельно. В виде овалов представлены железы в различных видах змей, продуцирующие яды, внутри овалов представлены процессы воспроизведения различных типов токсинов [1]

согласно мнению специалистов ВОЗ, как гемотоксические, нейротоксические и цитотоксические [2, 3]. В то же время многие виды змей продуцируют многофункциональные яды, которые содержат токсины с различной токсичностью. Например, два основных важных семейства змей – гадюки, а именно, гремиты, гадюка обыкновенная и аспиды, а именно кобры, мамбы, coral snakes (рис. 2.2). Согласно историческому экскурсу, яды гадюк обладают преимущественно геморрагическим действием, а аспидов – нейротоксическим. В то же время нельзя не отметить, что применительно к многим видам змей имеет место множество примеров относительно того, что яды гадюк вызывают нейротоксическое действие, равно как яды аспидов вызывают расстройства кровотока.

Впоследствии различия ядов является ключевым и важным фактором, который играет существенную роль в отношении патологии,



Рис. 2.2. Ядовитые змеи и патология, которую они вызывают, обитая в африканской пустыне Сахара. На фотографиях группы А представлены примеры важных в медицинском отношении змей. Слева направо: гадюка *Echis jageri* из Сенегала; гадюка *Bitis arietans* из Кении; кобра *Naja mossambica* из Южной Африки. На фотографиях группы В представлены поражения, вызываемые змеиными ядами. Слева направо: специальная палата для жертв змеиных укусов в Кальтунго, Нигерия; внешний вид местного кожного поражения после укуса неизвестной змеей с цитотоксическим ядом, вероятно, коброй *Naja nigricollis* в северо-восточной Нигерии; кровь и волдыри после укуса аспидом *Bitis arietans*, выделяющим цитотоксический яд и обитающим в области Килифи, Кения; локальные и системные кровоизлияния (две фотографии), проявляющиеся ядо-индуцированной коагулопатией вслед за укусом гадюки *Echis ocellatus* в северо-восточной Нигерии; пациент, получивший медленную внутривенную инфузию антияда вслед за укусом гадюки *E. ocellatus* в северо-восточной Нигерии [4]

развивающейся после змеиного укуса, и лечения последствий змеиного укуса.

2.1.2. Змеиный укус – забытое тропическое заболевание

Ядовитые змеи ежегодно кусают около 5,5 млн людей. Эти укусы приводят к поражениям ядом около 1,8 млн пострадавших и около 125 тыс. летальных исходов. При этом в разы возросло количество лиц, страдающих заболеваниями в связи с укусами змей. Змеиный укус является одним из летальных во всем мире забытым тропическим заболеванием. Нельзя не отметить, что укусам змей уделяется мало внимания со стороны глобальных организаций здравоохранения, местных властей или правительств государств. Так, ВОЗ в настоящее время исключила змеиные укусы из их формального листа забытых тропических заболеваний [5].

Змеиные укусы поражают людей, живущих в тропических и субтропических регионах мира. Все ядовитые змеи населяют практически каждый континент, однако основная смертность регистрируется в Сахаре, Южной и Юго-Восточной Азии [6].

Мужчины поражаются чаще, чем женщины, а сами укусы в основном встречаются среди детей и юношей (по данным ВОЗ). Общеизвестно, что змеиные укусы наиболее широко преобладают среди людей, проживающих в тропиках. Имеется значительная связь между змеиными укусами, индуцирующими смертность, и индексом развития человечества, процентом работающих в сельском хозяйстве, государственными расходами на душу населения. Распределение ежегодной смертности от змеиных укусов в различных регионах Земного шара представлено на рис. 2.3.

В частности, эта связь обусловлена обилием сельского населения тропических регионов, подвергающихся атакам змей в процессе работы в сельском хозяйстве. Помимо этого, нельзя не учитывать инфраструктуру здравоохранения и экономический статус этих стран, что говорит о их неудовлетворительном экономическом состоянии. Данный анализ позволяет утверждать, что жертвы часто не могут себе позволить работать в защитной обуви (> 80 % укусов поражают нижние конечности). Кроме того, они должны проделать большой путь в несколько часов, чтобы получить лечение, а лечение часто не является доступным [8, 9].

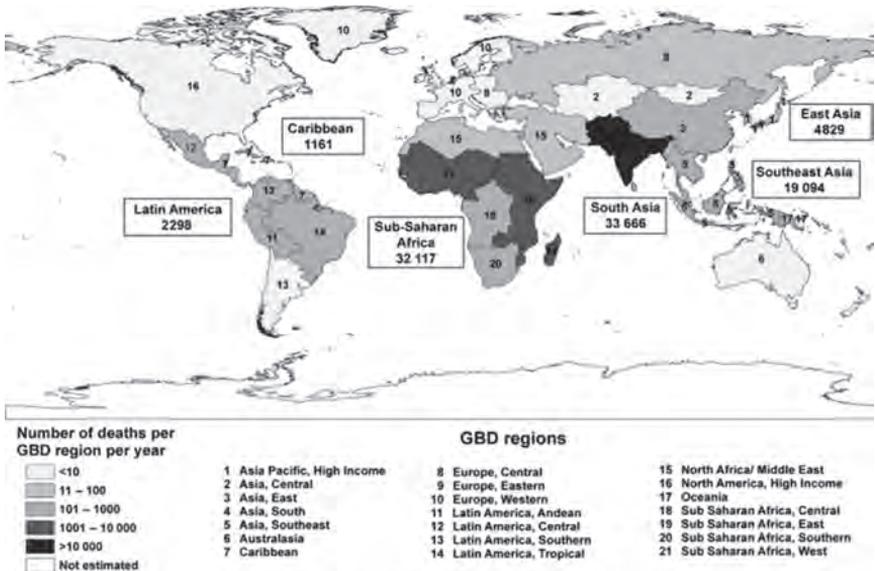


Рис. 2.3. Оценка ежегодной смертности от змеиных укусов в различных регионах мира [7]

Только специфическая терапия необходима для лечения змеиных укусов и должна быть направлена на противодействие яду. Противоядие содержит поликлональные антитела, которые получают путем иммунизации животных (лошадей или баранов) небольшими дозами змеиного яда. Получаемые антитела очищают от сыворотки или плазмы и получают таким образом препараты для IgG или F(ab')₂-или Fab-фрагментные препараты, которые применяют внутривенно практически сразу же после змеиного укуса. Все противоядия представляют собой эффективные терапевтические средства для нейтрализации токсичности змеиного яда при своевременном применении [10–12]. Однако в слаборазвитых странах имеется большой дефицит в этих препаратах. Ранее антитела против определенных ядов отличались специфичностью в отношении ядов, которые были использованы для иммунизации. Большинство этих антител могли перекрестно реагировать с нейтральными ядовитыми токсинами, продуцируемыми различными видами, отличными от используе-

мых для иммунизации. По современным публикациям следует, что существующие антияды могут иметь высокую параспецифичность. Имеются многочисленные данные, что антияды плохо нейтрализуют яды, выделяемые змеями в сравнении с теми, которые используются для иммунизации.

Ограничения в отношении параспецифичности антядов подтверждаются данными из южной части африканской Сахары, где географически неподходящие продукты используются для лечения змеиных укусов, вызывая тем самым увеличение летальных случаев с 0,4 % и 1,0 % до 10–12 % [8].

Учитывая эти ограничения, многие предприятия производят антияды посредством иммунизации животных множеством различных змеиных ядов. Эти продукты обладают преимущественно генерируемыми антителами против широкого пула антигенов (например, различных токсинов, выявленных в различных змеиных ядах). Они избегают клинических проблем, связанных с идентификацией змеи, которая укусила пациента и которому необходимо вводить соответствующий антяд. Однако в последующем было установлено, что антяд содержит несколько специфических антител к одному виду змей, которые могут нанести укус пациенту. В связи с этим требуются большие терапевтические дозы для получения необходимого эффекта. Вместе с тем такой подход незамедлительно ставит две проблемы, а именно потенциальный риск развития побочных реакций на большие дозы инородного белка, поступающего в человеческий организм и способного вызвать алергизацию организма, а также увеличение количества препарата, необходимого для достижения положительного эффекта [13, 14].

Современные данные показывают, что развитие аллергических реакций после введения чужеродных антигенов может превысить 55 %. В то же время стоимость терапевтической дозы противозмеиного антяда в Африке может варьировать в пределах 100–250 долларов за 1 ампулу препарата, а для достижения положительного эффекта в подобных условиях необходимо использовать минимум 10–20 ампул с препаратом [3]. В связи с этим приоритетной задачей становится разработка новых, более эффективных, низкодозовых и лишенных параспецифичности антядов для последующего использования в терапии змеиных укусов в тропических регионах мира [14].

2.1.3. Змеиные укусы – причина множественной патологии

Несмотря на различные токсические компоненты, выявленные в яде какой-либо одной змеи, патологические последствия змеиного укуса могут быть различными и многофакторными [15]. Кроме того, такие переменные характеристики, как локализация места укуса и количество яда, попавшего при укусе, в конечном итоге определяют степень тяжести клинических проявлений у жертв змеиных укусов [16–19]. В целом патология может быть ограничена локальными эффектами, ограничивающимися местом укуса, например, болью, отеком и гематомами. Многие отравления также приводят к развитию системной патологии, которая может быть тяжелой и даже привести к летальному исходу в случае отсутствия терапии. Клинические проявления отравлений могут быть классифицированы на три группы: нейротоксические, цитотоксические и гемотоксические, а также в некоторых случаях миотоксические. Важно отметить, что некоторые виды змей способны вызывать комбинированные поражения, характеризующиеся нейротоксическими, цитотоксическими и гемотоксическими проявлениями [20–23].

Нейротоксические яды характеризуются развитием нейромышечного паралича, начиная с глаз (птоз), фасциальных и других мышц, иннервируемых краниальными нервами, с последующим развитием прогрессирующего респираторного и генерализованного паралича. Токсины преимущественно ответственны за нейротоксические эффекты ядов и относятся к производным фосфолипаз A2 (PLA2) и семейству трехразветвленных токсинов. Эти токсины способны активировать пре- и/или постсинаптические структуры. Они могут иметь многообразное действие, от блокирования калий-натриевых каналов, до проявления действия в качестве никотиновых или мускариновых антагонистов. Общеизвестно, что многие змеи синтезируют множество различных нейротоксинов, содержащихся в их яде, что изменяет нейротрансмиссию в нейромышечных сочленениях, вызывая паралич [24, 25].

У жертв змеиных укусов, страдающих от цитотоксического отравления, отмечают болезненность и прогрессирующая припухлость в месте укуса, развиваются волдыри и синяки. В некоторых случаях развиваются системные эффекты, которые включают развитие гиповолемического шока [3]. Достаточно часто имеет место

развитие внешних локальных тканевых повреждений, характеризующихся некрозом пораженной конечности и требующих хирургического вмешательства или ампутации, если не проводить терапевтические мероприятия (рис. 2.4).

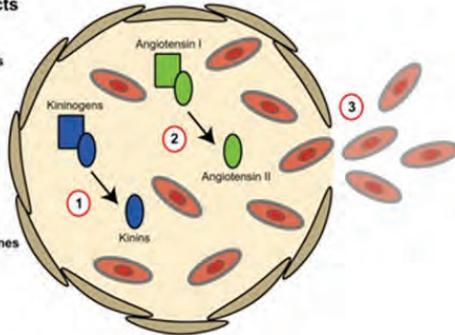
Гидролитические энзимы, такие как металлопротеиназы змеиного яда (МПЗЯ) и PLA2s, и неферментативные цитотоксические трехразветвленные токсины представляют собой болезнетворные агенты, присутствующие в различных змеиных ядах. В настоящее время показано, что деструкция местных тканей под влиянием змеиного яда может происходить также в результате увеличения индукции образования нейтрофильных внеклеточных ловушек, которые блокируют кровеносные сосуды и содержат ядовитые токсины в месте укуса, тем самым увеличивая цитотоксическую патологию [27–33].

Гемотоксичность является наиболее общим клиническим проявлением у пораженных змеиными укусами, в частности при отравлении ядом змей семейства гадюк. Как отмечается, гемотоксические яды могут иметь сердечно-сосудистые и/или гемотоксические эффекты. Сердечно-сосудистые эффекты преимущественно характеризуются резким падением артериального давления. Например, МПЗЯ опосредованно способствуют гипотензии посредством увеличения сосудистой проницаемости через разрушение базальной мембраны капилляров, приводя к выходу во внесосудистое пространство их содержимого, что приводит к снижению кровяного давления. Змеи могут также прямо индуцировать вазодилатирующие эффекты через инъекцию брадикининпотенцирующих пептидов (БПП), находящихся в составе ядов. Эта активность может быть повышена ядовитыми токсинами на основе сериновых протеаз, которые ингибируют калликреин-подобные биосубстанции, вызывая выделение брадикининов из плазменных кининогенов. Общеизвестно, что эти различные ядовитые токсины, действуя по одиночке или в комбинации, могут вызвать шок у пациентов с отравлением, обусловленным системной гипотензией (рис. 2.4) [34–36].

Гемостатические эффекты вызываются змеиными ядами и в наибольшей степени характеризуются наличием у пострадавших локальных и системных кровоизлияний. Они проявляются кровотечением из десен, из недавно заживших ран, мест укуса, желудочно-кишечного и/или мочеполового трактов. Как описано выше, МПЗЯ

(A) cardiovascular effects

- 1 Activation of kininogens
- snake venom
- serine proteases
- 2 ACE inhibitors
- bradykinin
- potentiating
- peptides
- 3 Hydrolysis of capillary
wall basement membranes
- snake venom
- metalloproteinases



(B) haemostatic effects

- 1 Activation of factor V
- snake venom
- serine proteases
- 2 Inhibition of factor X
- C-type lectins
- 3 Activation of factor X
- snake venom
- metalloproteinases
- snake venom
- serine proteases
- 4 Activation of prothrombin
- snake venom
- metalloproteinases
- factor Va toxin
- factor Xa toxin
- 5 Inhibition of thrombin
- C-type lectins
- kunitz-type serine protease inhibitors
- 6 Fibrinolytic
- snake venom
- serine proteases
- metalloproteinases
- 7 Activation of plasminogen
- snake venom
- serine proteases
- 8 Inhibition of plasmin
- kunitz-type serine
- protease inhibitors
- 9 Inhibition or aggregation
of platelets
- phospholipases A2
- snake venom
- metalloproteinases
- disintegrins
- snake venom
- serine proteases
- C-type lectins

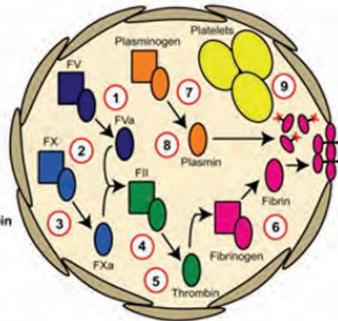


Рис. 2.4. Схематическое обобщение физиологических мишеней гемотоксических токсинов змеиных ядов: А) мишени для токсинов ядов, которые вызывают сердечно-сосудистые эффекты, клинически проявляющиеся гипотензией; В) мишени для токсинов ядов, которые вызывают гемостатические эффекты, клинически проявляющиеся в виде коагулопатий. Каждая физиологическая мишень отражена в виде красного овала, а тип ядовитого токсина, которым поражается мишень в конкретном месте, перечисляется. ACE – ангиотензин-превращающий фермент; FV – фактор V; FVa – активированный фактор V; FX – фактор X; FXa – активированный фактор X; FII – протромбин [26]

токсины увеличивают сосудистую проницаемость посредством разрушения базальной мембраны капилляров, что проявляется в экстравазации, поэтому эти токсины также обладают геморрагической активностью. По этой причине спонтанные системные кровотечения

обычно сопровождаются летальным исходом, вызванным шоком (гипотензией). Змеиный яд является также ответственным за летальный исход через кровоизлияние, в частности, внутримозгового [37].

Кровоизлияние, вызванное змеиным ядом, часто сочетается и развивается у пациентов с расстройствами под действием тромбоза, как результата коагулопатии, индуцированной змеиным ядом. Коагулопатия в данных условиях представляет собой диссеминированный внутрисосудистый свертывающе-подобный синдром, что сопровождается сниженным или неопределяемыми уровнями фибриногена и внутрисосудистым свертыванием крови [38].

Хотя укус большинства известных ядовитых змей приводит к внутрисосудистой коагулопатии, яд некоторых ужеобразных и на трициновых змей из Африки и Азии вызывает аналогичные поражения посредством их прокоагулянтных токсинов.

В настоящее время известно много змеиных токсинов, оказывающих влияние на тромбоциты. С-тип пектинов, дисинтегрины, некоторые металлопротеиназы обладают способностью индуцировать агрегацию тромбоцитов, посредством активации фактора Виллебранда или коллагена, ингибируют их агрегацию посредством блокирования интегриновых рецепторов, выявленных на мембране тромбоцитов, таких как $\alpha 2\beta 3$. Ингибирование и активация (через гипоагрегацию) этими токсинами, сопровождающимися ядо-индуцированной коагулопатией, проявляющейся разрушением тромбоцитов, клинически характеризуется выраженной тромбоцитопенией. В дальнейшем ядо-индуцируемая коагулопатия является причиной повышения риска серьезных и жизненно-связанных геморрагий. При многих летальных случаях имеют место внутримозговые геморрагии, которые развиваются в результате расстройств тромбообразования. Нельзя не отметить, что коагулопатия описывается как наиболее общий, важный, системный, клинический синдром, вызываемый отравлениями продуктами жизнедеятельности змей (гадюк) [39].

Основными компонентами ядов с гемотоксическими свойствами являются металлопротеиназы и сериновые протеиназы змеиных ядов (МПЗЯ и СПЗЯ). МПЗЯ являются производными ферментативного токсинного семейства, которые выявлены в ядах большинства известных змей. Отдельные виды змей могут содержать более чем дюжину металлопротеиназ в своем яде, а их структурные различия,

классифицируемые как Р-I, Р-II и Р-III МПЗЯ, могут показывать различия в функциональной активности, включая наличие многофункциональности, в диапазоне от геморрагической, фибринолитической, фактора X или протромбинового активирующего действия до ингибирующего агрегацию тромбоцитов эффекта. Многие МПЗЯ являются геморрагически-активными, причем относящиеся к Р-III классу обладают более выраженной геморрагической активностью, чем Р-II, а Р-II – более выраженной геморрагической активностью, чем Р-I. Такие МПЗЯ однозначно воздействуют на эндотелиальные клетки кровеносных сосудов, вызывая их набухание и лопание, и увеличивая тем самым проницаемость сосудов. Однако такое действие не обусловлено прямыми цитотоксическими эффектами, поскольку внутри МПЗЯ связываются и гидролизуют структурные компоненты базальной мембраны капиллярных сосудов. К ним относятся коллаген IV типа и перлекан, которые связывают мембрану с внеклеточным матриксом. Этот раскол ослабляет мембранную структуру и в дальнейшем гемодинамические силы (гидростатическое давление) индуцируют дисфункцию сосудистой стенки, приводя к ее разрыву и появлению геморрагий [40].

Многие МПЗЯ, в частности Р-I, являются фибриногенолитиками. Большинство МПЗЯ являются активаторами α -цепи фибриногена в фибринопептиды, а некоторые из этих белков также обладают низкой степенью активности, присущей β -цепи. Имеется относительно немного МПЗЯ, которые преимущественно разрушают β -цепь. Такое разрушение приводит к дефибринации, которая сопровождается коагулопатией и кровотечениями. Некоторые МПЗЯ описаны как прокоагулянты, которые активируются свертывающими факторами протромбином или фактором X. Многие из этих токсинов являются дериватами Р-III МПЗЯ и часто комплексуются с другими ядовитыми токсинами, подобными С-лектинам и Р-I МПЗЯ. Активаторы фактора X выделены из многочисленных змеиных ядов, включая яды гадюк и аспидов, большинство из них относятся к Р-III МПЗЯ и известны как RVV-X из гадюк Рассела (*Daboia russelii*). RVV-X разрушает фактор X аналогичным образом как это происходит в физиологических условиях его активации как тромбообразующего фактора, вызывая выделение сериновой протеазы, именуемой как активированный фактор X (фактор Xa), который активируется протромбином в конъюгации с активным фактором V

(фактор Va). RVV-X требуется присутствие в среде Ca^{2+} для активации, поскольку ими индуцируются конформационные изменения в факторе X, что и является предпосылкой для протеолиза этим МПЗЯ. Как сказано выше, протромбин является физиологически активным протромбиназным комплексом (фактор Xa и фактор Va), а для его активности требуется присутствие Ca^{2+} и фосфолипаз в качестве кофакторов. Многочисленные МПЗЯ непосредственно активируют протромбин до тромбина, а фибриноген до фибрина в процессе тромбообразования. В связи с этим токсины, а также активатор фактора X RVV-X способствуют развитию коагулопатии, проявляющейся снижением количества тромбообразующих факторов. Некоторые МПЗЯ-основанные активаторы протромбина способны функционировать в отсутствие кофакторов, в то время как другим необходимо присутствие кальция, что позволило их классифицировать относящимися либо к группе А, либо к группе В активаторов протромбина соответственно. Примерами таких активаторов могут служить кальций независимый активатор экарин и кальций зависимая МПЗЯ каринактиваза-1, выявленные в яде скалистой гадюки *Echis carinatus* [41].

Дисинтегрины представляют собой малые (40–100 аминокислот) цистеин-богатые полипептиды, которые являются дериватами протеолитического разрушения Р-II МПЗЯ. Дисинтегрины структурно разнообразны и наиболее изучены применительно к их действию как антагонисты интегриновых рецепторов, поскольку различные токсины способны избирательно блокировать различные клеточно-поверхностные интегрины при различных патологических состояниях. Например, $\alpha 2\beta 3$ интегрины при острой коронарной ишемии и тромбозе; $\alpha v\beta 3$ при опухолевых метастазах, остеопорозе и ревматоидном артрите; $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 7\beta 1$ и $\alpha 9\beta 1$ интегрины при воспалении и аутоиммунном заболевании и т.д. Применительно к ядам животного происхождения наиболее значимыми являются дисинтегрины, которые связывают $\alpha 2\beta 3$ интегрины (гликопротеин IIb/IIIa тромбоцитарный фибриногеновый рецептор), тем самым предупреждая связывание фибриногена с тромбоцитами и ингибирование агрегации тромбоцитов. Эти пептиды выявлены только в ядах гадюк. Кроме того, некоторые протеолитически активные Р-III МПЗЯ, содержащие дисинтегрин-подобные домены, соединенные цистеин-богатыми доменами, также ингибируют тромбоциты через взаимодействие

с $\alpha 2\beta 1$ интегринами; приводят тем самым к ингибированию коллаген-стимулированной агрегации тромбоцитов. Однако на сегодняшний день остаются неясные вопросы относительно того, каким образом дисинтегрин-подобные домены этих токсинов отвечают за их активность. В целом МПЗЯ и их различные функции способствуют нарушению гомеостаза, что проявляется геморрагиями, истощением различных тромбообразующих факторов и ингибированием функции тромбоцитов. Их многообразие и наличие во многих змеиных ядах может говорить о них, как наиболее важных токсинах, индуцирующих гемотоксичность [42, 43].

Сериновые протеазы змеиного яда (СПЗЯ) часто характеризуют как тромбинподобные ферменты (ТПФ), обладающие многими фибринолитическими свойствами, аналогичными тромбину. СПЗЯ выделены из гадюк и для многих известна их способность разрушать фибриноген до фибринопептиды посредством протеолитического разрушения. Однако в противоположность тромбину, который воздействует на α - и β -цепи фибриногена, ТПФ являются более избирательными и обычно воздействуют только на одну из этих цепей. Подобно МПЗЯ, большинство ТПФ характеризуются воздействием на α -цепь, хотя имеются примеры СПЗЯ, которые разрушают только β -цепь. Установлено, что некоторые из них могут воздействовать одновременно на α - и β -цепи. Эти разрушения фибриногена приводят к полимеризации фибриновых мономеров, но поскольку ТПФ не стимулируют фактор XIII к связыванию с этими полимерами, как это имеет место в случае с тромбином, это приводит к нестабильности тромбов, которые растворяются плазмином [32, 33].

Тромбиноподобные ферменты также проявляют другие стороны функциональной активности в отношении гемостаза, копируя тромбин, который сам по себе является многофункциональным ферментом. Например, некоторые ТПФ из яда мокассиновой змеи *Agkistrodon contortrix* и рогатой гадюки пустыни *Cerastes cerastes* активируют фактор XIII и либо фактор V, либо фактор X соответственно. Другие индуцируют выделение и агрегацию тромбоцитов, преимущественно через взаимодействие с протеазо-активированным рецептором-1 (ПАР-1) или мембранным гликопротеиновым рецептором GpIb, расположенными на мембране тромбоцитов. Некоторые ТПФ СПЗЯ обладают калликреино-подобным действием, индуцируя тем самым выделение кининов, таких как

Lys-брадикинин, действующего непосредственно на кининогены плазмы. И, наконец, некоторые ТПФ способны активировать пламиноген посредством разрушения его пептидных связей, вызывая выделение пламина и разрушение фибрина, а также развитие коагулопатии через различные механизмы, до конца еще не известные [31].

Выявлено еще два типа серин протеиназных токсинов в змеином яде, которые структурно и генетически отличаются от ТПФ, описанных выше. Обе этих сериновых протеазы выявлены только в яде некоторых австралийских аспидов, и они копируют активную версию тромбоцитарных факторов – фактора X и фактора V. В дальнейшем эти токсины активируют протромбин и классифицируются как активаторы протромбина групп C и D. Активаторы протромбина группы C (псеутарин C из яда восточной коричневой змеи *Pseudonaja textilis* и оскутарин из прибрежного тайпана *Oxyuranus scutellatus*) представляют собой большие мульти-субъединичные протеазы, содержащие фактор Xa-подобные и фактор Va-подобные субъединицы. Они эффективно копируют протромбиназный комплекс. Эти токсины в большом количестве присутствуют в яде коричневой змеи и тайпана и в присутствии Ca^{2+} и фосфолипидов эффективно активируют протромбин, вызывая продукцию тромбина и тромбообразующих факторов, вызывая внутрисосудистое свертывание. Большинство австралийских обезьян в своем яде содержат меньше протромбиновых активаторов группы D, чем группы C. Подобно описанному выше, эти токсины требуют Ca^{2+} и фосфолипиды в качестве кофакторов для проявлений своего механизма действия. В отличие от активаторов группы C им необходимо присутствие фактора Va, поскольку эти токсины не содержат больших субъединиц и, следовательно, не копируют протромбиназный комплекс, копируя только активированный фактор X. Как и в отношении активаторов группы C, эти токсины эффективно разрушают протромбин до тромбина и инициируют активацию свертывающего каскада крови [27, 28].

Помимо МПЗЯ и СПЗЯ, имеются другие типы змеиных ядовитых токсинов, которые играют роль в изменении хемостаза. Например, некоторые ингибиторы кунит-типа сериновых протеаз выявлены в яде (текстилинин-1 и -2 из яда восточной коричневой змеи *P. textilis*) и потенциально ингибируют пламин (и тромбин), а, следовательно,

действуют как антифибринолитические агенты. Брадикинин-потенцирующие пептиды (БПП) так называются, потому что они потенцируют эффекты брадикинина, являются продуктами жизнедеятельности ямных гадюк. Эти пептиды обладают способностью ингибировать ангиотензин-конвертирующий фермент (АКФ), тем самым предупреждая превращение ангиотензина I в вазоконстрикторный ангиотензин II, приводя к уменьшению кровяного давления. В дальнейшем БПП могут сопровождать гипотензию, регистрируемую при отравлении, а их эффект, вероятно, усиливается геморрагическими МПЗЯ и СПЗЯ, которые проявляют калликреин-подобную функцию. Показано, что некоторые змеиные ядовитые токсины типа PLA₂s обладают также способностью индуцировать гипотензивные эффекты *in vivo*, а некоторые из этих функционально активных белков также известны как способные воспроизводить антикоагулянтные эффекты посредством ингибирования агрегации тромбоцитов. Другой токсин, оказывающий влияние на функцию тромбоцитов, относится к C-type лектиноподобных белков (СТЛ). В частности, различные СТЛ описаны как обладающие многочисленными функциональными эффектами относительно гемостаза, включая связывание с фактором IX и X, что ингибирует свертывание крови, ингибирует связывание тромбина с фибриногеном, а также ингибирует активированную агрегацию тромбоцитов посредством взаимодействия с фактором von Willebrand или коллагеновыми рецепторами [20, 43, 44].

Компоненты ядов представляют интерес как потенциальные источники новых фармацевтических компонентов, имеющих важное значение в плане диагностики и терапии заболеваний человека. Такие достижения не ограничиваются змеиными ядами, имеются также токсины, выделенные из секретов конусных улиток, морских актиний, пауков и скорпионов, которые проявляют биоактивность и могут быть использованы при лечении хронических болей, ожогов и различных аутоиммунных заболеваний [7, 12, 14].

Первым препаратом, разработанным на основе ядовитого токсина, является Captopril (Capoten). Captopril был разработан вслед за идентификацией ингибитора АПФ в яде ямной гадюки (*Bothrops jaraguasa*). Этим БПП ингибируется превращение ангиотензина I в ангиотензин II, тем самым снижается системное кровяное давление посредством предупреждения продукции вазоконстрикторов. В дальнейшем каптоприл был разработан в 1970-х годах в виде синтетиче-

ского аналога и был рекомендован к применению в качестве гипотензивного препарата. Благодаря исследованиям в данной области этот продукт был использован при разработке многих аналогов (эналаприл, лизиноприл, периндоприл и рамиприл) [36, 38, 45, 46].

Tirofiban (Aggrastat) и Eptifibatide (Integrillin) были выделены из дисинтегриновых молекул, выявленных в ядах скалистой кобры (*Echis carinatus*) и сумеречной гремучей змеи (*Sistrurus miliarius barbouri*) соответственно. Оба дисинтегринина обладали потенциальной способностью ингибировать интегринный рецептор $\alpha 2\beta 3$, тем самым предупреждая агрегацию тромбоцитов. Оба токсина были синтезированы искусственно в качестве непептидной молекулы в случае Tirofiban и как циклический гептапептидный аналог Eptifibatide. В дальнейшем эти антикоагулянтные препараты эффективно ингибировали агрегацию тромбоцитов и нашли свое применение в терапии больных с нестабильной формой стенокардии и инфарктом миокарда [27, 47].

Батроксобин – препарат, разработанный на основе серинпротеазного токсина (СПЗЯ), выделенного из яда бразильской гадюки (*Bothrops moojeni*). Как и многие СПЗЯ, этот ферментный токсин обладает потенциальной специфичностью в отношении фибриногена, воздействуя на α -цепь фибриногена и способствуя образованию фибринопептида А через ее разрушение. Такие тромбиноподобные СПЗЯ энзимы не ингибируются классическими протеазными ингибиторами, в том числе эндогенными (например, ангиотензин III) или экзогенными (например, гирудин). Хотя фибриногенолитическая активность батроксобина первоначально повышается при формировании тромба, он является антикоагулянтным препаратом, предлагаемым к использованию в терапии тромботических расстройств. Разрушение фибриногена ведет к дефибринации, и вторично и опосредованно им индуцируется выделение тканевого активатора плазминогена, который конвертирует его в плазмин и увеличивает разрушение сгустков. Специфическими показаниями для применения батроксобина являются ишемическая болезнь сердца, стенокардия, инфаркт миокарда, инсульт, и показано его применение после хирургических вмешательств [7, 13, 21, 47].

Ancrod (Arvin/Arwin/Viprinex) – выделен из яда гадюки *Calloselasma rhodostoma*, представляет собой другой хорошо известный СПЗЯ, который быстро разрушает фибриноген, приводят тем самым к дефибринации. Ancrod был также разработан для использования

в качестве антикоагулянта и предназначался для терапии ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда и тромбоза глубоких вен, а также потенциально был показан для применения у пациентов с гепарин-ассоциированной тромбоцитопенией и синдромом тромбоза. В настоящее время применение препарата в клинике приостановлено в виду получения множества противоречивых результатов об его эффективности. Другой дефибрирующий токсин в виде синтетической формы, разработанной на основании СПЗЯ, обнаруженного в яде змеи (*Agkistrodon contortrix*), проходит в настоящее время фазу III клинического исследования после положительных результатов, полученных при проведении фазы I и II клинического изучения. В дальнейшем препарат под коммерческим названием *Alfimegrase*, вероятно будет допущен до широкого практического использования [12, 47].

Предполагается активно использовать компоненты ядов для разработки препаратов с целью терапии гемостатических расстройств. Например, в настоящее время другие фибринолитические СПЗЯ находятся в разработке, включая «гемокогулазный агкистродом», выделенный из китайских мокасин (*Deinagkistrodon acutus*) и «кроталазу» из восточной гремучей змеи (*Crotalus adamanteus*). Оба этих сериновых протеазных токсина использованы при разработке средств антикоагулянтной терапии, способствующих снижению времени образования сгустка во время хирургических вмешательств.

Различные ядовитые токсины, выделенные из яда Восточной коричневой змеи (*P. textilis*) в настоящее время также исследуются на предмет их гемостатической активности. Куниц-типом серинового протеазного ингибитора текстилин-1 ингибирует плазмин, а также он характеризуется слабым или отсутствующим эффектом на другие сериновые протеазы. Этот токсин обладает антифибринолитическим действием, а под маркой Q8008 был использован с целью снижения свертываемости крови, связанной с комплексом хирургических манипуляций. Кроме того, активированные фактор X- и фактор V-подобные токсины, выявленные в яде *P. Textilis*, также используются при разработке новых терапевтических препаратов. Фактор Ха-подобный белок в качестве лекарственного препарата разрабатывался под названием «Haempatch» с целью последующего применения для контроля свертываемости при травматических поражениях или хирургических вмешательствах. Кроме того, фактор Va-подобный

белок под наименованием «CoVase» предназначался для применения в случае неуправляемой геморрагии [15, 16, 26, 47].

Гемотоксические компоненты, выделенные из змеиных ядов, в основном используются для диагностических целей, в частности, для тестирования свертывания крови.

2.1.4. Характеристика змеиных токсинов

Яд скорпионов обладает нейротоксичностью. Источником яда являются скорпионы (Scorpiones). Отравление наступает после укуса (точечного прокола кожи – ужаления) насекомого. Через несколько минут появляются сильные жгучие иррадирующие боли в месте ужаления, развиваются отек, гиперемия тканей, изредка возникают пузыри с серозным содержимым. Токсикоз организма сопровождается головной болью, головокружением, слабостью, нарушением сознания, судорогами, мышечным тремором, тахикардией, затруднением дыхания, расстройством терморегуляции и артериального давления. Могут развиваться панкреатиты и миокардиты.

Яд пауков-птицеедов содержит гистамин и серотонин. Источником яда являются пауки-птицееды (Pterinochilus spp.), распространенные в Западной, Центральной, Восточной Африке и Мадагаскаре. Укус паука вызывает сильную местную боль, слабость, сонливость, нарушение координации движения. Отравленный человек производит впечатление больного летаргическим энцефалитом. Ослабляется деятельность сердца и легких. Не приходя в сознание и не просыпаясь отравленный может умереть. Яд паука *P. batgowi* применяется бушменами для отравления стрел.

Яд каракурта содержит нейротоксины белковой природы, гиалуронидазу, фосфодиэстеразу, холинэстеразу, киназу и др. Всего в яде каракурта обнаружено не менее 86 уникальных белков, включая гомотолог латротоксина, токсичные для насекомых и ракообразных [44].

Источником яда является паук-каракурт (*Latrodectus* spp.). Основное действующее вещество – пресинаптический нейротоксин α -латротоксин. У каракуртов *L. pallidus* и *L. dahli* обнаружен β -латротоксин. Наибольшее распространение каракуртов отмечается в Средней Азии, Аравии, Северной и Западной Африке. Укус сопровождается мгновенной жгучей болью, распространяющейся по всему телу (живот, поясница и грудная клетка). Появляются симптомы

общего отравления организма: одышка, сердцебиение, тахикардия, головокружение, головная боль, тремор, рвота, потливость, бледность или, наоборот, гиперемия лица, чувство тяжести в грудной и подложечной областях. При тяжелом течении развивается депрессия, затемнение сознания, бред. Летальность составляет 2–4 %.

Яд тарантула включает в свой состав токсические полипептиды и ферменты (гиалуронидаза, протеазы, эстеразы аргининовых эфиров, киназа), спермин, спермидин, путресцин и кадаверин. Источником яда являются пауки-тарантулы (*Lycosidae* spp.), местом обитания которых служат пустынные, степные и лесостепные зоны.

Кожу паук прокалывает с помощью холицер. В месте укуса появляется болезненность, развиваются гиперемия и отек. Пострадавшие жалуются на общую тяжесть тела, апатию, сонливость. Может наблюдаться озноб, учащение пульса и потливость.

Яд пчел содержит токсические вещества с различными свойствами: белки с ферментативными свойствами (фосфолипаза A2, гиалуронидаза, кислая фосфатаза), токсические полипептиды (меллитин, анамин, МСД- пептид, тертианин, секапин) и биогенные амины (гистамин, дофамин, норадреналин и др.). Источником яда является медоносная пчела *Apis mellifera* L.

Клиническая картина отравления пчелиным ядом зависит от количества ужалений, их локализации и функционального состояния организма пострадавшего. В месте раны формируются отек и гиперемия, сопровождающиеся болью. Затем появляются общие симптомы отравления: аритмия, тахикардия, боль в области сердца, чувство стеснения грудной клетки, спазм гортани, слабость, страх смерти, потеря сознания. Смерть может наступить от паралича дыхательного центра. До 2 % ужаленных людей дают аллергические реакции на пчелиный яд [44].

Кантаридин является небелковым ядом кожно-нарывного и нефротоксического действия. Смертельная доза для человека при приеме внутрь 20–30 мг. Источник яда – жуки-шпанки (*Lytta*), имеющие достаточно широкое распространение. При приеме внутрь яд интенсивно всасывается и приводит к развитию отравления со смертельным исходом. У отравленных людей появляется чувство жжения во рту, затрудненное глотание, рвота. Судороги, падение пульса, иногда параличи и кома. В сублетальных дозах вызывает типичные последствия – гломерулонефриты и циститы.

Патоморфологически у погибших от отравления кантаридином отмечается резкая гиперемия слизистых покровов, язвы и геморрагические очаги на слизистой ЖКТ. В печени и почках – диффузные поражения.

Яд сколопендры содержит в своем составе ацетилхолин, гистамин, серотонин, гиалуронидазу, холинэстеразу, кининазу, ВАЕЕ-эстеразу. Источником яда являются кольчатые сколопендры (*Scolopendra singulana*). Укусы сколопендры вызывают жгучую боль, отек, одомогание, озноб, гипергликемия.

Яд диамфидий – диамфотоксин обладает выраженным гемолитическим действием, является сильнейшим ядом животного происхождения. Источником яда являются диамфидии (жук-листоед – *Diamphidia locusta*, *D. nigro-ornata*). Естественное поражение маловероятно. Бушмены северной части Калагри (юг Африки) с древности используют яд диамфидии для смазывания наконечников стрел. Выкопанные куколки измельчают, смешивают с растертыми семенами растения *Schwarzia madagascariensis* и соком коры акации. Обработанный таким способом калгарский стрельный яд сохраняет свою ядовитость на кончике стрелы в течение года. Одной стрелы достаточно, чтобы убить жирафа весом 500 кг [45].

Батрахотоксин (ВТХ) обладает сильным кардиотоксическим действием, вызывая экстрасистолии и фибрилляции желудочков сердца, ведущие к остановке сердца и летальному исходу. Стойко и необратимо повышает проницаемость покоящейся мембраны нервных и мышечных клеток для ионов Na^+ , вызывая изменение электрического потенциала клетки [44]. При этом блокируется аксонный транспорт, и клетка не может передавать нервные импульсы. Источником яда являются неотропические лягушки рода *Phyllobates* (*P. aurotaenia*, *P. bicolor*, *P. terribilis*, *P. lugubris*, *P. vittatus*). Регион поражения – Центральная и Южная Америка. Туземцы Колумбии используют секрет желез колумбийской лягушки (*P. terribilis*) в качестве яда для стрел. Смерть жертвы наступает через 4–8 мин после попадания стрелы.

Буфотенин обладает галлюциногенными свойствами. Источником яда являются жабы *Bufo* (*B. alvarius*, *B. marinus*), листья *Amantia marra*, семена *Piptadenia peregrina* и грибы *Amantia muscaria*. У людей буфотенин вызывает психические нарушения, близкие к тем, что вызывает ЛСД. Психозы, обусловленные буфотенином (2–16 мг/кг), могут длиться до 3 сут [45].

Кобротоксин (яд кобры *Naja naja*) представлен постсинаптическими нейротоксинами и мембрано-активными полипептидами с широким спектром фармакологической активности (гемолитической, кардиотоксической и цитотоксической). Источник яда – змеи элапиды (*Elapidae*), обитающие на территории Индии и в Средней Азии. Смерть людей наступает, как правило, от недостаточности функции внешнего дыхания на фоне поражения ЦНС.

Укус кобры происходит неожиданно для человека. На месте укуса на коже остаются ранки в виде точечных проколов. Благодаря спазму кровеносных сосудов яд блокируется и образуется первичное депо, в котором часть яда связывается клеточными элементами крови и окружающими тканями. Затем яд начинает дренироваться лимфатической системой, возникает лимфангоит и лимфаденит. В результате чего формируется вторичное депо яда. Гемолитическое действие токсина проявляется в падении АД, снижении температуры тела, формировании отека в месте укуса и появлении симптомов общей интоксикации и поражения ЦНС (тошнота, рвота, головная боль, головокружение, непроизвольное мочеиспускание, дефекация, нарушение слухового и зрительного восприятия, изменение координации движения). Смерть наступает от остановки дыхания. Важно подчеркнуть, что чем острее интоксикация, тем меньше клинических симптомов. Мгновенная смерть может наступить при попадании яда в крупную артерию.

Яды гадюк (виперотоксин) и гремушников (кроталотоксин) обладают выраженным нейротоксическим и кардиотоксическим действием. Источник яда – гадюки (*Viperidae*) и ямкоголовые (гремушие) змеи (*Crotalidae*), распространенные в Африке, Евразии, на юге и востоке Азии, в Северной и Южной Америке. Минимальная смертельная доза виперотоксина для человека составляет от 0,4 до 0,8 мг/кг в зависимости от вида гадюки, а для кроталотоксина – 20 мг. Отравления характеризуются болью, лимфаденитом, геморрагическим некрозом и отеком в зоне инокуляции яда. На первый план выступают признаки системного отравления – общая слабость, парестезия, головокружение, обмороки, тошнота, рвота, падение АД, нарушение дыхания и шок. Развивается сердечная недостаточность, угнетается деятельность ЦНС. Смерть наступает на фоне апатии и сонливости отравленного. У выздоровевших могут наблюдаться остаточные поражения в виде некроза кожи в месте укуса, а также неполное восстановление функции печени и почек.

*Яд гремучей змеи *Crotalus durissus terrificus**, обитающей в Южной Америке, содержит нейротоксин кротоксин, гиротоксин и кротамин. Клиника отравления полностью совпадает с клиникой отравления ядом других гремучников.

Мойяветоксин содержится в яде гремучей змеи *Crotalus scutulatus scutulatus*, обитающей в штатах Северной Америки (Калифорния, Юта, Невада, Аризона). Симптомы отравления ядом гремучей змеи и его токсичность отличаются в зависимости от региона США. Наибольшей токсичностью отличаются змеи, обитающие в штатах Калифорния, Юта, Невада.

Яд бумеланга выделяется ужеобразной змеей бумеланг *Dispholidus typus*, обитающий в странах Африки. Является мощным коагулянтом. Отравление напоминает менее интенсивно выраженную картину отравления ядом гадюк.

*Яд древесной змеи *Thelotornis kirtlandi** обладает сильной дефебрирующей активностью. Змея обитает в странах Африки. Отравление ядом древесной змеи напоминает картину поражения ядом гадюк, но менее выражено по клинике.

*Яд подвязочной змеи (*Thamnophis elegans vagrans*)*, обитающей в странах Африки, обладает сильным геморрагическим действием. Отравление ядом подвязочной змеи напоминает картину поражения ядом гадюк, но менее выражено по клинике.

Яд ядозубов содержит серотонин, оксидазу α -аминокислот, гиалуронидазу, фосфолипазу А, аргининэстеразу и обладает нейротропным и брадикининлибераторным действием [44]. Источник яда – ядовитые ящерицы-яздозубы *Heloderma suspectum* и *H. horridum*, обитающие в сухих каменистых предгорьях и полупустынях Северной Америки. Смертельная доза для человека составляет 5–8 мг/кг. Укусы ядозуба редки. В месте укуса развивается отек, сильная боль в течение длительного времени (до 8–10 ч). Клинический симптомокомплекс включает слабость, тошноту, головокружение, АД низкое, дыхание учащено. При большой дозе яда смерть наступает от паралича диафрагмы.

2.2. Токсины морского происхождения

Морская фауна существенно отличается от наземной своим таксономическим составом и разнообразием. Здесь обитают представители гораздо большего числа типов животных и растений, чем

на суше. Причем многие виды являются сугубо морскими (иглокожие, мшанки, асцидии, почти все виды водорослей), либо включают только небольшие группы наземных представителей. Например, из огромного числа семейств губок только одно обитает в пресноводных водоемах, тогда как все другие – в морях и океанах. Таксономическое своеобразие продуцентов, а также необычные условия их обитания, очевидно и объясняют, почему структуры абсолютного большинства морских вторичных метаболитов и природных соединений, найденных в наземных организмах, не совпадают [48].

В настоящее время не вызывает сомнения, что продукты жизнедеятельности морских микроорганизмов являются достаточно мощными поражающими агентами. Более чем 10 % таких продуктов обладает различной степенью выраженности цитотоксической активностью при их попадании в макроорганизм.

Вредоносное цветение водорослей (ВЦВ) является естественным природным феноменом, возникающим в результате разрастания морского фитопланктона. В последние десятилетия встречаемость и интенсивность ВЦВ заметно увеличились в глобальном масштабе, что обусловлено подъемом океанических температур и ростом прибрежной эутрофикации [49, 51]. Географическое расширение ВЦВ может быть также связано с балластными веществами, транспортируемыми с водой вместе с водорослями к новым местам обитания или массивными массами водорослей, образующие аквакультуральные частицы. Среди тысяч микроводорослей, известных в природе, около 300 входят в группу вредоносных, а более 100 (из этих видов) – продуцируют природные токсины, которые могут вызывать интоксикацию или смерть человека и животных. Такие токсические поражения могут иметь последствия применительно к другим областям деятельности человека, вызывая тем самым социально-экономическую напряженность. Главные факторы воздействия ВЦВ и их влияние на окружающую действительность хорошо известны и представлены на рис. 2.5. Прямое воздействие ВЦВ на человека связано с поражением после употребления контаминированной морской пищи, кожного контакта с контаминированной водой, и/или после ингалирования аэрозолитованных биотоксинов. В настоящее время увеличилась информация об опасном воздействии на человека ВЦВ и стратегии предупреждения встречаемости ВЦВ в морских продуктах. Это необходимо для разработки профилактических мер по защите от уникального природного



Рис. 2.5. Факторы, имеющие место в встречаемых ВЦВ, и их последствия в отношении здоровья человека и благополучия [50]

феномена, включающего комплекс физических, химических и биологических процессов в морском окружении [51]. Кроме того, если в литературе широко представлено классическое описание острой интоксикации, обусловленной морскими биотоксинами, то имеется также незначительная информация с эпидемиологическими исследованиями о длительном воздействии подобных факторов на популяции с повышенным риском такого контакта [49].

Токсикологические механизмы некоторых морских биотоксинов еще не полностью понятны и тем более не объяснимы применительно к человеку. Хорошо известно, что морские биотоксины могут накапливаться в тканях некоторых морских организмов. Во всех случаях они *de novo* продуцируются фото- или миксо-трофическими микроводорослями, но не рыбами, а посредством фильтрации передаются моллюскам [52].

Моллюски фильтруют приблизительно 20 л воды/час, и при ВЦВ вода может содержать несколько миллионов клеток водорослей в литре.

Некоторые виды фитопланктона в этих водорослях продуцируют фикотоксины, которые могут накапливаться в морской пище [48].

Возникновение интоксикации у людей обусловлено морскими биотоксинами (рис. 2.6), выделяемыми посредством переваривания контаминированных морепродуктов, что обуславливает развитие специфических симптомов, связанных с токсическими веществами [53, 54].

Повреждение нервной или интерстициальной системы скорее, чем потеря памяти, зависит от типа цветных водорослей. Среди них некоторые динофлагелляты и диатомные водоросли, такие как *Noctiluca scintillans* и *Skeletonema costatum*, ответственны только за обесцвечивание воды и гибель рыб и других морских организмов, в то время как виды *Alexandrium*, *Gymnodinium*, *Dinophysis* и *Pseudonitzschia* обладают способностью продуцировать морские биотоксины для человека [55, 56]. На основании их отравляющих свойств они также классифицируются как токсины, вызывающие паралитические отравления моллюсками (ПОМ), амнестические отравления моллюсками (АОМ), диарейные отравления моллюсками (ДОМ), нейротоксические отравления моллюсками (НОМ), а также сигватерные отравления рыбой (СОР).

Согласно химической структуре, морские биотоксины классифицируются на 8 групп – азапирацид (АЗА), бреветоксин (БТОК), циклический имин (ЦИ), домоевая кислота (ДК), окадаевая кислота (ОК), пектенотоксин (ПТОК), сакситоксин (СТОК), а также йессотоксин (ЙТОК). Две различные группы выделяют палитоксин (ПАТОК) и цигватоксин (ЦТОК). Морские биотоксины и токсические эффекты для их потребителей после поедания контаминированных морепродуктов приведены в табл. 2.1. Воздействие биотоксинов на человека в основном характеризуется острыми или длительно продолжающи-

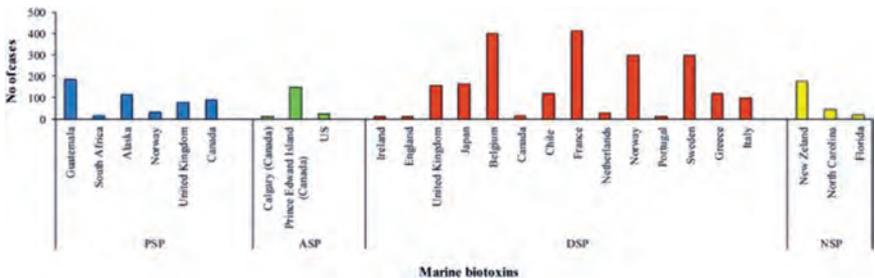


Рис. 2.6. Возникновение (многочисленные случаи) отравлений обусловлено морскими биотоксинами, выделенными с 1970 по 2010 год [53]

Таблица 2.1

**Классификация морских биотоксинов
и основные их эффекты для человека**

Морские биотоксины	Группа	Источник	Симптоматология
Сакситоксин	ПОМ	Alexandrium spp. Gymnodinium catenatum Pyrodinium bahamense	Гастроинтестинальные симптомы: паралитический феномен, восстановление или смерть
Домоевая кислота	АОМ	Pseudo-nitzschia spp. Nitzschia spp.	ЖКТ и неврологические симптомы: сердечно-сосудистые и респираторные проблемы, восстановление или смерть
Окадаевая кислота	АОМ	Prorocentrum lima Dinophysis spp.	ЖКТ симптомы, восстановление в течение трех дней
Пектенотоксин	АОМ	Dinophysis spp.	ЖКТ симптоматика
Йессотоксин	ДОМ	Protoceratium reticulatum Lingulodinium polyedrum Gonyaulax spinifera	Отсутствие наблюдений у человека
Азаспирацид	ДОМ	Amphidoma languida Azadinium spinosum	ЖКТ симптомы
Бреветоксин	НОМ	Karenia brevis	ЖКТ и неврологическая симптоматика. Респираторные проблемы. Восстановление или смерть
Сигуатоксин	КФП	Gambierdiscus spp.	ЖКТ симптомы. Сердечно-сосудистые или неврологические проблемы
Циклический имин	КФП	Alexandrium spp. Karenia spp.	Отсутствие наблюдений у людей
Палитоксин	КФП	Palythoa spp. Ostreopsis spp.	ЖКТ симптомы. Мышечные и кожные проблемы

мися эффектами. В то же время ежедневное воздействие микродоз может вызывать толерантность. Остро воздействующие дозы рассчитываются из описанной выше концентрации морских биотоксинов на

килограмм моллюсков, когда потребляется большая порция (400 г) моллюсков. Критической является ситуация, когда получение обоих этих количеств происходит без получения токсикологической информации, то есть не ясен размер безопасного фактора. Кроме того, безопасность фактора обычно повышается критическим эффектом, то есть имеет место снижение минимально определяемого неблагоприятного уровня эффекта (LOAEL) внутри неопределяемого неблагоприятного уровня эффекта (NOAEL). Остро воздействующие дозы, безопасные факторы, LOAEL и NOAEL для каждого отдельного морского биотоксина, а также регуляторные лимиты и максимальные уровни определены на основании потребления 400 г моллюсков (таб. 2.2).

Морские биотоксины с преимущественным паралитическим действием продуцируются моллюсками и насчитывают порядка 58 отдельных веществ. В их химической основе лежит скелет тетрагидропурина, являющимся одним из наиболее изученных токсикантов [57]. В частности, основные проявления подобных интоксикаций были получены при отравлениях сакситоксином (СТОК) и гониаутоксином (ГТОК). В 1957 г. ПОМ токсин был выделен из моллюсков (*Saxidomus giganteus*), живущих у побережья Аляски, а в 1975 г. химическая структура была расшифрована в виде СТОК. Основными продуцентами паралитических ядов моллюсков являются динофлагелляты рода *Alexandrium*, встречающиеся вблизи Атлантического и Тихоокеанского побережий, а также в Средиземном море, где могут присутствовать и другие виды, например, *Gymnodinium catenatum* [55, 58]. Более чем 30 аналогов СТОК идентифицированы и сгруппированы в четыре подгруппы: карбаматные сакситоксины, N-сульфокарбамильные сакситоксины, декарбамильные сакситоксины, а также гидроксилированные сакситоксины. Их попадание в организм человека способствует развитию отравлений различной степени выраженности, что обусловлено различиями в чувствительности человека к конкретному биотоксину. Вызываемая ими симптоматика близка к формированию паралитического феномена (судороги, голосовой паралич, блокада дыхательной мускулатуры), поскольку токсины с паралитическим эффектом являются потенциальными нейротоксинами, блокирующими процессы возбуждения в нервных и мышечных клетках [59].

Поражения ПОМ человека могут проявляться в слабой, умеренной или экстремальной формах. Симптомы, встречающиеся при лег-

Таблица 2.2

Регуляторные лимиты, минимальные определяемые уровни неблагоприятного эффекта (LOAEL), неопределяемые неблагоприятные уровни эффекта (NOAEL), а также референс-доза для морских биотоксинов (модифицирована по FAO/IOC/WHO, 2004, 2009)

Морские биотоксины	Предельно допустимые концентрации	Воздействующая доза после употребления 400 г порции морепродуктов	LOAEL (1) NOAEL (2) мкг/кг массы тела	Безопасность факторов. Данные для людей (Н). Данные для животных (А)	Острая воздействующая доза	Максимальная концентрация в мясе моллюсков (400 г порция), не превышающая острую воздействующую дозу
Окадаевая кислота	160 мкг ОК эк./кг мяса моллюсков	64 мкг ОК эк./кг человека	1(1)	3(Н)	0,3 мкг ОК эк./кг веса тела	45 мкг ОК эк./кг мяса моллюсков
Азаспирин	160 мкг АЗА эк./кг мяса моллюсков	64 мкг АЗА эк./кг человека	0,4 (1)	10 (Н)	0,2 мкг АЗА эк./кг веса тела	30 мкг АЗА эк./кг веса моллюсков
Пектеноксин	160 мкг ПТОК2 эк./кг веса моллюсков	64 мкг ПТОК2 эк./кг человека	—	—	0,8 мкг ПТОК2 эк./кг массы тела.	120 мкг ПТОК эк./кг веса моллюсков
Йессо-токсин	3,75 мг ЙТОК эк./кг веса моллюсков	400 мкг ЙТОК эк./кг человека	5000 (2)	100 (А)	25 мкг ЙТОК эк./кг массы тела	3,75 мг ЙТОК эк./кг веса моллюсков
Сакситоксин	800 мкг СТОК/кг веса моллюсков	320 мкг СТОК эк./кг человека	2 (1)	3 (Н)	0,5 мкг СТОК эк./кг массы тела	75 мкг СТОК эк./кг веса моллюсков
Домоевая кислота	20 мг ДК/кг веса моллюсков	8 мг ДК/кг человека	1000 (1)	10 (Н)	30 мкг ДК/кг массы тела	4,5 мг ДК/кг веса моллюсков

кой степени поражения, включают ощущение чувства покалывания или онемения вокруг губ, на лице и шее, покалывания в кончиках пальцев и пальцах, боли в спине, головокружение и тошноту. Умеренные проявления заболевания характеризуются бессвязной речью, прогрессирующим покалыванием в ладонях и стопах, отсутствием

координации в конечностях, преимущественной слабостью и ощущением легкости, нарушениями дыхания и ЧСС. При экстремальной степени поражения имеет место мышечный паралич, могут встречаться длительные сенсорные нарушения. При смертельных исходах смерть наступает вследствие дыхательного паралича, наблюдаемого через 2–12 ч после употребления контаминированных моллюсков. Пациенты, которые выживают в течение 24 ч после употребления ПОМ, имеют высокую вероятность полного и быстрого восстановления нарушенных функций организма.

Цветение токсических микроводорослей, продуцирующих паралитические токсины, является опасным для здоровья человека и рыбы во всем мире. В частности, ПОМ распознаются в течение многих столетий медицинскими организациями в австралийской части Южной Америки. В исследованиях, проведенных в Патагонии, показано, что некоторые рыболовы интоксцируются посредством употребления в пищу двустворчатых *Aulacomya ater*. Зарегистрирована смерть двух рыболовов через 3–4 ч после употребления моллюсков. В их организме было определено методом ИФА 8575 мкг СТОК, эквивалентному 100 г веса моллюсков.

Большое количество случаев, обусловленных попаданием токсинов с паралитическим механизмом поражающего действия в организм человека (2124, из которых 120 – с летальным исходом), описано на Филиппинах в период 1983–2002 гг. [60]. Установленная пропорция смертельных случаев с общим количеством пораженных свидетельствует о способности медицинских структур лечить такие интоксикации. В частности, показано, что у 45 человек, живущих на побережье Никарагуа, установлена симптоматика поражений токсинами с паралитическим механизмом действия. В этом случае был зарегистрирован один случай с летальным исходом. В аналогичных условиях в Юго-Восточной Азии и Латинской Америке случаи летального исхода составляли от 2 до 14 % относительно всех случаев поражения подобными токсинами. Аналогичная картина имела место среди 200 случаев поражения ПОМ в Европе и Северной Америке [61].

Домоевая кислота и другие ее изомеры, обладающие амнестическим поражающим эффектом, продуцируются морскими диатомовыми водорослями рода *Pseudonitzschia*. Домоевая кислота представляет собой циклическую трикарбоксильную аминокислоту по многим структурным и функциональным характеристикам, близкую кайниче-

ской кислоте, являющейся аналогом глутаминовой кислоты. Домоевая кислота связывается с глутаматными рецепторами в центральной нервной системе, вызывая их стимуляцию и продукцию реактивных форм кислорода с последующей гибелью клеток [60]. Симптомы отравления варьируют от желудочно-кишечных (тошнота, рвота, диарея, абдоминальные боли), неврологических (спутанность сознания, сонливость, дисориентация в пространстве, парестезии, кратковременная потеря памяти) до комы или смертельного исхода.

Накопление домоевой кислоты в тканях морских обитателей зависит от присутствия в окружающей среде водорослей рода *Pseudonitzschia* и их токсичности, а также баланса между накоплением домоевой кислоты и очищением моллюсков [60]. Имеются описания заболеваний людей, ассоциированные с домоевой кислотой в некоторых странах Европы и Северной Америки. Однако отсутствие диагностических систем не позволяет фиксировать случаи отравлений легкой степени. Более того, случаи отравлений человека, вызванными домоевой кислотой, ограничены. Уникальным примером являются случаи массового отравления людей в Канаде в 1987 г., когда пострадало 150 человек, из которых 19 были госпитализированы и 4 скончались после употребления в пищу контаминированных моллюсков [62].

Домоевая кислота обладает токсическим эффектом и на морских обитателей, когда многие отравления сопровождаются снижением количества морских птиц и млекопитающих. Хронический эпилептический синдром, обусловленный домоевой кислотой, диагностирован среди морских львов в 1998–2006 гг. С этого времени морские львы используются в качестве биообъекта в плане диагностики поражений домоевой кислотой и предупреждения поражений человека этим морским биотоксином [63].

Диарейные синдромы являются одним из наиболее известных интоксикационных синдромов, вызываемых морскими биотоксинами, и наиболее распространены при переработке моллюсков. О накоплении токсинов, вызывающих диарейные синдромы в каком-либо виде моллюсков, мало известно. Имеются токсины, продуцируемые динофлагеллатами, относящимися к генерации *Dinophysis* и *Prorocentrum*, причем если первый род является основным источником, при контакте с которым мидии могут накапливать токсины, вызывающие диарейный синдром. В этом случае вид *Prorocentrum* является вспомогательным, то есть при контакте с которым мидии

могут не всегда приобретать способность накапливать диарейные токсины [52].

Токсины, вызывающие диарейный синдром, представляют собой полиэфирные соединения с различной химической структурой и сгруппированы в четыре класса: ОК и ее дериваты (динофизистоксины, или ДТОК); ПТОК; ЙТОК и его дериваты и АЗА [55]. Симптомы, вызываемые группой ОК, включают: диарею, тошноту, рвоту, боли в области живота, которые начинаются спустя 30 мин после попадания токсина в организм, продолжаются до нескольких часов с полным исчезновением в течение 3 дней [64]. ПТОК и ЙТОК являются первыми, под влиянием которых был зарегистрирован диарейный синдром, обусловленный их выявлением в моллюсках совместно с ОК, но их роль в возникновении поражения у человека не выявлена, в то время как АЗА вызывает отравление, характеризовавшееся тошнотой, рвотой, диареей и стоматитом [65].

Относящиеся к группе ОК токсины растворяются в жирах и проникают через клеточную мембрану, вызывая ингибирование сериновых и треониновых фосфатаз. Пектенотоксины представляют собой циклические полиэферы, основным из которых является ПТОК-2. Попадая в организм, они способствуют развитию диареи и других симптомов, близких к таковым, индуцируемым ОК и ее дериватами. Они удаляют актин из цитоскелета, а также вызывают нарушение клеточного цикла и приводят к апоптозу.

Йссотоксин и его аналоги представляют собой полиэфирные токсины, продуцируемые динофлагеллатами *Protoceratium reticulatum*, *Lingulodinium polyedrum*, и *Gonyaulax spinifera*. Они ассоциируются с группой токсинов, вызывающих диарейный синдром у пострадавших, однако не вызывают диарею и ингибирование белковых фосфатаз, их симптомы применительно к человеку до сих пор не известны [66].

Азаспирациды (АЗА) представляют собой азотсодержащие токсины, обладающие уникальным спиралевидным кольцом, содержащим гетероциклический амин и альфа-карбоксильный кислотный остаток. В настоящее время идентифицирован 21 аналог, из которых наиболее значимыми являются АЗА1, АЗА2 и АЗА3, поскольку являются наиболее часто и обладают выраженной токсичностью. Показано, что отравления португальскими моллюсками, контаминиро-

ванными диарейными токсинами, наиболее часто встречаются в период цветения водорослей, относящихся к роду *Dinophysis*. Высокие уровни диарейных токсинов определяются в моллюсках, распространенных у побережья Китая, способствуя ежегодной заболеваемости среди местного населения на уровне 200 случаев в год. За последнее время отравления диарейными токсинами зарегистрированы после употребления контаминированных моллюсков в США, Британской Колумбии, среди населения, проживающего у берегов Тихого океана, а также в Западной Канаде [63–65, 67]. Диарейные токсины являются наиболее часто встречающимися биотоксинами в моллюсках, обитающих в прибрежных регионах Южной Европы [68]. Во Франции 11 вспышек поражений ДОМ токсинами общей численностью 45 человек было зарегистрировано в 2009 г., при этом контаминированные моллюски содержали токсин ОК группы, концентрация которого приблизительно в 8 раз превосходила таковую, являющуюся предельно допустимой концентрацией для Европы [69]. В 2010 г. более чем 300 человек в Северной Италии отравились моллюсками, контаминированными омега-3 кислотой [70].

Симптомы интоксикации, вызванной ЙТОК у человека, не известны, поскольку подобные ситуации у человека не описаны. Однако токсикологические исследования, выполненные на грызунах, показали, что ЙТОК является высоко токсичным продуктом при внутрибрюшинном введении [66]. Высокие уровни ЙТОК были определены в моллюсках, обитающих в прибрежных водах Северной Адриатики, что коррелировало с увеличением присутствия *G. spinifera* в этих водах [70].

Отравления моллюсками, контаминированными АЗА, регистрируются с периодичностью в Нидерландах, в ряде стран Европы, Северо-Западной Африки и Чили. Среди поражений, обусловленных АЗА, следует отметить случаи в Северо-Западной Ирландии, повлекшие за собой поражение 12 человек после употребления в пищу местных моллюсков; у 10 человек в Равенне (Италия) выявлялись заболевания, вызванные ДОМ токсинами, у 400 пострадавших в Бельгии имели место отравления, вызванные употреблением в пищу моллюсков, выращенных в Дании.

Бреветоксины (БТОК) – морские токсины с нейротоксическим механизмом действия продуцируются динофлагеллятами *Karenia brevis* и представляют собой полиэфирные вещества, вызывающие массовую

гибель рыбы и морских млекопитающих, распространенных более всего в Мексиканском заливе, но также встречающиеся у Восточного побережья США и Новой Зеландии [71]. У людей БТОК вызывают симптомы поражений, присущие НОМ агентам и астма-подобную симптоматику при ингалируемом поражении.

Нейротоксические отравления моллюсками характеризуются неврологическими и желудочно-кишечными эффектами, включающими тошноту, рвоту, диарею, парестезии, судороги, бронхоспазм, паралич, припадки, кому, а также в экстремальных случаях может наступить летальный исход.

С учетом своей молекулярной структуры, формируемой из 10–11 трансвливающих друг друга колец, БТОК имеет 2 скелетных остова: А- и В-тип и различные цепные ответвления от колец к лактону [71]. Они связывают и активируют натриевые каналы в клеточной мембране, вызывая деполяризацию нейронов и мембран мышечных клеток. Бреветоксины являются причиной смерти большого количества рыбы и вызывают заболевание и смертность морских млекопитающих. Спорадические случаи поражений морскими токсинами с нейротоксическим механизмом действия регистрируются в США, но без летального исхода. Вспышки встречались во Флориде в виде 2 случаев в 1995 г., 3 – в 1996 г., 2 – в 2001 г. и 4 – в 2005 г. В последнем случае 2 из 4 пациентов были дети, у которых поражение протекало в более тяжелой форме, чем у взрослых. Другая вспышка характеризовалась развитием симптомов поражения и была зарегистрирована в 2006 г. во Флориде [72]. Респираторные эффекты ассоциировались с аэрозольным вдыханием красных водорослей и включали чихание, раздражение в горле, жжение и зуд, причем количество индивидуумов с подобными симптомами заметно возрастало, если они относились к астматикам.

Отравления цингватоксинами морской природы являются наиболее часто встречающимися пищевыми отравлениями во всем мире вследствие употребления в пищу недоброкачественной контаминированной рыбы. При этом ежегодное количество случаев поражения биотоксинами в мире составляет от 50000 до 500000 [73]. Поражение проявляется в результате накопления и метаболизма предшественников токсинов в рыбных продуктах [69]. Предшественники цингватоксинов – гамбиектоксины, продуцируются динофлагеллятами рода *Gambierdiscus*, обитают в субтропических и тропических коралловых

рифах, а накапливаются крупными хищными рыбами, такими как испанские макрели, мурены, барракуда и окуни [74].

Цигватоксин является липидорастворимым полиэфиром, содержащим 13–14 колец. К настоящему времени идентифицировано более 20 аналогов цигватоксина. На клеточном уровне цигватоксин активирует натриевые каналы, вызывая структурные изменения в клеточной мембране и нарушения самих клеток. Острый период (24 ч) характеризуется желудочно-кишечными нарушениями (тошнота, рвота, боли в животе и диарея), в то же время сердечно-сосудистые (брадикардия и гипертензия) и неврологические проявления могут встречаться через несколько часов или двух недель после контакта с токсинами, и проявляются парестезиями, дисэстезиями и гиперэстезиями [75].

Нельзя не отметить, что если встречаемость цигватоксинов в основном ограничивается несколькими регионами, то в последнее время встречаемость пораженных ими рыб распространяется на регионы, прилежащие к Средиземному морю. В последнее время 6 вспышек общей численностью 28 человек зарегистрировано в 2010 и 2011 гг., а также одна вспышка в 2012 г. в Нью Йорке и Северной Германии [73, 74].

Эпидемиологические аспекты отравлений, сопряженных с употреблением в пищу рыб, пораженных цигватоксинами, имеют место и применительно к азиатским регионам. Так, описано 3 большие вспышки в Китае, насчитывающие по 100–200 пораженных каждая, 11 случаев отравления зарегистрировано в период 1991–2008 гг. на Тайване, причем один случай с летальным исходом в 1998 г. В Малайзии зарегистрировано 11 случаев отравлений рыбными продуктами, пораженными цигватоксинами в 2010 г., при этом все пораженные были госпитализированы, а причиной отравления явилось употребление в пищу голов и тушек контаминированной рыбы. Тридцать три вспышки общей численностью 103 пораженных недоброкачественными рыбными продуктами, контаминированными цигватоксинами, зарегистрировано в Японии за период 2014–2015 гг.

Группа циклических иминов (ЦИ) включает спиролиды, гимнодимины, пиннатоксины и птериатоксины. Спиролиды и гимнодимины продуцируются видами водорослей из генерации *Alexandrium* и *Karenia*. Продуцентами пиннатоксинов являются водоросли вида *Vulcanodinium rugosum*, а птериатоксины представляют собой продукты биотрансформации пиннатоксинов при их попадании в организм моллюсков [49].

На основе своей химической структуры ЦИ являются макроциклическими соединениями с иминовыми и спиросвязывающими компонентами, присущими в основном всем представителям циклических иминов, и преимущественно отвечают за их токсичность. Циклические имины являются антагонистами мышечного типа рецепторов и нервных никотиновых ацетилхолиновых гетеромерных и гомомерных рецепторов, а также мускариновых ацетилхолиновых рецепторов [76]. Реальных проявлений отравлений ЦИ среди людей в доступной литературе не описано. Имеются лишь указания на отсутствие каких-либо выраженных острых проявлений отравлений у людей, а сами отравления были зарегистрированы только благодаря выявлению компонентов биотоксинов в клинических материалах, в большинстве своем выделенных случайно. В то же время реальная токсичность, в частности, спириolidов и гимнодиминов зарегистрирована с использованием в качестве биологической модели млекопитающих [77]. При этом заражение млекопитающих подозрительным на содержание упомянутыми токсическими продуктами материалом приводило практически к мгновенной их смерти (в течение нескольких минут), что показано на лабораторных мышах. Постановка описанной биопробы осуществлялась путем внутрибрюшинного введения животным исследуемого материала, при этом такой материал нередко содержал ЦИ в комбинации с другими липофильными токсинами, например, ОК и ее аналоги, давая тем самым ложноположительные результаты [78].

Впервые спириolidы были выделены из моллюсков, обитающих у Юго-Восточного побережья Новой Шотландии, Канады, в то время как гимнодимины были выделены и охарактеризованы в начале 1990-х годов у берегов Новой Зеландии. Пиннатоксины и птериатоксины были идентифицированы в Японии в моллюсках, относящихся к генерации Pinna и Pteria соответственно. Острые отравления, как правило, не связаны с контаминацией пиннатоксинами и только одна вспышка была ассоциирована с моллюсками генерации Pinna. Однако пиннатоксины проявляют токсичность, когда вводятся внутрибрюшинно мышам. Нельзя не отметить, что ЦИ не достаточно часто встречаются в морских продуктах и поэтому не являются причиной острого отравления людей, поскольку не имеют прямого отношения к контаминации моллюсков [79].

Сакситоксин (saxitoxin, STX; устричный яд, паралитический яд моллюсков) – низкомолекулярный, близкий по химической струк-

туре с тетродоксином (tetrodotoxin, ТТХ) нейротоксин алкалоидной природы, вызывающий паралич дыхательной мускулатуры [80–82]. Сравнительная характеристика биологических и фармакологических свойств STX и ТТХ представлена в табл. 2.3.

Таблица 2.3

Биологические и фармакологические свойства STX и ТТХ [81, 82, 84]

Свойство	STX	ТТХ
1	2	3
Систематическое название	(3aS-(3a-α,4-α, 10R*)))-2,6-диамино-4-(((амино-карбонил) оксиметил)-3,4,8,9-тетрагидро-1H,10 H-пи-ролло (1,2-с) пурино-10,10-диол-(триалкилтетрагидропурин)	(4R,4aR,5R,6S,7S,8S,8aR,10S,12S)-2-азаниумилиден-4,6,8,12-тетрагидроокси-6-(гидрооксиметил)-2,3,4,4a,5,6,7,8-октагидро-1H-8a, 10-метано-5,7-(эпоксиметаноокси) квиназолин-10-олат
Аналоги	Известно не менее 57 природных аналогов, возможно конструирование аналогов, не встречающихся в природе	Известно не менее 13 природных аналогов, возможно конструирование аналогов, не встречающихся в природе
Продуцент	Продуцируется некоторыми динофлагеллятами, цианобактериями, брюхоногими, головоногими и рыбами	Большое количество ТТХ содержится в рыбе фугу, в калифорнийском тритоне, у бычковых рыб, синекольчатого осьминога, в коже и яйцах костариканских лягушек рода Ателлопы, в тканях краба и других животных
Внешний вид	Бесцветные кристаллы	Бесцветные кристаллы
Брутто-формула (система Хилла)	$C_{10}H_{17}N_7O_4$	$C_{13}H_{21}N_3O_{10}$
ММ, Да	299,29	379,32
Температура плавления, °С	Нет данных	225
Температура разложения, °С	110	225

1	2	3
Растворимость (в г/100 г растворителя)	Растворим в воде, метаноле и этаноле, нерастворим в неполярных растворителях, устойчив в кислых средах	Плохо растворим в воде, хорошо – в слабом растворе уксусной кислоты, диэтиловом эфире и этаноле
Способы получения	Асимметричный синтез из эфира сульфата	Многостадийный синтез, исходя из левоглюкозенона. Многостадийный синтез из 2-ацетоокси-три-О-ацетил-D-глюкоаля. Многостадийный синтез из D-изоаскорбиновой кислоты
Показатели диссоциации	Нет данных	$pK_{\text{вн}}^+$ (), (20 °С, вода)
Летальная доза (LD ₅₀ , мг/кг)	0,08 (мыши, подкожно), 0,002 (человек, перорально)	Белые мыши, внутримышечно – 0,008; мыши, внутрибрюшинно – 0,008; человек, перорально – 0,01
Механизм действия	Эффективно блокирует потенциал действия натриевых и кальциевых каналов на мембранах нейронов и кальциевые каналы клеток сердечной мышцы	Эффективно блокирует потенциал действия натриевых каналов. На калиевые каналы не действует
Симптомы острого отравления	Первые симптомы отравления после приема в пищу зараженных моллюсков появляются через 30 мин и выражаются в онемении языка, губ, кончиков пальцев. Быстро развивается сердечно-сосудистая и дыхательная недостаточность, которая может привести к смерти через 1–12 ч вследствие остановки дыхания	Через 10–45 мин появляются зуд губ, языка и других частей тела, отмечаются обильное слюнотечение, тошнота, рвота, понос, боли в животе. Возникают подергивания мышц, потеря чувствительности кожи, затрудняется глотание, развивается афония. Смерть наступает от паралича дыхательных мышц.
Период полувыведения из организма человека, мин	90	Нет данных
Нагревание до температуры 100 °С при pH 1,0 в течение 25 мин	Не оказывает воздействия на токсичность	Устраняет токсичность

Токсин представляет собой водорастворимое производное пурина (триалкилтетрагидропурин). Смертельная доза для взрослого человека -0,3–1,0 мг. Летальность среди людей, отравившихся продуктами питания, содержащими STX, достигает 15%. STX рассматривается как агент для осуществления биологических террористических актов, диверсий и действий криминального характера [83].

Первичные продуценты токсина в морской воде – простейшие отряда Dinoflagella (*Gonyaulax catenella*, *Alexandrium* spp., *Gymnodinium* spp., *Pryodinium* spp.), в пресноводных водоемах – отдельные виды цианобактерий (*Anabaena circinalis*, *Aphanizomenon* spp., *Aphanizomenon gracile*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Lyngbya wollei*, *planktothrix* spp). Аккумулируют токсин по пищевым цепям брюхоногие моллюски (*Gastropoda*), головоногие (*Cephalopoda*), рыбы (*Colomesus asellus* и др.) и крабы (*Zosimus acneus*, *Atergatis floridis*, *Platypodia granulose* и др.), обитающие на коралловых рифах. Регионы естественного поражения включают побережье стран, где моллюски входят в традиционный пищевой рацион и где происходят так называемые «красные приливы» (побережье Аляски, Вашингтона, Чили, Канады, Испании, Тайваня, Исландии и др.) [81]. В нашей стране «красные приливы», сопровождающиеся гибелью людей, отмечались в тихоокеанских водах Камчатки.

Количество отравленных морепродуктами, содержащими STX, обычно исчисляется десятками человек. Наиболее массовые отравления были зафиксированы в Китае в 1979 г., 2002 г., 2004 г., когда количество отравленных составило 68, 50 и 55 человек соответственно. Во всех случаях отравления стало употребление в пищу морских брюхоногих моллюсков из семейства *Nassariidae* [81]. Источники и концентрации STX в тканях вторично-ядовитых морских животных приведены в табл. 2.4.

Установлено 57 производных STX, различающихся по пяти позициям в структуре молекулы. Аналоги STX структурно классифицируют на следующие классы: несulfатированные (*nob-sulfated*), моносульфатированные (*mono-sulfated*), дисульфатированные (*di-sulfated*), декарбамоилированные (*decarbamoilated*), деоксидекарбамоилированные (*deoxy-decarbamoilated*), моногидроксибензоат-аналоги (*mono-hydroxybenzoate analogs*), дигидроксибензоат-аналоги (*di-hydroxy-benzoate analogs*), сульфатированные бензоат-аналоги (*sulfated benzoate analogs*) и другие аналоги паралитических токсинов моллюсков [82].

Источники и концентрации STX в тканях вторично-ядовитых морских животных [81]

Продуцент (Dinoflagellata)	Вторично-ядовитое животное	Максимальное содержание STX	Географическое положение
<i>Alexandrium acatenella</i>	Лунная улитка Льюиса	176–600 мкг STX/100 г ткани	Побережье в Британской Колумбии, Канаде
<i>Argobuccinum ssp.</i>	Брюхоногий моллюск	5629 мкг STX/100 г (пищеварительная система)	Побережье Чили
<i>Lunatia heros</i>	Северная лунная улитка	1450 мкг STX/100 г ткани	Побережье Массачусетса, США
<i>B. undatum</i>	Волнистый моллюск	3337 мкг STX/100 г ткани	Залив Мэн, США
<i>A. carenella</i>	Красный краб	285 мкг STX/100 г в ткани внутренних органов	Побережье Вашингтона, США
Источник не известен	Волосатый краб	2723 мкг STX/100 г в ткани внутренних органов	Побережье в префектуре Фукусима, Япония
<i>A. tatarense</i>	Американский	1512 мкг STX/100 г гепатопанкреаса	Залив Гаспе, Канада
<i>P. bahamense</i>	Рыба-собака флоридская (южная разновидность рыбы фугу)	1443 мкг STX/100 г печени; 14571 мкг STX/100 г мышечной ткани	Побережье Флориды, США
<i>A. tatarense</i>	Японская скумбрия	2800 мкг STX/100 г мышечной ткани; 500 мкг STX/100 г печени; 72 мкг STX/100 г жабер	Побережье Аргентины

Аналоги различаются между собой по токсичности для животных и человека (табл. 2.5).

Список аналогов STX расширяется при проведении исследований у цианобактерий и динофлагеллят. Так, у золотой лягушки *Atelopus zeteki* обнаружен самый экзотический и токсичный аналог STX – зетекитоксин АВ (zetekitoxin AB), проявляющий активность

Таблица 2.5

Сравнительная токсичность аналогов STX [82]

Структура	Токсичность	Относительная токсичность*
Несульфатированные	STX	1
	NeoSTX	0,5–1,1
Моносульфатированные	STX1 и STX 4**	0,39/1,09–0,48/0,76
	STX2 и STX3**	0,8/0,33–0,9/0,9
Декарбамоилированные	deSTX	0,43
	deNeoSTX	0,43
	dcSTX1-4	0,18–0,45
Дисульфатированные	C1-4	<0,01–0,14

* исследования выполнены на мышах, ** α/β -эпимерные смеси.

в 63–580 раз большую, чем STX соответственно [83–85]. В число аналогов STX включены гониаутоксины 1–6 (STX1 и STX6) и нео-сакситоксин (neoSTX). STX встречается в природных продуцентах в сложной смеси со своими аналогами, что делает невозможным получение специфического антитода, но позволяет предположить его источник по характерному токсическому профилю (табл. 2.6). После употребления контаминированных моллюсков в пищу происходит быстрое абсорбирование STX из желудочно-кишечного тракта, далее он входит в натриевый канал электровозбудимой мембраны нервной и мышечной ткани, застревает в нем и удерживается остальной частью молекулы, размеры которой превышают диаметр канала [80]. В результате прерывается передача потенциалов действия в возбудимые клетки, передача сигнала вдоль нерва прекращается. Это ведет к дисфункции нервно-мышечных соединений, а в тяжелых случаях к смерти вследствие паралича дыхательных мышц и остановки дыхания [83]. По мнению ряда авторов, STX способен проникать через гематоэнцефалитический барьер и вызывать прямое угнетение дыхательного и сосудодвигательного центров [86, 87].

Смертельная доза STX для человека массой 70 кг составляет 0,3–1 мг при пероральном и парентеральном введении [80]. Смерть наступает в течение 10 мин. STX способен вызывать поражения при кожной аппликации, особенно при наличии на ней открытой раны.

STX и его аналоги в природных продуцентах [81]

Продуцент	Токсический профиль
Dinoflagellates	
<i>Alexandrium acatenell</i>	STX
<i>A. andersoni</i>	STX, NEO
<i>A. angustitabulatum</i>	Неизвестная композиция токсинов
<i>A. carenella</i>	STX, GTX1-4, NEO, B1-2, C1-4
<i>A. cohorticula</i>	STX, GTX1-4
<i>A. fundyense</i>	STX, NEO, GTX1-4, C1-2, B1
<i>A. minutum (A.lusitanicum)</i>	GTX1-4
<i>A. ostenfeldi</i>	GTX2-3, B2, C1-2
<i>A. tamarense</i>	STX, NEO, GTX1-4, B1, C1, C2, C4
<i>A.tamiyavanici</i>	STX, GTX1-4, B1, C1-4
<i>Gymnodinium catenatum</i>	STX, NEO, следы GTX2-3, B1-2, C1-4
<i>Pirodinium bahamense</i>	STX, NEO, B1-2
Cyanobacteria	
<i>Anabaena circinalis</i>	STX, GTX1-4, C1-C2, dc GTX2-3
<i>Anabaena lemmermanni</i>	STX
<i>Aphanizomenon gracile</i>	STX, NEO
<i>Aphanizomenon issatschenkoi</i>	NEO, STX
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	STX, NEO, GTX2-3
<i>Lyngbya wollei</i>	dcSTX, dcGTX2-3, ацетилированные аналоги STX
<i>Planktothrix spp.</i>	STX
<i>Rivularia spp.</i>	GTX2, GTX4

Первые симптомы отравления STX после приема в пищу зараженных моллюсков появляются в период от 5 мин и до нескольких часов после еды, в зависимости от поглощенной дозы, но чаще всего в течение 30 мин. Вначале появляется онемение языка, губ, кончиков пальцев. Затем немеют шея и конечности, обнаруживается двигательная раскоординированность, диплопия и трудности при речи и глотании. Могут развиваться и другие симптомы: головокружение, ощущение «пустой головы», слабость, спутанное сознание, головная боль и потеря сознания. Прогрессивно развивается сердечно-сосудистая и дыхательная недостаточность, зачастую приводящие к смертельному исходу.

При этом пострадавшие обычно сохраняют сознание и память, вплоть до наступления смерти. В случае выздоровления полное неврологическое восстановление может длиться от 7 до 14 сут.

Диагностика поражения STX основывается на основании опроса пострадавших и результатов токсикологических исследований. Диагноз подтверждается обнаружением STX (и его аналогов) в крови и моче пациента с помощью жидкостной хроматографии высокого разрешения, ион-парной хроматографии. Для анализа на токсин обычно направляют содержимое желудка, сыворотку крови, выделения из дыхательных путей, смывы из носоглотки.

Дифференциальную диагностику отравлений STX следует проводить с отравлениями сигутоксинам, ТТХ, РТХ и ботулиническим токсином.

Лечение отравления STX включает реанимационные, детоксикационные и симптоматические мероприятия.

Тетродотоксин (tetrodotoxin, тарихатоксин, anhydrotetrodotoxin, 4-epitetrodotoxin, tetrodonic acid, ТТХ) – низкомолекулярный нейротоксин алкалоидной природы, близкий по механизму действия с сакситоксином, вызывающий паралич дыхательной мускулатуры и поражение ССС. Отравления людей происходят в основном из-за употребления в пищу рыбы фугу из семейства иглобрюхов (Tetraodontidae).

ТТХ обнаружен у калифорнийского тригона (*Taricha totosa*), в икре лягушки *Atepolus chinensis*, в коже отдельных видов саламандр, жаб, в камчатском крабе, сине-кольцевом осьминоге и др.

Летальность при отравлении рыбой, содержащей ТТХ, обычно составляет 3,3–6,0 % [88]. Наиболее опасными для людей источниками ТТХ являются рыбы рода скалозубов (*Sphaerodis*, Fugu, рыбы-собаки) и рода тетрадонов (*Tetraodon*) из семейства иглобрюховых (Tetraodontidae) отряда иглобрюхообразных (Tetraodontiformes). Их печень, икра, молоки, кишечник и кожа содержат ТТХ. Токсин, накапливаясь в икринках, играет роль фактора, защищающего от хищников потомство фугу во время нереста. При нападении хищника фугу отгоняет его, увеличиваясь в 2–3 раза в размере и экскретируя ТТХ с поверхности кожи [89].

Ареал распространения вторично-ядовитых животных, вызывающих отравления ТТХ, в последние годы существенно расширяется. Так, к традиционному Индо-Тихоокеанскому региону добавился Атлантический регион и Адриатическое море. В нашей стране

естественные отравления ТТХ возможны на Тихоокеанском побережье Дальнего Востока.

Первичными продуцентами ТТХ токсикологи считают некоторые виды морских бактерий. Обнаружено, что *Vibrio alginoliticus*, выделенный из токсичной морской звезды *Astropecten pycnocentrus*, штаммы *Vibrio*, выделенные из краба *Atergatis floridis* и рыбы фугу *Takifugu snyderi*, продуцируют паралитический токсин в количестве 213, 30 и 3 /500 мл питательной среды соответственно. Также было обнаружено, что морские грамотрицательные бактерии *Sewanella alga* и *Alteromonas tetraodonis*, изолированные из красных водорослей семейства *Jania*, грамотрицательная бактерия *Sewanella putrefaciens*, выделенная из иглобрюхих вида *Takifugu niphobles*, и некоторые другие морские бактерии, изолированные от организмов, содержащих ТТХ, самостоятельно продуцируют ТТХ [90].

В табл. 2.7 представлен перечень источников ТТХ-продуцирующих бактерий.

Фугу являются вторично ядовитыми животными. В естественных условиях океанов ТТХ проникает в организм рыб по пищевым цепям, но сами фугу устойчивы к токсину. При разведении в искусственных условиях органы и ткани могут лишаться содержания в них ТТХ. Наиболее часто отравления ТТХ происходят в Японии, где блюда, приготовленные из рыбы фугу, считаются деликатесом, но не из-за ее исключительных вкусовых качеств, а из-за возможности рискованного приключения. Профессионально приготовленное фугу содержат ТТХ в количестве, вызывающем ощущение легкого покалывания и онемения на языке и губах.

Кроме отравления фугу, в КНР и на Тайване регулярно регистрируются случаи отравления людей небольшими брюхоногими моллюсками (*Niotha clathrata*, *Natica vitellus*, *O. hirasei*, *O. miniacea*, *Nassarius glans* и *Zeuxis samiplicutus*), содержащими ТТХ.

Токсичность яицников и печени некоторых видов фугу (*F. niphobles*, *F. ocellatus obscurus*, *F. pocsilonotum*) такова, что достаточно 2 г ткани, чтобы вызвать смертельное отравление у человека. LD₅₀ для мышей при интраперитонеальном введении ТТХ, 11-deoxyТТХ и 6,11-dideoxyТТХ, определена как 10 мкг/кг, 70 мкг/кг и 420 мкг/кг соответственно. LD₉₉ 5, 6, 11-trideoxyТТХ для мышей составила 750 мкг/кг [91]. Летальная доза ТТХ для человека массой 70 кг оценивается в пределах 1–2 мкг [92].

Таблица 2.7

Источники ТТХ-продуцирующих бактерий [90]

ТТХ-продуцирующая бактерия	Источник бактериального изолята
<i>Pseudomonas</i> spp.	Кожа <i>Takifugu poecilonotus</i>
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Кишечник <i>Takifugu vermicularis</i>
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Кишечник <i>Takifugu niphobles</i>
<i>Vibrio</i> spp.	Кишечник <i>Takifugu vermicularis radiates</i>
<i>Microbacterium arabinogalactanolicum</i>	Яичник <i>Takifugu niphobles</i>
<i>Serratia marcescens</i>	Кожа <i>Chelonodon patoca</i>
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Кишечник <i>Takifugu alboplumbeus</i>
<i>Actinomyces</i> spp.	Яичник <i>Fugu rubripes</i>
<i>Bacillus</i> spp.	Кожа, кишечник, яичник и печень <i>Fugu rubripes</i>
<i>Nocardiosis dassonillei</i>	Яичник <i>Fugu rubripes</i>
Proteobacteria, CFB группа и Spirochaetales	Кожа, кишечник, яичник и печень <i>Takifugu obscures</i>
<i>Aeromonas</i> spp.	Яичник <i>Takifugu obscures</i>
<i>Bacillus</i> spp.	Яичник <i>Takifugu obscures</i>
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	Печень <i>Takifugu obscures</i>
<i>Raoultella terrigena</i>	Кишечник <i>Takifugu niphobles</i>

При энтеральном поступлении яда первые симптомы отравления ТТХ появляются от нескольких минут до 3 ч после приема фугу в пищу. В острых случаях смерть может наступить в течение первого часа, но обычно между 4–6 ч. Вначале пострадавший ощущает странное покалывание и онемение языка и губ. Затем он начинает жаловаться на головную боль, боль в животе и руках. Походка становится шатающейся, появляется рвота, развивается атаксия, наблюдаются ступор и афазия. Дыхание затруднено, артериальное давление и температура тела снижены, развивается цианоз слизистых и кожи. После потери сознания наступает остановка дыхания, однако сердечная деятельность еще продолжает некоторое время. Клинические стадии отравления ТТХ представлены в табл. 2.8.

Клинические стадии отравления ТТХ

Стадия	Симптомы	Начало по времени
Первая	Ощущение онемения кожи вокруг рта и появление желудочно-кишечных симптомов (в основном, тошнота)	5–45 мин
Вторая	Онемение языка и кожи лица, параличи двигательных мышц, невнятная речь, нарушение координации движения. Рефлексы остаются нормальными	10–60 мин
Третья	Генерализованный вялый паралич, афония, дыхательная недостаточность. Зрачок фиксирован или расширен. Отравленный находится в сознании	От 15 мин до нескольких часов
Четвертая	Тяжелая дыхательная недостаточность и гипоксия, гипотензия, брадикардия, сердечная аритмия. Возможна потеря сознания	От 15 мин до 24 ч

При пероральном отравлении ТТХ диагностика и дифференциальная диагностика в основном сходны с аналогичной диагностикой поражения СТХ. Естественные отравления всегда связаны с употреблением в пищу брюхоногих моллюсков и продуктов, приготовленных из рыбы фугу. Умышленные отравления могут быть вызваны ТТХ и содержащими его продуктами. Диагноз отравления ТТХ в основном строится на основе анализа личности и анамнеза пациента, симптомов отравления и обнаружения ТТХ в остатках пищи, в моче и сыворотке крови. Эффективным способом обнаружения ТТХ является масс-спектрометрия [80].

Палитоксин (palytoxin, EA 3940, РТХ) является сильнейшим геморрагическим токсином небелковой природы, поражающим сердечно-сосудистую и респираторную системы, желудочно-кишечный тракт и почки. Палитоксин является морским токсином. Структура токсина включает комплекс полигидроксилированных веществ с наличием липофильных и гидрофильных остатков.

РТХ обнаруживается в шестилучевых кораллах зоантариях (*Polithoa*); некоторых видах крабов и рыб; в красных водорослях *Chondria crispus*; и в широко распространенных в Мировом океане динофлагеллятах *Ostreopsis* [80]. Продуцентами РТХ также являются морские бактерии.

Отравления людей в основном происходят в результате употребления в пищу морских животных, содержащих РТХ, реже через кожу при контакте с кораллами *Polithoa* [93, 94]. Летальность среди людей при случайных энтеральных отравлениях РТХ достигает 8 % [95].

РТХ и его аналоги обнаружены в зооантигенах *Palythoa* spp. (*P. toxica*, *P. tuberculosa*, *P. carbacorium*, *P. mammilosa*, *P. vestitus*, *P. aff. Margaritae*), красных водорослях *Chondria crispus* и донных динофлагеллятах *Ostreopsis* spp. (*Ostreopsis siamensis*, *O. mascarensis*, *O. ovate*). Активность РТХ обнаружена у бактерий рода *Pseudomonas* (*Alteromonas*), ассоциированных с динофлагеллятами *Ostreopsis lenticularis*; у бактерий *V. Cereus* и бактерий родов *Brevibacterium* *Acinetobacter*, выделенных из зооантигенов *Palythoa caribaeorum* [96, 97].

По пищевым цепям РТХ проникает в организм животных, питающихся зооантигенами, либо живущих с ними в ассоциациях животными (губки, моллюски, ракообразные, горгонии, многощетинковые черви, морские звезды и др.), которые, в свою очередь, поедаются более крупными хищниками – рыбами (сардины, анчоусы, сельди и др.), морскими ежами, крупными крабами, обитающими в тропических морях. Человек – конечное звено этой пищевой цепи [98].

Отравления РТХ могут проходить под маской пищевого отравления, названного клипеотоксикозом (*clupeotoxism*), либо массового ингаляционного поражения, известного как «синдром водорослей» («*algal syndrome*»).

Механизм действия РТХ на субклеточном уровне проявляется в блокировании Na^+/K^+ -АТФазы, лежащей в основе Na^+/K^+ -насоса клеток мышц сердца, эритроцитов и нервной системы, и поддерживающего физиологический градиент Na^+ и K^+ внутри и снаружи клетки. Та часть белков Na^+/K^+ -канала, которая погружена в цитоплазму клетки, имеет повышенное сродство к ионам натрия. Поверхность белков, обращенных во внеклеточное пространство, имеет повышенное сродство к калию. Внутренние сайты связывания работают тогда, когда внешние не связаны с ионами калия [80]. Na^+/K^+ - насос выкачивает ионы натрия из клетки, одновременно накачивая ионы калия внутрь клетки. Он транспортирует три иона Na^+ из клетки и два иона K^+ в клетку, используя гидролизат АТФ в качестве источника энергии.

Таким образом, обеспечивается низкая внутриклеточная концентрация ионов натрия и высокая – калия. Градиент концентрации ионов натрия на мембране имеет специфические функции, связанные

с передачей информации в виде электрических импульсов, а также с поддержанием других активных транспортных механизмов и регулировании объема внутреннего пространства клетки [80].

Молекулы РТХ подавляют активный транспорт Na^+ и K^+ через клеточные мембраны, связываясь с внеклеточным участком Na^+/K^+ -АТФазы. Na^+/K^+ - насос превращается в неспецифический постоянно открытый ионный канал. Мембрана деполяризуется и в цитолизе происходит накопление Ca^{2+} , что приводит к гибели клетки.

Летальная доза палитоксина при внутривенном введении человеку лежит в пределах $(1,0-2,0) \times 10^{-5}$ мг/кг [93].

Симптомы отравления РТХ у человека появляются через несколько минут после употребления в пищу отравленных морепродуктов. Они проявляются в виде общего недомогания, чувства усталости, тошноты, рвоты, поноса, болей в мышцах, мышечных спазмах, сердечной и легочной недостаточности. Наиболее частая причина смерти в первые несколько часов после отравления – сердечная недостаточность, вызванная коронарораспазмом и прямым повреждением миокарда РТХ. В последующие сроки может развиваться кардиопульмональный шок, почечная недостаточность.

Посмертные патологические изменения у людей, погибших от острого отравления РТХ, обычно включают наличие геморрагических уплотнений на слизистой кишечника и в проксимальном участке толстой кишки. В этих же участках кишечника патологоанатомы обнаруживают скопление геморрагического выпота [99].

С 2005 г. в ряде европейских стран регистрируется новая массовая патология, развивающаяся у людей в летнее время. Новая болезнь ассоциировалась с цветением моря в середине лета и поэтому получила название «синдром водорослей». Исследование воды в периоды массовых вспышек «синдрома водорослей» показало высокое содержание РТХ и его аналогов, среди которых преобладал оватоксин – А, продуцируемый *Ostreopsis ovate* [100].

Клинически у таких больных находят в различных сочетаниях симптомы раздражения верхних и нижних дыхательных путей, конъюнктивит, одышку, воспаление гортани, обильный насморк, слезотечение, тошноту, рвоту, дерматит и повышение температуры тела до 38°C . До 20 % отравленных нуждаются в госпитализации до трех суток.

Кроме того, важно подчеркнуть, что РТХ обладает раздражающим действием на кожу и слизистые поверхности. Тяжесть клинического

течения и выраженность симптомов зависят от продолжительности контакта с кораллами, содержащими РТХ, и от наличия повреждений кожи. При локальном воздействии РТХ вызывает онемение участка кожи, контактировавшего с кораллом, эритему, отек и даже некроз кожи. При тяжелых отравлениях добавляются общие симптомы: металлический привкус во рту, боли в груди, в брюшной полости, головокружение, слабость, сильные мышечные боли и спазмы мышц, парестезии. В доступных информационных материалах описано несколько смертельных случаев интоксикации палитоксином.

Диагностика естественных поражений РТХ должна проводиться с учетом вероятных путей поступления яда в организм (пероральный, чрескожный или ингаляционный) и дифференцироваться с отравлениями, вызванными сигуатоксином (сигуатера), STX, ТТХ.

Лечение – симптоматическое и патогенетическое.

Гимберотоксин – источником являются динофлагелляты *Gymnodinium breve*. Естественное поражение токсином отмечается на побережье штата Флориды (США). Симптомы отравления включают воспаление слизистых оболочек, чиханье, кашель, расстройство дыхания. В эксперименте после парэнтерального введения токсина у мышей развиваются судороги, охватывающие мускулатуру тела, затем развивается паралич.

Суберитин – белок, обладающий нейротоксической активностью, направленную на гемолиз эритроцитов и гидролиз АТФ. Источником яда является пробковая губка – *Suberites domuncula*. Регион распространения губки – Японское, Охотское и Берингово моря. При контакте вызывает зуд и слабый отек.

Яд гонионом, источником является гидромедуза *Gonionemus vertens* («крестовичок»), оказывает холиномиметическое, гистаминлибераторное и серотонинпотенцирующее действие. Вызывает поражение кожи в виде «ожогов», сопровождающееся резкой болью, гиперемией и появлением сыпи. При этом отмечается падение тонуса мышц конечностей, помрачением сознания, психомоторным возбуждением, бредом, галлюцинациями. Регион возможного естественного поражения включает побережье вблизи Владивостока.

Яд физалий, источником является сифонофора *Physalia physalis* («Португальский кораблик»). Регион возможности естественного поражения включает тропические и субтропические зоны Атлантического океана. Ожоги кожи сопровождаются сильной болью, расстройством

дыхания, сердечной деятельности и судорогами. Возможен смертельный исход. При экспериментальном отравлении патоморфологически наблюдается ишемия легких, сердца и очаги геморрагии в брюшной области.

Яд хиронекс. Яд нематоцист кубомедузы *Chironex fleckeri* («морская оса»). Встречается у берегов Австралии. Содержит белковые фракции, способные оказывать летальное, гемолитическое и дермонекротическое действие. Содержит гистамин и гистаминлибераторы, серотонин, кининоподобные соединения. Щупальцами медузы наносится поражение кожи. Через некоторое время на месте плотных папул происходит изъязвление, формируются зоны некроза кожного покрова. Поражение кожи сопровождается жгучей болью, спазмами мышц груди, бедер и живота. Отмечаются затрудненное дыхание, обильное потоотделение, сухость во рту и рвота. При тяжелых отравлениях развивается сердечная недостаточность, судороги и коллапс.

Яд цианеи является продуктом жизнедеятельности дискомедуз *Cyanea capillata* и характеризуется необратимым гипотензивным действием и поражением проводящей системы сердечной мышцы. Контакт со щупальцами цианеи мгновенно приводит к возникновению жгучей боли, развитию красноты и отека. Ожоги достигают внушительных размеров (до 60 см) и приобретают синий и даже черный цвет. У пострадавших начинается озноб, дыхание ослабевает, развивается мышечная слабость, паралич скелетной мускулатуры и мышц сердца.

Лофотоксин вырабатывается коралловыми полипами рода *Lophogorgia* (*L. alba*, *L. cuspidate*, *L. rigida*, *L. chilensis*). Обладает способностью блокады нервно-мышечной передачи. «Ожоги» стрекальными клетками обычно получают сборщики губок и аквалангисты [80]. Регион возможности естественного поражения включает прибрежные воды Мексики и Калифорнийского побережья США.

Яд актиний обладает нейротоксической и цитотоксической активностью. Источником яда являются актинии *Anemonia sulcata*, *Anthopleura xanthogrammica*, *Stoichactis gigantea*, *Actinodendron plumosum*. Стрекальные клетки актиний поражают кожу человека, вызывая зуд и жжение на месте контакта, позднее распространяющиеся по телу. На месте «ожога» образуется папула роговой консистенции с последующим некрозом тканей. В тяжелых случаях отравления развивается лихорадка, головная боль, общая слабость. Регион возможности естественного поражения включает мелководье тропических и субтропических областей.

Эквинотоксин продуцируется в щупальцах актинии *Actinia equine*. В месте контакта с актинией развиваются зуд и жжение кожи, папула с последующим некрозом тканей. В тяжелых случаях отмечается повышение температуры тела, сопровождающееся слабостью и головной болью. Регион возможного побережья включает побережье Черного моря.

Телиатоксин получают из щупалец актинии *Trealia feline*. Обладают выраженным гистаминолитическим, гемолитическим и кардиотоксическим действием. Получить поражение телиатоксином можно на побережье Баренцова, Карского и Берингова морей.

Яд конусов. Яд *C. striatus* обладает выраженным нейротропным действием. Активное начало яда составляют пептиды, названные конотоксинами I и II. Источник яда – брюхоногие моллюски рода *Conus*, обитающего в Индийском и Тихом океанах (зонах тропиков). Обычные жертвы яда конусов – ловцы моллюсков и неопытные коллекционеры раковин. В месте укола ядовитым зубом моллюска развивается сильный болевой синдром с онемением окружающих тканей, охватывая мышцы рта и конечностей. В последующем формируется симптоматика общего отравления организма пострадавшего: тошнота, рвота, одышка, головокружение, загрудинные боли, саливация, нарушение координации движений, расстройство зрительных и слуховых ощущений. В тяжелых случаях развивается паралич дыхательной мускулатуры, приводящий к гибели.

Мурексин является эфиром холина и обладает холиноподобным действием ацетилхолина. Источник яда – брюхоногие моллюски рода *Murex*. Они встречаются в Адриатическом море. Отравления развиваются при употреблении моллюсков в пищу и сопровождаются тяжелым гастроэнтеритом с судорогами.

Макулотоксин является небелковым нейротоксином. Выделяют из задних слюнных желез головоного моллюска (осьминога) *Naralochlena maculosa*. По физико-химическим свойствам и физиологическому действию близок к тетродотоксину [80]. Встречается осьминог на побережье Австралии. Симптомы отравления после укуса осьминогом развиваются стремительно. Вначале отравленный ощущает онемение слизистых, мышц лица и шеи, развиваются афония и дисфагия и формируется паралич дыхательной мускулатуры, зачастую приводящий к смертельному исходу.

Яд морских ежей – *Toxopneustes pileolus* является смесью токсических белков – урихитоксинов, обладающих различной биологической

активностью (паралитической, спазмогенной, кардиотоксической). Источник яда – морские ежи (Echinoidea), распространенные в водах Индийского и Тихого океанов. Прикосновение к *T. pileolus* вызывает сильную боль в руке, паралич языка, век, лицевой мускулатуры, расстройство речи, слабость. В тяжелых случаях может развиваться асфиксия. Агония длится несколько часов.

Яд скатов – токсин ядовитого секрета скатов *Urolophus halleri* представляет собой лабильный белок гемонейротропного действия. Источник яда – скаты-хвостоколы *Dasyatiformes*, обитающие в водах Атлантического, Индийского и Тихого океанов. Чаще всего от яда скатов страдают рыбаки, аквалангисты и купающиеся. Хвосток способен с помощью шипа наносить большие рваные раны. Боль в месте удара шипа бывает очень сильной, отек и лимфангоит. Отравление характеризуется падением АД, нарушением работы сердца, развитием слабости, иногда потерей сознания, диареей, судорогами и нарушением дыхания. Укол шипом хвостокола в грудь и живот может закончиться смертельным исходом.

Яд бородавчатки содержит гиалуронидазу, фактор, увеличивающий проницаемость мембраны сосудистых капилляров; летальный фактор, вызывающий также гипотензивный эффект; болевой фактор [80]. Источником яда являются рыбы-бородавчатки, обитающие в Индийском и Тихом океанах. В месте укула развивается сильная невыносимая боль, сохраняющаяся длительное время (до нескольких суток), формируется валик с «онемением» и отек, которые сохраняются до нескольких дней-недель и заканчиваются некрозом тканей. По красным тяжам на коже заметен лимфангоит, сопровождающийся ознобом, звоном в ушах. В тяжелых случаях пострадавший теряет сознание, дыхание затруднено, развиваются цианоз и судороги. Перед смертью, которая может наступить через 5 ч после укула иглой бородавчатки, отравленный впадает в кому.

Сигуатоксин является ядом сигуатеровых рыб (рыба-хирург – *Ctenochaetus*; лутяны – *Lutianus bonar*, *L. monostigma*, *Glabrilutanus nematophorus*; барракуда – *Sphyraena barracuda*). Токсин также продуцируют динофлагелляты *Gambierdiscus toxicus*. В зависимости от дозы признаки отравления развиваются через несколько часов, а иногда и на следующие сутки после употребления рыбы.

После отравления у пострадавшего могут развиваться симптомы поражения желудочно-кишечного тракта (рвота, диарея), сердечно-

сосудистой системы (гипотензия, брадикардия), неврологического статуса (сильные боли в конечностях и суставах, изменения температурной чувствительности), а также нарушения координации движения, параличи и парезы скелетной мускулатуры. Вначале ощущается покалывание и онемение языка и губ, металлический привкус и сухость во рту, тошнота, на коже могут проявляться сыпь и волдыри. При тяжелом отравлении развивается кома и смерть. Важно подчеркнуть, что желудочно-кишечная форма отравления вызывается травоядными рыбами (рыба-хирург и др.), а сердечно-сосудистая – хищными (лутуан, барракуда).

Яд морских змей по химическому составу напоминает яд элапид (кобротоксин). Источником яда являются морские змеи (*Hydrophidae* – *H. belcheri*, *H. elegans*, *H. ornatus*, *Alpysurus laevis*), местом обитания которых являются тропические зоны Индийского и Тихого океанов. В составе яда находятся нейротоксины постсинаптического действия. Укусы морскими змеями происходят чаще всего при купании, при ловле рыбы и т.д. На месте укуса точечные следы проколов с нечетко выраженной гиперемией и припухлостью без выраженного болевого синдрома. Первые признаки отравления появляются через полчаса с появления в месте укуса боли, которая распространяется на мышечную систему всей конечности и даже половины тела. На месте укуса появляется обширный отек пятнистой темно-красной с синюшностью окраски. Характерными симптомами отравления являются резкая сухость во рту, жажда, затрудненное дыхание, двигательные расстройства, затруднение речи, тонические спазмы жевательной мускулатуры и птоз. Смерть наступает от периферического паралича дыхательной мускулатуры [44, 51].

Литература

1. *Duan Z.G.* Extraction and protein component analysis of venom from the dissected venom glands of *Latrodectus tredecimguttatus* / Z.G. Duan, X.J. Yan, X.Z. He et al. // *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol Biol.* – 2006. – V. 145. – P. 350–357.
2. *Супотницкий М.В.* Биологическая война: введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов и биологических поражений / М.В. Супотницкий. – М.: Русская панорама; Кафедра, 2013. – 1135 с.

3. *Alirol E.* Snake bite in South Asia: a review / E. Alirol, S.K. Sharma, Bawaskar H.S. // PLoS Neglected Tropical Diseases. – 2010. – V. 4. – P. 603.
4. *Abubakar I.S.* Randomised controlled double-blind non-inferiority trial of two antivenoms for saw-scaled or carpet viper (*Echis ocellatus*) envenoming in Nigeria / I.S. Abubakar, S.B. Abubakar, A.G. Habib // PLoS Neglected Tropical Diseases. – 2010. 4, e767.
5. *Chakrabarty D.* Snake venom disintegrins In: Snake Venoms, (ed. by Gopalkrishnakone P., editor) – Living Reference Work, Springer, Dordrecht, 2015. – P. 1–11.
6. *Chippaux J.P.* Snakebite in Africa: current situation and urgent needs In: Handbook of Venom and Toxins of Reptiles (ed. by Mackessy S.P., editor). – CRC Press, Boca Raton, 2010. – P. 453–474.
7. *King G.F.* Venoms as a platform for human drugs: translating toxins into therapeutics / G.F. King // Expert Opinion on Biological Therapy. – 2011. – № 11. – P. 1469–1484.
8. *Habib A.G.* Snakebite is under appreciated: appraisal of burden from West Africa / A.G. Habib, A. Kuznik, M. Hamza // PLOS Neglected Tropical Diseases. – 2015. – № 9. – P. 4088.
9. *Gutiérrez J.M.* Snake venom metalloproteinases: biological roles and participation in the pathophysiology of envenoming In: Handbook of Venom and Toxins of Reptiles (ed. by Mackessy S.P., editor) / J.M. Gutiérrez, A. Rucavado, T. Escalante. – CRC Press, Boca Raton, 2010. – P. 115–137.
10. *Earl S.T.H.* Drug development from Australian elapid snake venoms and the Venomics pipeline of candidates for haemostasis: Textilinin-1 (Q8008), Haempatch™ (Q8009) and CoVase™ (V0801) / S.T.H. Earl, P.P. Masci, J. De Jersey // Toxicon. – 2010. – № 1. – P. 1–8.
11. *Gutiérrez J.M.* Hemorrhage caused by snake venom metalloproteinases: a journey of discovery and understanding / J.M. Gutiérrez, T. Escalante, A. Rucavado // Toxins. – 2016. – № 8. – P. 93.
12. *Han S.M.* Efficacy and safety of alfineprase in patients with acute peripheral arterial occlusion (PAO) / S.M. Han, F.A. Weaver, A.J. Comerota // Journal of Vascular Surgery. – 2010. – V. 51. – P. 600–609.
13. *Deshpande R.P.* Adverse drug reaction profile of anti-snake venom in a rural tertiary care teaching hospital / R.P. Deshpande, V.M. Motghare, S.L. Padwal et al. // Journal of Young Pharmacists. – 2013. – №. 5. – P. 41–45.
14. *Kudo Y.* Isolation and structural determination of the first 8-epi-tipe tetrodotoxin analogs from the newt, *Cynops ensicauda popei*, and comparison of

tetrodotoxin analogs profiles of this neft and the puffer fish, *Fugu poecilonotus* / Y. Kudo, T. Yasumoto, K. Konoki et al. // *Mar. Drugs*. – 2012. – V. 10. – P. 655–667.

15. *Kerckamp H.M.I.* Evolution of the Snake Venom Delivery System In: *Evolution of Venomous Animals and Their Toxins*, (ed. by Gopalkrishnakone P., editor; & Malhotra A., editor / H.M.I. Kerckamp, N.R. Casewell, F.J. Vonk. – Living Reference Work, Springer, Dordrecht, 2015. – P. 1–11.

16. *Alirol E.* Antivenoms for snakebite envenoming: what is in the research pipeline? / E. Alirol, P. Lechevalier, F. Zamatto // *PLOS Neglected Tropical Diseases*. – 2015. – №. 9. – P. 38–96.

17. *Antonypillai C.N.* Hypopituitarism following envenoming by Russell's vipers (*Daboia siamensis* and *D. russelii*) resembling Sheehan's syndrome: first case report from Sri Lanka, a review of the literature and recommendations for endocrine management / C.N. Antonypillai, J.A.H. Wass, D.A. Warrell // *QJM*. – 2011. – V. 104. – P. 97–108.

18. *Arlinghaus F.* Lectin proteins In: *Venomous Reptiles & Their Toxins: Evolution, Pathophysiology & Biodiscovery* (ed. by Fry B., editor). / F. Arlinghaus, B.Fry, K. Sunagar et al. – Oxford University Press, New York, 2015. – P. 299–3311.

19. *Arnold C.* Vipers, mambas and taipans: the escalating health crisis over snakebites / C. Arnold // *Nature*. – 2016. – V. 537. – P. 26–28.

20. *Berling I.* Intracranial haemorrhages associated with venom induced consumption coagulopathy in Australian snakebites (ASP-21) / I. Berling, S.G.A. Brown, F. Miteff // *Toxicon*. – 2015. – V. 102. – P. 8–13.

21. *Camargo A.C.M.* Bradykinin-potentiating peptides: beyond captopril / A.C.M. Camargo, D. Ianzer, J.R. Guerreiro // *Toxicon*. – 2012. – V. 59. – P. 516–523.

22. *Casewell N.R.* Domain loss facilitates accelerated evolution and neofunctionalization of duplicate snake venom metalloproteinase toxin genes / N.R. Casewell, S.C. Wagstaff, R.A. Harrison // *Molecular Biology and Evolution*. – 2011. – V. 28. – P. 2637–2649.

23. *Casewell N.R.* Complex cocktails: the evolutionary novelty of venoms. *Trends in Ecology* / N.R. Casewell, W. Wüster, F.J. Vonk // *Evolution*. – 2013. – V. 28. – 3. 219–229.

24. *Casewell N.R.* Snake venom metalloprotease enzymes In: *Venomous Reptiles & Their Toxins: Evolution, Pathophysiology & Biodiscovery* (ed. by Fry B., editor) / N.Casewell, K. Sunagar, Z. Takacs. – Oxford University Press, New York, 2015. – P. 347–363.

25. *Durban J.* Integrated 'omics' profiling indicates that miRNAs are modulators of the ontogenetic venom composition shift in the Central American

rattlesnake, *Crotalus simus simus* / J. Durban, A. Pérez, L. Sanz et al. // BMC Genomics. – 2013. – № 14. – P. 234.

26. *Harrison R.* Priority actions and progress to substantially and sustainably reduce the mortality, morbidity and socioeconomic burden of tropical snakebite / R. Harrison // *Toxins*. – 2016. – №. 8. – P. 351.

27. *Isbister G.* Snakebite does not cause disseminated intravascular coagulation: coagulopathy and thrombotic microangiopathy in snake envenoming / G. Isbister // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. – 2010. – № 36. – P. 444–451.

28. *Isbister G.K.* Factor deficiencies in venom-induced consumption coagulopathy resulting from Australian elapid envenomation: Australian Snakebite Project (ASP-10) / G.K. Isbister, F.E. Scorgie, M.A. O'Leary // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2010. – №. 8. – P. 2504–2513.

29. *Isbister G.K.* Venom concentrations and clotting factor levels in a prospective cohort of Russell's viper bites with coagulopathy / G.K. Isbister, K. Maduwage, F.E. Scorgie // *PLoS Neglected Tropical Diseases*. – 2015. – № 9. – e0003968.

30. *Katkar G.D.* NETosis and lack of DNase activity are key factors in *Echis carinatus* venom-induced tissue destruction / G.D. Katkar, M.S. Sundaram, B. Swethakumar // *Nature Communications*. – 2016. – № 7. – P. 11361.

31. *Phillips D.* Thrombin-like snake venom serine proteases In: *Handbook of Venom and Toxins of Reptiles* (ed. by Mackessy S.P., editor / D. Phillips, S. Swenson, F. Jr. Markland. – CRC Press, Boca Raton, 2010. – P. 139–154.

32. *Kini R.* Metalloproteases affecting blood coagulation, fibrinolysis and platelet aggregation from snake venoms: definition and nomenclature of interaction sites / R. Kini, C. Koh // *Toxins*. – 2016. – № 8. – P. 284.

33. *Moura-da-Silva A.M.* Diversity of metalloproteinases in *Bothrops neuwiedi* snake venom transcripts: evidences for recombination between different classes of SVMPs / A.M. Moura-da-Silva, M.S. Furlan, M.C. Caporrimo et al. // *BMC Genetics*. – 2011. – № 12. – P. 94.

34. *Pla D.* Preclinical efficacy of Australian antivenoms against the venom of the small-eyed snake, *Micropechis ikaheka*, from Papua New Guinea: an antivenomics and neutralization study / D. Pla, O.K. Paiva, L. Sanz et al. // *Journal of Proteomics*. – 2014. – V. 110. – P. 198–208.

35. *Massey D.J.* Venom variability and envenoming severity outcomes of the *Crotalus scutulatus scutulatus* (Mojave rattlesnake) from Southern Arizona / D.J. Massey, J.J. Calvete, E.E. Sánchez E.E. et al. // *Journal of Proteomics*. – 2012. – V. 75. – P. 2576–2587.

36. *McCleary R.J.R.* Reptile venoms as a platform for drugdevelopment In: *Venoms to Drugs: Venoms as a Source for the Development of Human*

Therapeutics (ed. by King G.F., editor) / R.J. R McCleary, T.S. Kang, R.M. Kini. – Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2015. P. 129–162.

37. *Xu X.* Hypotensive peptides from snake venoms: structure, function and mechanism / X. Xu, B. Li, S. Zhu // *Current Topics in Medicinal Chemistry.* – 2015. – № 15. – P. 658–669.

38. *Maduwage K.* Current treatment for venom-induced consumption coagulopathy resulting from snakebite / K. Maduwage, G.K. Isbister // *PLoS Neglected Tropical Diseases.* 2014. – V. 28. – e3220.

39. *Vonk F.J.* The king cobra genome reveals dynamic gene evolution and adaptation in the snake venom system / F.J. Vonk, N.R. Casewell, C.V. Henkel et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2013. – V. 110. – P. 20651–20656.

40. *Rivel M.* Pathogenesis of dermonecrosis induced by venom of the spitting cobra, *Naja nigricollis*: an experimental study in mice / M. Rivel, D. Solano, M. Herrera et al. *Toxicon.* – 2016. – V. 119. – P. 171–179.

41. *Silva A.* Neurotoxicity in Sri Lankan Russell's Viper (*Daboia russelii*) Envenoming is Primarily due to U1-viperitoxin-Dr1a, a Pre-Synaptic Neurotoxin / A. Silva, S. Kuruppu, I. Othman // *Neurotoxicity Research.* – 2017. – V. 31. – P. 11–19.

42. *Tan C.H.* Antivenom cross-neutralization of the venoms of *Hydrophis schistosus* and *Hydrophis curtus*, two common sea snakes in Malaysian waters / C.H. Tan, N. Tan, K. Y. Tan // *Toxins.* – 2015. – № 7. – P. 572–581.

43. *Tan C.H.* Genus *Calliophis* of Asiatic coral snakes: a deficiency of venom cross-reactivity and neutralization against seven regional elapid antivenoms / C.H. Tan, J.L. Liew, K.Y. Tan // *Toxicon.* – 2016. – V. 121. – P. 130–133.

44. *Deeds J.R.* Non-traditional vectors for paralytic shellfish poisoning / J.R. Deeds, J.H. Landsberg, S.M. Etheridge et al. // *Mar. Drugs.* – 2008. – V. 6. – P. 308–348.

45. *Wiese M.* Neurotoxic alkaloids: saxitoxin and its analogs / M. Wiese, P. Agostino, K.M. Troco et al. // *Mar. Drugs.* – 2010. – V. 8. – P. 2185–2211.

46. *Opie L.H.* The discovery of captopril: from large animals to small molecules / L.N. Opie // *Cardiovasc. Res.* – 1995. – V. 30. – P. 18–25.

47. *Noguchi T.* Puffer poisoning epidemiology and treatment / T. Noguchi, J. S. M. Ebesu // *J. Toxicol.* – 2001. – V. 20. – P. 1–10.

48. *Ferreiro S.F.* Acute cardiotoxicity evaluation of the marine biotoxins OA, DTX-1 and YTX / S.F. Ferreiro, C. Carrera, N. Vilariño // *Toxins.* – 2015. – № 7. – P. 1030–1047.

49. *McCarthy M.* Assessment of emerging biotoxins (pinnatoxin G and spirolides) at Europe's first marine reserve: Lough Hyne / M. McCarthy, V. Bane, M. García-Altres et al. // *Toxicon*. – 2015. – V. 108. – P. 202–209.

50. *Berdalet E.* Marine harmful algal blooms, human health and wellbeing: challenges and opportunities in the 21st century / E. Berdalet, L. Fleming, R. Gowen et al. // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* – 2015. – V. 96. – P. 61–91.

51. *Стоник В.А.* Морские токсины: химические и биологические аспекты изучения / В.А. Стоник, И.В. Стоник // *Успехи химии*. – 2010. – № 79 (5). – С. 447–465.

52. *Nielsen L.T.* Accumulation, transformation and breakdown of DSP toxins from the toxic dinoflagellate *Dinophysis acuta* in blue mussels, *Mytilus edulis* / L.T. Nielsen, P.J. Hansen, B. Krock // *Toxicon*. – 2016. – V. 117. – P. 84–93.

53. *Richter I.* Detection of marine microalgal biotoxins using bioassays based on functional expression of tunicate xenobiotic receptors in yeast / I. Richter, A.W. Fidler // *Toxicon*. – 2015. – V. 95. – P. 13–22.

54. *Turner A.D.* Occurrence and profiles of lipophilic toxins in shellfish harvested from Argentina / A.D. Turner, A.B. Goya // *Toxicon*. – 2015. – V. 102. – P. 32–42.

55. *Berti M.* “Le biotossine marine,” in *Igiene Degli Alimenti* eds Schirone M., Visciano P., editors. / M. Berti, A. Milandri. – Bologna: Edagricole, 2014. – P. 163–198.

56. *Bruce K.L.* Approaches for the detection of harmful algal blooms using oligonucleotide interactions / K.L. Bruce, S.C. Eeterme, A.V. Ellis // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2015. – V. 407. – P. 95–116.

57. *Burrell S.* First detection of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins in Icelandic mussels (*Mytilus edulis*): links to causative phytoplankton species / S. Burrell, T. Gunnarsson, K. Gunnarsson et al. // *Food Control*. – 2013. – V. 31. – P. 295–301.

58. *Bernd C.* Determination of marine biotoxins relevant for regulations: from the mouse bioassay to coupled LC-MS methods / C. Bernd, L. Bernd // *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. – V. 391. – P. 117. – 134.

59. *Schwarz M.* Low dose domoic acid influences spontaneous behavior in adult rats / M. Schwarz, K. Jandová, Struk I. // *Physiol. Res.* – 2014. – V. 63. – P. 369–376.

60. *Ching P. K.* Lethal paralytic shellfish poisoning from consumption of green mussel broth, Western Samar, Philippines, August 2013 / P.K. Ching, R.A. Ramos, V. C. de los Reyes // *Western Pac. Surveill. Response J.* – 2015. – № 6. – P. 22–26.

61. *Callejas L.* Paralytic shellfish poisonings resulting from an algal bloom in Nicaragua / L. Callejas, A.C.M. Darce, J. J. Amador et al. // BMC Res. Notes. – 2015. – № 8. – P. 7410.

62. *Álvarez G.* Depuration and anatomical distribution of domoic acid in the surf clam *Mesodesma donacium* / G. Álvarez, E. Uribe, J. Regueiro et al. // Toxicon. – 2015. – V. 102. – P. 1–7.

63. *Chen T.* Food-borne disease outbreak of diarrhetic shellfish poisoning due to toxic mussel consumption: the first recorded outbreak in China / T. Chen, X. Xuqing, W. Jinjiao et al. // PLoS ONE. – 2013. – № 8. – e65049.

64. *Trainer V. L.* Diarrhetic shellfish toxins and other lipophilic toxins of human health concern in Washington State / V. L. Trainer, L. Moore, B. D. Bill et al. Mar. Drugs. – 2013. – № 11. – P. 1815–1835.

65. *Li A.* Toxins in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) associated with diarrhetic shellfish poisoning episodes in Cina / A. Li, J. Ma, J. Cao // Toxicon, 2012. – V. 60. – P. 420–425.

66. *Visciano P.* Detection of yessotoxin by three different methods in *Mytilus galloprovincialis* of Adriatic Sea, Italy / P. Visciano, M. Schirone, R. Tofalo et al. // Chemosphere. – 2013. – V. 90. – P. 1077–1082.

67. *Taylor M.* Outbreak of diarrhetic shellfish poisoning associated with mussels, British Columbia / M. Taylor, L. McIntyre, M. Ritson et al. // Canada. Mar. Drugs. – 2013. – № 11. – P. 1669–1676.

68. *Braga A.C.* In vitro bioaccessibility of the marine biotoxins okadaic acid in shellfish / A.C. Braga, R.N. Alves, A.L. Maulvault et al. // Food Chem. Toxicol. – 2016. – V. 89. – P. 54–59.

69. *Hossen V.* Contribution to the risk characterization of ciguater toxins: loael estimated from eight ciguatera fish poisoning events in Guadeloupe (French West Indies) / V. Hossen, L. Soliño, P. Leroy et al // Environ. Res. – 2015. – V. 143. 100–108.

70. *Bacchiocchi S.* Two-year study of lipophilic marine toxin profile in mussels of the North-central Adriatic Sea: first report of azaspiracids in Mediterranean seafood / S. Bacchiocchi, M. Siracusa, A. Ruzzi A. // Toxicon. – 2015. – V. 108. – P. 115–125.

71. *Cassell R.T.* Brevetoxin, the dinoflagellate neurotoxin, localizes to thylakoid membranes and interacts with the light-harvesting complex II (LHCII) of photosystem II / R. T. Cassell, W. Chen, S. Thomas et al. // ChemBiochem. – 2015. – № 16. – P. 1060–1067.

72. *Gebhard E.* Immunomodulatory effects of brevetoxin (PbTx-3) upon in vitro exposure in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) / E. Gebhard, M. Levin, A. Bogomolni // Harmful Algae. – 2015. – V. 44. – P. 54–62.

73. *Mattei C.* Ciguatera fish poisoning: a first epidemic in Germany highlights an increasing risk for European countries / C. Mattei, I. Vetter, A. Eisenblätter et al. // *Toxicon*. – 2014. – V. 91. – P. 76–83.

74. *Chan T. Y. K.* Ciguatera fish poisoning in East Asia and Southeast Asia / T. Y. K. Chan // *Mar. Drugs*. – 2015. – № 13. – P. 3466–3478.

75. *Silva M.* First report of ciguatoxins in two startfish species: *Ophidiaster ophidianus* and *Marthasterias glacialis* / M. Silva, I. Rodriguez, A. Barreiro et al. // *Toxins*. – 2015. – № 7. – P. 3740–3757.

76. *Hellyer S. D.* Neuromuscular blocking activity of pinnatoxins E, F and G / S. D. Hellyer, A. I. Selwood, L. Rhodes // *Toxicon*. – 2013. – V. 76. – P. 214–220.

77. *Marrouchi R.* Analysis of the action of gymnodimine-A and 13-desmethyl spirolide C on the mouse neuromuscular system in vivo / R. Marrouchi, G. Rome, R. Kharrat // *Toxicon*. – 2013. – V. 75. – P. 27–34.

78. *Salgado P.* Differences in the toxin profiles of *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) strains isolated from different geographic origins: evidence of paralytic toxin, spirolide, and gymnodimine / P. Salgado, P. Riobó, F. Rodríguez // *Toxicon*. – 2015. – V. 103. – P. 85–98.

79. *Hess P.* Pinnatoxin G is responsible for atypical toxicity in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and clams (*Venerupis decussata*) from Ingril, a French Mediterranean lagoon / P. Hess, E. Abadie, F. Hervé et al. // *Toxicon*. – 2013. – V. 75. – P. 16–26.

80. *Noguchi T.* Tetrodotoxin-distribution and accumulation in aquatic organisms, and cases of human intoxication / T. Noguchi, O. Arakawa // *Mar. Drugs*. – 2008. – V. 6. – P. 220–242.

Глава 3

ЭТИОЛОГИЯ, МЕХАНИЗМ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ, КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ, ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА ОТРАВЛЕНИЙ ТОКСИНАМИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Растительные токсические белки представляют собой группу фитотоксинов, которые ингибируют белковый синтез в эукариотических клетках. Токсины этой группы являются гликопротеинами с молекулярной массой около 60 кДа и представляют собой две субъединицы, соединенных в димерную конструкцию дисульфидными связями. Одна из субъединиц включает лектин с сайтами для карбогидратных связей (В-цепь), а другая субъединица представляет собой N-гликозидазу (А-цепь), которой модифицируется 28S рРНК-60S [1]. Группа белков, известная как лектины, была впервые найдена в семенах растений, и они связаны со специфическими сахарами. Хотя лектины в основном не очень токсичны, имеется несколько общих моментов, которые подтверждают наличие определенных связей между лектинами и токсинами. Они могут служить как распознающие маркеры в клеточной дифференцировке и действовать как иммунотоксины. Только А-цепь является токсичной и обуславливает ингибирование белкового синтеза. А-цепью каталитически инактивируется 60S рибосомальная субъединица посредством удаления аденина из позиции 4 и 324 28S рРНК [2]. Рибосома-инактивирующие белки идентифицированы во многих растениях и некоторые из них характеризуются высокой токсичностью, но только в комбинации с В-цепью. А-цепь несет токсичность, а В-цепь связывается с рецептором на поверхности клеток и осуществляет транспорт А-цепи через клеточную мембрану. А-цепь не активируется при попадании внутрь клеток, где осуществляет воздействие на белковый синтез. Каждая молекула токсина может разрушать 2000 полисомов в минуту, убивая тем самым клетку [3].

3.1. Токсические свойства фитотоксинов

Фитотоксины представляют собой вещества с различным строением и неодинаковой биологической активностью. Как известно, токсичность ядовитых растений зависит от природных условий и стадии развития (затенение, изменение метеоусловий, периоды цветения, опыления и др.) [4, 5].

Отсюда клиническая картина отравления многими фитотоксинами представляет собой сложную комбинацию видимых клинических признаков, проявляющихся как результат действия не одного, а ряда токсических веществ, заключенных в ядовитом растении. Как уже было отмечено в главе 1 при отравлении многими растениями на первый план выступают симптомы поражения нервной системы. При этом в клинической картине преобладают или признаки повышенного возбуждения (судороги, возбуждение дыхания, усиление кровообращения) или, наоборот, признаки угнетения (сонливость, параличи, затрудненность произвольных движений, понижение общей чувствительности и др.). При сильных отравлениях возбуждение ЦНС проявляется лишь первой стадией действия яда, заканчивающееся тяжелым угнетением и параличом. Некоторые растения оказывают действие на спинной мозг. На нервную систему действуют преимущественно алкалоидные растения (группы мака, аконита, живокости, чемерицы, табака, ежовника, безвременника, эфедры, омега и др.) и растения, содержащие эфирные масла [6].

Значительное количество ядовитых растений (молочай, гликозиды, сапонин-соланинсодержащие, крестоцветные) оказывают сильное раздражающее действие на слизистую оболочку пищеварительного тракта, которое сопровождается слюнотечением, тошнотой, рвотой, болями в животе, общей слабостью, сердечно-сосудистой недостаточностью, затруднением дыхания, судорогами, нарушением сознания, параличом ЦНС.

Клиническая картина отравления многими растениями, преимущественно крестоцветными, сопровождается симптомами поражения дыхательных путей. В этом случае учащенное, усиленное дыхание, одышка, беспокойство, кашель, цианоз выступают как основные симптомы отравления наряду с поражением ЖКТ [6].

Нарушения сердечной деятельности, проявляющиеся в виде усиления сердечных сокращений, изменения их ритма, остановка сер-

дечной деятельности, могут быть обусловлены растениями из группы наперстянки.

Воздействие ядов растений, содержащих летучие вещества, выделяющиеся через почки (эфирные масла, протоанемонин лютиков, горчичные масла крестоцветных, госсипол хлопчатника), могут наступить тяжелые расстройства в состоянии мочевыделительной системы – почек, мочевого пузыря. Для таких расстройств характерно частое мочеотделение, и изменение окраски мочи и появления в ней крови.

В результате действия синильной кислоты (цианогенные растения) нарушается газовый обмен, развивается кислородное отравление тканей, приводящее к смертельному исходу.

Основной клинической картины отравления некоторыми растениями является нарушение кроветворной деятельности костного мозга с последующим развитием лейкопении, тромбоцитопении, явлений геморрагического диатеза (множественные кровоизлияния в различных органах и тканях), нарушении питания, похудении, кахексии.

Большая группа растений (крестовники, гелиотропы, люпины) вызывает при определенных условиях глубокие поражения печени, клиническими признаками которых являются нарушения пищеварения, желтуха, расстройства мочеиспускания, мозговой и сердечной деятельности.

Особенности токсического поражения наиболее полно могут быть раскрыты при изложении токсических свойств отдельных растений.

3.1.1. Токсические свойства высших растений

Красавка (сонная одурь, белладонна, волчья ягода) является многолетним травянистым растением семейства пасленовых. Наиболее распространены *Atropa belladonna* L. и *A. caucasica* Kreyer. Она относится к ядовитым растениям, вызывающим возбуждение ЦНС, обуславливая двигательное беспокойство, буйство, повышение АД, учащение дыхания. При этом нарушается острота зрения, зрачки максимально расширены, голос хриплый, лицо гиперемировано, неадекватное поведение, коматозное состояние. Может быть коматозное состояние. Смерть наступает от паралича дыхания. Все части растения ядовиты, но содержание алкалоидов в них различно. Больше всего их в корнях (0,4–1,3 %), листьях (0,14–1,2 %) и плодах (до 0,7 %).

Естественные отравления встречаются при употреблении в пищу сладких ягод растения. Смертельная доза для взрослых – более 10 ягод.

Основное токсикологическое значение при отравлении красавкой имеют атропин и гиосциамин.

Атропин является блокаторм М-холинреактивных систем как на периферии, так и в ЦНС. Смертельная доза атропина – 0,6–0,1 г. Периферическое действие атропина проявляется в уменьшении секреции слюнных, бронхиальных, желудочных, поджелудочной, потовых желез, тахикардии, понижении тонуса гладких мышц полых органов, мидриаза и параличе аккомодации. Центральное влияние атропина выражено существенно меньше и проявляется в провокации делириозного синдрома и усилении частоты и глубины дыхания. При остром отравлении смерть может наступить от остановки дыхания, при хроническом – при явлениях анорексии, олигодипсии, олигурии, лихорадки, анемии, гиперхолестеринемии и алкалурии от угнетения дыхания и судорог [6].

Гиосциамин является левовращающим изомером, выделение его из сырья приводит к образованию рацемической смеси, называемой атропином. Таким образом, атропин рассматривается как рацемическая форма, состоящая из лево- и правовращающего гиосциамин. Он в 3 раза активнее, чем атропин, действует на холинорецепторы сердца и в 10 раз – на холинорецепторы кишечника. Вследствие чего гиосциамин повторяет действие атропина, но более эффективно в эквивалентных дозах.

Скополамин является сложным эфиром скопина и троповой кислоты, химически близок к атропину. Подобно атропину вызывает расширение зрачков, паралич аккомодации, учащение сердечных сокращений, расслабление гладких мышц, снижение секреции пищеварительных и потовых желез. Оказывает также центральное холинолитическое действие. Картина интоксикации сходна с таковой у атропина. Используется в преступном мире для подавления воли людей, вызывая наркотическое опьянение и добываясь от жертвы необходимой информации, подписей на документах и др.

Белена (*Hyoscyamus*) – двух(одно)летнее травянистое растение, распространена в Европе, Азии и Африке и включает около 20 видов. В нашей стране произрастает 8 видов, из которых наибольшее токсикологическое значение имеет белена черная (*H.niger*). В белене содержатся алкалоиды – в листьях – 0,045–0,1 %, в корнях – 0,15–0,17 %, в

в семенах – 0,06–0,10 %. Естественные отравления наблюдаются в основном у детей. Их привлекают семена белены – маслянистые и сладкие на вкус.

Симптомы отравления появляются через 20 мин после употребления белены. Вначале ощущается сухость во рту, онемение, которые распространяются на носоглотку, гортань. Затем пропадает голос, затрудняется глотание, появляются проблемы с дыханием. Зрачки расширены, появляется светобоязнь, нарушается острота зрения. У отравленного появляются галлюцинации, бред, нарушение ориентации в пространстве и общей координации движений.

Психические расстройства могут продолжаться больше суток. Нередко это состояние сопровождается судорогами, тахикардией. Население использует ядовитые вещества белены для самолечения в качестве местных обезболивающих средств.

Дурман (Datura) относится к ядовитым растениям семейства пасленовых, вызывающим возбуждение ЦНС. В нашей стране встречается дурман обыкновенный или воночий (*D. stramonium*). Ядовитые алкалоиды в растении распространены неравномерно. В листьях и семенах содержится гиосциамин (0,2–0,45 % и 0,21–0,25 % соответственно). Скополамин содержится в корнях белены – 0,21–0,25 % и 0,6–0,7 % – верхушках побегов. Клиника отравления совпадает с той, что наблюдают при отравлении красавкой.

Болиголов пятнистый (Conium) относится к ядовитым растениям, вызывающим угнетение и паралич ЦНС и одновременно действующим на ЖКТ и ССС. В древней Греции болиголов использовали для казни преступников. Растение распространено в северных районах Африки, Азии и в Европе. В плодах болиголова содержится до 2 % алкалоидов: конииин (α -пропилпиперидин), метилкониин, конгидрин, псевдоконгидрин и жирное масло, в состав которого входят глицериды петрозелиновой и петрозелидиновой кислот [6]. В листьях содержится до 0,1 % алкалоидов, до 0,08 % эфирного масла и кофейная кислота. Из цветов выделены кемпферол и кверцетин. Основной алкалоид и ядовитое начало болиголова пятнистого – конииин. Он содержится во всех частях болиголова, а в плодах и семенах до 1 %. Его смертельная доза для взрослого человека составляет при пероральном приеме – 0,13–0,20 г. Естественные отравления встречаются из-за случайного употребления в пищу корня болиголова (вместо хрена) или его листьев (вместо петрушки).

Первые симптомы отравления появляются через несколько секунд. Вначале развивается паралич окончаний чувствительных и двигательных нервов. Он начинается со ступней и распространяется вверх туловища, пока не достигает диафрагмы, вследствие паралича которой наступает смерть. Кроме того, прием кониина обуславливает гиперсаливацию, тошноту, рвоту, понос, головокружение, расстройство зрения. По клиническим проявлениям отравления этот яд отличается от кураре тем, что вызывает сильные клонические судороги в начальной стадии отравления [6].

Вех ядовитый – цикута (*Cicuta*), водяной болиголов, кошачья петрушка, вяха, омежник, водяная бешеница, мутник, собачий дягиль, гориголова относится к растениям семейства зонтичных. Насчитывается около 20 видов веха. В нашей стране распространено одно из наиболее ядовитых растений – вех ядовитый (*C. vlgosa*), вызывающий возбуждение ЦНС.

Основной токсин – цикутоксин, производное пирона. Относится к классу ядовитых спиртов, вызывающих смерть от расстройства ЦНС. Является мощным неконкурентным антагонистом рецептора нейромедиатора – γ -аминобутановой (аминомасляной) кислоты (ГАМК). В свежем корневище веха содержится до 0,2 % цикутоксина, а в высушенном – от 1,5 до 3,5 %. Смертельная доза цикутоксина для взрослого человека содержится в 2–3 г свежевыкопанного корня растения.

Цикутоксин является нейротоксином, повышающим возбудимость головного и спинного мозга, приводящим к развитию сильных судорог. В результате возбуждения центров продолговатого мозга нарушается деятельность дыхательной и сердечно-сосудистой систем.

Симптомы отравления развиваются спустя 15–20 мин после приема растения в пищу с чувства тошноты, жжения во рту и глотке, головной боли, болей в животе и рвоты. По мере развития отравления отмечаются клонико-тонические судороги, обильное выделение густой слюны. Смерть может наступить от остановки дыхания на фоне острой сердечно-сосудистой недостаточности.

Аконит (*Aconitum*) – борец относится к роду многолетних травянистых растений семейства лютиковых. На территории нашей страны зарегистрировано около 70 ядовитых видов. Аконит вызывает угнетение и паралич ЦНС и одновременно действует на ЖКТ и ССС. Считается самым ядовитым растением Европы [6].

Действующими веществами аконитов являются алкалоиды дитерпенового ряда. Основное токсическое действие оказывают алкалоиды аконитин и зонгорин. Аконит обладает судорожно-паралитическим действием, которое обусловлено стойким повышением натриевой проницаемости возбудимых (нервных и мышечных) мембран и их деполяризацией вследствие этого [6]. При пероральном отравлении летальная доза для человека составляет около 2 мг/кг веса.

Симптомы отравления развиваются через 10–20 мин после перорального приема. Развиваются жжение и зуд во рту, в пальцах рук и ног, распространяющиеся затем на все туловище. Затем присоединяется рвота, диарея, боли в голове, спине, онемение, температура тела понижается, диурез. Зрачки у отравленного расширены, цветовосприятие нарушено. Отмечаются аритмия, мышечные фибрилляции и судороги конечностей. Смерть наступает при сохранившемся сознании от паралича дыхания и сердца.

Безвременник – зимовник, колхикум (*Colchicum*) относится к роду многолетних трав семейства лилейных. В нашей стране встречается около 10 видов безвременника, относящегося к ядовитым растениям, вызывающим угнетение и паралич ЦНС.

В семенах и клубнелуковицах безвременника содержатся алкалоиды: колхицин и колхамин. Естественные отравления встречаются в основном у детей. Смертельная доза составляет 5–10 семян (около 6 г) безвременника. Симптомы отравления наступают через 2–6 ч после поступления яда в ЖКТ. Сначала отравленный ощущает тошноту, першение и жжение во рту, затрудненное глотание. Часто развиваются рвота, понос и судороги. В моче появляется кровь, ощущается сильная жажда. Затем присоединяются удушье, отек легких, почечная недостаточность. Если отравленный выживает, то у него возможно выпадение волос.

Чемерица (*Veratrum*) относится к роду растений семейства лилейных. В нашей стране зарегистрировано 9 видов. Чемерица относится к растениям, вызывающим угнетение и паралич ЦНС и одновременно действующим на ЖКТ и ССС.

Ядовитые алкалоиды содержатся во всех частях растения, но преимущественно в корневищах и корнях (2 %). Естественные отравления редки. Алкалоиды чемерицы (протовератин и йервин) вначале возбуждают ЦНС, а затем угнетают и парализуют ее. Появляются дрожь, судорожные подергивания мышц, слюнотечение, чувство

жжения во рту, рвота, понос, затруднение глотания, першение и покальвание в глотке, нарушения дыхания и работы сердца. Протовергин может вызывать сильное сужение зрачка. Симптоматика отравления может сохраняться в течение нескольких дней.

Мак (*Papaver*) относится к роду однолетних – многолетних растений семейства маковых. Наиболее популярен вид – мак снотворный (*P. somniferum*), подразделяемый на 8 подвидов. Мак снотворный относится к ядовитым растениям, вызывающим угнетение и паралич ЦНС. Из мака получают следующие алкалоиды: морфин, кодеин, папаверин, тебаин, протопин, криптонин, неопин, папаверамин, лантопин. Всего в соке этого мака (опиум) содержится около 25 алкалоидов.

Смертельная доза морфина для взрослого человека – 0,2–0,5 г при внутривенном введении и 0,5–1,0 г при пероральном приеме.

Клиника отравления опиумом складывается из суммарных эффектов, входящих в него алкалоидов [6]:

морфин – центральное воздействие на ЦНС (болеутоляющее, успокаивающее воздействие на дыхательный и сердечный центр; снижение секреторной функции; успокоение и эйфория); периферическое воздействие: повышение тонуса гладкой мускулатуры. Из наркотических производных морфина более известен героин, от которого наркотическая зависимость выражена сильнее морфиновой;

кодеин – угнетает кашлевой рефлекс;

тебаин – яд, вызывающий судороги;

папаверин – периферическое расслабляющее воздействие на гладкую мускулатуру;

наркотин – усиливает наркотическое воздействие морфина на ЦНС; возбуждающе действует на дыхание, оказывает периферическое расслабляющее действие на гладкую мускулатуру.

Симптомы отравления опиум развиваются в течение часа после приема яда. У отравленного появляется ощущение тяжести в голове, сухость во рту, головокружение, рвота, растущее помрачение сознания и общая слабость, понижение температуры тела, задержка мочи и стула, сужение зрачков, угнетение дыхания и ослабление сердечной деятельности. После перорального приема яда летальный исход часто наступает спустя лишь много часов в результате паралича дыхательного центра.

Строфант (*Strophanthus*) относится к роду растений семейства кутровых. Он относится к ядовитым растениям, вызывающим преиму-

щественно симптомы поражения сердца. Все части строфанта ядовиты, но преимущественно семена. В семенах строфанта Комбе (*S. kombe Oliv*) содержится до 2 % К-строфантозида, до 0,6 % К-строфантина-β, до 0,3 % цимарина, 0,28 % цимарол, а также периплоцимарин, гелветикозид, эмицимарин, глюкогелветикозид, гликоцимарол. Семена строфанта щетинистого содержат К-строфантозид, субаин (G-строфантин), цимарин, холин, тригонеллин, сапонины, жирное масло. Кора корней содержит сердечные гликозиды и тригонеллин. В медицине применяют К-строфантина-β и G-строфантин. Строфантин в ЖКТ почти полностью разлагается, однако при большой дозе он все же может вызвать смертельный исход. Смертельная доза строфантина для взрослого человека при внутривенном введении около 1 мг.

Сходные со строфантином гликозиды содержатся в наперстянке (дигитоксин, дигоксин), майском ландыше (конваллатоксин, конвалламарин, конвалозид и др.), морском луке (сцилларен и др.), горицвете весеннем (цимарин, адонитоксин), олеандре (олеандрин, нериин). На сердце они действуют хронотропно (замедляют ритм сердечных сокращений), инотропно (повышают сократимость и тонус сердечной мышцы), дромотропно (повышение возбудимости).

Отравление гликозидами проявляется рвотой центрального происхождения, болями в надчревной области, одышкой, цианозом, поносом, нарушениями сердечного ритма. Отравленный испытывает сильную слабость, сухость во рту, мучительную головную боль, головокружение, шум в ушах, сжимающие боли в сердце. Характерные признаки отравления гликозидами – аритмии (суправентрикулярная, желудочковая) и нарушение атриовентрикулярной проводимости вплоть до полной атриовентрикулярной блокады. Вначале появляются брадикардия, замедление атриовентрикулярной проводимости. Позднее появляются желудочковые экстрасистолы, бигеминия, тригеминия, политопные желудочковые экстрасистолы, тахикардия, мерцание желудочков, остановка сердца.

Чилибуха (*Strychnos nux-vomica*) относится к роду стрихнос семейства логаниевых (*Loganiaceae*). Семена чилибухи – рвотные орешки являются основным источником ядовитых алкалоидов стрихнина (47 %) и бруцина (47 %). Растение распространено в Южной Азии, Африке и Северной Австралии.

Яд из растений рода *Strychnos* с давних времен используют для охоты на животных и для убийства людей в регионах, где оно

произрастает. Одним из этих ядов является кураре, кстати это понятие собирательное, включающее группу ядов, которую используют индейцы Амазонки и Ориноко для охоты и войны [6]. Самым сильным фармакологическим действием обладает тубокурарин (D-tubocurarine или тубарин). В настоящее время он применяется в хирургии в качестве миорелаксанта [6]. Человек, раненый стрелой, пропитанной тубокурарином, умирал в течение 5–10 мин. При этом в первую очередь у него наступало обездвиживание (переставали работать пальцы на ногах, руках и веки, парализовались лицевые мышцы, мышцы шеи, рук и ног) и нарушались зрение и слух. Смерть наступала от удушья. Во время агонии кожа приобретала характерный синюшный оттенок.

Смертельная доза стрихнина для взрослого человека – 0,03 г. Действие стрихнина связано с облегчением проведения возбуждения в межнейронных синапсах спинного мозга. По современным представлениям стрихнин блокирует действие аминокислотных нейромедиаторов, главным образом глицина, играющих роль тормозящих факторов в передаче возбуждения в постсинаптических нервных окончаниях в спинном мозге. Блокируя торможение, стрихнин оказывает таким образом «возбуждающий» эффект. Рефлекторные реакции становятся более генерализованными, при больших дозах стрихнина различные раздражители вызывают появление сильных болезненных тетанических судорог [6].

В некоторых видах стрихноса содержится индольный алкалоид бруцин. Он возбуждает ЦНС, вызывая судороги двигательной мускулатуры конечностей, шеи и лица. По фармакологическому действию бруцин напоминает стрихнин, но менее ядовит. Смертельная доза для человека при приеме внутрь составляет 0,1–0,3 г.

При введении яда чилибухи теплокровным животным они испытывают все более и более сильное беспокойство, делают в высшей степени чувствительными ко всякому стуку, прикосанию и т.д., внезапно впадают в мышечный столбняк. В этом случае голова запрокидывается назад, и туловище изгибается дугой кпереди благодаря столбняку как затылочных, так и спинных мышц. Приступы судорог повторяются периодически, прерываясь интервалами расслабления мышц. В одном из таких приступов животные погибают от удушья, наступающего из-за неподвижного положения судорожно сокращенной диафрагмы и грудной клетки, находящихся в фазе вдоха.

Сходная картина отравления чилибухой наблюдается у людей. При этом лицо в момент задержки дыхания в фазе вдоха делается багровым, глазные яблоки выпячиваются из орбит. Отравленные люди испытывают чувство ползания мурашек, болезненные подергивания, оцепенение, высокую чувствительность к свету, звуку, ощущение тяжести, боли, мышечного напряжения и страха как бы перед грозящим задушением, сопровождающимся сильным цианозом лица. Во время приступа судорог глазные яблоки неподвижны, зрачки расширены, шейные вены набухают, рот плотно сомкнут, и тело, согнутое дугою и опирающееся только на затылок и пятки, от времени до времени подбрасывается при усилении судорог [6]. В одном из таких приступов человек погибает. В интервалы, свободные от судорог, функции головного мозга не представляют никаких значительных расстройств ни в сфере чувствований, мышления и воли. Поэтому можно заключить, что действие стрихнина направлено не на головной, а на спинной мозг.

3.1.2. Характеристика отдельных токсинов растительного происхождения

Среди растительных ядов наиболее токсичными являются рицин, абрин, модессин, висукумин и волкензин [7, 8].

Рицин – является белком, продуцируемым касторовомасляничным растением *Ricinus communis* [9, 10]. Растение распространено в тропической Африке, но может встречаться в субтропических регионах и регионах с умеренным климатом. Оно относится к ядовитым растениям, содержащим рицин, наиболее высокий уровень которого находится в семенах. Семена содержат также послабляющее масло, основой которого является триглицерид рициномаслянной кислоты. С далеких времен семена используются в народной медицине против многих заболеваний [9].

Рицин ответственен за токсичность семян *Ricinus communis*. Рицин известен как яд в течение многих лет, обычно посредством случаев смерти домашнего скота. 1/3 семян может оказаться фатальной для детей; 2/4 может оказаться ядовитой для подростков и лиц молодого возраста, приводя тем самым к фатальному исходу. Летальная доза для человека составляет около 1 мкг/кг. Несмотря на алиментарный

путь попадания рицина в организм, много более эффективным в плане поражающего эффекта может оказать его парентеральное введение [11]. Токсически активная А-цепь рицина состоит из 267 аминокислотного глобулярного белка и классифицируется как N-гликозидаза. А-цепь является белком, содержащим 8 альфа-спиралей и 8 бета-листов. В-цепь состоит из 262 аминокислот и классифицируется как лектин. В-цепь обладает высокой аффинностью для связывания галактозидов и имеет два связывающих места для галактозидов, которые комплементарны к галактозо-содержащим гликопротеинам на клеточной поверхности. А- и В-цепи гликопротеинов связаны дисульфидной связью, локализованной на уровне 259 остатка А-цепи и 4 остатка В-цепи. Ричин является гликопротеином, обладающим карбогидратными цепями в форме маннозо богатых N-связанных олигосахаридов и частично связывается с маннозным рецептором клеток ретикулоэндотелиальной системы. Основными сайтами с потенциально высоко связывающей способностью относительно маннозных карбогидратных цепей располагаются в районе 10 и 236 остатков аспарагина А-цепи и 95 и 135 остатков аспарагина В-цепи [12].

Токсические эффекты рицина в основном сопряжены с действием А-цепи, которой инактивируются рибосомы клеток. При этом В-цепь связывается с галактозо-содержащими и/или маннозо-содержащими участками наружной мембраны клеток, способствуя тем самым протаскиванию А-цепи в клетки. Затем происходит отделение цепей друг от друга посредством разрушения дисульфидной связи. А-цепь попадает в цитоплазму, где попадает в аппарат Гольджи и транспортируется в эндоплазматический ретикулум. В эндоплазматическом ретикулуме происходит инактивация хромосом посредством элиминации аденина в специфической РНК последовательности из 28S рибосомальной субъединицы. Одна молекула А-цепи способна дезактивировать каждую рибосому, нарушить процессы белкового синтеза в клетках и тем самым привести к гибели клеток. Важно отметить, что токсин специфичен для эукариотических рибосом. Ричин не является нуклеотидно-последовательным – специфическим белком. Ричин представляет собой только токсин, реально существующий в природе в больших количествах. Он представляет собой биопродукт при производстве касторового масла, получить его достаточно просто [13, 14].

Учитывая вышеизложенное, ричин является весьма привлекательным биосубстратом для использования в биологической войне

или при планировании террористического акта. Впервые выделение рицина было осуществлено в Германии ученым Н. Stillmark в 1888 г. при выполнении своей докторской работы. Этой же группой ученых, возглавляемой пионером токсикологии R. Kobert, был также идентифицирован абрин в качестве токсического белка. Первоначальные эксперименты, в которых два очищенных белка были идентифицированы в крови, позволили их классифицировать как факторы агглютинации (как агглютинины), поскольку они индуцировали слипание эритроцитов и преципитацию сывороточных растворимых белков. Подобная агглютинация являлась причиной их токсичности, но более поздними работами Р. Ehrlich (1891) было показано, что это может и не быть причиной их токсичности. Ehrlich подтвердил, что токсины необязательно фиксировались в тканях и выдвинул гипотезу, что белок может иметь связывающую область, названную «гаптофор», а токсическая часть названа «токсофор». Когда кристаллическая структура обоих белков была выявлена, его гипотеза была подтверждена. Оба белка представляли собой гетеродимеры, состоящие из двух дисульфид-связывающих полипептидов, названных А-цепь и В-цепь, которые обладают различными функциями. Каталитическая А-цепь была по Эрлиху токсофором, а лектино-подобная В-цепь обладала всеми свойствами гаптофора [13, 15, 16].

Обращаясь к структуре, рибцин являет собой потенциальный ингибитор белкового синтеза на уровне метазоны развития клеточного цикла. Поскольку это ингибирование регистрировалось при применении рицина в концентрациях, которые были субстехиометрическими к количеству присутствующих рибосом, механизм токсичности был сопоставим с ферментативным в природе. Ферментативная активность проявляется на уровне 3' конце 28S рРНК в эукариотической рибосоме, нарушая тем самым прямую связь между функциональными и обособленными клеточными эффектами. Гликозидазный фермент нарушает гликозидную связь простых адениновых остатков в клетках обработанного токсином органа (А4324 в печени крыс). Это приводит к потере аденина, но не прямо нарушает РНК цепь. С другой стороны, РНК обладает чувствительностью к гидролизу и может повреждаться в результате клеточного лизиса [13, 17, 18].

Рицин может быть наработан в жидкой и твердой формах. Попасть в организм рибцин может посредством инъекций или через зараженную им пищу, воду, а также аэрогенным путем. Все пути заражения обычно

концентрируются на поражении желудочно-кишечного тракта, но от человека к человеку заражение не передается. Ризин является высокотоксичным, преимущественно, когда ингалируется, но он является менее активным в сравнении с другими токсинами. Токсические эффекты ризина наблюдаются потому, что он убивает клетки тела, с которыми он контактирует, когда попадает внутрь организма. При ингалировании адекватного количества ризина смерть персонала может наступить спустя 36–48 ч [1].

Ризин попадает в клетку посредством связывания с рецепторами клеточной мембраны. Под его влиянием ингибируется процесс синтеза белка на уровне рибосом. Ризин стабилен к воздействию факторов окружающей среды. Он может инактивироваться при температуре 80 °С в течение 10 мин или при температуре 50 °С в течение 1 ч, а также под влиянием хлорированных растворов [19].

Клинические проявления отравления ризином зависят от дозы и пути заражения. Симптомы ингаляционного поражения развиваются в течение 4–8 ч и характеризуются неспецифичностью, включая лихорадку, диспноэ, кашель, тошноту, диарею, артралгию. Исследования на животных, получивших отравления ризином посредством ингаляции, позволили выявить такие патофизиологические изменения, как некроз и отек легких, приведших к летальному исходу в течение 36–72 ч после отравления. Респираторные симптомы не встречаются при других путях поступления ризина в организм, хотя отек легких может развиваться в результате синдрома повышенной проницаемости капилляров. Внутримышечное введение ризина приводит к некрозу в месте введения и развитию региональной лимфаденопатии с минимальным задействованием внутренних органов. При попадании ризина в организм через желудочно-кишечный тракт клинические проявления поражения включают тошноту и рвоту, диарею, гипотензию, гематурию, почечную недостаточность. Более углубленное тестирование выявляет некроз интерстициальных эпителиальных клеток, геморагии, некроз печени, селезенки и почек. У некоторых пациентов развиваются галлюцинации и полиорганная недостаточность. Данные относительно анализов крови и мочи являются неспецифичными: повышенные уровни трансаминаз, лактатдегидрогеназы и билирубина, лейкоцитоз, метаболический ацидоз, гипогликемия или гипергликемия, повышение уровня креатинкиназы, а также протеинурия. Могут быть также изменения на электрокардиограмме [6, 7].

Отравление рицином через непосредственный контакт с кожей или слизистыми является нетипичным способом поражения данным токсикантом и может привести к развитию эритем и болевым ощущениям.

Клинические проявления ингаляционных отравлений рицином во многом схожи с несколькими респираторными заболеваниями в контексте индивидуальных особенностей конкретных индивидуумов и эпидемиологическими наблюдениями. Диагноз может быть поставлен иммунологическим обследованием клинических образцов, взятых со слизистой носа, с кожных покровов, или крови, а также при исследовании образцов окружающей среды. Серологические исследования хороши только для ретроспективного подтверждения случаев отравления. В отдельных случаях ДНК *Ricinus communis* может быть выявлена в продуктах, загрязненных рицином. В моче может быть определен уровень рицина в течение первых двух дней после отравления. Исследования последнего времени предполагают использование нанопор, содержащих короткие фрагменты молекул ДНК и РНК, именуемых аптаймерами, которые связывают молекулы рицина с высокой аффинностью и специфичностью. Это новый метод индикации рицина обладает большим потенциалом в плане диагностики и оценки эффективности терапии [1].

Перед попаданием в госпиталь пациентам, пораженным рицином, необходимо немедленно снять одежду и осуществить помывку мыльной водой. При попадании токсиканта в глаза или на веки необходимо осуществить промывание соответствующих мест водой. В условиях специализированного стационара лечение должно включать регидратацию, восстановление нормального электролитного баланса, а также искусственную вентиляцию легких, если это необходимо. Промывание желудка не эффективно, хотя может быть использовано в первые 60 мин после орального отравления рицином. Диализ не эффективен. Специфический антитоксин в настоящее время активно разрабатывается [5, 6].

Активная иммунизация, основанная на использовании анатоксина или мутированного токсина, разрабатывается. Одним из имеющихся препаратов является RiVax, представляющий собой дериват субъединичную А-цепь токсина, инактивированную посредством использования энзимов, обладающий остаточной токсичностью и представляющий собой голотоксин. В экспериментальных условиях

показано, что препарат обладает высокой эффективностью и безопасен для человека [20–24].

Абрин – представляет собой токсический растительный белок из растений *Abrus precatorius*, которые обитают в Юго-Восточной Азии, а также в настоящее время обнаруживаются в субтропических областях. Абриновый токсин состоит из двух субъединиц: ферментативной А-цепи (АТА) и лектино-активной В-цепи (АТВ). А-цепь представляет собой гликозидазу, которая удаляет адениновые остатки из 28S рРНК, в результате чего ингибируется белковый синтез и проявляется токсический эффект абрина. В-цепь абрина обладает способностью связываться с β -D-галактопиранозидными остатками на мембране эукариотических клеток, обеспечивая тем самым протаскивание А-цепи в клетку организма. Учитывая потенциальную летальность и отсутствие специфической терапии абрин следует рассматривать данный токсин как чрезвычайно опасный поражающий фактор особенно для тех персон, которые по роду деятельности могут с ним контактировать (научно-исследовательские работники, военнослужащие и др.) [2, 11].

Абриновый токсин проявляет существенную близость с рицином, особенно по структурной последовательности. Однако в исследованиях на мышцах показано, что ЛД₅₀ абрина составляет 0,04 мг/кг, что в 75 раз меньше, чем у рицина, то есть абрин более токсичен. Поскольку А-цепь в А-В структурных токсинах безоговорочно отвечает за токсичность и является иммунологически активной при попадании токсина в организм, поэтому различные варианты А-цепи можно рассматривать в качестве кандидатов при разработке вакцины. Применительно к абрину в качестве такого кандидата получен рекомбинантный мутант А-цепи абрина, который лишен токсичности посредством мутаций в двух положениях цепи (E164A R167L) [25]. Первоначальные исследования по разработке вакцины против абрина касались использования абринового анатоксина и датировались 1995 г. Более поздние исследования были посвящены разработке абриновой вакцины. В этих исследованиях были получены два фрагмента абрина (tATA1¹⁻¹²⁶, tATA4¹⁻¹⁸⁸), которые характеризовались высокой иммуногенностью и низкой токсичностью, причем было отмечено, что из этих двух фрагментов tATA4¹⁻¹⁸⁸ может стать явным кандидатом на разработку вакцины против интоксикации, индуцированной абриновым токсином. В нескольких исследованиях показано, что нейтрализующие антитела к А-цепи абрина могут защищать мы-

шей от летальных доз соответствующего токсина, а рекомбинантная вакцина на основе мутанта А-цепи токсина могла защитить мышей против $10 \times LD_{50}$ абрина. Рекомбинантная химерная вакцина, содержащая В-цепь абрина и рицина, защищала мышей против $4 \times LD_{50}$ каждого из токсинов. Исследования в данной области продолжаются, при этом, однако, приоритетность в этом плане отдается двум фрагментам абрина ($tATA1^{1-126}$, $tATA4^{1-188}$). К настоящему времени показано, что эти фрагменты активны в растворимой форме, они высоко иммуногенны и практически лишены токсичности, поскольку достаточно хорошо переносятся животными (мышьями) при применении в очень больших дозах (не менее 1 мг/мышья). Кроме того, нельзя не признать, что $tATA_4$ индуцировал более выраженную защиту в сравнении с $tATA_1$ у иммунизированных мышья [22, 25, 26].

В качестве агента биотерроризма абриновый токсин может быть использован в виде аэрозоля или при контаминации продуктов питания. Для проявления своего активного действия токсин должен первоначально вступить в контакт со слизистыми поверхностями тела организма. В связи с этим эффективность вакцинных кандидатов целесообразно изучать при их применении либо интраназально, либо внутрижелудочно, либо подкожно [27, 28]. Поэтому иммунизация $tATA_4$ проводилась тремя путями трехкратно (интраназально в виде инстилляций, внутрижелудочно или подкожными инъекциями), что способствовало повышению их протективных эффектов. После трех иммунизаций сывороточные титры мышья, которых иммунизировали различными способами варьировали. Титры антител для $tATA_4$ и $tATA_1$ после подкожного применения увеличивались после каждой последующей инъекции. Напротив, титры, которые регистрировали после каждой последующей интраназальной или внутрижелудочной инъекции препаратами, возрастали слабо. Эти результаты показывают, что $tATA_4$ примененный подкожно, может индуцировать высокие титры IgG в сыворотке мышья, чем $tATA_4$, который вводили интраназально и внутрижелудочно. Кроме того, теоретически, секреторные IgA могут выполнять важную протективную функцию при формировании местного иммунитета, но непосредственно выделить упомянутые иммуноглобулины из аспирационной жидкости, легких или содержимого кишечника. Более того, мышья, иммунизированные подкожно $tATA_4$, характеризовались лучшей защитой против отравления токсином в дозе $40 \times LD_{50}$, в то же время мышья других групп, которых иммунизировали этим же препаратом,

но другими способами, в большинстве своем погибали от отравления токсином в дозе $2 \times LD_{50}$. Полученные результаты свидетельствуют о том, что основной механизм защиты против абрина сопряжен с сывороточными антителами класса IgG, хотя антитела класса sIgA могут играть определенную роль в местной защите против абрина. Кроме того, в плане повышения иммуногенности определенную перспективу представляет включение адьюванта в иммунный препарат на основе А-цепи абрина [28, 29]. Рассматривается два возможных вида адьювантов – SPO1 и гидрат окиси алюминия.

При этом, если алюминиевый адьювант известен достаточно давно и является по сути дела первым адьювантом, использованным в препаратах для применения у человека, то SPO1 представляет собой водно-масляную эмульсию и относится к адьювантам нового поколения. Наиболее известно использование подобного адьюванта, основное действие которого распространяется на повышение активности Th1-клеток, в комбинации с гриппозными вакцинами. Вместе с тем более поздние исследования показали, что у иммунизированных животных (мышей) под влиянием адьюванта SPO1 выявлялись оба типа антител IgG1 и IgG2a, но титры IgG1 были значительно выше, чем IgG2a, что подтверждало доминирующую экспрессию Th2-опосредованного иммунного ответа. Th2-опосредуемый иммунный ответ ассоциируется с гуморальным иммунитетом и практически не участвует в клеточном иммунитете. Подобная ситуация имеет место и у животных, иммунизированных препаратами на основе алюминиевого адьюванта. Это показывает, что антиген в белковой форме и без адьюванта, может быть охарактеризован как доминирующий фактор, который способствует определенному типу иммунного ответа [23, 25, 28].

В целом к настоящему времени накоплен достаточно обширный экспериментальный материал, показывающий, что очищенный tATA₄ антиген является безопасным для мышей. Под его влиянием могут индуцироваться высокие титры антиабриновых антител, тем самым защищая мышей от отравления в дозе $40 \times LD_{50}$. Применение SPO1 в качестве адьюванта подтверждает перспективность использования tATA₄ в качестве потенциального вакцинного кандидата при разработке соответствующей вакцины.

Вискумин или лектин 1 из омелы белой (ML1), относящийся к рибосомо-инактивирующим протеинам, был идентифицирован в 1980-х годах в качестве основного фармакологически активного

ингредиента экстракта омелы белой (*Vascum album*), ответственно за токсичность этого растения. По токсичности вискумин сравним с рицином, а также схож с этим токсикантом и по механизму действия. Когда вискумин связывается со своей клеткой мишенью, синтез белка в этой клетке нарушается в результате его А-целочечной ферментативной активности, подобно рицину. В результате такого нарушения индуцируется клеточный стрессовый ответ, которым запускается цитокиновый ответ клеткой мишенью и высокие концентрации вискумина приводят к апоптозу клеток. В природе связь между А- и В-субъединицами – гидрофобная [8, 14].

Волкензин представляет собой лектин из *Adena volkensii* (килиамбитного растения), который сравним по токсичности с рицином и который обладает аналогичным с рицином механизмом поражающего действия. Растение относительно непривлекательное и выявляется преимущественно в Африке. Однако его обычно достаточно часто используют в исследовательских целях в неврологии, поскольку позволяет оценить транспортную способность отдельных нервов. В связи с этим данный токсин может представлять определенный интерес в плане его коммерческого производства [8, 14].

Модецин представляет собой лектин из растений *Adenia digitata*, произрастающее в основном в Африке, по токсичности и механизму действия близок к рицину. Растение какого-либо широкого применения в практике, например, при приготовлении пищи или в медицине, не нашло, а также в количественных характеристиках уступает абрину и в меньшей степени рицину. Токсин состоит из двух субъединиц, субъединицы А с молекулярным весом 26 тыс., которая ингибирует белковый синтез, и субъединицы В с молекулярным весом 31 тыс., которая связывается с клетками. Поражающая концентрация для ингибирования белкового синтеза в культуре ретикулоцитов – 0,31 мкг/мл [8, 14].

3.2. Токсические свойства грибов

3.2.1. Токсические свойства низших растений

В главе 1 была приведена классификация грибов С.В. Петровича [30]. Однако она не позволяет качественно классифицировать микотоксины по токсическому действию из-за того, что их насчитывается

огромное количество, они резко отличаются химическими структурами и биологическими эффектами. Наиболее известными на сегодняшний день биотоксинами грибковой природы являются микотоксины – ядовитые (токсические) вторичные метаболиты, продуцируемые многими видами грибов, именуемых в филогенетическом древе *Ascomycota*. При первоначальном обнаружении было высказано предположение относительно того, что микотоксины представляют собой естественные продукты, продуцируемые грибами, в виде токсического ответа, когда вводятся в низких концентрациях высшим позвоночным или другим животным, обитающим в природе. Некоторые микотоксины могут обладать дополнительными эффектами, проявляющимися в виде фитотоксической или антимикробной активности. В основном, по мнению многих ученых, микотоксины объединяют субстанции, которые именуются «грибные и дрожжевые яды» [31, 32].

Большинство грибов, вызывающих контаминацию пищи и других видов кормов микотоксинами, относятся к родам *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*. Все виды *Aspergillus* и *Penicillium* растут и размножаются в пище и кормах в обычных условиях, все виды *Fusarium species* достаточно часто инфицируют растения, такие как пшеница, ячмень и кукуруза непосредственно на полях и могут проникать в глубь этих растений. К настоящему времени порядка 300 микотоксинов идентифицировано и описано, однако только некоторые из них обладают способностью регулярно контаминировать пищу и корма животных, что в свою очередь может быть опасным для человека [33]. К их числу отнесены афлатоксины (АФ), охратоксины (ОТ), фумонизины, патулин, зеараленон (ЗЕА), а также трихотецены, включающие диоксиниваленон (ДОН) и Т-2 токсин. Опасность микотоксинов для человека заключается в их устойчивости к воздействию температурных, физических и химических факторов. Кроме того, вследствие контаминации пищи и особенно кормов, микотоксины могут вызывать опасность для человека вследствие их накопления в продуктах жизнедеятельности животных, которые предназначены для употребления их в пищу, а именно, молоке, мясе, яйцах и др. [34]. Более того, нельзя не отметить, что около 25 % мирового урожая зерновых ежегодно контаминирован микотоксинами, нанося тем самым значительный ущерб сельскому хозяйству стран мира. Среди микотоксинов афлатоксины являются наиболее токсичными. При этом нельзя не отметить, что в развитых странах (США, странах ЕС и др.) афла-

токсины наносят, преимущественно экономический ущерб сельскому хозяйству, в то время как в развивающихся странах Азии и Африки афлатоксины являются причиной сотен гепатоклеточных карцином ежегодно [35]. В табл. 3.1 представлены основные микотоксины, наиболее часто выделяемые из пищевых продуктов и кормов животных.

Афлатоксины представляют собой группу структурно близких, токсичных вторичных метаболитов, продуцируемых, преимущественно, *A. flavus* и *A. parasiticus*, которые в естественных условиях присутствуют в земле и различных органических материалах (рис. 3.1). Все штаммы *A. flavus* продуцируют только афлатоксин В1 (АФВ1) и афлатоксин В2 (АФВ2), штаммы *A. parasiticus* могут продуцировать АФВ1, АФВ2, G1 (АФГ1) и G2 (АФГ2). С того момента, когда афлатоксины выявлены в качестве этиологического фактора заболевания в виде турецкого синдрома X, приведшего к смерти более 100000 молодых турок в Великобритании в 1960 г., афлатоксины стали активно изучаться и стали наиболее исследованными среди микотоксинов. Первые сведения об афлатоксикозе людей были получены в Индии, где это отравление привело к летальному исходу более чем 100 человек [36, 37].

Афлатоксин-продуцирующие грибы достаточно хорошо растут в таких продуктах, как крупы (кукурузная, рисовая, ячменная, овес и сорго), молотых орехах, орехах, арахисе, миндале и хлопковых семенах. Молоко может быть также контаминировано афлатоксином М1 (АФМ1), который представляет собой гидроксिलированный-АФВ1 метаболит, биотрансформированный посредством микросомального цитохрома Р450 при кормлении коров пищей, контаминированной АФВ1 [38].

АФМ1 может быть определен в молоке спустя 12–24 ч после употребления в пищу корма, контаминированного АФВ1, а концентрация АФМ1 в молоке коррелирует с уровнем АФВ1 в употребленном в пищу корме. АФМ1 может быть также определен в некоторых продуктах переработки молока, например сыре, при этом его отличительными особенностями являются термостабильность, связывание с казеином и устойчивость к процессам сырообразования [37, 38].

Афлатоксины обладают карциногенностью, тератогенностью, гепатотоксичностью, мутагенностью и иммуносупрессивными эффектами с преимущественным поражением печени. Афлатоксины ассоциируются с острой токсичностью и хронической карциногенностью

Основные микотоксины и их минимально допустимые концентрации в пищевых продуктах и кормах животных (по данным нормативных документов США и стран ЕС) [34, 35]

Тип микотоксина	Вид гриба-продуцента	Перечень контаминированных продуктов	ПДК по данным США (мкг/кг)	ПДК по данным стран Европы (мкг/кг)
Афлатоксины В1, В2, G1, G2	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i>	Кукуруза, пшеница, рис, арахис, сорго, фисташки, миндаль, молотые орехи, орехи, инжир, хлопковое семя, специи	Для всех 20	2–12 для В1, 4–15 для остальных
Афлатоксин М1	Метаболит афлатоксина В1	Молоко, молочные продукты	0,5	0,05 для молока, 0,025 для молока и молочных продуктов для детей
Охратоксин А	<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus carbonarius</i>	Крупы, изюм и другие сухофрукты, вино, виноград, кофе, кокао, сыр	Нет данных	2–10
Фумонизины В1, В2, В3	<i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium proliferatum</i>	Кукуруза, продукты из кукурузы, сорго, спаржа	2000–4000	200–1000
Зеараленон	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium culmorum</i>	Крупы, продукты из круп, кукуруза, пшеница, ячмень	Нет данных	20–100
Деоксиниваленол	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium culmorum</i>	Крупы, продукты из круп	1000	200–500
Патулин	<i>Penicillium expansum</i>	Яблоки, яблочный сок, фруктовые концентраты	50	10–50

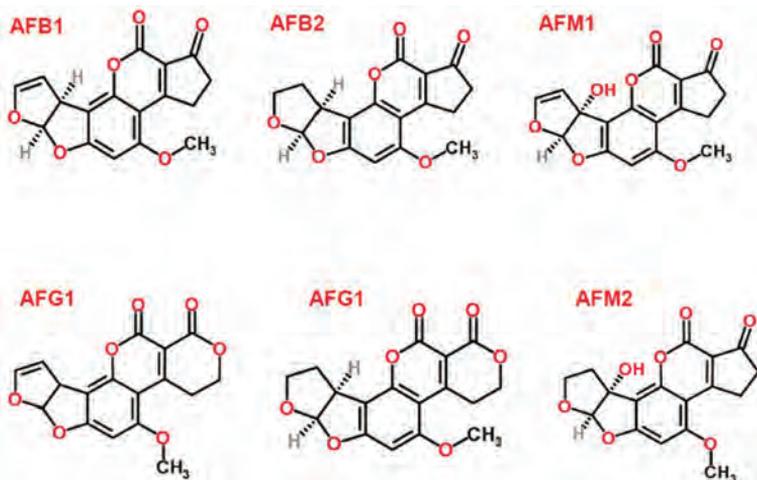


Рис. 3.1. Химическая структура известных афлатоксинов [34, 35]

применительно к людям и животным. Согласно действующим классификациям, АФВ1 относят к группе 1 канцерогенов, характеризуется высоким риском развития гепатоцеллюлярной карциномы у индивидуумов, контактирующих с данным токсином, в то же время АФМ1 отнесен к группе 2В (возможно канцерогенен для человека). Острый токсикоз афлатоксинами характерен для развитых стран, а также для развивающихся стран, в основном Африки, в то же время для большинства стран Азии и Африки характерен хронический карциногенез, что в целом составляет глобальную мировую проблему. Величина ЛД₅₀ находится в диапазоне 0,5–10 мг/кг массы тела применительно к различным видам животных. У человека острый афлатоксикоз характеризуется рвотой, болями в животе, отеком легких и головного мозга, комой, конвульсиями и летальным исходом. У животных имеют место симптомы дисфункции желудочно-кишечного тракта, снижение репродуктивной функции, снижение потребления корма, понижение продукции молока и яиц, а также анемия. Токсический эффект АФВ1 преимущественно обусловлен связыванием биоактивного АФВ1-8,9-эпоксида с клеточными макромолекулами, в частности с митохондриальными и ядерными нуклеиновыми кислотами и нуклеопротеинами, приводя тем самым к основным цитотоксическим

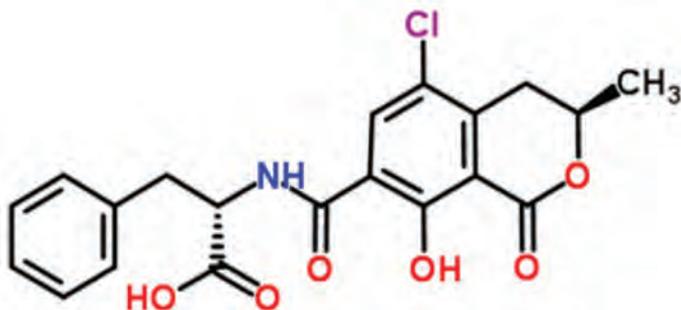


Рис. 3.2. Структура охратоксина А [33]

эффектам. Учитывая высокую способность контаминации продуктов питания и кормов животных в плане негативного влияния на здоровье населения и нанесение тем самым существенного экономического урона, наличие афлатоксинов постоянно контролируется санитарно-противоэпидемической службой [39, 40].

Открытые в 1965 г. в Южной Африке охратоксины представляют собой группу соединений, продуцируемых грибами видов *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium verrucosum*, а также другими видами *Penicillium*. Наиболее значимым токсином данной группы является охратоксин А (ОТА, рис. 3.2) [41–43].

Преимущественно *P. verrucosum* могут продуцировать ОТА в условиях прохладных температур, в то время как *A. ochraceus* преимущественно растут и размножаются в тропических регионах. Охратоксины обнаруживаются в большом количестве сельскохозяйственных объектов, включая кукурузу, ячмень, муку, кофе, рис, овес, рожь, зерно, зеленый горошек, а также присутствует в вине, соках и сухофруктах. Охратоксины могут также контаминировать продукты животного происхождения, такие как мясо и молоко, а также могут быть обнаружены в человеческом молоке. Среди всех потенциальных источников ОТА кофе и вино наиболее подвержены контаминации ОТА. Важно отметить, что ОТА проявляют высокую стабильность в кислой среде и могут быть толерантными к высоким температурам; следовательно, ОТА могут быть выявлены в крупах, пиве и кофе, в нормальных условиях их очень трудно удалить из упомянутых продуктов [42].

ОТА, согласно современным классификациям, относится к группе 2В (возможные канцерогены для человека), а также они являются возможной причиной, вызывающей балканскую эндемическую нефропатию (БЭН: хроническая тубулоинтерстициальная болезнь), которая распространена преимущественно в юго-восточных областях Европы. ОТА характеризуется как соединение, обладающее остро нефротоксическими и гепатотоксическими эффектами. Величина ЛД₅₀ ОТА при пероральном способе введения составляет от 3 до 20 мг/кг применительно к различным видам животных. Кроме того, ОТА обладают иммунотоксичностью, генотоксичностью, нейротоксичностью, тератогенностью и эмбриотоксичностью для человека и животных. ОТА являются жирорастворимыми токсинами, они преимущественно накапливаются в ткани животных, в основном свиней. Несмотря на структурную близость с эссенциальной аминокислотой фенилаланином, ОТА обладают фенилаланин гидроксилазной активностью в почках и печени, приводя к ингибированию белкового синтеза [43].

Зеараленон представляет собой макроциклический β-рессоциклический кислый лактон, продуцируемый различными видами рода *Fusarium*, в основном *F. graminearum* и *F. Semitectum* (ЗЕА, рис. 3.3). Имеет место их структурная близость с естественно встречаемыми эстрогенами, поэтому ЗЕА описаны в основном как эстрогенные микотоксины у человека и животных [44].

ЗЕА выявлен в кукурузе, ячмене, пшенице, ржи и соргуме. Кукуруза и пшеница в большинстве содержат токсин, произрастая в США и Канаде, в то время как большинство случаев контаминации ЗЕА относится к пшенице, ржи и овсу, произрастающим в странах Европы. Наиболее комфортными условиями продукции ЗЕА являются высокая влажность и низкая температура. Может иметь место контаминация

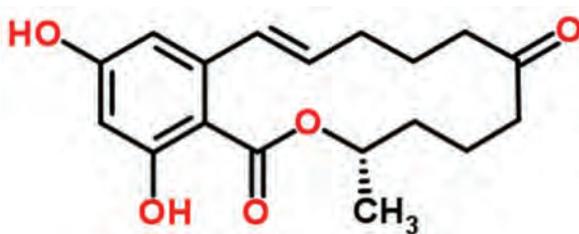


Рис. 3.3. Зеараленон [44]

ЗЕА в присутствии ДОН и в меньшей степени в присутствии афлатоксинов. ЗЕА обладают стабильностью при низких температурах и частично разрушается под влиянием высоких температур. Согласно современным классификациям, ЗЕА относится к группе 3 канцерогенов. В современных публикациях ЗЕА ассоциируется с его сильной эстрогенной активностью. ЗЕА связывается комплементарно с эстрогеновыми рецепторами (α и β) в исследованиях *in vitro* или *in vivo*, что показано на различных экспериментальных моделях, приводя тем самым к изменениям и повреждениям репродуктивной системы особей женского рода. ЗЕА и его производные действуют посредством высвобождения эстрадиола из его связи с утеринсвязывающим белком, вызывая тем самым эстрогеновый ответ. ЗЕА вызываются значительные изменения в репродуктивном тракте лабораторных и домашних животных. Под влиянием ЗЕА повышается эмбриолетальная резорбция и атрофия яичников у мышей, крыс, морских свинок, а также кроликов. У крупного рогатого скота в результате потребления большого количества пищи, загрязненной ЗЕА, может наступить резкое снижение продукции молока, а также наступить гиперэстрогенизм. Предельно допустимые концентрации ЗЕА до настоящего времени в США не определены, в то же время в европейских странах благодаря действующих НТД максимально допустимые уровни содержания ЗЕА в различных образцах пищи должны составлять 20–100 ppb [44, 45].

Фумонизины представляют собой группу нефлюоресцентных микотоксинов, которые описаны в 1988 г. Как показано на рис. 3.4, фумонизины представляют собой гидрофильные микотоксины, которые структурно отличаются от большинства других микотоксинов и могут полностью растворяться в органических растворителях [46].

Фумонизины продуцируются в основном *F. verticillioides*, которые были выделены из кукурузы, ассоциировавшейся с лейкоэнцефалопатией у лошадей в Южной Африке в 1970 г. Фумонизины также вызывают отек легких у свиней, потреблявших в пищу загрязненную кукурузу. Фумонизины продуцируются также *F. Proliferatum* [47]. В настоящее время выделено порядка 28 фумонизинов и они классифицированы в четыре группы (А, В, С и Р). Фумонизин В1 (ФВ1) наиболее известный представитель данной группы биотоксинов, составляет 70–80 % от общего количества семейства фумонизинов (рис. 3.4). ФВ1 преимущественно контаминировывает орехи. Фумонизины могут также встречаться в соргуме, кукурузе, пшенице,

документов ВОЗ, максимальная концентрация фумонизинов, ежедневно попадающая в организм, составляет 2 мкг/кг веса. В США рекомендуется максимальный уровень содержания фумонизинов в пище человека. Он должен составлять 2–4 ppm, например, в продуктах из кукурузы, и 5–100 ppm в различных кормах для животных. В странах Европы – максимальный уровень фумонизинов в продуктах питания, особенно не должен превышать 4 ppm в необработанных орехах и 1 ppm в орехах.

Трихотецены (ТСТС) были выявлены как причина алиментарной токсической алейкии в СССР в 1932 году. Около 150 ТСТС идентифицировано в настоящее время, но только несколько из них имеет важное значение для сельского хозяйства. ТСТС представляют собой наиболее химически неоднородную группу. Среди ТСТС, дезоксиниваленол (DON, рис. 3.5) является наиболее известным и хорошо изученным [48, 49].

ТСТС преимущественно продуцируются представителями грибов рода *Fusarium*. Однако виды *Acremonium* (*Cephalosporium*), *Cylindrocarpon*, *Dendrodochium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Trichothecium* и *Stachybotrys* также обладают способностью продуцировать ТСТС. Виды *Fusarium* обычно инфицируют и продуцируют ТСТС растения в полевых условиях. Экономически наиболее важными про-

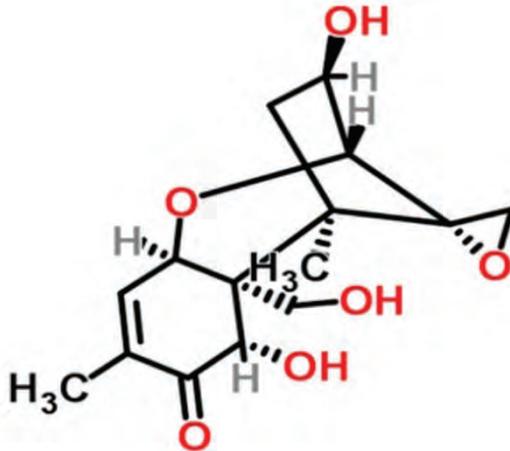


Рис. 3.5. Дезоксиниваленол [48]

дущими ТСТС являются *F. graminearum* и *F. culmorum*, которые вызывают заболевание, именуемое Fusarium Head Blight (FHB), представляющее собой деструктивное заболевание зерновых во многих частях мира. ТСТС преимущественно контаминируют зерна кукурузы, пшеницы, овса, риса, ржи. Они могут также присутствовать в соевых бобах, картофеле, бананах, а также обнаруживаются в некоторых продуктах, произведенных из орехов. DON представляет собой наиболее широко изученный микотоксин, продуцируемый *Fusarium*, контаминирующий сельскохозяйственные растения в Японии, Корее, Европе, Южной Африке и Австралии [141].

Согласно действующей классификации канцерогенов, DON относят к группе 3 потенциальных канцерогенов. При пероральном введении ЛД₅₀ DON составляет 46–78 мг/кг. При контакте человека с DON-контаминированными растениями у него развивается тошнота, рвота, боль в животе, боли в спине, лихорадка, дизурические расстройства. Основными симптомами интоксикации ТСТС у животных являются: снижение развития, низкая продукция молока у крупного рогатого скота, снижение продукции яиц, внутрикишечные геморрагии, а также супрессия иммунного ответа. ТСТС являются высоко токсичными веществами и могут легко проникать через липидный бислой клеточной мембраны, реагируя с ДНК, РНК и клеточными органеллами. Основным механизмом токсичности ТСТС заключается в ингибировании рибосомального белкового синтеза, что в дальнейшем вторично сказывается на ДНК и РНК синтезе. Допустимые концентрации DON в продуктах составляют для человека 1 ppm и 5 ~ 10 ppm для кормов для животных.

Патулин является полипептидным микотоксином, открытым в 1943 г. (рис. 3.6) [50].

Его продуцируют основные виды *Penicillium*, *Aspergillus* и *Byssoschlamys*, развивающиеся в овощах и фруктах, при этом *P. expansum* является основным грибом, продуцирующим данный токсин. Токсин преимущественно контаминирует яблоки, яблочный сок, а также продукты из яблок, другие фрукты. Патулин первоначально исследовался как потенциальный антибиотик, но дальнейшие исследования показали его токсичность для человека, включая тошноту, рвоту, конъюнктивит и геморрагию. При пероральном применении ЛД₅₀ для патулина находится в пределах 29–55 мг/кг веса тела. Хотя многими специалистами говорилось относительно возможной

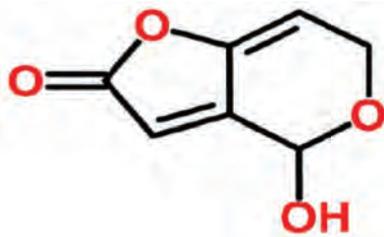


Рис. 3.6. Патулин [50]

канцерогенности патулина, его никогда не относили к группе 3 возможных канцерогенов. Согласно действующим нормативам, в США минимальная концентрация патулина в плане проявлений активности при контаминации пищи применительно к человеку составляет 50 ppb. В то же время, согласно европейским нормам, максимальный уровень в 50 ppb отмечен для фруктовых соков и фруктовых джемов, 25 ppb для твердых яблочных продуктов, 10 ppb – для соков и продуктов питания, предназначенных для новорожденных и детей.

Клиницисты классифицируют микотоксины в зависимости от клиники, преобладающей в развитии токсикоза и связанной с наиболее поражаемым органом (гепатоксины, нефротоксины, нейротоксины, иммунотоксины и т.д.). Биологи делят микотоксины на общие классы в зависимости от эффекта, оказываемого ими на наследственность позвоночных организмов: тератогены, мутагены, карциногены и др. Химики-органики классифицируют микотоксины по химической структуре (например, лактоны, кумарины и др.). Биохимики – в соответствии с биосинтетическим происхождением (поликетиды, производные аминокислот и т.д.). Микологи рассматривают микотоксины по продуцентам (например, токсины *Aspergillus*, токсины *Penicillium*). По этой причине мы не будем придерживаться какой-либо классификации микотоксинов [50].

Как уже было отмечено, в главе 1 большинство микотоксинов попадает в организм людей и животных путем всасывания из ЖКТ. После детоксикации их в печени продукты метаболизма выводятся с желчью в экскременты или через почки в мочу и затем удаляются из организма. Процесс биотрансформации микотоксинов в организме базируется на двух основных этапах – метаболизации и конъюгации. В процессе метаболизации микотоксины подвергаются воздействию

различными биохимическими реакциями – гидролизу, окислению и восстановлению. В результате метаболизации появляются новые функциональные группировки, являющиеся активными центрами конъюгации. В процессе конъюгации метаболиты микотоксинов соединяются с различными веществами (аминокислотами, кислотами – серной, глюкороновой др.), что блокирует функциональные группы -COOH и -OH и приводит к снижению токсичности [6].

Патогенез микотоксинов определяется действием продуктов метаболизма грибов, динамикой развития патологического процесса и патологоанатомическими изменениями в различных органах и тканях организма. Токсические продукты гриба, поступая в организм энтерально, вызывают первичные воспалительно-некротические изменения и создают благоприятные условия для проникновения элементов гриба в пораженные участки ЖКТ и далее в кровь [30]. В легкие элементы гриба могут попасть ингаляционным путем при вдыхании спор.

Микотоксины обладают местным и общим действием. Местное действие проявляется в воспалительно-некротических изменениях кожи губ, слизистой ротовой полости и других отделов пищеварительного тракта. Всасываясь в кровь и лимфу, токсичные метаболиты грибов разносятся по всему организму, что приводит к развитию геморрагического диатеза, патологических процессов в различных органах и тканях, расстройству нервной системы, нарушению деятельности пищеварительной и сердечно-сосудистой систем. В результате происходит нарушение обмена веществ, снижается общая резистентность организма. При этом проявляется угнетение клеточных и гуморальных факторов иммунитета.

Наряду с этим микотоксины приводят к поражению различных систем и органов организма. При стахиботриотоксикозе отмечаются изменения в деятельности нервной системы, резкие нарушения в картине крови, а также развиваются множественные некрозы.

При фузариотоксикозе в первую очередь поражается ЦНС, развиваются выраженный геморрагический диатез и гепатиты [46, 47]. При афлатоксикозе однократное массивное поступление микотоксинов в организм приводит к развитию острого токсикоза, а при многократном – развивается подострое и хроническое течение болезни с выраженными явлениями энтерогепатии [40]. Токсические продукты гриба могут вызывать развитие доброкачественных папилломатозных и фибринозных образований. Не исключается появление

и злокачественных опухолей. При афлатоксикозах отмечаются кровоизлияния и дегенерация эпителия в канальцах почек, некрозы и тромбы в печеночных сосудах, кровоизлияния и пневмонии, гиперплазия в лимфатических узлах [30].

При эрготизме токсины спорыньи воздействуют на гладкую мускулатуру, изменяют тонус сосудов, что приводит к цианозу и гангрене определенных участков тела. В мозговой ткани происходит переобразование стенок сосудов и дегенерация нервных клеток.

При клавицепстоксикозе токсические вещества спорыньи (*Claviceps purpurea*) поражают преимущественно ЦНС, что сопровождается тремором, судорогами, парезами и параличами.

Микотоксины из рода грибов *Penicillium* и *Aspergillus* клиника отравления совпадает с симптомами клавицепстоксикоза – тремор тела, атаксия и мышечная ригидность. В механизме действия треморогенов важное значение имеет их прямое воздействие на подкорковые центры, что приводит к нарушению освобождения нейротрансмиттеров в синапсах, снижению концентрации γ -аминомасляной кислоты в нейронах головного мозга. Необходимо напомнить, что треморогены подразделяются на пенитремы, фумитреморгены-веррукулоген, пасапин, триптоклавин.

Клинические проявления болезни при микотоксикозах зависят от количества токсина, попавшего в организм. В развитии отравления словно выделяют четыре стадии: первая связана непосредственно с воздействием микотоксина; вторая стадия связана с изменениями реактивности организма и воздействием вторичных токсичных метаболитов, обусловленных некрозом тканей; третья стадия усугубляется присоединившейся вторичной бактериальной инфекцией; четвертая стадия заканчивается выздоровлением, если в организм попали несмертельные дозы микотоксинов и при своевременно начатой рациональной терапией.

3.2.2. Клиническая картина отравлений грибами-макромицетами

В главе 1 мы отмечали, что под макромицетами население понимает шляпочные грибы. Нас интересуют, прежде всего, плодовое тело гриба – шляпка и ножка гриба. Их образуют переплетенные гифы.

Шляпка содержит органы, которые производят споры – носители наследственности грибов. Основной из них гименофор расположен с нижней стороны шляпки. В зависимости от строения гименофора грибы-макромицеты делят на трубчатые и пластинчатые [31, 32].

Токсическое воздействие ядовитых грибов на внутренние органы обусловлено либо прямым повреждающим эффектом, либо через цикл метаболических превращений. Различие химической структуры токсинов грибов определяет их специфический тропизм к отдельным органам и системам организма.

Так, *аманитотоксины*, формирующие так называемый фаллоидиновый синдром, после резорбции в кишечнике, свободно циркулируют в крови, не связываясь с альбуминами. Они обладают высокой афинностью к ферменту РНК-полимеразе II. Попадая в клетку, аманит связывает этот фермент, блокируя его работу, что приводит к прекращению синтеза белков и к лизису клетки. В человеческом организме при отравлении больше всего страдают энтероциты, клетки печени и почек. При высокой концентрации аманитотоксинов в кишечнике отмечается длительная циркуляция токсинов по следующему маршруту: кишечник – гепатоциты – желчь – кишечник. Поражение слизистой пищеварительного тракта – следствие как минимум двух причин [63]:

всосавшиеся аманиты нарушают внутриклеточные обменные процессы, разрушают энтероциты, что проявляется распространенными некрозами слизистой кишечника;

оказывая выраженное губительное воздействие на сапрофитную флору кишечника, аманиты создают условия для интенсивного роста патогенной микрофлоры, которая, проникая в глубокие слои слизистой, разрушает ее.

Оба фактора участвуют в патогенезе развития синдрома острого гастроэнтерита. Поврежденная слизистая кишечника утрачивает барьерную функцию в отношении выделяемого бактериями токсина. Возникшая бактериальная токсемия оказывает разрушительное влияние на функциональное состояние печени, уже подвергшейся разрушительному действию грибного токсина.

На другие органы и системы аминотоксины оказывают менее выраженное влияние. Изменения в почках носят функциональный характер и возникают на раннем этапе вследствие водно-электролитных и гемодинамических расстройств, а в позднем периоде как результат

тяжелых изменений в печени и развиваются по типу гепаторенального синдрома [31].

Изменения в сердце и поджелудочной железе являются вторичными, их развитие обусловлено нарушениями гомеостаза, агрегатного состояния крови, диссеминированным внутрисосудистым свертыванием крови (ДВС-синдром) и эндогенной интоксикацией. Такие проявления поражения ЦНС, как психомоторное возбуждение, делирий, эйфория и обнубуляция, не имеют четких доказательств прямого токсического воздействия грибного токсина на клетки головного мозга. Развитие астении и сосудистой коллапс напрямую связаны с повреждением аманитами коры надпочечников [32].

Все фаллоидины разрушаются в кислой среде. На основании этого считается, что при пероральном употреблении бледной поганки и мухомора весеннего все фаллоидины, обладающие токсическими свойствами в эксперименте, подвергаются разрушению в кислой среде желудка, и поэтому они не являются токсичными для человека. Однако смерть человека может наступить при внутривенном введении токсина. В опытах на экспериментальных животных показано, что под действием фаллоидинов отмечается сморщивание мембраны гепатоцитов и повреждение лизосом. Нарушения электролитного состава характеризовались утратой внутриклеточного калия и натрия.

Фаллин (фаллолизин) и *Виртоксин* по химической структуре и токсическому воздействию близки к фаллоидинам.

В клиническом течении отравления при фаллоидиновом синдроме выделяют пять периодов развития болезни: латентный; период острого гастроэнтерита; период мнимого благополучия; период острой печеночной, печеночно-почечной недостаточности; период выздоровления. Продолжительность латентного периода составляет 6–9 ч и может в редких случаях продолжаться до 36 ч. Сроки до появления первых симптомов отравления определялись не только количеством поступившего в организм яда, но и его концентрацией в одновременно принятой пищевой массе, а также ее составляющими компонентами. Отравлению сопутствовали гастрит, энтероколит, холецистит, панкреатит, которые не определялись воздействием грибного токсина, а являлись следствием неспецифического влияния грибной клетчатки на нездоровые органы пищеварения. Латентный период завершался общеклиническими проявлениями – общей слабостью, недомоганием и разбитостью.

В период острого гастроэнтерита могут преобладать симптомы поражения. Это проявляется тошнотой, внезапной обильной рвотой, она приобретает неукротимый и мучительный для отравленного характер. В отсутствие пищевых масс содержимым становятся желчь, секрет слизистой желудка и 12-перстной кишки. При нарастающих спастических болях в животе развивается диарея, в тяжелых случаях отравления носящая холероподобный характер. Частота стула может достигать 20–25 раз в сутки. Испражнения водянистые, со слизью и примесью крови. В организме происходят значительные нарушения водного баланса, что сопровождается сухостью во рту, жаждой. Отравленные отмечают слабость, головную боль, головокружение. Прием жидкости усиливает рвоту, развивается олигурия. В крови отмечается метаболический ацидоз, гипонатриемия, гипокалиемия, гипохлоремия. Пациенты отмечают нарастание общей и мышечной слабости. Функциональная почечная недостаточность проявляется умеренной азотемией. У отравленных регистрируются гипотония и тахикардия. В случае тяжелого отравления бледной поганкой поражение ЖКТ приводило к жизнеугрожающему нарушению сердечно-сосудистой деятельности. Продолжительность периода может составлять 2–6 сут.

В период мнимого благополучия у отравленного прекращаются мучительные боли в животе, тенезмы, тошнота и рвота. Этот период может расцениваться врачами как тенденция к выздоровлению, но спустя некоторое время (от нескольких часов до 2 сут) состояние отравившегося ядом бледной поганкой вновь ухудшается. В тяжелых случаях болезнь переходит в период острой печеночной, печеночно-почечной недостаточности. При этом степень нарушения может достигать до развития жизнеугрожающих симптомов. Клинические проявления в виде гепатомегалии, желтухи, ДВС-синдрома и др. отмечаются спустя трое суток после появления первых клинических симптомов отравления.

При вскрытии умерших от отравления бледной поганкой выявляются кровоизлияния слизистых, грубые изменения в печени, почках и тонком кишечнике [31].

Гиромитриновый синдром вызывается токсическим веществом – гиромитрином, который при попадании в организм человека образует ряд агрессивных соединений. В кислой среде в результате отщепления уксусного альдегида этилиден-гиромитрин превращается в токсическое соединение – метил-М-формилгидразин (МФГ).

3.3. Основные методы выявления микотоксинов в пищевых продуктах

Хроматографические методы являются наиболее используемыми методами для анализа продуктов питания и кормов на наличие микотоксинов [51–54]. Наиболее ранним хроматографическим методом является тонкослойная хроматография (ТСХ), которая преимущественно используется для быстрого скрининга при определении микотоксинов с применением визуальной оценки или инструментальной денситометрии [55]. Однако в современных условиях анализ микотоксинов в пище преимущественно фокусируется на применении экспрессного, легкого в постановке и надежного метода на основе чиповых технологий, который способен выявить и количественно охарактеризовать различные микотоксины с высокой степенью чувствительности и избирательности в одной пробе. В настоящее время разрабатываются многие хроматографические методы. К ним относятся высокопроизводительная жидкая хроматография в сочетании с ультрафиолетовыми, диодно матричными, флуоресцентными или масс-спектрометрическими детекторами. Кроме того, газовая хроматография в сочетании с детекторами на основе захвата электронов, ионизации пламени или масс-спектрометрии используются для идентификации и количественного определения как трихотеценовых микотоксинов и патулина [56, 57].

Иммунохимические методы. Среди всех известных на сегодняшний день иммунологических методов иммуноферментный анализ является наиболее востребованным для выявления микотоксинов. ИФА позволяет осуществить быстрый скрининг, а имеющиеся к настоящему времени ИФА-тест-системы предназначены для определения и количественной оценки всех основных микотоксинов, включая афлатоксины, АФМ1, ОТА, ЗЕА, DON, фумонизины, а также Т-2 токсин. ИФА методы используются для исследования широкого круга продуктов. Все ИФА системы могут быть направлены на выявление токсинов несколькими путями: прямое определение, относительное прямое определение, а также непрямое определение. При этом наиболее часто используется относительное прямое определение. Принцип выявления микотоксинов с помощью ИФА основан на относительном взаимодействии микотоксинов (действуют как антиген) с соответ-

ствующими антителами, меченными токсин-ферментным конъюгатом в местах связывания. Количество антител-связывающего токсин-ферментного конъюгата будет определять степень свечения. Эта техника позволяет быстро, специфично и относительно легко выявить микотоксины в пище. Однако ИФА в зависимости от оцениваемого образца может характеризоваться перекрестными реакциями. Кроме того, тест-система ИФА позволяет выявить только один микотоксин и предназначена для одноразового применения, следовательно, при проведении анализа необходимо иметь несколько различных тест-систем для осуществления мультиплексного определения. Более того, каждая тест-система имеет своего производителя. Наиболее целесообразно использовать в качестве дублирующего тест хроматомасс-спектрометрию [58–62].

Экспресс-методы. Экспресс-диагностические тест-системы такие как тест-полоски на беременность и тест-полоски на определение сахара в крови в течение многих лет применяются в медицинской практике. В последнее десятилетие проявляется большой интерес к разработке экспресс-тест-полосок для определения основных пищевых контаминантов, таких как возбудителей пищевых токсикоинфекций, остатков лекарств в ветеринарной продукции, пестицидов, аллергенов и микотоксинов [63–65]. Эти тест-методы должны обладать способностью быть использованными вне лаборатории в местах непосредственного проведения анализа. Они позволят получить результаты в максимально короткие сроки с помощью простых манипуляций и без использования специальных диагностических приборов и считывающих устройств [66–70]. В отличие от ИФА определений производятся многие полоски для визуального иммуноопределения микотоксинов [71]. Например, LFD-тест разрабатывался как простой степ-тест, который включал отрицательную контрольную линию и простые линии на той же полоске, соответствующие конкретному определяемому объекту. Латеральный цветной тест может позволить проводить полуколичественное определение наличия конкретного микотоксина в течение менее 10 мин и не требует для этого специального оборудования. Тест-система представляет собой три части: конъюгатная поверхность, поровую мембрану и абсорбирующую поверхность. Тест основан на относительном иммуноопределении, где меченные антитела используются в качестве сигнального реагента. В настоящее время эта тест-система соединена со спектрофотометрическим

ридером для получения количественных результатов. В настоящее время LFD-тест системы разработаны и используются для определения афлатоксинов, DON, T-2 токсина, ОТА и ЗЕА. Однако их применение в полевых условиях ограничивается многочисленными проблемами, связанными с чувствительностью и отсутствием различных матриц в дополнение к основному для мультиплексного определения нескольких микотоксинов [72–74].

В дополнение к вышеописанным методам выявления микотоксинов для проведения подобного анализа используется еще ряд методов. Однако эти методы ограничены в применении и не имеют широкого использования во вне исследовательской деятельности, поскольку требуют верификации и валидации, а также не включены в действующие нормативные документы по выявлению микотоксинов [75–78].

Инфракрасная спектроскопия. Оптические методы инкорпорантного инфракрасного анализа используются в сочетании с принципиальным компонентным анализом для скрининга и количественного выявления микотоксинов без их предварительного препарирования из исследуемых образцов. В основном такой подход используется для определения DON контаминации пшеницы. В последнее время аналогичный подход стал использоваться для выявления DON и АФВ1 в орехах, пшенице и образцах ржи. Достижениями этих методов являются простота постановки, отсутствие использования химических реагентов, простая подготовка или экстракция и быстрое получение результатов. Однако в дальнейших исследованиях показана необходимость разработки спектроскопии для выявления различных микотоксинов [78].

Капиллярный электрофорез. Капиллярный электрофорез (КЭ) представляет собой инструментальный метод, посредством которого происходит разделение различных компонентов. Он основан на электрохимическом потенциале, использующим флюоресценцию или УФО абсорбцию. Определенными достижениями этой технологии являются малые количества растворов и буфера, а также способность работы с малыми объемами исследуемой пробы. Количество микотоксинов, таких как афлатоксины, DON, фумонизины, ОТА и ЗЕА, можно выделить используя КЭ. Однако этот метод недостаточно чувствителен, поскольку в результате его применения может быть протестировано только небольшое количество соответствующего объекта. КЭ соединен с лазерной флюоресценцией, что способствует повышению

чувствительности анализа в отношении ФВ1, афлатоксинов и ОТА в орехах, зернах кофе и соргуме. В настоящее время КЭ в сочетании с циклодекстрин-повышающей флюоресценцией используется для анализа ЗЕА в орехах с минимальной чувствительностью 5 нг/г [68].

Биосенсоры. Биосенсоры получили значительное развитие в последние годы в качестве экспрессных подходов для количественного выявления микотоксинов в продуктах питания. Биосенсор представляет собой встроенный биологический элемент (т.е. антитело), который осуществляет биораспознавание и физико-химический элемент, который передает распознанный объект в виде электрохимического, оптического, пьезоэлектрического или температурного сигнала. Различные варианты биосенсоров разрабатываются для выявления микотоксинов, такие как поверхностный плазморезонанс, фибро-оптические пробы, а также воздушные биосенсоры. Поверхностные плазменные биосенсоры используются для быстрого скрининга АФВ1, ЗЕА, ОТА, ФВ1 и DON в естественных контаминированных объектах. Одно из достижений биосенсоров – их потенциальная возможность для рециклического использования, что дает им преимущества перед ИФА исследованиями и другими экспрессными скрининговыми методами в виде тест-полосок. Поверхностный плазменный биосенсорный чип с иммобилизованным DON может быть реиспользован 500 раз без значительного снижения активности [70, 76].

Флюоресцентная поляризация (ФП) представляет собой метод, широко используемый в клинике для диагностики отдельных заболеваний и мониторинга уровня лекарственных средств в биологических жидкостях организма. В настоящее время эта техника адаптирована для определения микотоксинов. ФП является простым методом, который позволяет измерить взаимосвязь между флюоресцентно меченым антигеном и специфическим антителом. Эта техника позволяет косвенно измерить соотношение флюорофора в растворе. ФП может выявлять низкомолекулярные соединения в растворе без проведения этапа выделения токсина. ФП используется для экспресс-определения афлатоксинов, ОТА, DON, фумонизинов и ЗЕА. Однако метод имеет ограничения по чувствительности, что обусловлено наличием перекрестным реагированием антител с другими грибковыми метаболитами и, возможно, с компонентами пищи [79, 80].

Литература

1. *Paddle B.M.* Therapy and prophylaxis of inhaled biological toxins / B.M. Paddle // *J. Appl Toxicol.* – 2003. – V. 23 (3). – P. 39–170.
2. *Poli M.A.* Ricin. In: Dembek ZF, editor / M.A. Poli, C. Roy, K.D. Huebner et al. // *Medical aspects of biological warfare.* – Washington DC: Office of the Surgeon General, 2007. – P. 323–335.
3. *Greenfield R.A.* Microbiological, biological, and chemical weapons of warfare and terrorism / R.A. Greenfield, B.R. Brown, J.B. Hutchins et al. // *J. Med Sci.* – 2002 – V. 323. – P. 326–340.
4. *Гусынин И.А.* Токсикология ядовитых растений / И.А. Гусынин. – М., 1962.
5. *Куценко С.А.* Основы токсикологии / С.А. Куценко. – СПб., 2004. – 670 с.
6. *Супотницкий М.В.* Биологическая война: введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов и биологических поражений / М.В. Супотницкий. – М.: Русская панорама: Кафедра, 2013. – 1135 с.
7. *Mayor S.* UK doctors warned after ricin poison found in police raid / S. Mayor // *BMJ.* – 2003. – V. 326 (7381). – P. 126.
8. *Sandvig K.* Protein toxins from plants and bacteria: probes for intracellular transport and tools in medicine / K. Sandvig, M.L. Torgersen, N. Engedal // *FEBS Lett.* – 2010. – V. 584. – P. 2626–2634.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Facts about ricin. / [Electronic resource] BUpdated May 9, 2013. URL: <http://emergency.cdc.gov/agent/ricin/facts.asp>. (accessed 2 Jan. 2016).
10. *Bradberry S.M.* Ricin poisoning / S.M. Bradberry, K.J. Dickens, P. Rice // *Toxicol Rev.* – 2003. – V. 22. – P. 65–70.
11. *Moran-Gilad J.* Ricin and abrin as potential bio-terror agents [Hebrew] / J. Moran-Gilad, L. Tusk-Helerman, I. Fogel et al. // *J. Isr. Millitry Med.* – 2010. – № 7. – P. 124–126.
12. *Gu L.Q.* Aptamer-encoded nanoporefor ultrasensitive detection of bioterrorist agent ricin at single-molecule resolution / L.Q. Gu, S. Ding, C. Gao // *Conf. Proc. IEEE Eng. – Med. Biol. Soc.*, 2009. – P. 6699–6702.
13. *Lord J.M.* Ricin trafficking in plant and mammalian cells / J.M. Lord, R.A. Spooner // *Toxins (Basel).* – 2011. – № 3. – P. 787–801.
14. *Sandvig K.* Protein toxins: mode of action and cell entry/ K. Sandvig, E. Dubinina, O. Garred et al. // *Biochem. Soc. Trans.* – 1992. – V. 20. – P.724–727.

15. *Gupta R.C.* Handbook of toxicology of chemical warfare agents. – Boston: Academic Press, 2009. – V. 37. – P. 4484–4485.
16. *Schep L.J.* Ricin as a weapon of mass terror-separating fact from fiction / L.J. Schep, W.A. Temple, G.A. Butt // *Environ. Int.* – 2009. – V. 35. – P. 1267–1271.
17. *Vago R.* Saporin and ricin A chain follow different intracellular routes to enter the cytosol of intoxicated cells / R. Vago, C.J. Marsden, J.M. Lord et al. // *FEBS J.* – 2005. – V. 272. – P. 4983–4995.
18. *Griffiths G.D.* Understanding ricin from a defensive viewpoint / G.D. Griffiths // *Toxins (Basel)*. – 2011. – № 3. – P. 1373–1392.
19. *Marintchev A.* Roles of helicases in translation initiation: a mechanistic view A. Marintchev / A. Marintchev // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2013. – V. 1829. – P. 799–809.
20. *O'Hara J.M.* Comparative efficacy of two leading candidate ricin toxin a subunit vaccines in mice / J.M. O'Hara, R.N. Brey, N.J. Mantis // *Clin. Vaccine Immunol.* – 2013. – № 20. – P. 789–794.
21. *Vitetta E.S.* A pilot clinical trial of a recombinant ricin vaccine in normal humans / E.S. Vitetta, J.E. Smallshaw, E. Coleman // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2006. – V. 103. – P. 2268–2273.
22. *Han Y.H.* A recombinant mutant abrin A chain expressed in *Escherichia coli* can be used as an effective vaccine candidate / Y.H. Han, S. Gao, W.W. Xin // *Hum. Vaccin.* – 2011. – № 7. – P. 838–844.
23. *Smallshaw J.E.* Preclinical toxicity and efficacy testing of RiVax, a recombinant protein vaccine against ricin / J.E. Smallshaw, J.A. Richardson, S. Pincus et al. // *Vaccine.* – 2005. – № 23. – P. 4775–4784.
24. *Marsden C.J.* Ricin: current understanding and prospects for an antiricin vaccine / C.J. Marsden, D.C. Smith, L.M. Roberts // *Expert Rev. Vaccines.* – 2005. – № 4. – P. 229–237.
25. *Wang J.* A recombinant chimeric protein containing B chains of ricin and abrin is an effective vaccine candidate / J. Wang, S. Gao, T. Zhang et al. // *Hum. Vaccin Immunother.* – 2014. – № 10. – P. 10.
26. *Surendranath K.* A neutralizing antibody to the a chain of abrin inhibits abrin toxicity both in vitro and in vivo / K. Surendranath, A.A. Karande // *Clin. Vaccine Immunol.* – 2008. – № 15. – P. 737–743.
27. *Bagaria S.* Mechanistic insights into the neutralization of cytotoxic abrin by the monoclonal antibody D6F10 / S. Bagaria, D. Ponnalagu, S. Bisht // *PLoS One.* – 2013. – № 8. – P. 702–773.
28. *Yu S.* Novel Th1-biased adjuvant, SPO1, enhances mucosal and systemic immunogenicity of vaccines administered intranasally in mice / S. Yu, C. Tang, X. Shi et al. // *Vaccine.* – 2012. – № 30. – P. 5425–5436.

29. *Uren T.K.* Vaccine-induced protection against gastrointestinal bacterial infections in the absence of secretory antibodies / T.K. Uren, O.L. Wijburg, C. Simmons et al. // *Eur J. Immunol.* – 2005. – № 35. – P. 180–188.
30. *Петрович С.В.* Микотоксикозы животных / С.В. Петрович. – М., 1991.
31. *Мусселиус С.Г.* Отравление грибами / С.Г. Мусселиус, А.А. Рык. – М., 2002.
32. *Орлов Б.Н.* Ядовитые животные и растения СССР / Б.Н. Орлов, Д.Б. Гелашвили, А. К. Ибрагимов. – М., 1990.
33. *Marin S.* Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food Chem / S. Marin, A.J. Ramos, G. Cano-Sancho // Toxicol.* – 2013. – V. 60. – P. 218–237.
34. *Boevre M.* Natural occurrence of mycotoxins and their masked forms in food and feed products / M. Boevre, J.D. Mavungu, S. Landshchoot et al. // *World Mycotoxin J.* – 2012. – № 5. – P. 207–219.
35. *Pereira V.L.* Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis / V.L. Pereira, J.O. Fernandes, S.C. Cunha et al. // *Trends Food Sci. Technol.* – 2014. – V. 36. – P. 96–136.
36. *Richard J.L.* Some major mycotoxins and their mycotoxicoses. An overview / J.L. Richard // *Int. J. Food Microbiol.* – 2007. – V. 119. – P. 3–10.
37. *Stoev S.D.* Food safety and increasing hazard of mycotoxin occurrence in foods and feeds / S.D. Stoev // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2013. – V. 53. – P. 887–901.
38. *Mitchell N.J.* Potential economic losses to the US corn industry from aflatoxin contamination / N.J. Mitchell, E. Bowers, C. Hurburgh // *Food Addit. Contam. Part A.* – 2016. – V. 33. – P. 540–550.
39. *Ostry V.* Mycotoxins as human carcinogens-the IARC Monographs classification / V. Ostry, F. Malir, J. Toman et al. // *Mycotoxin Res.* – 2017. – V. 33. – P. 65–73.
40. *Liu Y.* Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: A risk assessment / Y. Liu, F. Wu // *Environ. Health Prospect.* – 2010. – V. 118. – P. 818–824.
41. *Moretti A.* Mycotoxins: An underhand food problem / A. Moretti, A.F. Logrieco, A. Susca // *Methods Mol. Biol.* – 2017. – V. 1542. – P. 3–12.
42. *Duarte S.C.* A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products / S.C. Duarte, A. Pena, C.M. Lino // *Food Microbiol.* – 2010. – V. 27. – P. 187–198.
43. *Heussner A.H.* Comparative Ochratoxin Toxicity: A Review of the Available Data / A.H. Heussner, L.E. Bingle // *Toxins.* – 2015. – № 7. – P. 4253–4282.

44. *Kowalska K.* Zearalenone as an endocrine disruptor in humans / K. Kowalska, D.E. Habrowska-Górczyńska, A.W. Piastowska-Ciesielska // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2016. – V. 48. – P. 141–149.
45. *Reddy K.R.N.* An overview of plant-derived products on control of mycotoxigenic fungi and mycotoxins / K.R.N. Reddy, S.B. Nurdijati, B. Salleh // *Asian J. Plant Sci.* – 2010. – № 9. – P. 126–133.
46. *Li F.* Fumonisin B1, B2 and B3 in corn products, wheat flour and corn oil marketed in Shandong province of China / F. Li, D. Jiang, F. Zheng et al. // *Food Addit. Contam. Part B.* – 2015. – № 8. – P. 169–174.
47. *Mazzoni E.* Field control of Fusarium ear rot, *Ostrinia nubilalis* (Hübner), and fumonisins in maize kernels / E. Mazzoni, A. Scandolaro, P. Giorni // *Pest Manag. Sci.* – 2011. – V. 67. – P. 458–465.
48. *Sobrova P.* Deoxynivalenol and its toxicity. Interdiscip / P. Sobrova, V. Adam, A. Vasatkova et al. // *Toxicol.* – 2010. – № 3. – P. 94–99.
49. *Yang J.* Natural occurrence, analysis, and prevention of mycotoxins in fruits and their processed products / J. Yang, J. Li, Y. Jiang et al. // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2014. – V. 54. – P. 64–83.
50. *Puel O.* Biosynthesis and toxicological effects of patulin / O. Puel, P. Galtier, I.P. Oswald // *Toxins.* – 2010. – № 2. – P. 613–631.
51. *Turner N.W.* Analytical methods for determination of mycotoxins: An update (2009–2014) / N.W. Turner, H. Bramhmbhatt, M. Szabo-Vezse // *Anal. Chim. Acta.* – 2015. – V. 901. – P. 12–33.
52. *Yazdanpanah H.* Mycotoxins: Analytical challenges / H. Yazdanpanah // *Iran. J. Pharm. Res.* – 2011. – № 10. – P. 653–654.
53. *Shephard G.S.* Current Status of Mycotoxin Analysis: A Critical Review / G.S. Shephard // *J. AOAC Int.* – 2016. – V. 99. – P. 842–848.
54. *Stroka J.* Challenges in the analysis of multiple mycotoxins / J. Stroka, C.M. Maragos // *World Mycotoxin J.* – 2016. – № 9. – P. 847–861.
55. *Van Emon J.M.* Bioanalytical methods for food contaminant analysis / J.M. Van Emon // *J. AOAC Int.* – 2010. – V. 93. – P. 1681–1691.
56. *Ridgway K.* Sample preparation for food contaminant analysis / K. Ridgway, R. Scientific // *LC GC Eur.* – 2012. – V. 25. – P. 1–8.
57. *Maragos C.M., Busman M.* Rapid and advanced tools for mycotoxin analysis: A review / C.M. Maragos, M. Busman // *Food Addit. Contam. Part A.* – 2010. – V. 27. – P. 688–700.
58. *Hu X.* Development of a multiple immunoaffinity column for simultaneous determination of multiple mycotoxins in feeds using UPLC-MS /MS / X. Hu, R. Hu, Z. Zhang et al. // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2016. – V. 408. – P. 6027–6036.

59. *Koesukwiwat U.* Evaluation of a modified QuEChERS method for analysis of mycotoxins in rice / U. Koesukwiwat, K. Sanguankaew, N. Leepipatpiboon // *Food Chem.* – 2014. – V. 153. – P. 44–51.

60. *Yogendrarajah P.* Development and validation of a QuEChERS based liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of multiple mycotoxins in spices / P. Yogendrarajah, C. Van Poucke, B. De Meulenaer et al. // *J. Chromatogr. A.* – 2013. – V. 1297. – P. 1–11.

61. *Desmarchelier A.* Combining the quick, easy, cheap, effective, rugged and safe approach and clean-up by immunoaffinity column for the analysis of 15 mycotoxins by isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry / A. Desmarchelier, S. Tessiot, T. Bessaire et al. // *J. Chromatogr. A.* – 2014. – V. 1337. – P. 75–84.

62. *Frenich A.G.* Multi-mycotoxin analysis in eggs using a QuEChERS-based extraction procedure and ultra-high pressure liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry / A.G. Frenich, R. Romero-González, M.L. Gómez-Pérez // *J. Chromatogr. A.* – 2011. – V. 1218. – P. 4349–4356.

63. *Zhou Q.* Quantitative analysis of 10 mycotoxins in wheat flour by ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with a modified QuEChERS strategy / Q. Zhou, F. Li, L. Chen // *J. Food Sci.* – 2016. – V. 81. – T2886–T2890.

64. *Orata F.* Derivatization reactions and reagents for gas chromatography analysis. In: Mohd M.A., editor. *Advanced Gas Chromatography e Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications.* 1st ed. InTech. – Rijeka, Croatia, 2012. – P. 83–108.

65. *Li P.* Advanced hyphenated chromatographic-mass spectrometry in mycotoxin determination: Current status and prospects / P. Li, Z. Zhang, X. Hu // *Mass Spectrom. Rev.* – 2013. – V. 32. – P. 420–452.

66. *Sun J.* QuEChERS purification combined with ultrahigh-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for simultaneous quantification of 25 mycotoxins in cereals / J. Sun, W. Li, Y. Zhang et al. // *Toxins.* – 2016. – № 8. – P. 375.

67. *Romero-González R.* Simultaneous determination of pesticides, biopesticides and mycotoxins in organic products applying a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction procedure and ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry / R. Romero-González, A. Garrido Frenich, J.L. Martínez Vidal et al. // *J. Chromatogr. A.* – 2011. – V. 1218. – P. 1477–1485.

68. *Laura A.* Mycotoxin detection / A. Laura, G. Cristina, B. Claudio // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2016. – V. 37. – P. 120–126.

69. *Kong W.J.* Analysis of zearalenone and a-zearalenol in 100 foods and medicinal plants determined by HPLC-FLD and positive confirmation by LC-MS-MS / W.J. Kong, H.H. Shen, X.F. Zhang et al. // *J. Sci. Food Agric.* – 2013. – V. 93. – P. 1584–1590.

70. *Rahmani A.* Simultaneous determination of aflatoxins, ochratoxin A, and zearalenone in cereals using a validated RP-HPLC method and PHRED derivatization system / A. Rahmani, S. Jinap, A. Khatib // *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* – 2013. – V. 36. – P. 600–617.

71. *Rahmani A.* Validation of the procedure for the simultaneous determination of aflatoxins ochratoxin A and zearalenone in cereals using HPLC-FLD / A. Rahmani, S. Jinap, F. Soleimany // *Food Addit. Contam. Part A.* – 2010. – № 27. – P. 1683–1693.

72. *Liao C.* Simultaneous quantification of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in cereals by LC-MS/MS / C. Liao, H. Lin, L. Chiueh // *J. Food Drug Anal.* – 2011. – № 19. – P.259–268.

73. *Kos J.* Comparison of ELISA, HPLC-FLD and HPLC-MS/MS methods for determination of aflatoxin M1 in natural contaminated milk samples / J. Kos, E. Janić Hajnal, I. Jajić et al. // *Acta Chim. Slov.* – 2016. – V. 63. – P. 747–756.

74. *Yao H.* Developments in detection and determination of aflatoxins / H. Yao, Z. Hruska, J. Diana Di Mavungu // *World Mycotoxin J.* – 2015. – № 8. – P. 181–191.

75. *Sieger M.* Portable Infrared Laser Spectroscopy for On-site Mycotoxin Analysis / M. Sieger, G. Kos, M. Sulyok et al. // *Sci. Rep.* – 2017. – № 7. – P. 440–428.

76. *Lattanzio V.M.* Multiplex dipstick immunoassay for semi-quantitative determination of Fusarium mycotoxins in cereals / V.M. Lattanzio, N. Nivarlet, V. Lippolis et al. // *Anal. Chim. Acta.* – 2012. – V. 718. – P. 99–108.

77. *Giuseppe V.* Molecularly imprinted polymers: Present and future prospective / V. Giuseppe, S. Del Roberta, M. Lucia et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2011. – № 12. – P. 5908–5945.

78. *Appell M.* Mycotoxin analysis using imprinted materials technology: Recent developments / M. Appell // *J. AOAC Int.* – 2016. – V. 99. – P. 861–864.

79. *Wendy A.* Fluorescence Polarization Assays in Small Molecule Screening / A. Wendy // *Expert Opin. Drug Discov.* – 2011. – № 6. – P. 17–32.

80. *Sheng Y.J.* The development of a fluorescence polarization immunoassay for aflatoxin detection. *Biomed / Y.J. Sheng, S. Eremin, T.J. Mi et al. // Environ. Sci.* – 2014. – № 27. – P. 126–129.

Глава 4

ПАТОГЕНЕЗ, ОСНОВНЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ, ДИАГНОСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ТОКСИНОВ

Токсины бактерий определяют основные клинические симптомы ряда инфекционных болезней у людей и животных. Это – дифтерия, сибирская язва, ботулизм, столбняк, дизентерия, раневые инфекции и др. Имеются данные о возможности выполнения бактериальными токсинами функций, не имеющих отношения к инфекционным процессам. Среди них: использование бактериями токсинов как средства антагонизма в микробных сообществах (холерный токсин оказывает ингибирующее действие на ряд бактерий; участие токсинов в авторегуляторных процессах в бактериальных популяциях (энтеротоксин *C. perfringens*) [1].

4.1. Характеристика токсинов ботулизма

Ботулизм (синонимы: ихтиизм, аллантиизм; аллантиазис (от гр. *allantiksa* – колбаса), ихтиозизм (от гр. *ichtis* – рыба); *botulism*, *allantiasis*, *sausage-poisoning* – англ.; *botulisme*, *allantiasis* – франц.; *botulismus* *Wurst-Vergiftung*, *Fleischvergiftung* – нем.) – острая инфекционная болезнь, обусловленная поражением токсинами бактерий ботулизма нервной системы, преимущественно продолговатого и спинного мозга, характеризующаяся парезами и параличами поперечно-полосатой и гладкой мускулатуры, иногда в сочетании с офтальмоплегическим и бульбарным синдромами.

Ботулинические токсины (*botulinum toxins*) – бинарные нейротоксины, образуемые грамположительной анаэробной спорообразующей бактерией *Clostridium botulinum* и некоторыми ее близкородственными видами (*Cl. butyricum*, *Cl. baratii*, *Cl. argentes*) [1, 2].

Предполагается, что ботулизмом люди болеют на протяжении всего периода существования человечества. Так, византийский импе-

ратор Лев VI запретил употребление в пищу кровяной колбасы из-за опасных для жизни последствий [3]. Однако документально заболевание было зафиксировано только в 1793 г., когда в Вюртемберге (Германия) заболели 13 человек, употреблявшие в пищу кровяную колбасу, 6 из которых умерли. Название ботулизм – от лат. Botulinus, т.е. колбаса. Отсюда болезнь и получила своё название [4, 5].

Позднее, на основании наблюдений в 1817–1822 гг., Ю. Кернер сделал первое клинико-эпидемиологическое описание заболевания. Синдром, вызываемый ботулотоксином, упоминался в XIX в. как болезнь Ю. Кернера. В изданной монографии 1822 г. он описал симптомы ботулизма (недомогание, рвота, диарея и другие), а также предположил, что небольшие дозы ботулинического токсина (БТ) могут быть полезны в лечении гиперкинезов [6]. В России эта болезнь неоднократно описывалась в XIX в. под названием «ихтизм» и связывалась с употреблением солёной и копчёной рыбы, а первое детальное исследование в России сделал Э.Ф. Зенгбуш [7].

В конце XIX в. в Бельгии 34 музыканта, готовившиеся играть на похоронах, съели сырую ветчину домашнего приготовления. В течение суток у большинства музыкантов начали проявляться симптомы ботулизма. В результате 3 человека погибли, а еще 10 находились в больнице в течение недели в тяжелом состоянии. Из остатков ветчины и из селезенки пострадавших бактериолог Э. Ван-Эрменгем выделил возбудителя и назвал его *Bacillus botulinus*. Также он установил, что ботулизм вызывает водорастворимый токсин, который образуется не в организме больного, а в толще ветчины. В это же время была создана первая иммунная сыворотка для лечения ботулизма. Исследователь Алан Скотт в 1973 г. провел первые испытания ботулотоксина на животных по снижению активности гиперкинетических мышц, а затем, в 1978 г., под его руководством начались испытания возбудителя на людях, по одобренному протоколу FDA [8].

В начале XX в. А. Tchitchkine предположил, что растворимым фактором, ответственным за развитие симптоматики ботулизма является нейротоксин [8, 9].

Возбудители ботулизма – *Clostridium botulinum* – представляют собой анаэробные подвижные грамотрицательные палочки. Род *Clostridium* относится к группе Firmicute, которая делится на анаэробные Clostridia, облигатные или факультативные аэробы Bacilli, и Mollicutes – бактерии, не имеющие клеточной стенки вообще (среди

них самый известный род – *Mycoplasma*). Насчитывается не менее 83 видов *Clostridia*.

Клостридии, возбудители ботулизма, – строгие анаэробные спорообразующие бактерии. На поверхности твердых питательных сред (кровяной агар, печеночный агар, желатина с глюкозой) они растут почти при полном удалении кислорода; остаточное давление воздуха допустимо от 3 до 10 мм рт. ст.

Хорошо растет *C. botulinum* и на жидких средах (мясопептонный бульон с кусочками печени или мясного фарша или пептонного бульона с кусками вареного куриного яйца. Оптимальные условия роста вегетативных форм – крайне низкое остаточное давление кислорода (0,40–1,33 кПа) и температурный режим в пределах 28–35 °С. В то же время прогревание при температуре 80 °С в течение 30 мин вызывает их гибель.

Возбудители ботулизма в окрашенных препаратах и в электронном микроскопе имеют вид палочек длиной от 4 до 8 мкм и шириной от 0,6 до 0,8 мкм с закругленными концами. Микробы имеют споры, располагающиеся субтерминально, редко центрально. Палочки со спорами имеют вид теннисных ракеток. Жгутики в количестве от 3 до 20 расположены по всему телу палочки (рис. 4.1).

Известно 8 иммунологически отличных типов (серотипов) ботулинических токсинов (А, В, С_{1,2}, D, Е, F и G) [10]. Из них А, В, Е, F вызывают ботулизм у людей, С₁ и D – у животных и водоплавающих птиц. В свою очередь, тип А подразделяется на 5 субтипов (А₁–А₅) [11–15].

Термин «токсин» в отношении рода *Clostridia* означает биологически активный белок, имеющий антигенную структуру, и его активность может быть специфически нейтрализована соответствующей антисывороткой [16]. Важно подчеркнуть, что токсины вырабатываются вегетативными формами. Генетически и фенотипически выделяют 4 группы клостридий. Однако их общей особенностью является синтез ботулинического токсина.

C. butyricum, *C. baratii* отдельные авторы относят к V и VI группам соответственно. Близкородственная бактерия *C. tetani*, продуцирующая столбнячный токсин, относится к отдельной консервативной кладке. Известен только один серотип столбнячного токсина [17].

Естественно возникающий ботулизм (пищевой, раневой, новорожденных) обычно представляет собой токсико-инфекционный про-

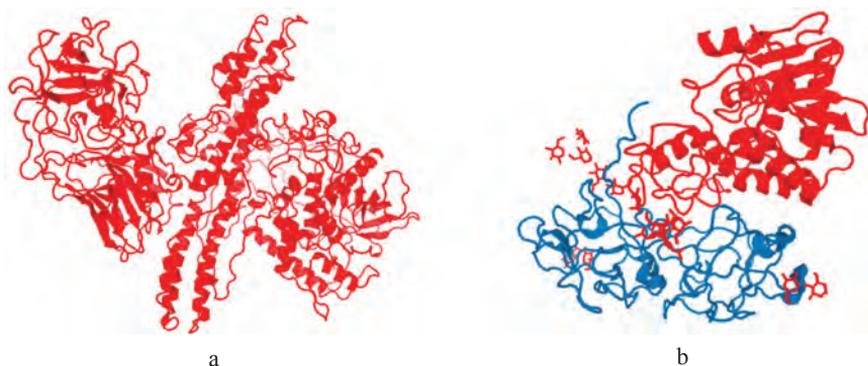


Рис. 4.1. Структура ботулинического токсина А (а) и рицина (б)

цесс [18–22]. При попадании в организм несмертельных порций токсина и ботулинического микроба происходит размножение последнего в организме, благодаря чему вырабатываются постоянно небольшие дозы токсина. В течение инкубационного периода количество токсина накапливается, что приводит к развитию типичной клиники ботулизма. Основная масса токсина при попадании в пищеварительный тракт всасывается через слизистую оболочку желудка и тонкой кишки. Ферменты ЖКТ активируют БТ, превращая протоксин в активную токсическую форму.

Токсин проникает первоначально в лимфатические пути, затем в общий кровоток, разносится током крови по всему организму, причем титр в лимфе всегда превышает титр в плазме крови. При избыточном количестве БТ в крови он в первые минуты после введения сорбируется, кроме β - и γ -глобулинов, и другими фракциями глобулинов.

Присутствие токсинов в крови больных ботулизмом людей и животных доказано экспериментально [23]. Чаще всего он обнаруживается на 2–3 сут, а иногда даже на 6–8 сут после появления первых симптомов болезни, что указывает на образование токсина в организме. Циркуляция токсина в крови может продолжаться от 9 до 25 сут и более. Быстрое обсеменение организма бактериями ботулизма было установлено при заражении животных через рот большими дозами спор; при этом животные погибали от токсина, образовавшегося

в организме. Введение через рот небольших доз спор животным вызывает у них бессимптомную инфекцию, сопровождающуюся иммунологическими изменениями тканей органов [24].

Токсическое действие ботулотоксинов вызвано нарушением нейромышечной передачи вследствие блокады выделения ацетилхолина в синапсах периферической нервной системы. Они являются наиболее сильнодействующими из известных биологических токсинов. Их средняя летальная доза при разных способах введения колеблется от 5 до 50 нг/кг. Ингаляционная доза ботулотоксина для человека, выраженная величиной Lct_{50} , оценивается как 0,02–0,1 мг × мин/м³. По этому показателю ботулотоксин не менее чем в 750 раз токсичнее зарина и в 100 раз токсичнее вещества VX. Смерть от отравления БТ наступает в результате развития «бульбарного синдрома», паралича дыхательных мышц, осложненных пневмонией и токсическим миокардитом. У людей наиболее высокая летальность наблюдается при отравлении токсинами типов А и Е [25, 26].

На сегодняшний день патогенез ботулизма еще недостаточно изучен, существуют разногласия по вопросу действия токсина на центральную нервную систему, вегетативную нервную систему и другие структуры [27].

В то же время установлено, что ботулинический токсин прочно связывается нервными клетками. При этом поражаются и нервные окончания и мотонейроны передних рогов спинного мозга. Ботулотоксин избирательно воздействует на холинэргические отделы нервной системы, вследствие чего прекращается выделение ацетилхолина в синаптическую щель, а следовательно, нарушается нервно-мышечная передача возбуждений (парезы, параличи). Холинэстеразная активность в синапсах практически не изменяется. В первую очередь нарушается иннервация мышц, находящихся в состоянии постоянной и высокодифференцированной функциональной активности (глазодвигательный аппарат, мышцы глотки и гортани). Результатом поражения мотонейронов является также и угнетение функции основных дыхательных мышц вплоть до паралича [28].

При ботулизме поражаются все черепные нервы, кроме чувствительных, таких как обонятельный, зрительный, преддверно-улитковый нервы. Особой чувствительностью к ботулотоксину обладают мотонейроны спинного и продолговатого мозга, что проявляется развитием бульбарного и паралитического синдромов. Ботулотоксин

блокирует освобождение ацетилхолина в холинергических синапсах, что обуславливает развитие периферических параличей. Холинэстеразная активность в синапсах практически не изменяется. Краткая характеристика клинических симптомов ботулизма и патогенетических механизмов представлены в табл. 4.1 [29].

Воздействие ботулинических токсинов обратимо, и со временем двигательная функция полностью восстанавливается. Угнетению холинэргических процессов предшествует повышение содержания катехоламинов. Вследствие нарушения вегетативной иннервации

Таблица 4.1

Патогенез отдельных симптомов и синдромов при ботулизме

Симптомы	Патогенез
Нарушение дыхания (частое, поверхностное)	Парез мышц диафрагмы, брюшного пресса, межреберных мышц, гипоксия
Мышечная слабость, парезы, параличи	Нарушение передачи нервных импульсов, гипоксия, метаболические нарушения
Тахикардия, повышение артериального давления	Гипоксия, повышение активности симпатико-адреналовой системы (увеличение содержания катехоламинов)
Сухость во рту, нарушение глотания, гнусавость голоса, ограничение движения языка	Поражение ядер V, IX, XII черепных нервов
Нарушение конвергенции, птоз, диплопия	Поражение ядер III, IV черепных нервов
Широкие зрачки, нарушение зрения, аккомодация	Поражение n.m.ciliares
Амимия	Поражение лицевого нерва
Вздутие живота, запор	Угнетение функции блуждающего нерва, увеличение содержания катехоламинов
Рвота, одно- или двукратное послабление стула в начальный период	Метное действие ботулотоксина, действие другой флоры, содержащейся в продукте
Задержка мочеиспускания	Поражение вегетативной нервной системы, преобладание симпатической активности, снижение тонуса мочевого пузыря
Бледность кожи	Сужение капилляров кожи

снижается секреция пищеварительных желез (выделение слюны, желудочного сока), развивается стойкий парез желудочно-кишечного тракта. Патогенное действие ботулинических токсинов в значительной степени усиливается при их повторном поступлении в кровь.

Парезы или параличи межреберных мышц, диафрагмы приводят к острой вентиляционной дыхательной недостаточности с развитием гипоксии и респираторного ацидоза. Нарушению вентиляции легких способствует угнетение функции мышц глотки и гортани, скопление густой слизи в над- и подсвязочном пространстве, аспирация рвотных масс, пищи, воды. При ботулизме вследствие опосредованного или прямого действия токсина развиваются все разновидности гипоксии – гипоксическая, гистотоксическая, гемическая и циркуляторная. Гибель обычно наступает от вентиляционной дыхательной недостаточности и иногда от внезапной остановки сердца [29].

Токсинемия вызывает угнетение ферментов пентозофосфатного шунта, ингибирование клеточных Na^+K^+ насосов и обуславливает развитие гемической гипоксии. В конечном итоге она и определяет течение и исходы заболевания. При этом существенна и роль таких вторичных изменений, как аспирационные пневмонии, ателектазы. Из-за гипосаливации воспаляется слизистая оболочка ротоглотки, может развиваться гнойный паротит вследствие восходящей инфекции.

Ботулотоксин оказывает воздействие на парасимпатическую нервную систему, угнетая ее активность, что проявляется мидриазом, сухостью слизистых оболочек и запорами. Редко встречающийся длительный инкубационный период (до 10 сут) объясняют прорастанием спор возбудителя в ЖКТ с последующим выделением экзотоксина вегетативными формами. Кроме того, установлена возможность развития вегетативных форм из спор в гнойных очагах или «карманах» при ранениях (раневой ботулизм). Эти механизмы поддерживают концентрацию токсина в организме больного в течение длительного времени, что следует учитывать при проведении сывороточной терапии.

Нервная система не является единственной мишенью для ботулотоксинов. Установлено, что они способствуют резкому угнетению фагоцитарной активности лейкоцитов, нарушению метаболизма в эритроцитах, нарушениям трофики.

Вместе с содержащей ботулинический токсин пищей в организм больного попадают и возбудители ботулизма, а также в случае соответствующей контаминации пищевых продуктов и другие анаэробы

(*C. perfringens*, *C. oedematiens*) и их токсические субстанции. Воздействием последних объясняются возможные кратковременные лихорадка и синдром гастроэнтерита в начальном периоде болезни у некоторых больных. Развивающиеся в разгаре болезни парез и угнетение секреции пищеварительных желез ведут к застою пищи и химуса, условиям, близким к анаэробным. При этом вегетативные формы возбудителей ботулизма могут продуцировать токсин, дополнительные поступления которого в кровь оказывают потенцированный токсический эффект. Возможно, с этим и связаны случаи внезапной смерти больных даже при легком и среднетяжелом течении ботулизма. Следовательно, при обычном способе заражения ботулизм является по сути токсикоинфекцией.

Естественно, что при этом ведущее значение в развитии болезни принадлежит токсину, поступающему с инфицированными продуктами в желудочно-кишечный тракт. Патогенез раневого ботулизма и ботулизма младенцев отличается тем, что заражение происходит спорами, которые прорастают в анаэробных условиях раны или вследствие особенностей флоры и ферментативной деятельности кишечника грудных детей в вегетативные формы, продуцирующие токсины. Поступление ботулотоксина в кровь дает типичную для ботулизма неврологическую картину заболевания [1]. В таких случаях синдромы гастроэнтерита, общей инфекционной интоксикации отсутствуют. Пока что не изучены условия прорастания и продуцирования токсина в желудочно-кишечном тракте младенцев. Однако остается непреложным факт, что ботулизм как болезнь — следствие токсического поражения нервной системы, причем токсин, вероятно, действует как ферментный яд, что требует ничтожных его количеств для развития тяжелого отравления. Циркуляция ботулотоксина может продолжаться до трех недель. Наблюдаются случаи выявления токсина в крови при отсутствии или стертой клинической картине заболевания.

Патологоанатомические изменения при ботулизме неспецифичны. Обычно наблюдаются гиперемия и полнокровие внутренних органов, в том числе головного мозга и его оболочек. Выражены признаки нарушения микроциркуляции в головном мозге. Отмечаются умеренные деструктивные изменения нервных клеток всех уровней. Однако они не достигают такой степени, чтобы объяснить возникающие параличи. Довольно характерными для ботулизма являются дистрофические изменения в сосудистых стенках микроциркуляторного

русла, множественные мелкие кровоизлияния в серозные и слизистые оболочки, преимущественно желудочно-кишечного тракта, которые скорее всего обусловлены гипоксией [29].

Летальная доза для человека при пероральном применении составляет 30 нг, при ингаляционном около 0,80–0,90 мкг, а при внутривенном введении – от 0,09 до 0,15 мкг. Ботулотоксины абсолютно нейроспецифичны, они не реагируют с другими субстратами в пресинаптических моторных нейронах. Заражение пищи и аэрозольное применение – два наиболее значимых пути, по которым они рассматриваются как потенциальные агенты биотерроризма [3].

Возбудители ботулизма обнаруживаются в почве, воде, траве, на листьях и плодах овощей, фруктов, в кишечнике человека и животных, в пыли домашних помещений. Наиболее обсеменены *C. botulinum* илистая и черноземная почвы, особенно на территории приусадебных участков. В неблагоприятных условиях, во внешней среде вегетативные формы возбудителей ботулизма образуют споры. Они чрезвычайно устойчивы к различным физическим и химическим факторам, в частности, выдерживают кипячение в течение 4–5 ч, воздействие высоких концентраций различных дезинфицирующих средств, сохраняются в продуктах, содержащих до 18 % поваренной соли. Интерес представляет феномен образования из вегетативных форм при недостаточном их прогревании так называемых «дремлющих спор», способных к прорастанию лишь через 6 мес. Споры устойчивы к замораживанию и высушиванию, к прямому ультрафиолетовому облучению. В анаэробных или близких к ним условиях возбудители ботулизма продуцируют специфический летальный нейротоксин, являющийся единственным, но исключительным по силе фактором патогенности [8].

Специально очищенный, доведенный до кристаллической формы, ботулотоксин может содержать миллионы летальных доз. Ботулинические токсины белковой природы в обычных условиях внешней среды сохраняются до 1 г, в консервированных продуктах – годами. Они устойчивы в кислой среде, не инактивируются ферментами пищеварительного тракта, а токсические свойства ботулотоксина Е под влиянием трипсина могут усиливаться в сотни раз. Ботулинические токсины выдерживают высокие концентрации (до 18 %) поваренной соли, не разрушаются в продуктах, содержащих различные специи. Токсины сравнительно быстро инактивируются под влиянием щелочей, при ки-

появлении полностью теряют свои токсические свойства в течение нескольких часов, а под воздействием небольших концентраций калия перманганата, хлора или йода – в течение 15–20 мин. Ботулотоксин в пищевых продуктах не изменяет их органолептических свойств.

В процессе жизнедеятельности происходит характерное для большинства клостридий газообразование (визуально на консервированных продуктах определяется как бомбаж – вздутие крышки или жестяной банки). Прогревание при температуре 80 °С в течение 30 мин вызывает гибель вегетативных форм, однако его споровые формы способны выживать в течение нескольких часов при температуре 100 °С, и, попадая в благоприятную среду, переходить в вегетативные формы. Для полного уничтожения применяют дробную пастеризацию – тиндализацию. Ботулотоксин относится к полипептидам и при кипячении в течение свыше 30 мин инактивируется. Хорошо нейтрализуется в щелочной среде [30].

Ботулотоксин является одним из наиболее сильных природных ядов. Описаны продуцирующие ботулотоксин штаммы других видов – *Clostridium butyricum* и *Clostridium baratii*, но они чрезвычайно редки.

В современной медицине ботулотоксин является активным составляющим косметического средства Ботокс (известного также под названием Диспорт), использующегося для разглаживания морщин и уменьшения потоотделения. Диспорт с помощью инъекций вводится подкожно в мимические мышцы. Его также применяют для ослабления чрезмерной мышечной активности. Получить отравление нейротоксином практически невозможно, так как в косметологии используются крайне низкие концентрации яда. В случае передозировки может случиться летальный исход. На сегодняшний день Ботокс разрешен для клинического применения в 58 странах мира.

Несмотря на серологическую специфичность, ботулинические токсины идентичны по механизму патологического воздействия и его клиническим проявлениям. Возможны случаи отравления людей и животных сразу несколькими токсинами, продуцируемыми бактериями различных сероваров. Защитное действие антитоксических сывороток специфично, способность к гетерологической нейтрализации наблюдается лишь у типов С и D, Е и F, но она выражена значительно слабее (в 4–10 раз).

Сейчас, как и раньше, ботулизм проявляется как в виде единичных отравлений, так и в виде групповых случаев. За 1818–1913 гг.

в России было зарегистрировано 98 групповых вспышек пищевых отравлений, в которых пострадало 608 человек, то есть по 6,2 человека на одну вспышку. За период 1974–1982 гг. произошла 81 вспышка, на которую в среднем приходилось по 2,5 заболевших [31]. В последние десятилетия распространены случаи болезни, связанные с употреблением консервов домашнего изготовления [32].

Механизм передачи ботулизма – фекально-оральный или контактный (при раневом ботулизме). Пути передачи заболевания могут быть пищевые, воздушно-пылевые (при ботулизме грудных детей) или контактно-бытовые. При этом иммунитет после перенесенного заболевания не развивается. В медицинской литературе описаны повторные случаи заболеваний ботулизмом у одних и тех же людей [33].

В соответствии с рекомендациями ВОЗ различают четыре категории ботулизма [7]:

- пищевой ботулизм (заболевание возникает после употребления в пищу продуктов, содержащих накопившийся ботулинический токсин);
- раневой ботулизм (развивается при загрязнении почвой раны, в которой создаются условия, необходимые для прорастания попавших из почвы *Clostridium botulinum* и последующего токсинообразования);
- ботулизм детского возраста (возникает у детей преимущественно до 6 месяцев, при инфицировании их спорами *Clostridium botulinum*);
- ботулизм неуточненной природы (установить какую-либо связь возникшего заболевания с пищевым продуктом не удается).

Вспышки ботулизма чаще всего обусловлены токсином типа А, реже – типами В, С, Е, F. Токсин D вызывает заболевания только у животных и водоплавающих птиц [34–37]. Естественным источником и резервуаром возбудителя является почва, тепло- и холоднокровные животные, поглощающие споры *Clostridium botulinum* с водой и кормом [29].

Возбудитель размножается в иле слабопроточных водоемов, силосных ямах, трупях павших животных. *Clostridium botulinum* вырабатывает токсин после смерти животных при снижении их температуры тела до 20–25 °С.

Попадание в человеческий организм как вегетативных форм *C. botulinum*, так и спор обычно не вызывает заболевания, так как для продуцирования токсина нужны строго анаэробные условия. Исклю-

чения составляют раневой ботулизм (развивается при загрязнении почвой раны, в которой создаются условия, необходимые для прорастания попавших из почвы *C. botulinum* и последующего токсинообразования), а также ботулизм новорожденных до 6 мес, в кишечнике которых также возможно размножение *C. botulinum* и токсинообразование из-за особенностей кишечной микрофлоры.

Отравление токсином возможно только при употреблении продуктов, в которых в анаэробных условиях произошли размножение возбудителя и накопление токсина. Анаэробные условия создаются в результате герметизации продуктов или потребления кислорода аэробной флорой (например, стафилококком). В настоящее время консервы фабричного производства редко являются причиной заболевания. В основном заражение происходит вследствие употребления грибов, овощей, рыбы и мяса домашнего консервирования, при этом мужчины болеют в два раза чаще, чем женщины [38]. Однако эпидемии ботулизма могут возникать и из более неожиданных источников, например, в июле 2002 г. на Аляске у 14 человек были установлены симптомы ботулизма после употребления китового мяса (*muktuk*), двум из пострадавших потребовался аппарат искусственной вентиляции лёгких. Существуют и другие источники отравления, например чеснок или приправы, сохраняемые в растительном масле без подкисления, перец чили, плохо вымытый тушёный в алюминиевой фольге картофель, рыба домашнего консервирования, в частности, ферментированная рыба, таранка и прочее.

В России около 50 % случаев болезни связаны с грибами, второе место занимают мясные изделия [32]. Но, помимо пищевого ботулизма, регистрируются единичные случаи ботулизма у детей до года, находящихся на искусственном вскармливании питательными смесями, содержащими мед, а их кишечная микрофлора еще не способна эффективно подавлять развитие *C. botulinum*. Предполагают, что споры заносятся с пылью в нектар, перерабатываемый пчелами в мед, который впоследствии используют в питательных смесях [43]. Иногда возбудитель размножается в некротизированной ткани и обуславливает возникновение раневого ботулизма.

Возбудители ботулизма широко распространены в природе. Вегетативные формы и споры обнаруживаются в кишечнике различных домашних и в особенности диких животных, водоплавающих птиц, рыб. Попадая во внешнюю среду (почву, ил озер и рек), они в спорообразном

состоянии длительно сохраняются и накапливаются. Практически все пищевые продукты, загрязненные почвой или содержимым кишечника животных, птиц, рыб могут содержать споры или вегетативные формы возбудителей ботулизма.

Российские санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2322-08 относят ботулинический токсин (БТ) ко 2-й группе патогенности. Для национальной безопасности США они относятся к группе А.

БТ привлекают внимание специалистов в области химического (ХО) и биологического оружия (БО) с 1920-х гг. из-за высокой токсичности и кажущейся доступности получения и применения [44]. В годы Второй мировой войны и до конца 1960-х гг. БТ интенсивно изучались в США и Соединенном Королевстве в качестве возможного средства уничтожения живой силы противника. Токсин серотипа А состоял на вооружении армии США под шифром «Х». Были разработаны технологии их выделения в кристаллическом состоянии, промышленного производства и специальные боеприпасы для применения в боевых условиях. В настоящее время они не рассматриваются как БПА, пригодные для ведения БВ из-за нестабильности при производстве, хранении и диспергировании. Но в качестве агентов для осуществления биологических террористических актов, диверсий и действий криминального характера, вероятность их использования оценивается как весьма высокая [44–46]. В начале 1990-х гг. секта «Аум-Синрикё» пыталась осуществить в Японии серию террористических актов с использованием ботулинического токсина типа А.

В медицине БТ типов А и В используется для разработки обезболивающих и косметических препаратов [47].

По эпидемиологии случаи и вспышки ботулизма можно разделить на естественного и искусственного происхождения (табл. 4.2) [48].

В России пищевой (алиментарный) ботулизм наиболее часто вызывается возбудителями типов А и В. Наблюдается тенденция к распространению типа Е. Консервированные грибы, рыбные и мясные продукты, овощи и фрукты, приготовленные кустарным способом с нарушением требований пищевой гигиены, являются главными источниками *C. botulinum* в нашей стране. Домашние консервы, отравленные токсином ботулизма, выглядят, как правило, совершенно доброкачественными, не меняют ни внешнего вида, ни запаха, ни вкуса. Единственным признаком размножения ботулинического микроба может быть вздутая крышка на герметично закрытой банке.

Таблица 4. 2

Эпидемиологическая классификация ботулизма

Форма болезни	Источник токсина	Клинические проявления	Преимущественно встречающийся серотип токсина
Естественного происхождения			
Пищевой	Консервированные грибы, рыбные и мясные продукты, овощи и фрукты, приготовленные кустарным способом	Симптомы поражения ЖКТ, офтальмологический и бульбарный синдромы, паралич дыхательных мышц	А, В, С, Е и F
Раневой	Токсико-инфекционный процесс – токсин, выделяется в процессе роста <i>C.botulinum</i> в инфицированной ткани раны	Офтальмологический и бульбарный синдромы, паралич дыхательных мышц	А и В
Раневой ботулизм наркоманов	То же	То же	А и В
Ботулизм новорожденных	Токсико-инфекционный процесс – токсин образуется в кишечнике детей	Запор, офтальмологический и бульбарный синдромы, паралич дыхательных мышц	С, F и G
Искусственный			
Парентаральный	Инъекции при передозировке препаратов Dysport или Botox (более 40 ед/кг)	Офтальмологический и бульбарный синдромы, паралич дыхательных мышц	А, В
Ингаляционный	Экспонирование к аэрозолью ботулинического токсина	То же	Любой

Раневой ботулизм развивается в результате попадания в рану почвы, контаминированной *C. botulinum*. Токсин выделяется в процессе роста *C. botulinum* в ткани инфицированной раны. В последние годы наблюдается новая эпидемиологическая разновидность болезни – раневой ботулизм наркоманов [49, 50].

У детей в возрасте 2–3 мес. встречается ботулизм новорожденных [43]. Он развивается в результате колонизации желудочно-кишечного

тракта спорами возбудителя ботулизма. Токсин образуется в кишечнике детей. Запор часто является первым признаком болезни и может опережать появление неврологических симптомов на три недели. К ранним симптомам детского ботулизма относятся ослабление способности сосать и ослабление крика.

Артифицированные (т.е. искусственные) формы ботулизма стали выделять в отдельную форму болезни после внедрения в клиническую практику лекарственных препаратов на основе ботулинического токсина. Осложнения возникают в результате передозировки препаратов Disport, Botox и др. [17]. К ним же целесообразно отнести и формы ботулизма, преднамеренно вызванные распространением аэрозоля ботулинического токсина.

В России пищевым ботулизмом болеют во все времена года, но максимум вспышек и единичных случаев приходится на осеннее и зимнее время (70 % – октябрь, ноябрь, декабрь). Наблюдаемая сезонность не отличается строгой закономерностью и отражает изменения условий питания: в это время года больше, чем в другие месяцы, употребляют в пищу консервированные продукты домашнего приготовления. Кроме того, заболеваемость зависит от урожая грибов в том или ином регионе: 75,3 % приходится на консервированные грибы, 5,8 % – на вяленую рыбу, 5,1 % – на сало, 2,5 % – на соленую рыбу, мясо и другие продукты (соленые грибы, рыба холодного копчения, консервированные помидоры, колбаса, консервированное мясо кур).

Естественные вспышки ботулизма, как правило, имеют групповой или семейный характер. По данным ряда авторов, в России ботулизм наиболее часто вызывается токсином типа В (56 %), реже А (30 %) и еще реже типа Е (14 % случаев) [10].

По L.C. Sellin, из 766 случаев пищевого ботулизма, зарегистрированных в США, на период с 1899 по 1977 год 26 % было вызвано типом А, 7,8 – типом В, 4,2 – типом Е, а 61,8 % остались не идентифицированными [18, 19].

При внутрибрюшинном введении мышам наиболее высокий уровень токсичности отмечается у нейротоксина типа А. Из лабораторных животных наиболее чувствительными к действию БТ является морская свинка, для которой летальные дозы при внутрибрюшинном, ингаляционном и оральном введении равны $9,4 \times 10^{-7}$, $3,18 \times 10^{-5}$ и $1,87 \times 10^{-4}$ мг/кг соответственно.

Зафиксированная летальная доза БТ для человека при оральном введении находится в пределах от $1,43 \times 10^{-6}$ до $1,43 \times 10^{-5}$ мг/кг. Прогнозируемые величины летальных доз для человека:

- при парэнтеральном введении – 3×10^{-9} мг/кг;
- при ингаляционном введении – 3×10^{-8} мг/кг;
- при оральном введении – 3×10^{-6} мг/кг;
- $Lct_{50} = 0,02-0,1$ мг×мин/м³.

Естественные отравления людей ботулотоксинами происходят в основном через пищу [32, 33]. Однако заболевание может возникнуть только при употреблении тех продуктов, которые хранились при анаэробных или близких к ним условиях без предварительной достаточной термической обработки. Это могут быть консервы, особенно домашнего приготовления, копченые, вяленые мясные и рыбные изделия, а также другие продукты, в которых имеются условия для развития вегетативных форм микробов и токсинообразования.

В России чаще регистрируются заболевания, связанные преимущественно с употреблением грибов домашнего консервирования, копченой или вяленой рыбы, в европейских странах – мясных и колбасных изделий, в США – бобовых консервов. Эти продукты чаще вызывают групповые, «семейные» вспышки заболеваний. Если инфицированный продукт твердофазный (колбаса, копченое мясо, рыба), то в нем возможны «гнездовая» инфицированность возбудителями ботулизма и образование токсинов. Поэтому встречаются вспышки, при которых не все лица, употреблявшие один и тот же продукт, болеют. В настоящее время преобладают заболевания, обусловленные отравлениями токсинами А, В или Е. Больной человек не представляет эпидемиологической опасности для окружающих лиц.

Своеобразной формой раневого ботулизма является ботулизм у наркоманов. Заражение осуществляется в результате инъекций или даже накожных скарификаций «черного героина» («черной смолы»), исходный материал для приготовления которого загрязнен почвой и таким образом контаминирован спорами. В случае абсцедирования мест инъекций создаются предпосылки развития заболевания, как и при раневом ботулизме.

Ботулизм младенцев наблюдается преимущественно у детей первых шести месяцев жизни. Большинство заболевших детей находились на частичном или полном искусственном вскармливании. При расследовании подобных случаев заболевания споры выделяли из

меда, используемого для приготовления питательных смесей. Также споры находили в окружающей ребенка среде – почве, бытовой пыли помещений и даже на коже кормящих матерей. Обращает внимание тот факт, что ботулизм младенцев регистрируется исключительно в социально неблагополучных семьях, проживающих в неудовлетворительных санитарно-гигиенических условиях.

Экспериментальные исследования и клинические наблюдения свидетельствуют о возможности заболевания в результате аэрогенного заражения ботулотоксинами. В таких случаях всасывание их в кровь происходит через слизистую оболочку дыхательных путей. В естественных условиях подобные заболевания невозможны.

Таким образом, эпидемиология ботулизма весьма сложная. Болезнь может развиваться вследствие попадания в организм только ботулотоксинов, токсинов и возбудителей или только спор. Следует отметить бурное размножение возбудителей в трупах погибших от ботулизма людей, тушках павших животных, которые становятся своеобразным резервуаром инфекции.

Инкубационный период при ботулизме продолжается до суток, реже до 2–3 сут и очень редко (в единичных описаниях) до 9 и даже 12 сут. Не исключено, что более длительный инкубационный период соответствует манифестации скрытых проявлений болезни из-за дополнительного поступления ботулотоксина из желудочно-кишечного тракта. При более коротком инкубационном периоде наблюдается, хотя и не всегда, более тяжелое течение болезни. Прием алкоголя, как правило, не сказывается на течении болезни, а опьянение может заглушать первые проявления ботулизма, препятствуя его своевременной диагностике.

По степени тяжести различают легкую, среднетяжелую и тяжелую форму болезни [32]. При легком течении у больных паралитический синдром ограничивается поражением глазодвигательных мышц, при среднетяжелом поражении глотки и гортани. Тяжелое течение характеризуется дыхательной недостаточностью и тяжелыми бульбарными нарушениями.

Клиническая картина ботулизма складывается из трех основных синдромов: паралитического; гастроинтестинального и общетоксического.

Болезнь начинается остро, в продромальном периоде отмечается полиморфизм болезненных ощущений. Наиболее типичными ран-

ними признаками ботулизма являются нарушения остроты зрения, сухость во рту и мышечная слабость. Больные жалуются на «туман в глазах», «сетку перед глазами», плохо различают близлежащие предметы, не могут читать сначала обычный шрифт, а затем и крупный. Появляется двоение в глазах. Развивается птоз различной степени выраженности. Изменяются высота и тембр голоса, иногда отмечается гнусавость. При прогрессировании болезни голос становится сильным, охриплость может перейти в афонию. Довольно типичным признаком ботулизма является нарушение глотания. Появляются ощущение инородного тела в глотке («непроглоченная таблетка»), поперхивание, затруднение глотания вначале твердой, а затем и жидкой пищи, воды. В тяжелых случаях наступает полная афагия. При попытке проглотить воду, последняя выливается через нос. В этом периоде возможна аспирация пищи, воды, слюны с развитием аспирационной пневмонии, гнойного трахеобронхита.

Все вышеуказанные неврологические симптомы появляются в различных сочетаниях, последовательности и степени выраженности. Беспокоит боль в подложечной области, тяжесть в желудке, тошнота, рвота, понос или запор. Затем присоединяются неврологические симптомы: офтальмологический, парез жевательной и мимической мускулатуры, парез бульбарной группы мышц, парез скелетных мышц, парез дыхательной мускулатуры, вестибуло-атактический синдром.

Начальными, наиболее ранними и частыми симптомами, являются глазодвигательные – до 93,4 %, вызванные нарушением функции внутренних (чаще) и наружных мышц глаза [18]. Обусловлено это тем, что БТ в организме человека имеет в качестве мишеней только пресинаптические нейроны. К числу глазодвигательных расстройств относятся нарушение аккомодации (75 %) – ранний специфический признак ботулизма [18]. Больные жалуются на появление тумана и сетки перед глазами, предметы видны не четко, дрожат. Реже встречаются жалобы на полную потерю зрения. В ранней диагностике отравления БТ считают значимыми вялую реакцию зрачка на свет (70 %), ослабление реакции зрачков на конвергенцию (59 %), птоз (58 %), мидриаз (51 %), снижение конъюнктивального рефлекса (51 %), офтальмопарез (49 %), диплопатию (48 %), анизокорию (31 %) и др.

Парез жевательной и мимической мускулатуры встречается у 96 % больных. Больной не может поднять уголки губ. В сочетании

с птозом век лицо больного выглядит сонным. При тяжелом отравлении лицо теряет выражение и становится маскообразным, застывшим. Из-за слабости напряжения мышц височной области с обеих сторон, нижняя челюсть отвисает, акт жевания нарушается.

Клиническими проявлениями ботулизма могут быть кратковременные симптомы острого гастроэнтерита и общей инфекционной интоксикации. В таких случаях больные обычно жалуются на острые боли в животе, преимущественно в эпигастральной области, после чего наступают повторная рвота и жидкий, без патологических примесей, стул, не больше 10 раз в сутки, чаще 3–5 раз. Иногда на этом фоне появляются головная боль, недомогание, отмечается повышение температуры тела от субфебрильной до 39–40 °С. К концу суток гипермоторика желудочно-кишечного тракта сменяется стойкой атонией, температура тела становится нормальной. Начинают появляться основные неврологические признаки болезни. В редких случаях между гастроинтестинальным и неврологическим синдромами самочувствие больного может кратковременно оставаться вполне удовлетворительным и лишь при целенаправленном осмотре можно выявить признаки поражения нервной системы.

Некоторые из них могут отсутствовать. Однако обязательным фоном для них являются нарушение саливации (сухость во рту), прогрессирующая мышечная слабость и стойкий запор. Птоз, мышечная слабость могут в легких случаях болезни протекать в недостаточно манифестированной форме. Их можно выявить путем физической нагрузки (несколько раз плотно открыть и закрыть глаза, повторно измерять мышечную силу с помощью динамометра).

Мышечная слабость нарастает соответственно тяжести болезни. В начале она наиболее выражена в затылочных мышцах, вследствие чего у таких пациентов голова может свисать, и они вынуждены поддерживать ее руками. В связи со слабостью межреберных мышц дыхание становится поверхностным, едва заметным. При полном параличе межреберных мышц больные ощущают сжатие грудной клетки «как будто обручем». При осмотре в разгаре заболевания больные вялые, адинамичные. Лицо маскообразное. Одно-, чаще двусторонний птоз. Зрачки расширены, вяло или совсем не реагируют на свет; возможны нистагм, косоглазие, нарушаются конвергенция и аккомодация. Высывание языка происходит с трудом, иногда толчками. Ухудшается артикуляция. Слизистая оболочка ротоглотки сухая,

глотки – ярко-красная. В надгортанном пространстве возможно скопление густой вязкой слизи, вначале прозрачной, а затем мутноватой. Отмечается парез мягкого неба, мышц глотки и надгортанника, голосовых связок, голосовая щель расширена. Вследствие пареза или паралича мышц диафрагмы нарушается отхаркивание мокроты, которая скапливается в подсвязочном пространстве. Густая, вязкая слизистая пленка в над- и подгортанном пространстве может привести к асфиксии. Из-за слабости скелетной мускулатуры больные малоподвижны. Маскообразное застывшее лицо, поверхностное дыхание, афония могут наводить на мысль об утрате сознания. При обследовании органов дыхания обращает внимание поверхностное дыхание. Кашель отсутствует, дыхательные шумы ослаблены, аускультативные феномены пневмонии могут не прослушиваться. Соответственно степени тяжести вентиляционной дыхательной недостаточности нарастает гиперкапния, респираторный ацидоз.

Изменения сердечно-сосудистой системы обнаруживаются преимущественно при среднетяжелом и тяжелом течении болезни: тахикардия, артериальная гипотензия, а иногда гипертензия, метаболические изменения ЭКГ. Для развернутой клинической картины ботулизма характерны выраженный парез желудочно-кишечного тракта, проявляющийся умеренным вздутием живота, резким ослаблением перистальтических шумов, упорными и продолжительными запорами. Со стороны других органов и систем каких-либо типичных для ботулизма изменений не определяется. Иногда может быть задержка мочевыделения.

Вслед за глазными симптомами, а нередко параллельно с ними, при прогрессировании заболевания появляются бульбарные расстройства. В клинической картине они являются основными и часто определяют прогноз болезни. У пациента появляются ощущение кома и сдавления в горле, першение, иногда жжение. Ранними признаками нарушения глотания бывают поперхивание и кашель во время еды. Далее развиваются более грубые дисфагические расстройства: затруднение глотания сначала твердой, затем жидкой пищи и слюны.

При оценке функций мягкого неба выявляются симптомы паралича небной занавески (провисание, понижение тонуса), гнусавость, поперхивание во время еды, жидкая пища вываливается через нос, иногда аспирируется. Одновременно с дисфагией возникают фоноларингеальные симптомы, нарушается фонация: голос становится слабым, глухим, хриплым, изменяется его тембр и звучность.

Легкие случаи ботулизма характеризуются стертой или моносимптомностью неврологических проявлений. Чаще наблюдаются расстройства аккомодации, небольшой птоз, иногда изменения тембра голоса на фоне умеренной мышечной слабости, гипосаливации. Продолжительность от нескольких часов до нескольких суток. При среднетяжелом ботулизме имеются все клинические неврологические симптомы, степень выраженности которых неодинакова, а поражение мышц глотки, гортани не достигает степени афагии и афонии. Опасных для жизни дыхательных расстройств нет. Продолжительность болезни составляет 2–3 нед.

При тяжелом течении в связи с параличом мышц гортани у больных отмечается полная афония. Дисфагия и дисфония сопровождаются нарушением речи. В результате двустороннего поражения мышц языка движение его ограничивается: больной не может высунуть язык или испытывает при этом затруднение. Перемещение пищи в полости рта нарушается, акт жевания и глотания затрудняется или становится совершенно невозможным. Расстройства движений губ, языка, мягкого неба, наружных мышц глотки и гортани приводят к изменению речи – она становится гнусавой, смазанной, растянутой, без достаточной модуляции, непонятной для окружающих.

Температура тела в большинстве случаев не повышается. Больные жалуются на головную боль, головокружение. Отмечаются затрудненность движений, быстрая утомляемость, которая иногда очень быстро нарастает. Слабость в некоторых случаях бывает локальной в ногах или руках. Симптомы быстро прогрессируют. Значительно ухудшается работа сердца.

В заключительной фазе болезни главное место занимает нарушение дыхания. Оно становится затрудненным, частым и поверхностным, в тяжело протекающих случаях дыхание Чейна-Стокса. Больные принимают различные позы для усиления деятельности вспомогательных дыхательных мышц. Смерть наступает от паралича дыхания на фоне продолжающейся сердечной недостаточности. Сознание не изменяется до наступления смерти, оно помрачается иногда только в агональном состоянии.

Иногда заболевание развивается катастрофически быстро: бурно нарастают офтальмологические симптомы, а присоединившиеся бульбарные и дыхательные расстройства в течение суток приводят к летальному исходу.

Исследования периферической крови не выявляют особых отклонений от нормы, за исключением моноцитоза, который встречается тоже не всегда. Лейкоцитоз, нейтрофилез, ускоренная СОЭ должны настораживать в отношении возможного гнойного осложнения ботулизма. Выздоровление наступает медленно. Одним из ранних признаков улучшения является восстановление саливации. Постепенно регрессирует неврологическая симптоматика. Позже всех происходит полное восстановление остроты зрения и мышечной силы. Перемежающиеся расстройства зрения могут наблюдаться в течение нескольких месяцев. Несмотря на тяжелейшие, иногда несовместимые с жизнью неврологические расстройства, у переболевших ботулизмом не остается последствий и каких-либо стойких нарушений функций нервной системы или внутренних органов. В отношении исходов деление болезни по степени тяжести довольно условно, ибо даже при легком и тем более среднетяжелом течении заболевания наблюдаются случаи внезапной остановки дыхания.

Раневой ботулизм и ботулизм младенцев представляет собой токсико-инфекционный процесс, аналогичный тому, который развивается после инфицирования возбудителями столбняка или газовой гангрены [51]. Тяжесть поражения зависит от количества попавшего в рану возбудителя ботулизма, его способности к токсинообразованию, типа токсина, хирургической обработки раны и общего состояния организма инфицированного. В обоих случаях отсутствуют гастроинтестинальный синдром и общая инфекционная интоксикация. При раневом ботулизме более продолжительные сроки инкубационного периода (4–14 сут). Для ботулизма характерна неврологическая симптоматика. Следует отметить, что у этих пациентов нет факта употребления продуктов, которые могли бы содержать ботулинический токсин. Ботулизм у грудных детей (ботулизм младенцев) наблюдается чаще при искусственном вскармливании. Инкубационный период неизвестен и установить его не представляется возможным. Первыми проявлениями болезни могут быть вялость детей, слабое сосание или отказ от него, задержка стула. Появление офтальмоплегических симптомов, хриплый плач, поперхивание должны навести на мысль о возможности ботулизма с неотложным проведением соответствующих диагностических и лечебных мероприятий.

Для раневого ботулизма наркоманов характерны: анамнез пациента, следы инъекций на коже, наличие язв и абсцессов, вызванных

введением наркотиков. Обычно у таких пациентов ранняя стадия болезни проявляется дизартрией, диплопией, дисфонией и нисходящим параличом. Болезнь протекает тяжело.

Отравления БТ у людей могут быть вызваны внутримышечным введением лекарственных препаратов, содержащих БТ: Botox® (Allergan Inc., США), Dysport® (Beaufour-Ipsen-Spreywood, Франция) и Xeomin® (Impfstoffwerk Dessau-Tornau, GmbH, Германия) – на основе БТ типа А; и Myoblock® /Neuroblock® (Solstice Neurosciences, LLC, США) – на основе БТ типа В [52].

Препараты на основе БТ применяют для лечения цервикальной дистонии, блефароспазма, ахалазии кардии (атония нижнего пищеводного сфинктера) и других патологических состояний, вызванных мышечным спазмом, и в косметических целях. Всего в специальной литературе приводиться до 150 показаний для применения препаратов на основе БТ [52].

Препараты на основе БТ вводятся инъекционно в участки мышечного спазма (контрактуры) или морщин. Действие препарата наступает на 2–3 сут после инъекции и достигает максимума на 14–15 сут. Блокируя нервно-мышечную передачу, БТ вызывает расслабление мышцы-мишени, длящееся до 8 мес. Обычно такие препараты безопасны для пациента. Один флакон Botox содержит 100 ЕД (units, U) очищенного нейротоксического комплекса, 0,5 мг альбумина человека и 0,9 мг натрия хлорида. Рекомендованная доза для крупных мышц – 100–400 ЕД, в косметических целях используют менее 30 ЕД. Летальная доза Botox для человека массой 70 кг составляет 2500–3000 ЕД.

В картине ингаляционного поражения очищенным БТ присутствуют симптомы, входящие в бульбарный синдром. Офтальмологический синдром проявляется минимально, гастроэнтерический – отсутствует.

Возникновение вспышки случаев нисходящего и прогрессивного бульбарного паралича у безлихорадочных больных может служить основанием для предположения о ботулинической интоксикации.

На искусственное применение БТ указывают:

– наличие большого числа случаев острого ботулизма, не имеющего связи с консервированными продуктами (в России основной источник ботулинического микроба – консервированные грибы);

– обнаружение в пище серотипов БТ, обычно не встречающихся в регионе, либо серотипов D-, F-, G- и E- типов без связи с продуктами водного происхождения;

– связь вспышки с каким-то общим географическим фактором (аэропорт, кинотеатр, метро, учреждение и др.), но без указаний на прием общей пищи;

– множество одновременно возникших вспышек без общего источника БТ.

Последние 2 позиции характерны для ингаляционного поражения.

Парентеральное отравление БТ можно предполагать при наличии в анамнезе пациента указаний на получение им каких-то царапин или инъекций в течение ближайших 48 ч. При умышленном внутривенном введении БТ человеку в картине отравления первым специфическим симптомом будет птоз. Симптом появляется уже через несколько часов после введения токсина. Затем появляются проявления развития бульбарного синдрома и дыхательной недостаточности.

Поражение аэрозодем БТ можно предполагать, если связь вспышки болезни с контаминированными продуктами либо с инъекциями препаратов на основе БТ невозможно. При этом в первоначальной симптоматике преобладают симптомы бульбарных нарушений, но симптомы расстройства ЖКТ отсутствуют. Аэрозолированный токсин обычно не поддается идентификации в сыворотке или испражнениях, хотя при пищевом ботулизме это возможно.

Однако токсин может присутствовать на слизистых оболочках носа и может быть обнаружен методом ELISA в течение 24 ч после вдыхания [22, 23]. При ботулизме наблюдают фатальное развитие пневмоний, прежде всего вследствие уменьшения у больных объема внешнего дыхания. Вместе с тем превентивное назначение антибиотиков при ботулизме не предотвращает наступление этого осложнения. Наиболее грозные осложнения, нередко ведущие к летальному исходу, – дыхательные расстройства, которые могут наступить в любой период ботулизма. В начальную стадию их отличают учащение дыхания до 40 в мин, двигательное беспокойство больного, втягивание межреберных промежутков, паралич диафрагмы, вовлечение в процесс дыхания плечевой мускулатуры. Уже в эту стадию необходимо перевести больного на ИВЛ.

Клинический диагноз ботулизма основывается в основном на данных анамнеза и физикального обследования. При естественно-встречающемся ботулизме бактерии могут быть выделены из кала, крови или образцов пищи. При биотеррористических атаках, когда человек поражается аэрозодем токсина, традиционные микробиологические тесты

не помогают. Методы генотипирования являются приемлимыми только в том случае, если исследуемый образец содержит бактерии или их осколки (остатки). Золотым стандартом в плане диагностики ботулизма является реакция нейтрализации на мышах. Основным недостатком этого теста является получение результатов не ранее чем через 96 ч и недостаточно существенная чувствительность. Современный метод диагностики ботулизма – эндопептидная масс-спектрометрия является неограниченно чувствительным методом в плане выявления поражения и существенно ограничивает использование реакции нейтрализации на мышах. Проведение электромиографии может существенно помочь в плане клинической диагностики для выявления типичных изменений, характерных для ботулизма. Лабораторная диагностика отравления БТ иммунологическими методами затруднительна. Количество токсина, способное вызвать поражение человека, настолько мало, что антитела к нему не образуются.

При введении гетерогенной противоботулинической сыворотки может развиваться анафилактический шок, а в более поздние сроки (на 10–12-е сутки после ее использования) – сывороточная болезнь. В последнее время появился ряд сообщений о достаточно часто возникающем миокардите в качестве осложнения ботулизма. Его течение по клиническим проявлениям и прогноз сходны с миокардитом при дифтерии. Без современных методов лечения летальность может составлять до 60 % заболевших.

4.2. Характеристика токсина столбнячной инфекции

Столбняк (Tetanus) – особо тяжелая, острая, сапрозоонозная (обитатель почв) бактериальная инфекция с контактным механизмом передачи возбудителя, характеризующаяся выделением смертельного токсина, поражением нервной системы и проявляющаяся приступами генерализованных судорог на фоне мышечного гипертонуса [53–55].

Заболевание известно с древних времён, на связь между ранениями и развитием столбняка обратили внимание ещё врачи древнейших цивилизаций Египта, Греции, Индии и Китая.

Название болезни и первое описание её клинических проявлений дано Гиппократом, у которого от столбняка умер сын. Изучением этого заболевания занимались Гален, Цельс, Аретей, Авиценна,

Амбруаз Парэ и другие знаменитые врачи древности и средневековья. Столбнячная палочка впервые обнаружена русским хирургом Н.Д. Монастырским (1883 г.) в трупах умерших людей и немецким ученым А. Николайером (1884 г.) в абсцессах при экспериментальном столбняке у животных. Чистую культуру возбудителя выделил японский бактериолог Ш. Китазато (1887 г.). Позднее он получил столбнячный токсин (1890 г.) и совместно с немецким бактериологом Э. Берингом предложил антитоксическую сыворотку для лечения столбняка. Французский иммунолог Г. Рамон разработал метод получения столбнячного анатоксина (1923–1926 гг.).

С начала XIX в. возбудителя столбняка стали активно изучать, так как заметили, что во время войн происходит массовое заражение с летальными исходами среди военнослужащих. Позднее был создан столбнячный анатоксин, применяемый для массовой профилактики, что позволило значительно снизить риск заболеваемости и смертности от столбняка [56–58].

Возбудитель столбняка – грамположительная, подвижная, облигатно анаэробная спорообразующая бактерия *Clostridium tetani* семейства *Vacillaceae*. Споры располагаются терминально, придавая бактериям вид «барабанных палочек» или «теннисных ракеток». По форме напоминает барабанные палочки или теннисные ракетки за счет располагающихся на конце спор, по бокам которых расположены до 20 длинных жгутиков (они обуславливают активное проникновение и дальнейшее передвижение по организму). Возбудитель имеет размеры: длина 4–8 мкм и ширина 0,3–0,8 мкм.

Во внешней среде возбудитель столбняка один из самых выносливых, так как образует спору при неблагоприятных условиях и при доступе кислорода.

В испражнениях, почве и на различных заражённых предметах споры сохраняются десятки лет, поэтому почва является неиссякаемым резервуаром столбняка. Выдерживают нагревание до 90 °С в течение 2 ч, при кипячении погибают только через 1–3 ч, в сухом состоянии переносят нагревание до 150 °С, в соленой морской воде живут до 6 месяцев. Гибнет в течение 14 ч от 1 %-ного раствора сулемы, формалина и 5 %-ного раствора фенола. К действию ультрафиолетового излучения (УФИ) устойчив.

В анаэробных условиях, при температуре 37 °С, достаточной влажности и в присутствии аэробных бактерий (например, стафилококков)

споры прорастают в вегетативные формы. Вегетативные формы столбнячной палочки погибают в течение нескольких минут при кипячении, через 30 мин – при 80 °С. Антисептики и дезинфектанты убивают возбудитель столбняка в течение 3–6 ч. В странах с тёплым климатом возможна вегетация спор непосредственно в почве [59, 60].

Споры столбнячной палочки, попадая в благоприятные анаэробные условия через дефекты кожных покровов, прорастают в вегетативные формы и выделяют самый сильный экзотоксин, относящийся к высокомолекулярным протеинам. По силе он уступает лишь ботулиновому токсину. Его минимальная смертельная доза – 2 нг/кг. Этот токсин состоит из двух фракций – экзотоксин (тетаноспазмин), цитотоксин (тетанолизин или тетаногемолизин) и так называемой низкомолекулярной фракции, усиливающей синтез ацетилхолина (протеин, усиливающий синтез ацетилхолина) [61].

Тетанолизин (тетаногемолизин) – выделяется из клеток возбудителя с первых суток, но его роль в развитии патогенеза до сих пор не имеет однозначного объяснения. Известно лишь то, что он разрушает эритроциты, тем самым вызывая гемолиз, и подавляет фагоцитоз (пожирание клетками иммунной системы самого возбудителя) – эти два направления определяют быстрое проникновение возбудителя к цели (нервная система), что значительно сокращает инкубационный период и делает развитие симптомов более стремительным. Тетанолизин проявляет гемолитическое, кардиотоксическое и летальное действия, вызывает развитие местных некротических поражений. В патогенезе заболевания этот токсин играет менее важную роль. Максимальное накопление токсина в культуре наблюдают уже через 20–30 ч. Процессы его образования не связаны с синтезом тетаноспазмина. Низкомолекулярная фракция усиливает секрецию медиаторов в нервно-мышечных синапсах [62–64].

Токсин гематогенным, лимфогенным и периневральным путями распространяется по организму и прочно фиксируется в нервной ткани. Тетаноспазмин – один из самых сильных биологических ядов. Представляет собой полипептид с «дистанцированным» механизмом действия, так как бактерии редко покидают пределы первичного очага инфицирования. Токсин фиксируется на поверхности отростков нервных клеток, проникает в них (за счёт опосредованного лигандами эндоцитоза) и путём ретроградного аксонного транспорта попадает в ЦНС. Механизм действия связан с подавлением высвобождения тор-

мозжных нейромедиаторов (в частности, глицина и у-аминомасляной кислоты) в синапсах (токсин связывается с синаптическими белками синаптобревином и целлюбревином). Первоначально токсин действует на периферические нервы, вызывая местные тетанические сокращения мышц.

Тетаноспазмин – вторая составляющая экзотоксина, которая выделяется только при распаде (то есть после фагоцитоза) и действует по следующему принципу – избирательно поражает синаптобревин (трансмембранный белок-переносчик секреторных везикул-пузырьков клетки, участвующих в выбросе тормозных медиаторов в синапс), что приводит к неконтролируемым мышечным сокращениям, так как идут только процессы возбуждения без тормозных медиаторов. Токсин избирательно блокирует тормозящее действие вставочных нейронов на мотонейроны, нарушая координацию эфферентных рефлекторных дуг. Импульсы, спонтанно возникающие в мотонейронах, беспрепятственно проводятся к поперечнополосатым мышцам, обуславливая их тоническое напряжение. Судорожные сокращения мышц провоцируются афферентной импульсацией от тактильных, слуховых, обонятельных и других рецепторов. Длительные сокращения мышц приводят к развитию гипертермии и большим энергозатратам, способствующим развитию метаболического ацидоза.

Ацидоз усугубляется дыхательной недостаточностью, вызываемой уменьшением минутного объема вентиляции легких за счет тонического напряжения диафрагмальных и межреберных мышц. Блокада нейронов ретикулярной формации ствола мозга способствует торможению парасимпатической нервной системы и может также приводить к поражению дыхательного и сосудодвигательного центров, с возможной остановкой дыхания и сердечной деятельности.

Возбудитель в виде спор проникает в организм человека через повреждённые кожные покровы и слизистые оболочки. При анаэробных условиях (глубокие колотые раны, раны с глубокими карманами или некротизацией разможжённых тканей) в ранах происходят развитие и размножение вегетативных форм, сопровождающиеся выделением экзотоксина. По двигательным волокнам периферических нервов и с током крови тетаноспазмин проникает в спинной, продолговатый мозг и ретикулярную формацию ствола, где фиксируется главным образом во вставочных нейронах полисинаптических рефлекторных дуг. Связанный токсин не поддается нейтрализации.

Развивается паралич вставочных нейронов с подавлением всех видов их синаптического тормозного действия на мотонейроны. Вследствие этого усиливается некоординированное поступление двигательных импульсов от мотонейронов к мышцам через нервно-мышечные синапсы. Пропускная способность последних повышается из-за усиления секреции ацетилхолина под действием низкомолекулярной фракции. Непрерывный поток эфферентной импульсации поддерживает постоянное тоническое напряжение скелетной мускулатуры.

Одновременно усиливается и афферентная импульсация в ответ на воздействие тактильных, слуховых, зрительных, обонятельных, вкусовых, температурных и барораздражителей. При этом периодически возникают тетанические судороги. Мышечное напряжение ведёт к развитию метаболического ацидоза. На его фоне усиливаются как тонические, так и тетанические судороги, ухудшается сердечная деятельность, создаются предпосылки для вторичных бактериальных осложнений. Сердечно-сосудистые расстройства (тахикардия, артериальная гипертензия, аритмия, фибрилляция желудочков) усугубляются за счёт развивающейся при столбняке гиперактивности симпатической нервной системы. Повышается возбудимость коры и ретикулярных структур головного мозга. Возможно поражение дыхательного и сосудодвигательного центров и ядер блуждающего нерва (бульбарный столбняк), что нередко приводит к смерти больных. Другие причины, обуславливающие летальный исход, могут быть связаны с асфиксией вследствие судорог и развитием осложнений (пневмонии, сепсиса). От глубины и распространенности поражения нервной системы зависит тяжесть заболевания, органичных нарушений, а также прогноз заболевания.

В обычных условиях входными воротами инфекции являются не тяжелые раны и ожоги, а мелкие бытовые травмы (проколы, ссадины и т. п.). Больные эпидемиологической опасности не представляют. Попадание экзотоксина в желудочно-кишечный тракт не приводит к развитию болезни. Столбняк военного времени связан с обширными ранениями.

Восприимчивость к столбняку высокая. Столбняк встречается во всех регионах земного шара, но частота заболеваемости и процент летальных исходов возрастает по мере приближения к экватору. Нет, ни сезонности, ни возрастных и половых ограничений, а относительно географических границ – повсеместное распространение – проблема

имеет глобальное значение, смертность при заражении всегда оставляет высокую стабильность. Столбняк вызывается жизнедеятельностью бактерий, которые проникают в организм через раны и прочие повреждения кожного покрова. Самые благоприятные условия для размножения возбудителей столбняка формируются в жаркой и влажной среде, поэтому наибольшее количество смертей от столбняка регистрируется в экваториальных странах Африки, Азии и Латинской Америки. Впрочем, и в относительно благополучной Европе столбняк каждый год уносит тысячи жизней, поэтому говорить о ее безопасности для развитых регионов пока что не приходится.

В странах с невыраженной сменой сезонов (тропики и субтропики) заболевание встречается круглогодично, в странах с умеренным климатом имеет ярко выраженный сезонный характер (конец весны – начало осени).

Частота заболевания – 10–50 случаев на 100 тыс. населения в развивающихся странах и 0,1–0,6 – в странах с обязательной иммунопрофилактикой.

80 % случаев столбняка приходится на новорожденных (при инфицировании через пуповину), а также на мальчиков до 15 лет из-за их повышенного травматизма. Среди взрослых около 60 % случаев столбняка приходится на лиц пожилого возраста. Наибольший процент заболевших и умерших наблюдается в сельской местности.

Чтобы понять всю тяжесть столбняка, достаточно знать о том, что от 30 до 50 % пациентов умирают, даже если им сделана прививка против столбняка. В регионах, где медицинская помощь развита очень слабо, смертность пациентов может достигать 85–90 %.

Даже применение современных методов лечения не позволяет снизить показатели смертности ниже 17–25 % заболевших. Эти цифры сохраняются из-за развития в настоящее время осложнений, таких как пневмония, сепсис и паралич сердца, вызываемый токсином бактерий [65]. В регионах, где отсутствуют профилактические прививки и квалифицированная медицинская помощь, смертность составляет около 80 %. Смертность у новорожденных достигает 95 %.

В мире ежегодно регистрируется около 61 тыс. смертей. Однако, учитывая возможность большого количества незарегистрированных случаев и невыраженных форм болезни (особенно у новорожденных), общие потери от столбняка на планете можно оценить в 350–400 тыс. человек ежегодно [66].

В культурах токсин появляется на 2-е сутки, достигая пика образования к 5–7-му дню. Возбудитель приобретает патогенные свойства только при попадании на поврежденные ткани живого организма, лишённые доступа кислорода. Особенно опасны колотые или имеющие глубокие карманы раны, где создаются условия анаэробно-биоза.

Заболевание может развиваться при глубоких ранениях и повреждениях кожи и слизистых оболочек (проколы, занозы, порезы, потёртости, размозжения, открытые переломы, ожоги, отморожения, укусы, некрозы, воспалительные процессы), ожогах и обморожениях, при родах, у новорожденных через пуповину, обрезанную нестерильным инструментом, а также при некоторых воспалительных заболеваниях, при которых создаётся контакт очага воспаления с окружающей средой (гангрена, абсцессы, язвы, пролежни и т. д.). Операционные раны, особенно на толстой кишке и ишемизированных конечностях, могут стать входными воротами для инфекции с последующим развитием послеоперационного столбняка. Вмешательства по поводу аборта вне медицинских учреждений могут стать причиной постабортального столбняка. Возможность передачи возбудителя от больного здоровому человеку отсутствует.

Частой причиной заражения бывают микротравмы нижних конечностей – ранения, уколы острыми предметами, колючками, даже занозы. Так, отец известного русского поэта В.В. Маяковского заразился столбняком через царапину, оставленную иголкой.

Также заболевание может быть вызвано укусами ядовитых животных, пауков и пр. (из пауков опасен род *Poecilotheria*)

В природе резервуаром и источником инфекции являются травоядные животные, грызуны, птицы и человек, в кишечнике которых обитает возбудитель; последний выделяется во внешнюю среду с фекалиями. Столбнячная палочка также широко распространена в почве и других объектах внешней среды, где она может размножаться и долго сохраняться. Таким образом, возбудитель имеет два взаимосвязанных и взаимообогащаемых мест обитания, а следовательно, и два источника возбудителя – кишечник теплокровных и почву. Значимость того или иного источника, по-видимому, в значительной мере обусловлена климатогеографическими условиями местности. Наиболее благоприятны для вегетации и сохранения микроорганизма чернозёмные и краснозёмные, богатые гу-

мусом почвы, а также почвы, хорошо удобренные органическими веществами. Из почвы с пылью бактерии могут попадать в любые помещения (в том числе перевязочные и операционные блоки), на различные предметы и материалы, применяемые в хирургической практике (различные порошки, гипс, тальк, лечебные глины и грязь, вату и др.).

Частота носительства спор столбнячной палочки человеком варьирует от 5–7 до 40 %, причем повышенную степень носительства отмечают у лиц, профессионально или в быту соприкасающихся с почвой или животными (сельскохозяйственных рабочих, конюхов, доярок, ассенизаторов, работников парников и др.). *S. tetani* обнаруживают в содержимом кишечника коров, свиней, овец, верблюдов, коз, кроликов, морских свинок, крыс, мышей, уток, кур и других животных с частотой 9–64 %. Обсеменённость помёта овец достигает 25–40 %, что имеет особое эпидемиологическое значение в связи с использованием тонкой кишки овец для изготовления хирургического кетгута.

Заболеваемость столбняком – спорадическая, в виде не связанных друг с другом случаев. Зональное распространение инфекции обусловлено как климато-географическими, так и социально-экономическими факторами. Сезонность заболевания весенне-летняя. Среди заболевших преобладают жители сельской местности, дети и лица пожилого возраста; именно в этих группах регистрируют большинство летальных исходов. В связи с широким проведением активной иммунизации в настоящее время столбняк новорожденных не регистрируют. Наличие постоянного резервуара инфекции в почве определяет возможность заражения в результате мелких бытовых травм. По-прежнему встречаются случаи внутрибольничного заражения столбняком при операциях на конечностях, гинекологических операциях. Болеть могут все теплокровные животные.

Эпидемиологических мероприятий в очаге болезни не проводят. Иммунитет после болезни не развивается. Выздоровление после клинической формы столбнячной инфекции не обеспечивает защиты от нового заболевания. Небольшое количество столбнячного токсина, достаточное для развития заболевания, не обеспечивает продукцию необходимых титров антител. Поэтому все больные с клиническими формами столбняка должны быть обязательно иммунизированы

столбнячным анатоксином – сразу же после постановки диагноза или после выздоровления.

Столбняк классифицируют в зависимости от характера входных ворот инфекции (посттравматический, поствоспалительный и криптогенный столбняк), а также от распространенности процесса (генерализованный и местный). Важно подчеркнуть, что местный столбняк является крайне редкой формой заболевания. Столбняк относится к генерализованным, неонатальным (генерализованная форма у детей до 1 мес.), локальным и цефалическим (столбняк локализуется в области головы) поражениям. Генерализованный и неонатальный столбняк поражает мышцы всего тела и приводит к опистотону (ригидность разгибательных мышц шеи и спины) и может вызвать дыхательную недостаточность и смерть, обусловленную ригидностью и спазмами дыхательной мускулатуры и трахеи. Локальный и цефалический столбняк встречаются в небольшом проценте случаев; они могут развиваться в процессе генерализованной формы.

Типичными проявлениями столбняка вне зависимости от того локальный/цефалический или генерализованный/неонатальный столбняк являются тризм/столбняк, *tismus sardonicus*, дисфагия, жесткость шеи, абдоминальная ригидность, опистотонус, то есть гиперактивность мышц головы, шеи и позвоночника. Конечности, как правило, менее поражаемы, но полный опистотонус имеется в отношении сгибателей рук и разгибателей ног. Тризм является начальным симптомом при локальном/цефалическом и генерализованном столбняке, но заболевание может проявляться в виде какой-либо формы, описанной выше. Кроме того, при поражениях столбнячным токсином могут иметь место общая мышечная боль, локальные вялые параличи и обычные симптомы, отражающие нервную инактивацию, а именно диплопия, нистагм, головокружение.

Инкубационный период столбняка может составлять от нескольких суток до месяца, но наиболее часто 3–14 сут. При этом, чем короче инкубационный период, тем тяжелее протекает болезнь. Этот момент считается от начала внедрения возбудителя до первых клинических признаков. Как только происходит контакт возбудителя с открытой раневой поверхностью, происходит его фиксация и размножения в месте внедрения, по ходу действия фагоцитоза происходит выделение из клеток возбудителя части экзотоксина – тетаноспазми-

на. Но длительность инкубационного периода объясняется тем, что тетаноспазмин не может непосредственно из крови достигнуть ЦНС, ему приходится проходить долгий этапный путь: из веток сосудов, которые кровоснабжают мышечные волокна, через кровь, происходит контакт с мионевральными синапсами (соединение между мышечными волокнами и двигательными нейронами). Тетаноспазмин связывается сначала с рецепторами, а потом с мембранами этих нервных клеток, проникая через неё непосредственно в клетку, продвигается по волокнам этих нервных клеток к следующим клеткам, достигая, таким образом, ЦНС (притом скорость продвижения этого токсина – 1 см/ч). После этапного прохождения ряда неврогенных структур возникает «судорожный период» с соответствующими симптомами и признаками [67].

Иногда заболевание начинается с продромальных явлений (напряжение и тремор мышц в области проникновения инфекции, головная боль, потливость, раздражительность), но, как правило, первым признаком столбняка является боль тупого, тянущего характера в месте попадания в организм возбудителя, даже если рана полностью зажила. Затем развиваются характерные симптомы столбняка: тризм (судорожное сокращение и напряжение жевательной мускулатуры, затрудняющее отрывание рта), дисфагия (затруднение глотания), ригидность затылочных мышц (не сопровождающаяся другими менингеальными симптомами), «сардоническая улыбка» (специфическое напряжение мимической мускулатуры: наморщенный лоб, суженные глазные щели, губы растянуты, уголки рта опущены).

Сочетания тризма, дисфагии, «сардонической улыбки» и напряженности затылочных мышц является типоспецифическим симптомокомплексом, позволяющим безошибочно поставить или хотя бы заподозрить столбняк на ранних стадиях [68].

Разгар заболевания характеризуется тоническими, довольно болезненными судорогами мышц туловища и конечностей. Напряжение мускулатуры становится постоянным (даже во сне). На третий-четвертый день заболевания происходит одеревенение мышц брюшной стенки, движение в конечностях ограничено (ноги вытянуты), дыхание учащенное, приобретает поверхностный характер за счет спазма межреберных мышц и диафрагмы. Дефекация и мочеиспускание затруднены, что также связано с напряжением мышц тазового дна, кишечника и мочевыводящих путей.

В результате тотального болезненного напряжения мышц спины развивается опистотонус – вид максимально разогнутого тела: больной выгибается в положении на спине с запрокинутой головой, в результате гипертонуса мышц разгибателей поясница выгибается в виде дуги таким образом, что между ней и постелью можно просунуть руку.

При этом в напряженных мышцах периодически возникают внезапные тетанические судороги, первоначально продолжающиеся несколько секунд, с прогрессированием заболевания, удлиняющиеся до нескольких минут. Лицо больного приобретает цианотичный оттенок, контуры мышц четко прорисовываются, опистотонус усиливается. В это время больные испытывают интенсивные боли и затруднение дыхания (одышка), часто стонут, хватаются руками за края кровати. Температура тела повышается (особенно на лице), возникает усиленное потоотделение, слюнотечение. При физикальном обследовании отмечают тахикардию, иногда артериальную гипертензию. При этом больной все время находится в ясном сознании, нарушения сознания (спутанность и бред) возникают незадолго до летального исхода.

Судороги при столбняке часто называют тонико-клоническими. На момент этих судорожных приступов возникает полная скованность, судороги очень болезненны, возможность движения сохраняется только в кистях и стопах – это ещё один важный дифференциально-диагностический признак, но уже на более поздних этапах. Эти судороги могут возникнуть в результате любых, даже самых незначительных раздражителей – тактильных, слуховых, зрительных. И самое страшное в этом заболевании то, что на момент этих невероятно болезненных судорожных приступов человек остаётся в полном сознании и, при присоединении декомпенсации со стороны органов и систем, наступает медленная и мучительная смерть, но человек до самого конца остаётся в сознании.

Наиболее опасным периодом для жизни больного является 10–14 сут болезни. В это время нарастающий метаболический ацидоз вызывает гипертермию, гиперсаливацию и повышенное потоотделение, способствует развитию полиорганной недостаточности. Возникают тяжелые нейрогенные нарушения в связи с глубоким токсическим поражением мозга, высока вероятность паралича сердечной мышцы, асфиксии. В связи с нарушением вентиляции легких не-

редко присоединение инфекции и развитие вторичных пневмоний. Частые судороги способствуют возникновению изнуряющей бессонницы.

В случае перенесения критической фазы заболевания происходит постепенное стихание клинических признаков и наступает фаза реконвалесценции, продолжающаяся около полутора-двух месяцев до полного исчезновения симптоматики.

Столбняк может протекать с различной степенью тяжести, которая определяется по совокупности и выраженности признаков.

Легкое течение характеризуется инкубационным периодом более 20 сут, умеренным опистотонусом и выраженностью мимического спазма, отсутствием тонических судорог (или незначительной их интенсивностью и частотой). Температура при этом сохраняется в нормальных или субфебрильных пределах. Нарастание симптоматики заболевания обычно занимает 5–6 сут.

При среднетяжелом течении инкубационный период составляет 15–20 сут, нарастание признаков занимает 3–4 сут, несколько раз в сутки возникают судороги, отмечается субфебрильная температура и умеренная тахикардия.

Тяжелая форма столбняка проявляется укороченным инкубационным периодом (1–2 нед.), быстрым нарастанием симптомов (в течение 1–2 сут), типичной клиникой с часто возникающими судорогами, выраженной потливостью, тахикардией, лихорадкой. Тоническое напряжение захватывает межрёберные мышцы, диафрагму и голосовую щель. С этого момента высок риск летального исхода из-за остановки дыхания в результате спазма дыхательной мускулатуры или в результате непосредственного поражения дыхательного и сосудодвигательного центра в продолговатом мозге.

Формирование полиорганной недостаточности возможно как на высоте клинических проявлений, так и в виде следствия после перенесённого заболевания. Изменения наблюдаются со стороны кислотно-щелочного состояния крови, также со стороны сердечно-сосудистой и дыхательной систем:

– повышается АД, развивается тахикардия с возможным развитием аритмии;

– из-за остановки дыхания развивается цианоз, а если приступы слишком частые, то постепенно формируется ацидоз, что усугубляет общее состояние и замыкает сформировавшийся порочный круг,

а именно делает возбудимость ещё более лёгкой и ещё больше поражают центр продолговатого мозга, усугубляются дыхательные и сердечно-сосудистые нарушения. Также встречается очень тяжелая форма столбняка (молниеносная), при которой инкубационный период составляет не более недели, клиника развивается в течение нескольких часов, тонические судороги возникают каждые 3–5 мин, выраженные нарушения со стороны органов и систем, цианоз, угроза асфиксии, паралича сердца и т.д.

Особенно тяжелое течение отмечают при бульбарном, нисходящем столбняке Бруннера, при котором максимальное поражение охватывает мускулатуру лица, шеи, голосовых связок, дыхательные и глотательные группы мышц, диафрагму. При этой форме характерно поражение дыхательного и сосудодвигательного ядер блуждающего нерва, что чревато нейрогенной остановкой сердца и дыхания.

Иногда (в редких случаях) может отмечаться восходящий столбняк, начинающийся с болезненных подергиваний периферических мышц и постепенно генерализующийся с развертыванием типичной симптоматики.

Также к редким формам относят местный столбняк, возникающий при ранениях головы и характеризующийся параличом лицевых мышц по типу «сардонической улыбки» с ригидностью затылочных мышц и двусторонним (иногда поражение стороны ранения выражено больше) парезом черепно-мозговых нервов (лицевой паралитический столбняк Розе).

Тяжелыми осложнениями столбняка с высокой вероятностью летального исхода является асфиксия и остановка сердца. Кроме того, столбняк может способствовать возникновению переломов костей, разрывов мышц, компрессионной деформации позвоночного столба. Нередким осложнением столбняка является пневмония, может развиться коронарный спазм и инфаркт миокарда.

Во время выздоровления иногда отмечаются контрактуры, параличи третьей, шестой и седьмой пар черепно-мозговых нервов.

В развивающихся странах столбняк новорожденных (заражение происходит при попадании столбнячной палочки в рану после усечения пуповины) является одной из распространенных причин младенческой смертности.

Столбняк новорождённых – отдельная форма заболевания, так как заболевание протекает стремительнее, и смерть наступает ещё до

наступления типичных клинических проявлений. Вначале у ребёнка нарушается акт глотания и сосания, наблюдается отказ от груди. Тетанические судороги сопровождаются криком, тремором нижней губы, подбородка и языка, присоединяется непроизвольное мочеиспускание и дефекация. Во время приступа также наблюдается цианоз и блефароспазм (спазм век – как сильное зажмуривание). Возникает у новорождённых, матери которых не были привиты, то есть те дети которые не получили пассивный иммунитет от матерей. У новорождённых столбняк может осложниться сепсисом [69].

К осложнениям столбняка в первую очередь относятся переломы костей, отрыв и разрыв мышц, мышечные контрактуры, разрывы суставов. К менее опасным и возникающим на поздних этапах выделяют вторичные бактериальные инфекции (пневмония, пиелонефрит, сепсис, ателектаз лёгких). При обширных осложнениях возникают абсцессы и флегмоны в воротах инфекции. Но в повседневной жизни относительно ворот инфекции картина диаметрально противоположная – ворота инфекции зачастую вообще невозможно найти.

Профилактика столбняка включает иммунизацию столбнячным анатоксином и применение адекватной и правильной обработки поврежденных участков тела человека. Особо актуален такой подход для профилактики неонатального столбняка. Адекватная иммунопрофилактика столбняка у беременных женщин способствует существенному снижению неонатального столбняка, поскольку материнские противостолбнячные антитела трансформируются через плаценту к плоду в утробе матери.

Наконец, в литературе описаны случаи применения препаратов ботулотоксина Botox® и Dysport® в качестве средств борьбы с проявлениями ригидности и спазмов при столбняке на ранней стадии болезни.

4.3. Характеристика токсинов раневых клостридиозов

Газовая гангрена (Gas gangrene, анаэробная гангрена, гнилостная инфекция, газовая флегмона, рожа фронтальная, злокачественный отек, антонов огонь и др. – всего в перечне 67 названий) – чрезвычайно тяжелое острое сапронозное инфекционное заболевание с контактным механизмом передачи возбудителя, вызываемое рядом микробов –

кlostридий (*Cl. perfringens*, *Cl. septicum*, *Cl. oedematiens*, *Cl. histolyticum* и др.), развивающихся без доступа кислорода [70–74]. Возникает в глубоких рвано-ушибленных или огнестрельных, разможенных обширных ранах с карманами и углублениями при нарушении местного кровообращения, а также при открытых переломах, поражениях толстого кишечника и пр. Даже небольшая рана может осложниться анаэробной инфекцией. Вероятность возникновения увеличивается при массивном разрушении мышц, а также при загрязнении раневой поверхности землей, пылью или обрывками одежды. Особенно часто встречается в военное время, почти исключительно на конечностях (обычно на нижних).

Хотя газовая гангрена в мирных условиях встречается редко, о ней всегда нужно помнить при любых ранениях, как конечностей, так и туловища. Наиболее вероятно развитие газовой гангрены при транспортных и шахтных травмах с локализацией ранений в области бедер, ягодиц; у лиц, обслуживающих крупный рогатый скот, свиней, овец, коз, особенно если несчастный случай произошел в том месте, где содержатся животные, и рана загрязнена навозом.

Газовая гангрена, как специфическое осложнение ран, известна еще со времен Гипократа. О ней много сказано в описаниях всех войн в истории, главным образом из-за ее драматических проявлений и очень высокой смертности, с ней связанной.

В литературе есть утверждение, что трагическая смерть гениального французского писателя Оноре де Бальзака, возможно, была следствием газовой гангрены ноги [70]. Академик Б.В. Петровский обосновал версию анаэробной инфекции как непосредственной причины смерти А.С. Пушкина [71]. Кстати, герой романа И.С. Тургенева «Отцы и дети» Базаров, судя по описанию, также умер от анаэробной гангрены [70].

Точной, официально обобщенной статистики частоты возникновения раневых осложнений, летальности и уровня инвалидности, вызванных анаэробной клостридиальной инфекцией, не существует, так как публикация статистических сведений была запрещена [70].

Частота развития анаэробной газовой гангрены в огнестрельных ранах во время Первой мировой войны колебалась в зависимости от времени года, характера боевых действий, местности, на которой велись бои, организации медицинской помощи и составляла в среднем у 1,5–2,0 % раненых. Число жертв от анаэробной газовой инфекции

во время Первой мировой войны, по данным Н.Н. Бурденко, приближается к 200 тыс.

Во время Великой Отечественной войны масштабы людских потерь от газовой гангрены в абсолютных цифрах были очень значительны, поэтому главный хирург Советской армии академик Н.Н. Бурденко признал анаэробную газовую инфекцию стратегической [70]. Так от анаэробной инфекции конечностей погибали 30–35 % пациентов, а ампутации конечностей были выполнены 50 % раненым.

Точных сведений о частоте развития анаэробной клостридиальной инфекции, летальности и инвалидности во время Второй мировой войны в доступной литературе не опубликовано. По данным некоторых авторов, погибли от газовой гангрены более 22 тыс. раненых [70].

По данным Т.Л. Симаковой, в период Великой Отечественной войны при обследовании 262 раненых в нижние конечности в 123 случаях была обнаружена *Cl. perfringens* типа А, у 77 раненых упомянутый возбудитель выделялся в ассоциации с другими патогенными анаэробами, *Cl. oedematiens* были выделены у 62 человек. Из 262 обследованных клиническая картина РАИ развивалась у 135 человек. Эти микроорганизмы выделялись из содержимого ран в 20–80 % случаев [75–78]. При этом следует отметить, что наибольшее значение в развитии РАИ придается *Cl. perfringens* типа А, которые идентифицируются в 80–100 % случаев развития данной инфекции [76, 79].

В естественных условиях газовая инфекция в 80 % случаев вызывается ассоциациями анаэробных и аэробных бактерий, причем патологический процесс обуславливается комплексным действием входящих в ассоциацию бактериальных тел, их токсинов и ферментов, а также ядовитыми продуктами распада бактерий и тканей организма [2]. Попадающие в рану вместе с возбудителями газовой инфекции сопутствующие микробы могут подавить их развитие, но могут способствовать их размножения и отягощать заболевание.

В мирное время раневая клостридиальная газовая инфекция встречается редко. Однако следует помнить, что она является наиболее опасным для жизни и тяжелым осложнением ран любого происхождения. Если анаэробная газовая инфекция своевременно не распознана и не начато адекватное лечение, погибают от 70 до 100 % заболевших [70].

Возбудитель – спорообразующая анаэробная бактерия из семейства *Bacillaceae* рода *Clostridium*, постоянно обитающая в кишечнике

человека и домашних травоядных животных. Может высеваться с кожи и из фекалий практически здоровых лиц. У раненых обычно обнаруживают четыре анаэробные клостридии: *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *Cl. histoliticum*, *Cl. septicum*. Возбудитель открыт в 1861 г. Л. Пастером (выделил из трупа коровы) [70]. В 90 % случаев возбудителем газовой гангрены является *Clostridium perfringens*, которая дифференцируется по серологическим типам (А, В, С, D, E, F, G), отличающимся по антигенным свойствам. Наибольшее значение имеют *Cl. perfringens* типа А.

Вирулентность *Cl. perfringens* в основном проявляется способностью продуцировать 16 различных токсинов и внеклеточных ферментов. Однако нет ни одного штамма, продуцирующего эти токсические продукты одновременно. В общем виде, благодаря использованию типичной классификационной системы, известные к настоящему времени *Cl. perfringens* делятся на типы от А до Е, что основано на способности продуцировать 4 типа токсинов, как показано в табл. 4.3.

Помимо способности продуцировать один или более экзотоксинов, некоторые штаммы *Cl. perfringens* продуцируют дополнительные токсины, такие как *Cl. perfringens* энтеротоксин (СРЕ) или В-подобный токсин, вызывающий некротический энтерит (NetB), которые также имеют важное значение в развитии некоторых заболеваний. Многие важные токсины *Cl. perfringens* кодируются большим количеством плазмид, которые имеют важное значение в патогенезе вызываемых ими поражений. Некоторые свойства ключевых токсинов *Cl. perfringens* представлены в табл. 4.4.

Из представленной таблицы видно, что *Cl. perfringens* продуцируют достаточно представительное количество токсинов: CPA, CPB,

Таблица 4.3

Типы *Cl. perfringens* и продуцируемые ими токсины

Тип возбудителя	Продуцируемые экзотоксины			
	Альфа	Бета	Эпсилон	Йота
А	+	–	–	–
В	+	+	+	–
С	+	+	–	–
Д	+	–	+	–
Е	+	–	–	+

Таблица 4.4

Свойства ключевых токсинов *Cl. perfringens* [85, 86]

Тип токсина	Код продукции	Молекулярная масса (кДа)	Величина ЛД ₅₀ для мышей	Биологическая активность	Тип активности
CPA	C	43	3 мкг	Некротизирующая, гемолитическая, сокращение гладкой мускулатуры	Фосфолипаза C; активирующий сигнал для клеток хозяина
CPB	P	35	<400 нг	Дермонекротическая, отек, сокращение гладкой мускулатуры	Порообразование
ETX	P	34	100 нг	Дермонекротическая, отек, сокращение гладкой мускулатуры	Порообразование
ITX	P	Ia – 48; Ib – 72	40 нг	Некротизирующая	Активация АДФ-рибозилирования
PFO	C	54	15 нг	Некротизирующая	Порообразование
CPE	C/P	35	81 мкг	Эритема, энтеротоксичность	Порообразование
CPB2	P	28	160 мкг	Дермонекроз, отек, энтеротоксичность	Нет данных
TpeL	P	191	600 мкг	Нет данных	Гликозилирование
NetB	P	33	Нет данных	Гемолитическая	Порообразование

Примечание. C – хромосомный; P – плазида; ЛД₅₀ – величина на килограмм массы при внутривенном введении.

ETX, ITX, PFO, CPE, CPB2, TpeL, NetB. Хромосомы *Cl. perfringens* могут продуцировать альфа-токсин (CPA или PLC), который представляет собой цинк-металлофосфолипазу C, и обладает активностью фосфолипазы C (PLC) и сфингомиелиназы. Альфа-токсин удаляет фосфорилированные белки из наружной мембраны фосфолипидного слоя клеток хозяина, тем самым нарушая функцию клеточных мембран макроорганизма, что приводит к лизису клеток и тканевому

некрозу [87, 88]. Анализ структуры CPA показал, что он имеет два биологически активных домена: N-концевой домен индуцирует единственный активный сайт фермента и C-концевой β -сендвич домен, который характеризуется цитолитической и токсической активностью. Оба домена являются иммуногенными, но протективный иммунный ответ стимулируется только C-концевым доменом, обладающим структурной близостью C2 липидсвязывающих доменов эукариотических белков, таких как синаптотагмин и панкреатическая липаза [89, 90].

Липидрастворимые продукты этих реакций, диацилглицерол и керамид, являются важными субстратами сигнальных путей клеток хозяина. Прямое повреждение мембран клеток хозяина не является единственным механизмом, которым CPA вызывает лизис клеток. Показано, что CPA активируется посредством MEK/внеклеточным путем благодаря сигнал-регулирующей киназе (ERK) и тем самым индуцируются окислительный стресс и продукция интерлейкина-8 (ИЛ-8) в подвергнутых воздействию клетках. Согласно последним данным, CPA может индуцировать сигнальную трансдукцию и связанные с ней изменения после связывания с ганглиозидным GM1 рецептором [90].

Перфринголизин O (PFO) может продуцироваться всеми типами *C. perfringens*. PFO относится к семейству холестрин-зависимых цитолизинов (CDC), обладающих способностью порообразования, к которым также относятся листериолизин O и стрептолизин O. Эти CDCs продуцируются в виде растворимых мономеров, которые олигомеризуют на поверхности клеток мишеней в виде порового комплекса, который затем претерпевает конформационные изменения и способствует образованию в мембране большой поры. Механизм, благодаря которому PFO проникает в мембрану клеток хозяина, весьма неожиданный. Кристаллическая структура PFO позволяет выявить длинный мономер, который имеет три первичных β -полипептидных домена (D1, D2 и D4) и домен (D3) с ядром из четырех антипараллельных β -полипептидных и 4 α -спиралей. Контакт между D4 и клеточными мембранами приводит к конформационным изменениям в D3. Альфа-спирали превращаются в β -полипептиды, которые вместе с ядром D3 β -полипептидов образуют два внешних амфипатических трансмембранных β -хаирпина, который посредством олигомеризации способствует пенетрации клеточной мембраны и образованию большой

поры, которая может состоять из 50 мономерных субъединиц. В этом процессе структура каждого мономера ужимается до 40 Å [89].

Образование PFO пор приводит к нарушению клеточного протективного барьера, что приводит к осмотическому дисбалансу и клеточному лизису. Однако клеточный лизис может и не быть основным эффектом PFO в инфицированной ткани. Хорошо известно, что CPA и PFO ответственны за потерю лейкоцитами фагоцитарной активности в местах *Cl. perfringens*-опосредованной мионекротической инфекции, а также подобно другим CDC, PFO является агонистом Toll-like рецепторов 4 (TLR4) типа, что способствует индукции TNF-альфа (TNF- α) и IL-6 экспрессии и апоптозу в культуре макрофагов посредством активации p38 MAPK метаболического пути [89, 90].

Cl. perfringens enterotoxin (CPE) – продуцируется несколькими типами клостридий (A, C, D и E), но подобная функция не известна применительно к клостридиям типа B. Первичная аминокислотная последовательность CPE достаточно консервативна (известно только несколько штаммов клостридий типа E, которые продуцируют варибельный CPE) и уникальна, поскольку имеется ее незначительная близость с анейротоксичным HA3 белков, секретируемым *Clostridium botulinum*. В последнее время структура CPE была охарактеризована с использованием рентгенографической кристаллографии, благодаря которой этот токсин был отнесен к семейству аролизинов, включающему малые порообразующие токсины. В дальнейшем подобный структурный анализ и исследования по мутагенезу показали, что CPE содержит C-концевой домен, который связывается с клаудиновыми рецепторами на клетках хозяина и N-концевой домен, состоящий из двух цепей, которые необходимы для порообразования посредством олигомеризации и включения в структуру мембраны [91–93].

Действие CPE начинается с процесса связывания токсина с его рецепторами, которые в своем большинстве относятся к семейству клаудиновых белков. Клаудины представляют собой белки с молекулярной массой ~20–25 кДа и содержат четыре трансмембранных домена и две внеклеточные петли (ECL). CPE связывается через структуру на его C-концевом домене со второй ECL клаудиновых рецепторов. Наиболее важным в таком рецепторном связывании является Asn остаток, локализованный около середины ECL2 на рецепторных клаудинах и Tug остатки, присутствующие в аминокислотах 306, 310 и 312 в C-концевом участке CPE [94–96].

После связывания СРЕ первоначально локализуется в малом ~90 кДа комплексе. При 37 °С СРЕ в малом комплексе быстро олигомеризуется на мембране клетки в форму большого (~450 кДа) препорового комплекса, именуемого СРЕ гексамер 1 (СН-1). В дополнение к 6 копиям токсина, СН-1 содержит рецепторный и нерецепторный клаудины (наличие нерецепторных клаудинов в СН-1 отражает возможность клаудин-клаудин взаимосвязей). СН-1 препоровый комплекс, который образуется в культуре клеток Сасо-2 и тонком кишечнике затем вмонтируются в мембраны посредством β -гарпино образования с СРЕ аминокислотами с 81 по 106. Этот процесс приводит к формированию катион избирательной СРЕ поры, посредством которой происходит проникновение молекул с молекулярной массой <200 Да [94].

СРЕ порообразование повышает уровень Ca^{2+} в цитоплазме, тем самым активируя калмодулин- и калпаинзависимую гибель клеток хозяина через либо каспас 3-опосредованный апоптоз (низкие дозы СРЕ), либо онкоз (высокие дозы СРЕ). Ca^{2+} выход также индуцирует морфологические изменения, которые экспрессируются на базолатеральной поверхности клеток, давая тем самым возможность взаимодействовать с клаудинами и другими белками, именуемыми окклюдинами. Этот процесс ведет к образованию вторичного большого (~550 кДа) СРЕ комплекса, именуемого СН-2, который содержит шесть копий СРЕ, окклюдина и рецепторный и нерецепторный клаудины [95].

СРЕ индуцирует некроз, десквамацию эпителия, а также повреждение ворсинок во всех отделах тонкого кишечника, им активируется эпителий в подвздошной кишке. СРЕ-индуцированные гистологические изменения вероятно вызывают выделение жидкости в просвет кишечника и нарушения транспорта электролитов, поскольку гистологические нарушения способствуют развитию транспортных изменений в СРЕ-обработанного тонкого кишечника кроликов [96].

Бета-токсины (СРВ) кодируются плазмидами и состоят из 20–28 % аминокислотной последовательности и близки с несколькими поробразующими токсинами *Staphylococcus aureus*. Этот токсин достаточно чувствителен к трипсину. В то же время структура СРВ еще недостаточно хорошо изучена, молекулярно генетические исследования показали, что рецептор для связывающей активности СРВ может быть локализован в С-концевом отделе токсина.

СРВ образует ~12 Å каналов, которые являются избирательными для моновалентных катионов. Токсин специфичен только в отноше-

нии нескольких линий клеточных культур, что, возможно, обусловлено особенностями его рецептора на поверхности клетки. В качестве доказательства олигомерного образования под влиянием СРВ используют чувствительную к нему линию клеток HL-60 cells. *In vivo* СРВ вызывает некротический энтерит в результате воздействия на энтероциты и эндотелиальные клетки. Кроме того, в результате продукции в желудочно-кишечном тракте СРВ проникает в циркуляторное русло и вызывает летальную энтеротоксемию.

Бета-2-токсин (СРВ2) характеризуется менее чем 15 % идентичной последовательностью с СРВ. Два основных варианта (не считая множества субвариантов) способны продуцировать все типы *Cl. perfringens*. Интересно отметить, что некоторые *сrb2*-позитивные штаммы имеют статус преждевременного стоп-кодона применительно к их *сrb2*gene; однако *in vitro* применение аминокликозидов индуцировало восстановление СРВ2 продукции этими штаммами. Воздействие на клетку и патофизиологическая активность до настоящего времени остаются не до конца понятными. Однако СРВ2 характеризуется цитотоксичностью для СНО клеток в случае его использования в относительно высоких дозах (20 мкг/мл). Такая низкая активность может отражать нестабильность СРВ2, поскольку обусловлена протеазной чувствительностью токсина. В экспериментальных исследованиях на морских свинках показано, что этот токсин может индуцировать у них развитие геморрагического некроза на уровне желудочно-кишечного тракта [97].

Эпсилон-токсин (ЕТХ) характеризуется как наиболее активный клостридиальный токсин после ботулинического и столбнячного токсинов [98]. Токсин секретируется в виде 296-аминокислотного протоксина, который затем посредством протеолитических превращений под действием химотрипсина и трипсина активируется или *in vitro* активируется под действием лямбда-токсина *Cl. perfringens* [99, 100]. В настоящее время идентифицирован штамм *Cl. perfringens*, который может использовать цитоплазматическую протеазу для частичной активации ЕТХ. Оптимальная активация протоксина имеет место под влиянием комбинации химотрипсина и трипсина, в результате которой удаляется 13 аминокислот с N-концевого и 29 аминокислот с C-концевого участков протоксина. Удаление C-концевых аминокислот наиболее значительно для продукции активного ЕТХ возможно потому, что эти аминокислоты блокируют олигомеризацию токсина [101, 102].

Подобно СРЕ, ЕТХ относится к семейству аэролизинов поробразующих токсинов. В зрелом состоянии белок ЕТХ состоит из трех структурных доменов. Эти домены включают N-концевой домен, который имеет чрезвычайно важное значение в плане рецепторного связывания; средний домен, содержащий β -гаирпиновую структуру, которая опосредует включение токсина в порообразование; С-концевой домен, участвующий в олигомеризации токсина. Относительно небольшое количество клеточных линий является чувствительными к этому токсину, что подтверждает не до конца понятное состояние и локализацию ЕТХ рецептора на поверхности клеток, а также отсутствие достаточно широкой распространенности этого рецептора среди клеток хозяина. ЕТХ, как показано к настоящему времени, связывается *in vitro* с клеточным рецептором 1 вируса гепатита А (HAVCR-1), который выявлен на клетках почек, яичек и нижних отделов толстого кишечника. Данное обстоятельство позволяет заключить, что ЕТХ имеет сильное сродство к клеткам почек и посредством HAVCR-1 синтезируется ЕТХ-чувствительными линиями почечных клеток. Однако, каким образом функции HAVCR-1 как рецептора ЕТХ проявляются в процессе инфекции пока не известно. После связывания ЕТХ использует липидные остатки для олигомеризации в гептамеры. Показано, что ЕТХ олигомерный комплекс имеет молекулярную массу ~ 700 кДа и содержит дополнительно семь ~ 30 кДа ЕТХ мономеров, матричных белков таких как кавеолин-1 и -2. ЕТХ олигомеризация первоначально происходит на поверхности мембраны; затем ЕТХ быстро встраивается в мембрану для образования активной поры диаметром 0,4–1,0 нм и открываются возможности для избирательного транспорта анионов. Порообразование под влиянием ЕТХ приводит к быстрой потере внутриклеточного K^+ и увеличению уровней в цитоплазме Cl^- и Na^+ . В отличие от СРЕ ЕТХ вызывает только незначительное повышение в цитоплазме уровня Ca^{2+} в чувствительных клетках хозяина. С другой стороны, ЕТХ-индуцированная потеря цитоплазматического K^+ приводит к быстрой смерти клетки и активации процесса некротизации ткани, сопровождающегося дисбалансом АТФ. ЕТХ способствует увеличению проницаемости желудочно-кишечного тракта, что сопровождается проникновением токсина в циркуляторное русло. Вследствие чего токсин проникает в различные органы (головной мозг, почки и легкие). При этом развиваются отек и полиорганная недостаточность,

которые, вероятно, опосредуются эффектами ЕТХ на эндотелиальные клетки. Вместе с тем большинство линий эндотелиальных клеток являются не чувствительными к ЕТХ, так как они теряют комплементарный рецептор к токсину в процессе культивирования [103–105].

К настоящему времени отсутствуют литературные данные, что человек может отравиться ЭТ в естественных условиях. ЭТ отнесен к потенциальным агентам биотерроризма вследствие его высокой поражающей активности, в связи с чем классифицируется в категорию В агентов согласно CDC. Возможное поражение вследствие биотеррористической атаки обусловлено аэрозольного применения, а также в случае употребления, пораженных воды и пищи [106, 107].

Йота-токсин (ITX) является представителем семейства кластридиальных бинарных токсинов и состоит из отдельных IA и IB белков, которые продуцируются как пропротеины и затем в процессе протеолиза активируются, в результате чего их N-концевая последовательность удаляется протеазами макроорганизма (например, химотрипсином) или лямбда-токсином *Cl. perfringens*. Зрелая IA содержит N-концевой домен, который связан с IB и C-концевой домен с АДФ-рибозилтрансферазной активностью. Зрелый IB обладает некоторой близостью с протективным антигеном (ПА) *Bacillus anthracis*, но не в отношении рецепторсвязывающего домена, благодаря которому IB и ПА распознаются разными рецепторами. IB имеет 4 домена, которые опосредуют IA взаимосвязи; внедрение в клетки хозяина; олигомеризацию и связывание с рецепторами клеток хозяина [108–111].

Действие ITX начинается со связывания IB с его рецептор(ами). Липолиз-стимулируемый липопротеиновый рецептор (LSR) идентифицирован в качестве ITX рецептора, который является также рецептором для некоторых других кластридиальных бинарных токсинов, а именно *Clostridium difficile* трансферазы и *Clostridium spiroforme* токсина. Вместе с тем последними исследованиями показано, что многофункциональный поверхностный материнский протеин CD44 может также выступать в роли ITX рецептора или корецептора [112].

В липидных слоях связанный IB токсин олигомеризируется как гептамер, который затем связывается с IA. В единой форме голотоксин подвергается эндоцитозу, а IA транслоцируется в цитоплазму из ранней эндосомы. Внутри цитоплазмы IA приобретает свою ферментативную активность, которая включает АДФ-рибозилирующий

актин в Arg-177 с целью диссеминарования по цитоскелету клеток хозяина. ITX может персистировать в течение 24 ч внутри клеток хозяина, приводя в конечном итоге к их апоптозу [113].

NetB. Одним из идентифицированных в последнее время токсинов *Cl. perfringens* является NetB, который продуцируется многими штаммами *Cl. perfringens* типа А, выделенными из птиц и воздуха. Только один неотносящийся к данным объектам среды штамм *S. perfringens* имел отношение к продукции NetB, который характеризовался своей ключевой ролью в патогенезе некротического энцерита у кур [114].

NetB представляет собой 33 кДа секретируемый β -порообразующий токсин, который наиболее близок к CPB *Cl. perfringens*, альфа-гемолизину *Staphylococcus aureus* и CytK *Bacillus cereus*. Подобно большинству этих токсинов, он продуцируется как мономер и преимущественно олигомеризируется на поверхности клеток хозяина перед погружением в мембрану, образуя 1,6–1,8 нм поры в культуре чувствительных клеток гепатомы цыплят (LMH). Структуры растворимой мономерной формы NetB и гептамерной поровой формы NetB идентифицированы, и они структурально близки *S. aureus* альфа-гемолизину. Хотя комплементарный рецептор NetB не выявлен, имеются определенные доказательства относительно специфичности клеток, поскольку не все клеточные линии куриных клеток чувствительны к NetB. Последние исследования показывают, что NetB связывается с холестерином для увеличения порообразования [115–119].

TpeL. Ген (*tpeL*), кодирующий TpeL присутствует в геноме некоторых штаммов клостридий типа А, В и С и может экспрессироваться в процессе спорообразования под контролем *Spo0A* и спороспецифического сигма фактора SigE. TpeL является достаточно известным *Cl. perfringens* токсином, хотя некоторые штаммы продуцируют укороченный (~ на 15 кДа меньший), менее активный вариант токсина. TpeL относится к клостридиальным гликозилирующим токсинам (CGT), семейство которых включает токсины А и В *Cl. difficile*, летальный и геморрагический токсин *Clostridium sordellii* и альфа-токсин *Clostridium novyi*. Подобно другим CGT TpeL имеет N-концевой домен, опосредующий гликозилтрансферазную активность, домен с аутокаталитической активностью и предполагаемый трансмембранный домен, который выполняет роль ферментативного домена в цитоплазме. TpeL связывается с неидентифицированными рецепторами и за-

тем подвергается эндоцитозу. В дальнейшем под действием инозитол гексакисфосфат-зависимого цистеинового воздействие разрушается и транспортируется в эндоцитарную везикулярную мембрану, ферментативный домен проникает в цитоплазму из ранней эндосомы. Благодаря своей уникальной сахаросвязывающей способности TpeL является только CGT, который может использовать UDP-глюкозу и UDP-N-ацетилглюкозамин в качестве донора субстанций, хотя он привержен к утилизации UDP-N-acetylglucosamine. TpeL модифицируется регуляторной GTP-азой Ras в Thr35, который выступает в качестве сигнальной молекулы, ответственной за Ras-Raf взаимодействие и ERK активацию. Роль TpeL при заболеваниях не ясна [120–123].

В дополнение к описанным выше токсинам *Cl. perfringens* продуцирует ряд других токсинов и ферментов. Этот перечень других плазмидокодируемых токсинов включает дельта-токсин и несколько хромосома кодируемых токсинов (например, каппа-токсин, коллагеназа, мю-токсин, гиалуронидаза) и энзимов (например, клострипаин, цистеиновая протеаза).

Лямбда-токсин представляет собой 36 кДа термолизиноподобную протеазу, кодируется плазмидой и (как отмечено выше) может активировать ETX и IA или IB компонент ITX *in vitro*, хотя значимость лямбда-токсина при заболеваниях не ясна до настоящего времени. Наконец, *Cl. perfringens* продуцирует несколько хромосомакодируемых сиалидаз, которые не являются существенными, когда *C. perfringens* типа А штамм 13 вызывает газовую гангрену в эксперименте у белых мышей; однако NanI сиалидаза может существенно ускорить ранние стадии развития газовой гангрены. Этот фермент может также быть важен для инфекций, вызванных типами В или D клостридий, локализованных в ЖКТ, поскольку он увеличивает ETX связывание и опосредует *in vitro* адгезию CN3718, штамма типа D клостридий к клеткам энтероцито-подобной линии Caco-2 [100].

В организме человека и животных клостридии образуют капсулу, а в окружающей среде – спору. Больной человек непосредственной эпидемической опасности не представляет. Источниками этих микроорганизмов являются различные объекты окружающей среды, а также человек [124–127]. Из пищеварительного тракта человека и животных микробы с экскрементами попадают в почву и рассеиваются во внешней среде. В эпидемиологии клостридиозов ведущее место занимает почва, особенно унавоженная, разлагающиеся органические

соединения, сточные воды, в которых клостридии, преимущественно в споровой форме, выявляются в 100 % случаев [128, 129]. Контаминированная возбудителем почва представляет наибольшую опасность в засушливые сезоны года, особенно в период интенсивных ветров. Споры чрезвычайно устойчивы в окружающей среде, выдерживают кипячение более 30 мин, однако встречаются термоустойчивые варианты, выдерживающие кипячение в течение нескольких часов [130].

П.Н. Бургасов и С.Н. Румянцев относят патогенные клостридии в основном к почвенным микроорганизмам и приводят данные о частоте их обнаружения в почве и на ранах (табл. 4.5) [3].

Попав в рану, споры клостридий прорастают и начинают размножаться, продуцируя ферменты, токсины, нейраминидазу, сиалидазу и другие активные метаболиты [131–134]. Воздействуя на определенные структуры, эти метаболиты нарушают жизнедеятельность организма, обуславливая развитие весьма опасных для жизни патологических состояний [135–138]. Основными факторами вирулентности возбудителей раневой анаэробной инфекции (РАИ) являются продуцируемые ими экзотоксины – биологически активные белки, играющие ведущую роль в патогенезе этой инфекции, наиболее значимым из которых является альфа-токсин (α) (лецитиназа С), обладающий лецитиназным, летальным, дермонекротическим, гемолитическим действием [2, 125, 129, 132]. Энзимная активность альфа-токсина клостридий заключается в способности расщеплять биологические субстанции, входящие в состав клеточных мембран (сфингомиелин, фосфатидилэтанолламин, лецитин), увеличивая их проницаемость [130, 139, 140]. Гемолитическое действие альфа-токсина клостридий приводит к инактивации Na^+ - K^+ -зависимой аденозинтрифосфата-

Таблица 4.5

Частота обнаружения патогенных клостридий в почве и ранах

Вид клостридий	Частота обнаружения клостридий, %		
	в почве	в ранах	
		осложненных	неосложненных
<i>Cl. perfringens</i>	100	64	32
<i>Cl. oedematiens</i>	49	42	3
<i>Cl. histoliticum</i>	16	12	2
<i>Cl. septicum</i>	1	2	1

зы, в результате чего возникает ионный дисбаланс между клеткой и внеклеточной средой [140]. Некротизирующий эффект заключается в активации тромбообразования в сосудах, вследствие чего развивается ишемия и образуется некроз тканей [124, 125, 137]. Помимо этого, альфа-токсины обладают способностью подавлять лейкоцитарную реакцию, разрушать лейкоциты и тучные клетки в очаге повреждения, а также угнетать фагоцитарную активность лейкоцитов, следствием чего является понижение защитных сил организма [129, 130]. В последнее время в развитии РАИ определенное значение придают и другим, продуцируемым клостридиями, токсинам, а именно: лямбда-токсину (λ) (протеиназа), каппа-токсину (κ) (коллагеназа), мю-токсину (μ) (гиалуронидаза), ни-токсин (ν) (дезоксирибонуклеаза), эпсилон-токсин (ϵ) (протеиназа), бэта- и тау- (β , τ) токсины, гамма- и эта (γ , η)-токсины, тэта- и дельта-токсины (θ , δ) [2, 141].

Каждый из возбудителей газовой гангрены вырабатывает не одно, а несколько токсических веществ, большинство из которых практически не отличаются от ферментов. Природа и действие некоторых токсинов изучены недостаточно.

Большую роль в развитии РАИ играют активные метаболиты клостридий, которые способствуют удалению кислорода из тканей, в результате чего угнетается фагоцитоз, разрушаются фибрин и энерговырабатывающие системы клеток – сукцинооксидазы, магнизиоактивный аденин, трифосфатазы мышечных клеток [125, 130, 132, 142].

Возникновению РАИ способствует также сниженная сопротивляемость организма, локализация и характер ранения, обширность поражения, степень связанных с ним функциональных расстройств и нарушений кровообращения, наличие инородных тел в ране. По мнению большинства исследователей, наличие в ране возбудителей этой инфекции является необходимым, но не обязательным фактором ее развития. По мере накопления клинических данных было показано, что патогенные клостридии обнаруживаются в ранах военного и мирного времени сравнительно часто (до 90 % случаев), но практически не участвуют в патогенезе раневого процесса. У пострадавших отсутствует клиника «классической» РАИ, а раневой процесс протекает по типу обычной (банальной) гнойной инфекции [143, 144]. Определяющее значение имеют состояние реактивности организма и степень местных нарушений в ране [127, 145]. Наиболее отчетливо значимость этих факторов наблюдается при огнестрельных ранениях,

которые чаще осложняются РАИ ввиду исключительной тяжести этого вида повреждений. Наступающие в этом случае обширные разрушения окружающих тканей и нарушения кровообращения способствуют подавлению функции системы мононуклеарных фагоцитов, снижению хемотаксиса лейкоцитов, бактерицидной активности сыворотки крови и нейтрофилов, уровня естественных противомикробных антител и комплемента [136, 141, 146, 147]. Естественно, все это способствует возникновению и прогрессированию РАИ.

Наиболее благоприятной средой размножения клостридий является отсутствие кислорода, температура выше 39 °С, наличие белка и глюкозы, рН 7,2–7,4.

Возбудитель поражает все мягкие ткани, но главным образом жировую клетчатку и мышцы. При газовой гангрене классические признаки воспаления отсутствуют. Процесс характеризуется прогрессирующим отёком, зловонным отделяемым, газообразованием в тканях, общим тяжёлым состоянием, омертвением тканей организма, вызванным отравлением специфическими токсинами возбудителей болезни, а также продуктами распада тканей.

По клиническому течению различают анаэробную инфекцию молниеносную (с быстрым смертельным исходом), острую и подострую.

Для газовой гангрены характерно раннее бурное начало. Симптомы обычно появляются на 1–3 день после травмы. Ткани вокруг раны отекают, появляется зловонное отделяемое с пузырьками газа. Отек стремительно распространяется на соседние участки, состояние больного быстро ухудшается, отмечаются признаки отравления организма продуктами распада тканей. Без специализированной медицинской помощи смерть наступает в течение 2–3 сут с момента начала болезни. Особенности местных и общих проявлений зависят от вида возбудителя.

Как уже было отмечено, существенное значение в развитии газовой гангрены принадлежит *Cl. perfringens*, являющейся бактериальным видом, способным продуцировать одновременно все известные гангренозные токсины (α -, β -, γ -, δ -, ϵ -, η -, τ -, θ -, φ -, λ -, μ -, ν - токсины) [2].

Для *Clostridium perfringens* характерно фибринолитическое, токсико-гемолитическое и некротическое течение, сопровождающееся отёком, некрозом тканей, гемолизом эритроцитов, формированием кровянистого экссудата и эмфиземой.

Clostridium oedematiens вырабатывает α -, β -, γ -, δ -, ε -, η -, τ -, θ -токсины, которые вызывают образование большого количества газа и при этом оказывают также гемолитическое воздействие на организм.

Clostridium septicum продуцирует α -, β -, μ -токсины, которые вызывают серозно-кровянистый отек тканей, малое количество выделяемого газа и интенсивное разрушение эритроцитов, а также некроз мышц.

Clostridium histolyticum вырабатывает α -, β -, γ -токсины, которые отличаются особой агрессивностью по отношению к живым тканям. Всего в течение 10–12 ч они способны разрушить соединительную и мышечную ткань, превращая их в кровянистую жидкость.

Основные заболевания, вызванные *Cl. perfringens*, приведены в табл. 4.6.

Cl. perfringens type A вызывает газовую гангрену (кlostридиальный мионекроз) у людей. Заболевание относится к инфекциям, вызываемым спорами *C. perfringens*, при этом микроорганизм находится в почве, а попадает в нее посредством испражнений животных или человека из ЖКТ [148]. Заболевание является типично военным, предпосылкой к развитию болезни является преимущественно травма, в том числе боевая. К частым причинам газовой гангрены можно отнести хирургические вмешательства, преимущественно на кишечнике. При этом происходит нарушение кровообращения в тканях и развитие локальной тканевой ишемии, что в конечном итоге приводит к состояниям, необходимым для прорастания спор. *Cl. perfringens* и в дальнейшем к росту и размножению вегетативных клеток и продукции экзотоксина [149]. В результате подобных изменений происходит некроз тканей, что характеризуется отсутствием лейкоцитарного инфилюкса в место инфекционного процесса. Генетические исследования, которые включали создание и последующий анализ изогенного *plc* и *pfoA* мутанта штамма of *Cl. perfringens* type A, вызывающего газовую гангрену, показали, что CPA (PLC) имеет существенное значение в плане его вирулентности при моделировании мионекроза у мышей и что PFO, хотя не является значимым в плане инфекционного процесса, действует синергидно с CPA. Без проведения комбинированного лечения с применением антибактериальной терапии и хирургического вмешательства, в том числе ампутации поврежденной конечности, заболевание заканчивается летальным исходом [150].

Жвачные животные, лошади и свиньи также высоко чувствительные к гистотоксическим инфекциям, вызываемым *Cl. perfringens*,

**Основные заболевания, связанные с *C. perfringens*,
у человека и животных**

Тип возбудителя	Основные токсины	Заболевания человека	Заболевания животных
А	Альфа-токсин	Мионекроз (газовая гангрена)	Газовая гангрена у баранов, коров, лошадей, а также других видов животных; болезнь желтой ягнятины у баранов
	Альфа-токсин, СРЕ	Пищевая токсикоинфекция; непищевое заболевание ЖКТ	Энтериты у собак, свиней, лошадей, коров.
	Альфа-токсин, NetB	Нет данных	Некротный энтерит у кур
	Альфа-токсин, СРВ2	Нет данных	Возможны энтериты у свиней, возможны энтероколиты у лошадей
В	Альфа-токсин, бета-токсин, эписилон-токсин	Нет данных	Некротные энтериты и энтеротоксемии у баранов, коров и лошадей
	Альфа-токсин, бета-токсин	Некротные энтериты	Некротизирующие энтериты и энтеротоксемия у свиней, ягнят, сайгачат, жеребят и других видов животных (обычно новорожденных)
Д	Альфа-токсин, эписилон-токсин	Нет данных	Энтеротоксемия у баранов, жеребят и коров
Е	Альфа-токсин, йота-токсин	Нет данных	Энтериты у кроликов, ягнят и коров

хищники в этой связи не характеризуются высокой чувствительностью к подобным инфекциям. Основными предрасполагающими факторами к развитию газовой гангрены у животных являются кастрация, стрижка шерсти, проникающие раны, повреждение репродуктивного тракта в процессе родов, а также места инъекций. Типичным проявлением этих инфекций являются отек, эмфизема, обесцвечивание кожи, участки холодной кожи, токсемия, а также гистологически имеет место коагуляционный некроз ткани со значительным лейко-

стазом. Тем не менее до настоящего времени достаточно мало информации относительно патогенеза естественно встречающейся газовой гангрены у животных. Однако СРА и РФО являются превалирующими вирулентными факторами при развитии газовой гангрены у баранов, крупного рогатого скота, лошадей и других животных, которая подтверждается клинически, при обследовании трупного материала, а также при выявлении микроскопических изменений, идентичных уже описанным при моделировании газовой гангрены, вызванной *Cl. perfringens* type A, где эти два токсина дополняют друг друга [151].

Пищевая токсикоинфекция, вызванная *Cl. perfringens* типа А, представляет собой у человека синдром, который в своем большинстве встречается в настоящее время как вторичный синдром при бактериальной пищевой инфекции. Во многих странах подобная форма заболевания достаточно распространена и регистрируется до миллиона случаев в год. Пищевая токсикоинфекция, вызванная *Cl. perfringens* типа А, обычно развивается, когда продукты становятся контаминированными СРЕ-positive типом А штаммами кластридий. В ~75–80 % характерных случаев поражения штаммом кластридий типа А является тот штамм, который несет хромосомный, но не плазмидный *сре* ген. Специфическая связь типа А хромосомных *сре* изолятов с пищевой токсикоинфекцией сопряжена с наличием у их спор резистентных свойств. Одним из основных свойств таких микроорганизмов является способность продуцировать уникальный малый кислото-растворимый белок 4 (SASP-4), который обладает способностью связывать споровую ДНК более выражено, чем SASP-4, содержащие большинство других штаммов *Cl. perfringens*. В этой связи повышается устойчивость возбудителя к нагреванию и другим стрессовым воздействиям [152].

Попавшие в организм с контаминированными продуктами вегетативные клетки с локализованным в хромосомах *сре* геном размножаются в кишечнике, где первоначально происходит их деление, а затем вскоре спорообразование; Spo0A и альтернативные сигма факторы осуществляют контроль за *in vivo* спорообразованием и продукцией СРЕ. Токсин накапливается в материнских клетках и выделяется в полном объеме при споруляции, когда материнская клетка лизируется. Выделяемый токсин затем активизируется, повреждает кишечник и вызывает диарею и схваткообразное вздутие живота. Пищевая токсикоинфекция, вызванная *Cl. perfringens* типа А, сопровождается

симптомами, которые развиваются спустя ~12–16-часового инкубационного периода и проявляются в течение 24 ч. Однако фатальные исходы могут регистрироваться в более ранние сроки. Подобная картина может иметь место, когда медицинские мероприятия снижают кишечную моторику и интерферируют с СРЕ-индуцированной диареей, что в конечном итоге пролонгирует контакт между СРЕ и слизистой кишечника. Основываясь на исследованиях на животных моделях, такое длительное присутствие СРЕ в кишечнике может облегчить поступление токсина в циркуляторное русло и вызвать летальную энтеротоксемию. Наличие СРЕ в циркуляторном русле обуславливает связывание токсина с клетками почек и печени, приводя тем самым к массивному выделению ионов калия, что может вызвать гиперкалиемические поражения сердца и летальный исход [153, 154].

Штаммы *Cl. perfringens* типа А, несущие плазмиду, кодирующую образование СРЕ, вызывают ~5–10 % всех случаев заболеваний ЖКТ человека, не связанных с пищей, включая антибиотико-связанную диарею или спорадическую диарею. Представляется, что эти случаи включают истинные инфекции и могут быть связаны с размножением нормальной *Cl. perfringens* флоры, поскольку штаммы типа А обладают сре-несущей плазмидой и могут присутствовать в ЖКТ некоторых здоровых людей. Эти СРЕ-ассоциированные непищевые заболевания ЖКТ человека могут встречаться в пожилом возрасте и являются длительно текущими, чем большинство случаев пищевых токсикоинфекций [155–157].

Cl. perfringens типа С являются причиной пищевых некротических энтеритов, которые в настоящее время наиболее часто встречаются в виде спорадических случаев во многих регионах Юго-Восточной Азии. После Второй мировой войны штаммы *Cl. perfringens* типа С вызывали некротический энтерит у людей в Северной Германии, при этом эти штаммы были поименованы «Darmbrand». В современных исследованиях показано, что эти штаммы несут и экспрессируют плазмид-сцепленные *srb* и *srp* гены, «Darmbrand» штаммы продуцируют такой же вариант малого кислото-растворимого белка, как и тип А, обладающие сцепленным с хромосомами *srp*, вызывающие пищевую токсикоинфекцию [158].

В 1960–1970-х годах *Cl. perfringens* типа С, вызывающие некротический энтерит, были широко распространены в Папуа Новой Гвинее (ПНГ), вызывая более 50 % случаев с летальным исходом среди детей

в возрасте от 5 до 10 лет. Заболевание клинически характеризовалось абдоминальными болями, которые развивались спустя 1–5 дней после употребления в пищу высокобелковой еды. Диагностически выявлялись отдельные некрозы слизистой тощей и подвздошной кишок. Патогенез поражения в ПНГ ассоциировался с низкобелковой диетой, которая приводила к ограниченной продукции панкреатических протеаз. Кроме того, основная пища, которую употребляли представители ПНГ, представляла собой сладкий картофель, содержащий ингибитор трипсина. Следовательно, когда дети употребляли в пищу еду, содержащую сладкий картофель и еду, контаминированную *Cl. perfringens* типа C, происходило нарушение белковой составляющей вследствие малой активности трипсина, присутствие которого необходимо для деградации СРВ [159].

Cl. perfringens type A-опосредованный некротический энтерит является наиболее значимой патологией в птицеводстве. Для развития этой болезни обычно требуются предрасполагающие факторы, а именно: потребление птицей высокобелковой диеты, что способствует быстрому размножению *Cl. perfringens* в ЖКТ. Механизм патогенеза некротического энтерита птиц дискутируется. В течение многих лет СРА рассматривался в качестве основного токсина, необходимого для данного поражения, однако в настоящее время отмечается, что только мутант, лишенный *plc* гена является вирулентным в плане поражения кур некротическим энтеритом. Тем не менее СРА может играть роль в процессе развития заболевания, поскольку он характеризуется наименее выраженными иммунопротективными свойствами. Наиболее значимым токсином при некротическом энтерите птиц в настоящее время рассматривается NetB, что основано на исследованиях с использованием мутантов, лишенных *netB* генов, а также на исследованиях по вакцинации, которые показали, что NetB является иммунопротективным фактором [160].

В ряде публикаций показано, что СРЕ также вызывают заболевания ЖКТ у домашних животных и, возможно, среди диких животных. Например, приводятся данные о наличии сре-позитивных типа А изолятов и СРЕ в тонком кишечнике козлят с некротическим энтеритом. Кроме того, СРЕ и СРЕ-позитивные изоляты, выделенные из фекалий, ассоциировались с диареей у собак, а также сре-позитивные штаммы вызывали возвратную диарею у собак [161].

СРЕ-негативные *Cl. perfringens* типа А инфекции у животных достаточно редко вызывают энтерит, но они обуславливают развитие

желтухи у ягнят. Она является редкой формой острой энтеротоксемии, характеризующаяся гемолизом, желтухой и гемоглобинурическим нефрозом. CPB2-продуцирующие *Cl. perfringens* типа А также могут вызывать острую энтеротоксемию у некоторых видов животных, включая лошадей, баранов и коз, что подтверждается выделением CPB2-позитивных *Cl. perfringens* от больных животных [160].

Cl. perfringens типа В-опосредованные заболевания описаны у баранов, коров и лошадей; они преимущественно распространены среди животных в Европе, Южной Африке и Среднего Востока. Заболевание, вызванное *Cl. perfringens* типа В, характеризуется летальным исходом или острой неврологической симптоматикой без геморрагической диареи. CPB очень чувствителен к воздействию трипсина, поэтому животные с низким уровнем трипсина в ЖКТ (например, новорожденные) обычно более чувствительны к инфекции, вызванной типом В или типом С микроба. Напротив, для ЕТХ требуется протеолитическая активация через трипсин или другие (желудочно-кишечные или бактериальные) протеазы. Эти противоположные эффекты трипсина на активность ЕТХ и CPB позволяют предполагать, что оба токсина присутствуют вместе в содержимом кишечника [153].

Cl. perfringens типа С-связанные заболевания встречаются среди многих видов животных, преимущественно среди новорожденных. Это обусловлено, прежде всего, низкими уровнями у них трипсина, прежде всего, в содержимом ЖКТ. Инфекция, вызванная типом С возбудителя, характеризуется летальным исходом или колитом и диареей, с признаками неврологической симптоматики. Гистологически проявления инфекции, вызванной типом С возбудителя, характеризуются некрозом стенки кишечника, который начинается в слизистой, но обычно затрагивает все слои стенки кишечника. Сгустки фибрина забивают поверхностные артерии и вены слизистого и подслизистого слоев стенки кишечника [158].

Cl. perfringens типа D-ассоциированные инфекции являются основной причиной кластридиальной энтеротоксемии у баранов и коз. Так, внутривенная инъекция ЕТХ баранам и козам дает толчок к развитию у этих животных большинства клинических симптомов и поражений естественно встречающихся у них заболеваний, а внутривенное введение моноклональных антител к ЕТХ способствует защите мышей от внутридуоденального введения им возбудителя типа D. При энтеротоксемии ЕТХ поражает эндотелий сосудов голов-

ного мозга, вызывая периваскулярные изменения и процессы в астроцитах. В результате повышается проницаемость капилляров, быстрая экстравазация жидкости, увеличение внутричерепного давления и паренхиматозный некроз. У большинства видов животных заболевание, вызванное *S. perfringens* типа D, клинически характеризуется неврологическим заболеванием, включающим периваскулярный отек сосудов головного мозга и в меньшей степени фокальной симметричной энцефаломалацией.

S. perfringens типа E – ассоциированные заболевания животных характеризуются геморрагическими энтеритами и летальным исходом среди телят и ягнят. Эти штаммы могут также вызывать энтеротоксемию у кроликов, хотя эти поражения необходимо дифференцировать от поражений, вызываемых *S. spirofoetiae*, которые также обладают способностью продуцировать токсин, близкий по свойствам и активности к йота-токсину [83].

В связи с отсутствием альтернативной биологической модели классическая реакция нейтрализации токсина с использованием специфических антисывороток не нашла широкого практического применения. Более эффективным является использование ИФА-технологии для специфического выявления ЭТ в желудочно-кишечном содержимом. Количественное определение ЭТ по белку используется в качестве современного диагностического подхода в рамках масс-спектрометрии, которая обладает перекрестной чувствительностью с методами, основанными на определении антител. Однако ИФА и масс-спектрометрия не обладает способностью выявлять именно тот белок, который обладает биологической активностью. Тест латекс-агглютинации и тест на выявление цитотоксичности с использованием клеток почки собак по Madin–Darby также могут быть использованы для выявления ЭТ. С помощью ПЦР можно идентифицировать гены ЭТ, если таковые присутствуют в образце. На начальной стадии болезни лабораторные тесты могут выявлять гемолитическую анемию, тромбоцитопению, гипоксемию, а также повышенное содержание в крови печеночных энзимов. На более поздних стадиях имеет место полицитопения [161–165].

У человека при заболевании газовой гангреной развивается единый симптомокомплекс. Так, температура тела повышена до 38–40 °С, отмечается снижение артериального давления, тахикардия, учащенное дыхание, жажда, озноб, мучительная бессонница, голов-

ная боль, ломота в мышцах. Пациент возбужден, говорлив или, напротив, подавлен. Постепенно развивается вначале олигурия (уменьшение количества выделяемой мочи), а затем и анурия (отсутствие мочи). В тяжелых, прогностически неблагоприятных, случаях возможно понижение температуры тела и гематурия.

Разрушение эритроцитов становится причиной быстро развивающейся анемии и гемолитической желтухи. В анализах крови выявляется снижение количества эритроцитов, снижение уровня гемоглобина, лейкоцитоз со сдвигом формулы влево и преобладанием юных форм нейтрофилов.

Анаэробная инфекция поражает преимущественно раны с большой зоной повреждения тканей, так как для ее развития важно присутствие в ране большого количества нежизнеспособных тканей, лишенных кровоснабжения, а значит и кислорода. В таких тканях возбудители анаэробной инфекции свободно размножаются, выделяя токсины, обуславливающие тяжелую общую реакцию организма. Наиболее подвержены анаэробной инфекции раны областей, богатых мышечной тканью (ягодица, бедро). Процесс особенно быстро распространяется в мышцах и по ходу сосудистых пучков, может переходить с конечности на туловище. При пулевых ранениях развитию анаэробной инфекции способствует наличие в раневом канале кусков одежды, обуви и т. п., увлеченных пулей или осколками снаряда. Развитию анаэробной инфекции способствуют также кровопотеря, истощение, наложение жгута на раненую конечность.

Анаэробная инфекция в мирное время возможна при обширных рваных ушибленных ранах, сильно загрязненных землей. Встречаются осложнения анаэробной инфекции после криминальных абортов.

Начальными симптомами анаэробной инфекции являются высокая температура, сильные распирающие боли в ране и по ходу сосудов, отек, бледность кожных покровов. При осмотре пораженной области видны ясно выраженные подкожные вены, синие пятна или бронзовые полосы на коже. Общие симптомы обуславливаются тяжелой интоксикацией: больной бледен, с заостренными чертами лица, кожные покровы желтушной окраски. Отмечаются беспокойство и страх, пот, увеличение кровяного давления, малый и частый пульс. Больной сохраняет сознание, но находится в состоянии полной апатии, иногда эйфории. При ощупывании пораженной области возникает ощущение «хруста снега» (крепитация). Этот признак обусловлен наличием

пузырьков газа в тканях. На коже могут появиться пузырьки, наполненные жидкостью (отечная жидкость проникает в эпидермальный слой и приподнимает его). При разрезе рана почти не кровоточит, сосуды тромбированы, мышечная ткань имеет вид вареной телятины. При глубоких разрезах из раны выделяются ихорозно-кровянистая жидкость и пузырьки газа.

К числу наиболее постоянных местных симптомов относится отек окружающих тканей, образование газа, разрушение мышечной ткани и отсутствие классических признаков воспаления.

С учетом местных проявлений выделяют четыре формы газовой гангрены.

Классическая или эмфизематозная форма. Наблюдается умеренный отек, постепенно сменяющийся омертвлением тканей с выделением большого количества газа. Гной отсутствует. Раневая поверхность сухая, выявляются обширные очаги некроза. Грануляций нет, на дне виднеется омертвевшая серо-зеленая, не кровоточащая мышечная ткань с трупным запахом. При надавливании из раны выделяется газ и сукровичная жидкость. Кожа в зоне поражения холодная, бледная, покрытая буроватыми пятнами. По мере прогрессирования инфекции боли в ране сначала резко усиливаются, затем чувствительность теряется. Пульс на периферических артериях исчезает, конечность приобретает бурую окраску и омертвевает.

Отечно-токсическая форма. Сопровождается обширным, быстро распространяющимся отеком, нарастающим буквально в течение каждой минуты. Рана без гнойного отделяемого, газ выделяется в малых количествах или отсутствует. Из-за быстро нарастающего отека мышцы сдавливаются и выбухают из раны. Подкожная клетчатка зеленоватая, желеобразная, мышечная ткань бледная, кожные покровы вокруг раны холодные, блестящие, резко напряженные. По мере развития воспаления периферический пульс исчезает, конечность становится бурой, развивается омертвление.

Флегмонозная форма. Протекает более благоприятно, может быть развиваться на ограниченном участке. Отек окружающих тканей умеренный или незначительный, на дне раны – розовые мышцы с участками некроза. Из раны выделяется гной и пузырьки газа. Кожа вокруг раны теплая, без пятен. Пульс на периферических артериях сохранен.

Гнилостная или пупридная. Развивается в результате симбиоза анаэробных и гнилостных микроорганизмов. В отличие от других

форм чаще возникает не на конечностях, а на туловище. Характеризуется молниеносным течением с бурным распадом тканей. Инфекция быстро распространяется по клетчаточным пространствам, вызывая омертвление клетчатки, мышц и фасций. Из раны выделяется газ и зловонное гнилостное отделяемое с кусочками разрушенных тканей. Скорость развития инфекции объясняется симбиозом аэробных и гнилостных бактерий. Присоединение гнилостной инфекции обуславливает разрушение стенок сосудов, поэтому при этой форме газовой гангрены часто наблюдаются вторичные кровотечения. Из общих симптомов заболевания можно выделить ряд наиболее типичных признаков газовой гангрены:

- снижение артериального давления;
- подавленность или, наоборот, чересчур сильное возбуждение;
- тахикардия;
- повышение температуры тела до 38–39 °С;
- мучительная бессонница;
- обезвоживание;
- учащенное дыхание;
- быстроразвивающаяся анемия.

Газовая гангрена, лечение которой было начато несвоевременно, приводит к быстрому летальному исходу (в течение 2–3 сут). Иногда смерть наступает намного быстрее (так называемая «мгновенная» газовая гангрена). В последнем случае человека спасет только срочное оперативное вмешательство и квалифицированный медицинский уход.

Газовая гангрена характеризуется рядом специфических симптомов, некоторые из которых являются патогномоничными; большинство из них направлено на выявление образующегося газа:

- симптом лигатуры (симптом Мельникова) – при наложении лигатуры на участок конечности уже через 15–20 мин нить начинает впиваться в кожу из-за распухания конечности;
- симптом шпателя – при постукивании металлическим шпателем по поражённой области слышен характерный хрустящий, с тимпаническим оттенком звук. Такой же звук может быть слышен при бритье кожных покровов вокруг раны (симптом бритвы);
- симптом пробки шампанского – при извлечении тампона (салфетки) из раневого хода слышен хлопок;
- симптом Краузе – межмышечные скопления газа на рентгеновском снимке визуализируются в виде «ёлочек».

Изложенные в главе краткие сведения об анаэробной клостридиальной инфекции свидетельствуют о тяжести вызываемых ею заболеваний, высокой летальности и инвалидности. Указанные обстоятельства побудили ученых всего мира в XX в. сосредоточить свои усилия на разработку средств специфической профилактики этой грозной инфекции.

4.4. Характеристика токсинов других актуальных инфекций (стафилококки, шигеллы и др.)

Стафилококковые токсины. Основными продуцентами стафилококкового токсина является *Staphylococcus aureus* – опасный и вирулентный патоген, который может вызвать множество различных заболеваний (кожные инфекции, инфекции респираторного тракта). Среди нозокоминальных патогенов *S. aureus* занимают ключевые позиции и ассоциируются с высокой заболеваемостью и смертностью. *S. aureus* пневмония часто развивается среди госпитализированных пациентов, преимущественно лежачих, поскольку у таких пациентов имеют место застойные явления, приводящие к иммунным дисфункциям и присоединению вирусных инфекций. *S. aureus* могут также вызывать различные серьезные и опасные заболевания, такие как инфекционные эндокардиты, синдром токсического шока, ожоговый кожный синдром или остеомиелиты. Для некротизирующего поражения кожи и некротизирующей пневмонии *S. aureus* является причинным агентом.

Штаммы *S. aureus* обладают различным набором вирулентных факторов, многие из которых кодируются мобильными генетическими элементами (МГЭ), такими как плазмиды или профаги. Причем посредством горизонтальной генной трансференции (ГГТ) может происходить передача этих элементов между штаммами. ГГТ между штаммами *S. aureus* может осуществляться посредством фаговой трансдукции, конъюгации или прямым поглощением «голой» ДНК посредством генетической компетентности [166].

Золотистый стафилококк продуцирует три категории токсинов: мембрано-повреждающие токсины; токсины, которые интерферируют с рецептором, но не обладают мембрано-повреждающим эффектом и секреторные ферменты, такие как деграданты молекул

хозяина или наносящие вред важным механизмам защиты хозяина [166, 167].

Мембрано-повреждающие токсины вызывают порообразование в мембране, приводя к выходу во внеклеточную среду жизненно важных молекул и метаболитов, и как следствие – к цитолизу клеток. В настоящее время выделяют две подгруппы литических токсинов, а именно: токсины, для которых литическое действие зависит от взаимодействия с конкретным рецептором, и для которых характерна высокая степень клеточной специфичности поражения; токсины, которые взаимодействуют с мембранами в меньшей степени специфичности без связывания с конкретным рецептором (рис. 4.2) [168].

Альфа-токсин и бикомпонентные лейкотоксины *S. aureus* связываются со специфическими рецепторами, в результате чего образуются поры. Рецепторы идентифицированы для альфа-токсина и бикомпонентных лейкотоксинов (PVL, LukAB (LukGH) и LukDE). Возможно гамма-токсин также связывается со специфическим рецептором. Фенол-растворимые модулины (PSMs) взаимодействуют с цитоплазматической мембраной в неспецифических местах и приводят к ее повреждению.

Вероятно, фосфолипидный слой и мембранные изменения имеют важное значение в плане чувствительности клеток к фенол-растворимым модулинам. Поры, образуемые под влиянием PSMs, обычно короткоживущие, как схематически показано применительно к воздействию дельта-токсина [169].

Токсины с рецепторно-опосредованным механизмом действия. *S. aureus* продуцируются различные цитолитические токсины. Большинство из них оказывают литическое действие в отношении эритроцитов и/или клеток белой крови. Токсины, которые оказывают литическое действие в отношении эритроцитов, называются гемолизинами, в то время как токсины, оказывающие литическое действие в отношении клеток белой крови, называются лейкотоксинами. Многие цитолитические токсины *S. aureus* выявлены только в последнее время и отмечено, что в своем действии необходимо их взаимодействие с рецепторным аппаратом. Альфа-токсин представляет собой наиболее известный токсин *S. aureus* и впервые был идентифицирован как пример бета-баррельобразующих токсинов, которые преимущественно состоят из бета-структур. Он обладает

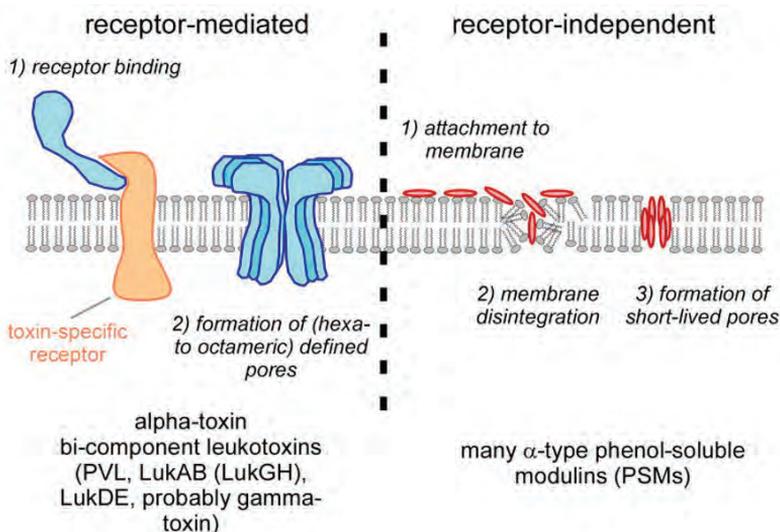


Рис. 4.2. Мембрано-повреждающие токсины [168]

литической активностью в отношении эритроцитов и отдельных типов лейкоцитов, но не нейтрофилов. Альфа-токсин состоит из 293 аминокислот и образует гептамерные поры, что приводит к выходу из клетки моно- и дивалентных ионов. При высоких концентрациях токсина порообразование может быть рецептор-независимым процессом, но при низких концентрациях токсина, как показано в последнее время, порообразование существенно зависит от взаимодействия токсина с ADAM10 рецептором. Связывание альфа-токсина с ADAM10 рецептором, дисэнтегрином и металлопротеиназой, безоговорочно приводит к нарушению локальной адгезии. В частности, расщепление E-кадгерина в эпителиальных клетках приводит к снижению барьерной функции эпителия. Помимо этого, альфа-токсин также вызывает апоптоз моноцитов, T- и B-клеток человека [169–170].

S. aureus также продуцируются несколько бикомпонентных токсинов, которые структурно близки с альфа-токсином и относятся к семейству бета-баррельных порообразующих токсинов: Pantone-Valentine лейкоцидин (PVL, содержащий LukS и LukF белки), лейкоцидины

LukDE и LukAB (LukGH), а также гамма-токсин (гамма-гемолизин, HlgA, HlgB, HlgC). Исследования последних лет позволили установить тесную связь PVL с инфекциями, в основном ассоциированными с метициллин-резистентными штаммами *S. aureus* (CA-MRSA). В то же время вопрос о вовлечении PVL в инфекционный процесс, связанный с CA-MRSA, пока остается дискуссионным. Показано, что выше описанные токсины в своей активности зависят от взаимодействия с конкретным рецептором на поверхности клеток хозяина, особенно для своего цитолитического эффекта [171–174].

Токсины с механизмом действия, не связанным с рецепторами. В 2007 г. было установлено, что ранее описанный дельта-токсин *S. aureus* (дельта-гемолизин) является не единственным представителем семейства секретируемых пептидов, именуемых фенол-растворимыми модулинами (PSMs), которые обладают полифункциональностью в патогенезе стафилококковой инфекции. Важно отметить, что некоторые PSMs обладают пролонгированной неспецифической цитолитической активностью. Все представители семейства PSM также секретируются другими менее патогенными стафилококками. *S. aureus* продуцируют больше количества сильноедействующих цитолитических PSMs, в частности, PSM α пептиды PSM α 1 – α 4, кодируемые *psm* α локусом, из которых PSM α 3 является наиболее длительно активным. PSMs вызывают воспалительные ответы посредством взаимодействия с FPR2 рецептором, но их цитолитическая активность является FPR2-независимой. Они представляют собой малые амфипатические пептиды с детергент-подобными свойствами. Помимо этого, поры, образуемые под влиянием дельта-токсина, как правило, короткоживущие и представляется, что другие PSMs обладают близкими эффектами. Согласно последним исследованиям, отмечается, что провоспалительные, цитолитические и другие свойства PSMs могут быть следствием специфических аминокислотных последовательностей в различных частях данных пептидов. Следует подчеркнуть, что подобно альфа-токсину и в противовес многим бикомпонентным лейкоцидинам, PSMs продуцируются большинством штаммов *S. aureus*. Только штаммы дисфункциональные в плане регуляции вирулентности под влиянием Agr, которым регулируется процесс токсинообразования и экзоферментации большинства *S. aureus*, лишены способности продуцировать PSM. На сегодняшний день PSM α *S. aureus* были

идентифицированы как токсины, которые приводят к лизису нейтрофилов после фагоцитоза. Подобный патогенный механизм важен в плане повышенной токсичности наиболее агрессивных штаммов *S. aureus* (рис. 4.3) [175].

Среди других лейкоцидинов только LukAB (LukGH) также лизируют нейтрофилы после фагоцитоза. Современными работами показано, что *S. aureus* δ -toxin имеет отношение к развитию аллергических заболеваний кожи в виде атопических дерматитов посредством индукции дегрануляции клеток макроорганизма.

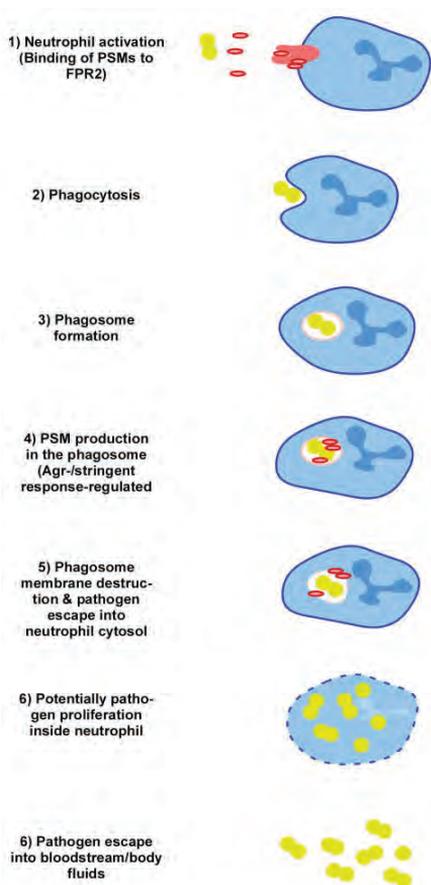


Рис. 4.3. Лизис нейтрофилов после фагоцитоза

Примечание. Лизис после фагоцитоза вследствие внутрирасположенной нейтрофильной фагосомы был показан применительно к *S. aureus* PSM α пептидам и лейкотоксину LukAB (LukGH), проиллюстрирован на рисунке только применительно к PSMs.

PSMs осуществляют активацию нейтрофилов посредством взаимодействия с FPR2 рецептором. После фагоцитоза и образования фагосомы, бактериальные регуляторные системы (Agr, выраженный ответ) вызывают продукцию PSM и PSM-опосредованный лизис. Бактерии могут в дальнейшем пролиферировать в нейтрофилах. Ясно одно, что деструкция нейтрофилов под влиянием бактерий позволяет им выйти из клеток и проникнуть в другие клетки.

Токсины, которые интерферируют с рецепторной функцией (отличные от мембрано-повреждающих токсинов). Энтеротоксины представляют собой секретируемые токсины ~20–30 кДа, которые влияют на функциональное состояние ЖКТ и вызывают развитие рвоты и диареи. Они представляют собой суперантигены, молекулы которых обладают активирующим влиянием на Т-клетки и их пролиферацию без необходимости в антигенном процессинге вследствие неспецифического взаимодействия класса II главного комплекса гистосовместимости с Т-клеточными рецепторами. *S. aureus* штаммы могут продуцировать широкий арсенал (~ 20) энтеротоксинов и энтеротоксиноподобных токсинов. Механизм, благодаря которому энтеротоксины стафилококка осуществляют свое поражающее действие, не известен, но может включать активацию выделения цитокинов в клеточной гибели по типу апоптоза [176–179].

Стафилококковый энтеротоксин В (SEB) является значимым представителем биологического оружия. Стафилококковый энтеротоксин С (SEC) способствует прогрессированию инфекционного эндокардита, сепсиса, а также повреждения почек метициллин-резистентным штаммом стафилококка MW2 [180–182].

Источником SEB являются *Staphylococcus aureus* – грамположительные бактерии, которые не образуют спор и могут выживать в аэробных и анаэробных условиях. Они обитают в природе на коже и слизистых человека и животных, и могут быть выявлены в качестве нормальной микрофлоры дыхательного тракта у 25–50 % популяции [183].

Поражения SEB в основном обусловлены контаминацией пищи и воды, а также в результате биотеррористической атаки, преимущественно сопряженной с употреблением в пищу зараженных продуктов. Другим возможным путем заражения SEB может являться его проникновение в респираторный тракт и вагинальный тракт (через инфицирование вагинального прохода, приводя к развитию синдрома токсического шока), а также глаза (вызывая конъюнктивиты). SEB является токсичным в относительно минимальных дозах. Он не передается от человека к человеку посредством контакта или через воздух [184, 185].

SEB характеризуется несколькими преимуществами как потенциальный биологический поражающий агент, включая его растворимость в воде, относительно высокую резистентность к нагреванию (он остается активным после нахождения в течение нескольких ми-

нут в горячей воде) и к кислой рН среды, а также он хорошо диспергируется в воздухе. Белок имеет уникальную структуру, устойчивую к желудочно-кишечным протеазам. Механизм, благодаря которому он вызывает повреждения желудочно-кишечного тракта полностью не известен. В случае синдрома токсического шока токсин причастен к неспецифической активации Т-лимфоцитов, обходя специфическое взаимодействие между Т-клеточными рецепторами и молекулами главного комплекса гистосовместимости, что вызывает цитокиновый шторм [185–188].

Симптомы отравления SEB зависят от времени нахождения токсина в организме. Токсин наиболее опасен, когда ингалируется, вызывая гиперпирексию в период с 3 по 12 ч после попадания в организм в комбинации с кашлем, ознобом, болями в спине и миалгиями. Лихорадка может длиться в течение 2–5 дней, а кашель может сохраняться в течение 4 нед. Ингалирование высоких доз токсина может вызвать развитие острого респираторного дистресс синдрома (ОРДС), а также явиться пусковым сигналом развития шокового состояния и полиорганной недостаточности. При попадании SEB в желудочно-кишечный тракт развивается тошнота, рвота, диарея, а также абдоминальные спазмы, которые проявляются определяются спустя 1–8 ч после отравления без лихорадки и респираторных симптомов. Симптомы обычно исчезают в течение 24–48 ч с момента развития [188, 189].

Диагностика. SEB может быть определен с использованием иммунологических методов в крови, моче или мокроте в первые 12–24 ч от момента попадания токсина в организм; по истечении этого периода времени токсин перестает определяться в упомянутых биологических жидкостях организма. В сухих или жидких продуктах SEB выявляется в минимальных концентрациях. В отдельных случаях с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) можно определить остатки бактериальной ДНК в воде, пище, клинических материалах. Серологические методы определения обычно лучше использовать для ретроспективного выявления токсина.

Наиболее известным суперантигеном *S. aureus* является 22 кДа токсин синдрома токсического шока (TSST), вызывающий развитие синдрома токсического шока (TSS) посредством стимуляции выделения ИЛ-1, ИЛ-2, TNF- α и других цитокинов. Синдром токсического шока является потенциально фатальным поражением. В отличие от энтеротоксинных суперантигенов TSST не вызывает тошноты

и рвоты. TSST продуцируется только небольшим количеством *S. aureus* [189].

S. aureus продуцируются отдельные секреторные белки, которые взаимодействуют с рецепторами на мембране лейкоцитов, что в дальнейшем предупреждает активацию иммунной системы. CHIPS (хемотаксис ингибирующий белок *S. aureus*) связывается специфически с C5aR и FPR рецепторами, что повреждает распознавание бактериальных формилированных пептидов FPR и блокирует активацию лейкоцитов через C5a конечного эффектора системы комплемента.

FLIPr (FPR-подобный 1 ингибиторный белок) и его FLIPr-подобный гомолог также блокирует распознавание формилированных белков FPR рецептором, причем FLIPr-подобный гомолог ~100 раз более активен. Нельзя не отметить, что FLIPr является эффективным антагонистом FPR2 (носит наименование FPRL1), который представляет собой рецептор, распознающий *S. aureus* PSM пептиды. Наконец, оба FLIPr и FLIPr-подобный компонент, как показано в настоящее время, полностью блокируют IgG-лигандное связывание FcγR рецепторами, ингибирующее нейтрофильный фагоцитоз и в дальнейшем гибель *S. aureus*. CHIPS, FLIPr и FLIPR-подобный субстраты кодируются внутри патогенной области, но показана относительно высокая вариабельность среди изолятов *S. aureus* [190].

Многие секретируемые *S. aureus* ферменты разрушают молекулы макроорганизма или участвуют в метаболических и сигнальных каскадах хозяина. Некоторые из таких ферментов являются протеазами. Неспецифические протеазы участвуют в разрушении белков хозяина, что приводит к тканевой деструкции. Протеазой ауреолизинном (*S. aureus* нейтральная протеиназа) расщепляются многие белки, включая инсулин В. В дальнейшем ауреолизин инактивируется PSMs, что указывает на существенную роль этого фермента в патогенезе остеомиелита.

Стафилококками выделяются также другие неспецифические экзопротеазы, в частности, глутамилэндопептидаза SspA, которая воздействует на разрушение остатков глутамита. Ауреолизин, глутамилэндопептидаза и цистеинпротеаза стафопаина А и В – все они взаимодействуют с факторами комплемента, приводя к отклонению от комплемент-опосредованного киллинга бактерий. Биологическая функция *S. aureus* протеаз, отдельных сериновых протеаз, не очень хорошо понятна. Эксфолиативные токсины специфически разруша-

ют десмосомальные кадхерины поверхностных слоев кожи, приводя к развитию стафилококкового кожного синдрома (SSSS), определенного заболевания кожи, проявляющегося сыпью, волдырями и отдельными повреждениями кожи. Наконец, *S. aureus* могут продуцировать протеазу, которая разрушает коллаген и именуется коллагеназой [190, 191].

Стафилокиназная активация плазминогена в плазмин способствует разрушению сгустков фибрина. Биологическое значение этой активности – снижение функции фибрина и прогрессирование стафилококковой инфекции. Ими также разрушается комплементарный фактор С3b, облегчая тем самым атаку других стафилококковых протеаз и других молекул, таких как фибриноген связывающий белок Efb и SCIN (стафилококковый комплементарный ингибитор), на функцию комплемента. Все стафилокиназы усиливают проникновение бактерий через кожный барьер, снижая тем самым устойчивость к кожной инфекции посредством ее повреждения.

S. aureus продуцируются две коагулазы, стафилокоагулаза и фактор von Willebrand (vWF), которые участвуют в образовании сгустков фибрина после связывания с протромбином (образуется комплекс, именуемый стафилотромбин) и несколько других плазменных белков, которые участвуют в процессе превращения фибриногена в фибрин. Это приводит к образованию сгустков фибрина на поверхности клеток *S. aureus*, ингибированию фагоцитоза и образованию абсцессов, а также к адгезии *S. aureus* к стенкам сосудов при развитии биопленочной инфекции [191].

S. aureus бета-токсин представляет собой сфингомиелиназу типа С, которой разрушается сфингомиелин, присутствующий на поверхности различных клеток хозяина, приводя тем самым к клеточному лизису. Многие вирулентные штаммы *S. aureus* обладают геном, кодирующим бета-токсин, отвечающим за патогенные свойства микроба. Бета-токсин представляет собой несущественный вирулентный фактор, принимающий определенное участие в патогенности вирулентных *S. aureus*.

Наконец, *S. aureus* продуцируются липазы и нуклеазы, функция которых в патогенности стафилококков не понятна. Возможно, нуклеазы могут уменьшать антибактериальную активность нейтрофил-внеклеточных систем, которые содержат ДНК, выделяемые из лизированных нейтрофилов [192–194].

Шигатоксин – продуцируется шигатоксигенными штаммами *Escherichia coli* (STEC – shigatoxigenic *Escherichia coli*). Шигатоксин относится к типу 2 рибосомо-инактивирующих белков. В конце XIX в. японский физиолог и бактериолог Kiyoshi Shiga изучал причину возникновения дизентерии в процессе эпидемии, охватившей 90 тыс. случаев, при этом смертность составила порядка 30%. В процессе эпидемии Шига выделил грамтрицательную бактериальную бациллу из кала пациентов, которую поименовали термином *Bacillus dysenteriae*. Эта бактерия, которая у собак после поглощения корма, вызывала диарею. При культивировании выделялись токсические факторы, выявляемые в аутолизатах бактериальных культур. Бактерия и вирулентный фактор, ею продуцируемый, были в дальнейшем отнесены к наиболее значимой причине возникновения и развития бациллярной дизентерии и доименованы терминами *Shigella dysenteriae* и Shiga toxin [196, 197].

Проведение радиационной кристаллографии показало, что все шигатоксины относятся к АВ5 белковому семейству и содержат субъединицы функционально аналогичные классическому типу 2 рибосомо-ингибирующих белков, идентифицированных в растениях. Каталитический мономер, именуемый StxA, нековалентно связан с пятью В-фрагментами, которые образуют В-субъединицу StxB. Оба пептида синтезируются и секретируются в периплазме бактерий, где они превращаются в шигатоксин. При определении белковой последовательности выявлена определенная близость между прототипом шигатоксина (Stx) из *S. dysenteriae* и большими шигаподобными токсинами, вырабатываемыми ШТЕСs (Stx1 и Stx2). Stx и Stx1 являются наиболее близкими. Интересно, что, Stx2 только на 56 % по белку гомологичен Stx/Stx1, поэтому может иметь идентичный механизм действия [198].

Как отмечено, Stx протеины могут выступать как аналоги растительных токсинов рицина и абрина, и это отражается на их функции и механизме действия. Как и применительно к рицину/абрину А-субъединица обладает РНК N-гликозидазной активностью, в то время как В-субъединица является высоко аффинной для специфических поверхностных сахаров. Подобно всем рибосомо-ингибирующим белкам, относящимся к классическому типу 2, шигатоксины также способны проникать в интактные клетки и этот процесс опосредуется StxB составляющей данного белка. Каждый В-фрагмент со-

держит три различных связывающих сайта для трисахаридной цепи гликофинколипидного глоботриазилцерамида (гб3), гликолипидного бислоя на поверхности многих клеток млекопитающих, а связывание этой группы приводит к поглощению токсина внутрь клеток посредством эндоцитоза. Зависимость в гб3 для шигатоксина была подтверждена экспериментами, в которых шигатоксинрезистентные клетки становились чувствительными к токсину благодаря встраиванию гб3 в плазматическую мембрану или когда предварительно чувствительные клетки были иммунные посредством удаления из них гб3 синтазного гена. В своем большинстве механизмы эндоцитоза шигатоксина и его транспорт через аппарат Гольджи и ER очень близки таковым, ранее описанным для рицина/абрина и, следовательно, не обсуждается достаточно детально. В целом, общность с дифтерийным и псевдомонадным токсинами позволяет отнести шигатоксин к мембран-ассоциированным протеазным фуринам, которые начинают функционировать как токсины при попадании в цитоплазму клеток. При попадании в клетку шигатоксин раскалывается на два фрагмента, из которых А1 фрагмент представляет собой соединение с высокой каталитической активностью (~27,5 кДа, большой каталитический фрагмент) и малый шигатоксин В-ассоциированный А2 фрагмент (~4,5 кДа). А1 и А2 фрагменты остаются связанными друг с другом посредством дисульфидной связи, которая может быть нивелирована после ретроградного транспорта к ER мембране с целью, чтобы свободный каталитический А1 фрагмент переместился в цитоплазму [198, 199].

Шигатоксины активируют различные сигнальные пути внутри клеток хозяина, что приводит к апоптозу посредством механизмов, близких таковым для рицина/абрина, включая ДНК-повреждение. Активация риботоксического стрессового ответа через один из трех главных клеточных МАРК каскадов представляется наиболее общим активирующим путем и непосредственно приводит к инактивации рибосом. Кроме того, активация этого ответа также связана с выделением цитокинов, которые вызывают апрегуляцию гб3 рецепторного белка в близлежащих типах клеток, тем самым потенцируя инфекционный процесс посредством токсинного поражения. Дополнительный путь, благодаря которому шигатоксины индуцируют программированную гибель клеток, именуется как неуправляемый белковый ответ (НБО). В результате подобного ответа происходит стимуляция ER

стрессорных рецепторов с последующим выделением ионов Ca^{2+} и активацией клеточных каспазов. Имеются также доказательства того, что очищенный В-домен шигатоксина способен стимулировать ER стресс-независимый апоптоз в клетках лимфомы Burkitt, преимущественно посредством перекрестного связывания с гб3 рецепторами на клеточной поверхности [200].

В отличие от ранних работ, подтверждавших, что шигатоксин является нейротоксином и вызывает лимбический паралич, когда вводится лабораторным животным, в 1970-е годы отмечены желудочно-кишечные эффекты данного токсиканта. Вскоре после этого было выявлено, что изоляты некоторых штаммов *Escherichia coli* содержали фактор, который обладал способностью убивать клетки Vero in vitro. Эти факторы были поименованы как веротоксины и бактерии, которые их продуцировали были названы термином веротоксин-продуцирующие *E. coli* (ВТЕС). Однако эти данные были впоследствии изменены, когда O'Brien с коллегами идентифицировал штаммы *E. coli* с изолятами, содержащими токсин, относящийся к шига. Он вызывал геморрагические колиты и диарею у детей и юношей. Когда было показано, что веротоксин и шига-подобные токсины обладали способностью нейтрализоваться антителами к естественному шигатоксину, исследования вскоре были реализованы в других работах с аналогичными штаммами и выявили штаммы, реклассифицированные как шигаподобные токсинпродуцирующие *E. coli* (ШТЕС). Факт относительно того, что выявленные близкие токсины продуцировались двумя разными по отношению друг к другу бактериальными видами указывает на наличие горизонтальной передачи мобильного генетического элемента между ними. Это было показано в случае, когда было установлено, что шигатоксины (Stxs) кодировались генами внутри геномов, принадлежащих нефункционирующим бактериофагам. Эти Stx-фаги обладали способностью интегрировать в хромосомы хозяина и тем самым подтверждая наличие Stx-оперона, содержащего гены, необходимые для продукции токсина. Среди этих элементов Stx-фаги обладают высокой степенью гетерогенности и мозаичности, более склонны к рекомбинации, вызванной присутствием множественности фагов внутри одних и тех же бактерий. Установлено, что Stx-фаги инфицируют другие бактерии в желудке, эффективно провоцируя токсинообразование. Это является основной проблемой в процессе развития шига относящихся заболеваний [201, 202].

Бактерии, которые продуцируют вирулентные факторы, обеспечивающие бактериальную инвазию и процессы колонизации в организме хозяина, объединены под термином «цикломодулины».

Цикломодулины представляют собой гетерологичный функциональный класс микробных вирулентных факторов белковой и небелковой природы. Отдельные цикломодулины обладают ферментативной активностью и классифицируются как трансферазы, диамидазы, диаминазы, протеазы, гликозидазы, фосфатазы или ДНКазы. Среди цикломодулинов, которые обладают ферментативной активностью имеются АВ токсины, которые взаимодействуют с поверхностью клеток через один или несколько В-связывающих домена и модифицируют внутриклеточные структуры клеток хозяина посредством ферментативной активности через А-активные домена.

Помимо цикломодулинов с ферментативной активностью, имеются порообразующие протеиноподобные цикломодулины (PVL), пептидные цикломодулины (PSM), а также непротеиноподобные факторы (микролактоны).

Циклингибирующие факторы (ЦИФ) – представляют собой эффекторы, выделяемые коагулазонеположительными и коагулазонегативными *E. Coli* посредством их ферментативных систем. ЦИФ вызывает клеточную блокаду по обоим G1/S и G2/M направлениям, посредством накопления ЦДК ингибиторов, p21Cip1 и p27Kip1 [203]. Такое ингибирование опосредуется диамидацией убиквитино-подобного белка NEDD8 посредством ЦИФ, показывая тем самым, что ЦИФ обладает диамидазной ферментативной активностью. Инактивация ЦИФ приводит к ингибированию убиквитон-зависимого разрушающего пути и, следовательно, к накоплению ЦИФ-субстратов, включая p21Cip1 и p27Kip1, которыми индуцируется блокада клеточного цикла клеток хозяина. Воздействие ЦИФ на клетки также характеризуется образованием стрессовых тяжелей и локальной адгезии, что приводит к клеточной и ядерной дезорганизации, а это, в свою очередь, является результатом ингибирования ЦИФ-зависимой RhoA деградации. Белки, гомологичные с ЦИФ белками, были выявлены в некоторых других патогенных грамотрицательных видах микроорганизмов (*Yersinia pseudotuberculosis*, *Photobacterium luminescens*, *Photobacterium asymbiotica*, и *Burkholderia pseudomallei*). Известные на сегодняшний день цитомодулины приведены в табл. 4.7.

Цитомодулины и их ключевые характеристики [204]

Цикломодулин	Тип токсина	Продуценты	Белки	Аналог ферментативной активности	Воздействие на фазу клеточного цикла
1	2	3	4	5	6
Белки и белковые токсины Цикломодулины с ферментативной активностью					
Цикл ингибирующий фактор (ЦИФ)	Цистеин-протеаза	<i>E. coli</i> (EHEC, EPEC), <i>Y. pseudotuberculosis</i> ; <i>Pseudomonas</i> sp.; <i>Enterobacter</i> sp.; <i>Serratia</i> sp.	2 домена: N-концевой (секреция и транслокация); C-концевой (энзиматическая)	Деамидаза	G1/S G2/M
γ-глутамил-транспептидаза (ГГТ)	Фермент	<i>H. pylori</i>	1 белок с 2 цепями, расщепленными автокатализом	Гамма-глутамил-трансфераза	G1/S
Цитолетальный раздувающий токсин (ЦРТ)	Три глобулярные субъединицы	<i>E. coli</i> , <i>H. hepaticus</i> ; <i>S. enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i>	CdtB каталитическая субъединица, CdtA и CdtC клеточно-связывающие субъединицы	CdtB субъединица: деамидаза и фосфатаза	G1/S G2/M
Субтилаза АВ (СубАВ)	АВ5 токсин	<i>E. coli</i> (STEC)	СубА ферментативная субъединица; СубВ связывающая субъединица	А субъединица: протеаза	G1/S
Сибиреязвенный токсин (отечный токсин / летальный токсин)	Трехкомпонентный токсин	<i>B. anthracis</i>	Отечный и/или летальный фактор (А ферментативная субъединица). Протективный антиген (В связывающая субъединица)	Отечный фактор: аденилатциклаза; летальный фактор: цинк-металлопротеиназа	G1/S

Окончание табл. 4.7

1	2	3	4	5	6
Холерный токсин	AB5 токсин. Олигомерный комплекс	<i>V. cholerae</i>	СТА композиция. СТА1 и СТА2 домены. СТВ (В связывающая субъединица)	АДФ-рибозил-трансфераза	G1/S
Аденилат-циклазный токсин (АЦТ)	AB5 токсин	<i>B. pertussis</i>	S1 ферментативная А субъединица; S2-S5 субъединицы	А субъединица: ацетил-трансфераза	G1/S
Вакуолизирующий цитотоксин (ВаКА)	Порообразующий токсин	<i>H. pylori</i>	3 домена (p33, p55, β -barrel)	Гипотетически	G1/S
Цитотоксический некротизирующий фактор 1 (ЦНФ-1)	Не традиционный АВ токсин	<i>E. coli</i>	3 домена: N-концевой (связывающий); С-концевой (ферментный); центральный (транслокационный)	Деаминаза	G2/M
Цикломодулины без ферментативной активности					
Panton–Valentine leukocidin (PVL)	Бета-порообразующий токсин. Би-компонентный токсин	<i>S. aureus</i>	LukS-PV LukF-PV	Отсутствует	G0/G1
Фенол растворимые модулины (ФРМы)	Пептиды	<i>S. aureus</i>	PSM α , PSM β , PSM γ	Отсутствует	G2/M
Небелковые цикломодулины					
Миколактон	Макролид	<i>M. ulcerans</i>	–	Отсутствует	G0/G1

Гамма-глутамилтранспептидаза – основным продуцентом является *Helicobacter pylori* – грамотрицательный микроорганизм, который колонизирует слизистую ЖКТ и вызывает такие заболевания, как хронический гастрит, рак желудка и язвенную болезнь. *H. pylori* продуцируется гидролитический фермент γ -глутамилтранспептидаза (ГГТ), представляющий собой вирулентный фактор, которым катализируются транспептидация и гидролиз гамма-глутамильных групп глутатиона и других компонентов [205]. ГГТ *H. pylori* синтезируется как простой 60 кДа предшественник белка, экспрессируемого геном HP1118. В результате авторазрушения треонином 380 ГГТ распадается на две единицы, 40 кДа и 20 кДа, которые образуют активный гетеродимер. Ферментативная активность ГГТ располагается в 20 кДа субъединице и обусловлена гамма-глутамилсвязывающим сайтом Tyr433, а также Arg475 остатками и С-концевой областью 20 кДа субъединицы, участвующей в каталитических процессах [206, 207].

ГГТ, как вирулентный фактор, в основном ассоциируется с колонизацией и язвой желудка, что подтверждено исследованиями на нескольких животных моделях. ГГТ вызывает повреждение клеток желудка, включая их апоптоз. Продукция реактивных форм кислорода вызывает повреждение ДНК, индукция воспалительного ответа увеличивает экспрессию циклооксигеназы-2 и интерлейкина 8, замедляя тем самым клеточный цикл. Обработка опухолевых клеток человека AGS (клетки аденокарциномы желудка) ГГТ вызывает блокирование G1 фазы клеточного цикла. Блокада обусловлена снижением экспрессии циклина E, циклина A, Cdk 4 и Cdk 6, а также увеличением экспрессии ингибиторов циклин-зависимой киназы (Cdk) p27Kip1 и p21Cip1, подтверждая тем самым, что ГГТ оказывает свое основное влияние на взаимосвязь G1-S фаз. В настоящее время показано, что в дополнение к блокаде G1-фазы в эпителиальных клетках ГГТ *H. pylori* ГГТ индуцируется блокада G1-фазы T-клеток [208, 209].

Цитолетальный дистанционный токсин – продуцируется различными грамотрицательными бактериями, такими как *E. coli*, *Helicobacter hepaticus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* и другими бактериями. Первоначально цитолетальный дистанционный токсин (ЦДТ), относящийся к группе AB2 токсинному семейству, был описан в 1987 г., как фактор патогенности *E. coli*, выделенной от ребенка. ЦДТ блокирует клеточный цикл клеток макроорганизма и индуцирует ДНК

разрушение на простые и двойные компоненты. Под его влиянием может существенно повыситься риск развития рака [209, 210].

ЦДТ является продуктом оперона, кодирующего три белка: CdtA, CdtB и CdtC. ЦДТ относится к АВ2 типу токсинов, в которых CdtB субъединица корреспондирует с А (активный)-доменом и проявляет ДНК-азную активность, а также фосфатазную активность. CdtA и CdtC представляют собой два ридиноподобных домена, посредством которых ЦДТ связывается с чувствительной клеткой (В2-домен), что приводит к ее нейтрализации. CdtB затем перемещается в ядро посредством ретроградного транспорта через раннюю и позднюю эндосомы. Показано, что CdtA, CdtB и CdtC образуют комплекс с тремя внутризависимыми молекулярными интерфейсами [211, 212].

По сравнению с другими патогенами брюшнотифозный токсин *Salmonella typhi*, относящийся к А2В5 токсинам, обладает CdtB, посредством которого связывается через дисульфидную связь с PltA (дифтерийно-подобный токсин А, гомологичный дифтерийному токсину на основании АДФ-рибозилтрансферазной субъединицы [213, 214]. Эти два активных (А) белка нековалентно связаны с В5 (связывающей) субъединицей, образуя пентамерную PltB (дифтериеподобный токсин В) субъединицу, ответственную за связывание с клетками. Ассоциированная с CdtA и CdtC CdtB субъединица является высокостабильной среди различных бактерий и на 25–40 % идентична с фосфодиэстеразами, включая ДНК-азу I. Благодаря нуклеазной активности этой субъединицы имеет место развитие ДНК повреждающего ответа. Активация ДНК повреждающего ответа инициируется АТМ, которой фосфорилируется ЧНК2, серин/треонин киназой. Кроме того, она фосфорилирует различные регуляторы клеточного цикла, такие как фосфатазы Cdc25A и Cdc25C. Фосфорилирование Cdc25C активирует сайты взаимодействия для 14-3-3 семейства белков, которые секвестрируют Cdc25C в цитоплазме. Следовательно, фосфатаза Cdc25C не способна активировать ядерное гиперфосфорилирование (инактивация) CDK1/циклин В комплекса, приводя к торможению в G2/M фазе клеточного цикла. Торможение G1/S-фазы ЦДТ показано на рис. 4.4. Повреждение ДНК посредством ЦДТ также активируется p53 и p21Cip1, вызывая CDK2, а также CdcE инактивацию и блокаду клеточного цикла в G1-фазе. Субтилаза АВ (SubAB) связывается на клеточной поверхности с пентаметрической В субъединицей (оранжевый цвет) SubAB воздействует на каперон ВiP, вследствие чего активируются

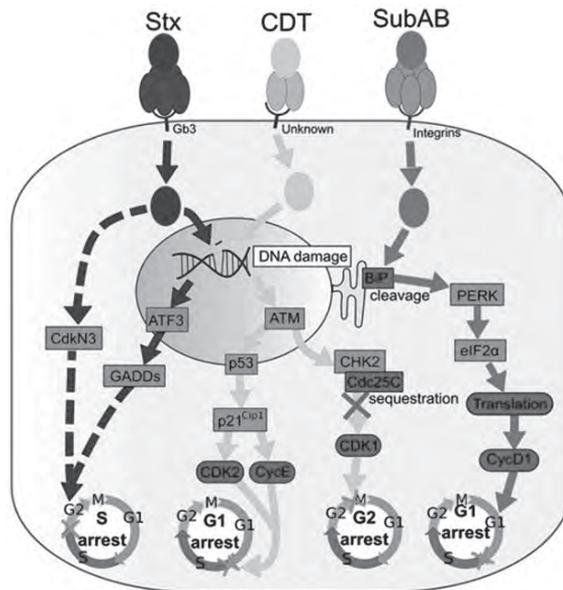


Рис. 4.4. Сигнальные пути шигатоксина, цитолетального дистанционного токсина и субтилазы АВ

Примечание. Активированные и инактивированные белки окрашены в зеленый и красный цвета соответственно. 1) Шигатоксин связывается с клеточным рецептором Gb3 через пентамерную В субъединицу (темно-красный), в результате чего происходит интернализация энзиматической А субъединицы (пурпурный). Шигатоксином (Stx) индуцируется активация ДНК субъединицы, которой активируются ATF3 и GADDs белки, что приводит в конечном итоге к блокаде клеточного цикла развития в G2-фазе. Stx также индуцируется CdkN3, что приводит к блокаде клеточного цикла на уровне G2-фазы. 2) Цитолетальный дистанционный токсин (ЦДТ) связывается с неизвестным рецептором на клеточной мембране посредством CdtA и CdtC (голубой цвет), приводя тем самым к ферментативной CdtВ (желтый цвет) интернализации. ЦДТ вызывает повреждение ДНК, что приводит к активации АТМ. В дальнейшем Cdc25C не является свободным для связывания с CDK1, приводя тем самым к его ингибированию и незамедлительно к блокаде клеток в G2-фазе [218].

PERK и eIF2α, приводя к ингибированию процессов трансляции. В заключение, циклин D1 вызывает посредством даун-регуляции блокаду клеток в G1-фазе [215–217].

ЦДТ является превалирующим фактором вирулентности для бактериального выживания. Показано, что под влиянием ЦДТ увеличивается бактериальная колонизация кишечника, повышается провоспалительный ответ, а также дерегулируется иммунный ответ посредством нарушения синтеза цитокинов, что резко усиливает местное воспаление. Кроме того, установлено, что ЦДТ *A. actinomycetemcomitans* интерферируют с метаболизмом костного мозга, сигнализируя относительно остеокластных различий в месте инфекции. Эффект, вызываемый ЦДТ, может привести к апоптозу или некрозу клеток через митохондриальные эффекторы Bax/Bcl-2, выделение цитохрома С и активацию других неблагоприятных для функционирования клеток механизмов. В дальнейшем могут развиваться генотоксические эффекты ЦДТ, что может привести к индукции клеточной сенсбилизации, ассоциированной с персистентно активированным повреждением ДНК, сигнализирующим, что может наступить геномная нестабильность.

Колибактин представляет собой другой хорошо известный цикломодулин, продуцируемый *E. coli* и как ЦДТ представляет собой генотоксин, под влиянием которого индуцируется разрушение ДНК клеток хозяина и активируется ДНК повреждающий ответ. Механизм действия колибактина достаточно подробно описан [219].

Субтильный токсин (SubAB) является АВ5 типом, который продуцируется STEC. *In vivo* эффекты SubAB оценены на мышах и характеризуются микрососудистыми повреждениями, тормобозом и некрозом на уровне различных органов, таких как головной мозг, печень и почки. SubAB могут участвовать в патогенезе системного гемолитического уремического синдрома [220].

Подобно другим АВ токсинам, пять 13 кДа В субъединиц SubAB связываются с клеточными рецепторами клеток хозяина, в то время как 35 кДа А субъединица проявляет ферментативную и цитотоксическую активность. При попадании внутрь клеток посредством эндоцитоза SubAB проникает через аппарат Гольджи к ER. SubAB индуцируется ER стресс и разрушению каперона BiP/Grp78 в его С-концевой области, локализованной в мембране ER. В результате происходит ингибирование белкового синтеза. SubAB-индуцированный ER стресс вызывает много других клеточных изменений, таких как транзиторное фосфорилирование Akt и активацию NF-κB сигналов, а также индукцию апоптоза [216].

BiP/Grp78 ассоциируется с фосфорилированием двуспиральной РНК-активированной белковой киназо-подобной ER киназы (PERK) и эукариотического фактора-2 α инициации (eIF2 α). Разрушение BiP/Grp78 приводит к циклин D1 даун-регуляции, вызывая ингибирование SubAB-индуцированной транслокации и текущее протеасомальное разрушение, а также приводит к блокаде G1-фазы клеточного цикла.

Токсин сибиреязвенного микроба (*Bacillus anthracis*) является этиологическим фактором сибирской язвы. Заболевание характеризуется местными и системными клиническими проявлениями. Кожная сибирская язва характеризуется эдематозными некротическими повреждениями, которые становятся черного цвета, в то время как системная сибирская язва характеризуется множественностью симптоматики, включая гипотензию и шок, вследствие чего может наступить летальный исход [221].

Токсин *B. anthracis* в действительности представляет собой трехкомпонентный токсин, который относится к семейству AB токсинов. Он включает гептамерный протективный антиген (ПА) (B субъединица) и две противоположных A субъединицы: летальный фактор (ЛФ), образующий летальный токсин (ЛТ), и отечный фактор (ОФ), образующий отечный токсин (ОТ) [222, 223].

В исследованиях *in vivo* на мышинной модели показано, что подкожное введение ОТ приводит к отеку кожи, в то время как внутривенное введение ОТ может непосредственно повредить интестинальные эпителиальные клетки и гепатоциты, а также привести к летальному исходу. 83 кДа ПА связывается с белковыми рецепторами на клетках хозяина, такими как туморогенный эндотелиальный маркер 8 (TEM8), также известный как сибиреязвенный токсинный рецептор 1, и капиллярный морфогенетический генный продукт 2 (CMG2) – сибиреязвенный токсинный рецептор 2, посредством которых проявляются каталитические свойства токсинов, ОФ или ЛФ, на уровне цитоплазмы клеток хозяина. Отечный фактор представляет собой аденилатциклазу, которая транслоцируется в клетки хозяина и после связывания с кальций-связывающим белком, калмодулином, катализирует продукцию цАМФ, вызывая повреждение клеточного гомеостаза посредством множественных изменений (рис. 4.5) [222].

Пролиферация многих клеток контролируется фосфорилированием внеклеточной сигнал-регуляторной киназы ERK, обусловленным

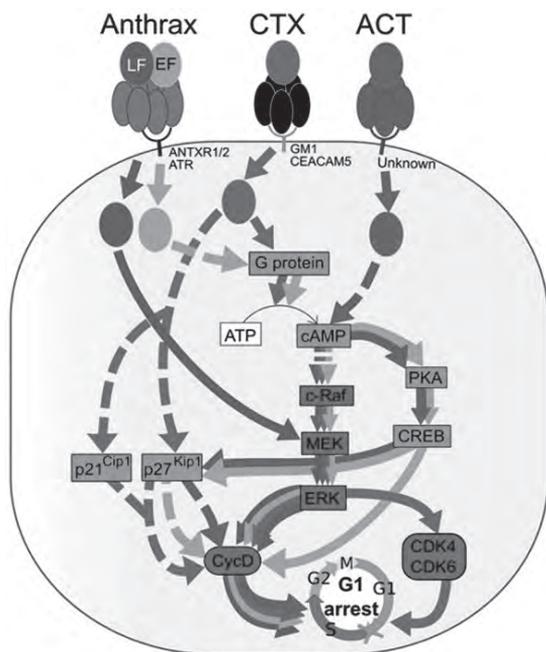


Рис. 4.5. Сигнальные пути сибиреязвенного токсина, холерного токсина (ХТ) и аденилатциклазного токсина (АЦТ), регулирующие блокаду G1-фазу клеточного цикла эукариотических клеток

Примечание. Активированные и инактивированные белки покрашены в зеленый и красный цвет соответственно. Другими цветами обозначены каталитические свойства токсинов. 1) Сибиреязвенный токсин формируется из ОФ, ЛФ и ПА. Гептамерный ПА (серый) связывается либо с ANTXR1, либо с ANTXR2, либо с ATR на клеточной

мембране и приводит к увеличению проникновения ОФ и ЛФ в клетку. ОФ (зеленый цвет) индуцирует продукцию цАМФ посредством инактивации c-Raf/MEK/ERK каскада, приводя тем самым к инактивации циклина D1. цАМФ повышает индукцию PKA и CREB, приводя к инактивации циклина D1. Уровень p27Kip1 увеличивается под влиянием цАМФ, что также приводит к инактивации циклина D и соответственно циклина D1. ЛФ (темно-зеленый цвет) непосредственно инактивирует MEK, приводя тем самым к инактивации ERK и циклина D1. 2) Холерный токсин (ХТ) связывается либо с GM1, либо с CEACAM5 на клеточной мембране посредством пентамерной СТБ субъединицы (черный цвет), приводя к эндоцитозу каталитической ХТ субъединицы (голубой цвет). ХТ активируется G белок и продукция цАМФ через p27Kip1 и p21Cip1, и инактивируется c-Raf/MEK/ERK каскад, что приводит к инактивации циклина Cyclin D1, CDK4, а также CDK6. 3) Аденилатциклазный токсин (АЦТ) связывается с неизвестным рецептором на поверхности клетки посредством пентамерной субъединицы (пурпурный цвет), а каталитическая субъединица (коричневый цвет) транслоцируется в цитоплазму. По аналогичному пути, как и ОФ, АЦТ индуцирует продукцию цАМФ, что приводит к инактивации c-Raf/MEK/ERK каскада, активации PKA и CREB, активации p27Kip1 и в заключение – инактивации циклина D1. Инактивация циклина D1, CDK4 и CDK6 приводит к блокаде клеточного цикла на уровне G1-фазы [225].

активацией митоген-активированной протеинкиназы (МЕК), что осуществляет передачу сигнала с клеточных рецепторов на ядерную ДНК, регулирующую генную экспрессию; этот путь трансдукции находится в зависимости от уровня цАМФ. ОФ-индуцированная продукция цАМФ уменьшает уровень фосфорилированных ERK и стимулирует фосфорилирование цАМФ-связывающего белка (CREB), в частности через цАМФ-зависимую протеинкиназу А (РКА). ОФ-индуцированное накопление цАМФ приводит к уменьшению уровня циклин D1, которым, совместно с CDKs, регулируется извне G1-фаза клеточного цикла. Уровень p27Kip1, которым ингибируется комплекс циклин D и CDKs, повышается, что обусловлено увеличением цАМФ. В дальнейшем, накопление клеток в G1/G0-фазе и уменьшение количества клеток в S-фазе имеет место среди ОТ-обработанных клеток.

Летальный фактор, являющийся другой каталитической субъединицей сибиреязвенного токсина, относится к цинк-металло-протеиназам, которые разрушаются и инактивируются N-терминальным окончанием МЕК. Он приводит к ингибированию ERK, а в дальнейшем посредством даун-регуляции циклина D1, циклина D2 и чекпойнткиназы 1. Важная роль циклина D1 и D2 заключается в выходе клетки из G1 и инициации полного ее вхождения в S фазу через активированные циклин-зависимые киназы 2, 4 и 6. Подобные изменения приводят к блокаде клеток на уровне G1/G0 фазы клеточного цикла. В конечном итоге ЛФ-индуцированное разрушение МЕК, которое приводит к повреждению циклиновой функции и гомеостаза, способствует увеличению клеточной гибели через транскриптомную дисрегуляцию факторов хозяина, что приводит к его цитотоксичности в отношении эндотелиальных клеток человека [204, 221, 224].

Холерный токсин (ХТ) является основным вирулентным фактором *Vibrio cholera* и основным диареей вызывающим энтеротоксином. ХТ относится к АВ5 токсинному семейству, который представляет собой рецептор-связывающую на поверхности клеток гомопентамерную В субъединицу (ХТВ), связанную с каталитической А субъединицей (ХТА). ХТА состоит из ХТА1 домена, которым активируются G белки, и СТА2 домена. Пентамерная ХТВ субъединица связывается с GM1 ганглиозидными рецепторами клеток мишеней или другими типами гликанов. Связывание пентамерной ХТВ субъединицы с GM1

ганглиозидным рецептором на интерстициальных клетках (энтероцитах) приводит к эндоцитозу ХТ и последующему разрушению до ХТА1, который затем становится активным ферментом. Благодаря активации, ХТА1 катализирует АДФ-рибозилирование Gs альфа-субъединицы (Gs α) G белка, чем стимулируется аденилатциклаза к продукции цАМФ. Высокие уровни АМФ изменяют электролитный баланс, вызывая ионный дисбаланс и выход воды из энтероцитов, приводя тем самым к водной диарее [226].

Холерным токсином индуцируется блокада эукариотических клеток на уровне G1-фазы. Способность ХТ к модулированию клеточного цикла отмечена на модели глиальных клеток линии С6 крыс. Под влиянием токсина индуцируется накопление клеток в G1-фазе, что обусловлено даун-регуляцией белков циклина D1 и CDK2 и ап-регуляцией ингибиторных белков клеточного цикла p21Cip1 and p27Kip1. Кроме того, показано, что ХТ инактивируется с-Raf/Mek/Erk каскад через PKA-зависимое с-Raf фосфорилирование Ser-43 [226].

Аденилатциклазный токсин (*Bordetella pertussis*) – грамотрицательный бактериальный патоген является этиологическим фактором проявлений респираторных инфекций, включающих профузный кашель с возможными летальными проявлениями [267]. *B. pertussis* продуцирует аденилатциклазный токсин (АЦТ), который относится к АВ5 токсинному семейству [228]. АЦТ *B. pertussis* представляет собой ~200 кДа белок, содержащий два функциональных домена: N-концевой аденилатциклазный ферментный домен (АС домен) и порообразующий, или гемолизиновый, домен (Нлу домен), который относится к RTX семейству. АЦТ обладает двойной гемолитической/порообразующей активностью в сочетании с аденилатциклазной ферментативной активностью. АЦТ выделяется типом 1 бактериальной секреторной системой. Нлу домен необходим для проникновения АС домена в цитоплазму клеток либо посредством связывания с $\alpha\beta 2$ интегрином (CD11b/CD18) в качестве клеточного рецептора, либо посредством прямой транслокации в цитоплазму эукариотических клеток [229].

Попав в цитоплазму АС домен активируется через связывание с калмодулином и катализирует превращение внутриклеточного АТФ в цАМФ, ключевой вторичный сигнальный мессенджер. Показано, что АЦТ-индуцирование сигнальной цАМФ и АТФ вместе

с порообразующей активностью может проявлять синергизм в увеличении апоптоза и некроза фагоцитов. Анализ эффектов *B. pertussis* относительно регуляторных путей, контролирующих клеточный цикл, показал, что АЦТ стимулы РКА, которыми активируются CREB посредством их фосфорилирования понижает уровень циклина D и приводит к блокаде на уровне G1-фазы клеточного цикла. С другой стороны, *B. pertussis* АЦТ-индуцирование цАМФ через c-Raf-MEK комплекс может ингибировать ERK фосфорилирование, приводя к уменьшению уровня циклина D и в дальнейшем блокированию в клеточном цикле прогрессирования перехода G1-S-фаз. Кроме того, АЦТ может увеличивать уровень циклин-зависимого киназного ингибитора p27Kip1. Таким регуляторным профилем осуществляется накопление инфицированных клеток в G1/G0-фазе и уменьшение количества клеток в S фазе [230, 231].

Вакуолизирующий цитотоксин является одним из наиболее вирулентных факторов, описанных для *H. pylori* (вакуолизирующий цитотоксин А – VacA), предназначен для индуцирования образования больших кислых вакуолей в цитоплазме желудочных клеток. Цитоплазматическая вакуолизация вызывается осмотическим дисбалансом с потерей эндоцитарных компонентов и VacA-зависимым увеличением проницаемости клеток для анионов. Образование анион-проводящих каналов во внутриклеточной мембране может помочь *H. pylori* колонизации [212, 232].

VacA синтезируется в виде 140 кДа претоксина, который под действием протеолитических процессов в течение секреции превращается в зрелый 88 кДа мономер. Внутриклеточноактивируемым VacA присущи характеристики АВ токсина, однако ферментативная активность субъединицы А подкрепляется порообразующей активностью. Эффективность порообразующего действия внутри клеток хозяина являет собой потенциальную ферментативную активность традиционных АВ токсинов [216]. VacA преимущественно воздействует на внутреннюю митохондриальную мембрану, приводя к ее повреждению и летальному исходу всей клетки. Показано, что внутренняя мембрана эпителиальных клеток желудка под влиянием VacA становится проницаемой и токсин поступает в митохондрии посредством образования мембранных каналов и модулирования мембранной проницаемости митохондрий. Это приводит к выделению цитохрома C и активации апоптоза через изменение соот-

ношения экспрессии клеточный цикл/апоптотические регуляторы p53, p21Cip1 и Bax, именуемые каспас-8 и -9, что достаточно подробно было изучено *in vitro* на эпителиальных клетках желудка линии AGS [232].

Обработка клеток рекомбинантным VacA сопровождалось ингибированием клеточного роста и морфологическими изменениями, а также ДНК фрагментацией; анализ клеточного цикла показал удлинение развития клеток в G1 фазе. Эти данные показывают, что VacA *H. pylori* индуцирует апоптоз эпителиальных клеток желудка и подтверждают, что VacA может опосредовать развитие заболеваний желудка через блокаду клеточного цикла на уровне G1-фазы. Кроме того, отмечено, что VacA может эффективно блокировать пролиферацию Т-клеток, индуцируя блокаду перехода клеток из G1-фазы в S-фазу. Это обусловлено изменением соотношения Т-клеточный рецептор/интерлейкин-2 (ИЛ-2) сигнальный путь через Ca²⁺-калмодулин-зависимую фосфатазу кальцинеурин, вызывающую даун-регуляцию ИЛ-2 транскрипции [205, 233–235].

Цитотоксический некротизирующий фактор 1 (CNF-1) является токсическим продуктом патогенных *E. coli*. Этот токсин ассоциируется с инфекциями мочевыводительного тракта, а также с инфекциями кожных покровов и слизистых. Кроме того, CNF-1 продуцируется некоторыми патогенными штаммами, вызывающими диарейные заболевания. *E. coli* CNF-1 представляет собой 113,8 кДа АВ токсин, содержащий в своей структуре N-концевой рецептор-связывающий домен, связывающий домен с двумя гидрофобными спиралями, необходимыми для мембранной транслокации, и C-терминальный каталитический домен [236].

Первое описание CNF-1 ассоциировалось с его способностью вызывать многоядерность *in vitro* в дифференцированных линиях клеток. Изучение молекулярных механизмов действия CNF-1 показало, что CNF-1 попадает в клетки посредством рецепторопосредованного эндоцитоза, который является независимым от клатрина и сфинголипид-холестерин-богатых микродоменов. Показано, что CNF-1 активируются белки, относящиеся к семейству Rho GTP-аз, посредством повышения дезамидирования глутамина 63 RhoA или эквивалентного Q61 Rac1 и Cdc42, а также конвертации этого остатка в глутаминовую кислоту. В направлении Rho GTP-аз, которые локализованы в цитоплазме и плазматической мембране,

каталитический домен CNF-1 может быть выделен из эндосомальной мембраны. Подобно другим АВ-токсинам, автокаталитическое разрушение не идентифицировано, показывая тем самым, что эндосомальная протеаза может быть включена в CNF-1 процессинг [216, 237, 238].

Показано, что CNF-1 предупреждается CDK1-циклин В1-зависимая прогрессия клеток из G2-фазы в М фазу в уроэпителиальных клетках. Установлено, что экспрессия циклина В1 варьирует в течение клеточного цикла с повышением уровня в G2/М-фазе. Циклин-В1 преимущественно выявлен в цитоплазме клеток, находящихся в G2-фазе клеточного цикла при его транслокации в ядра. Показано, что CNF-1 способствует уменьшению циклин-В1 экспрессии и индукции секвестрации циклина-В1 в цитоплазме, что сопровождается CDK1 ингибированию и блокадой G2/М-фазы [239].

Как в случае с другими цикломодулинами, CNF-1-индуцированная блокада G2/М, в результате которой повреждается эпителиальный слой клеток, можно говорить о колонизации *E. coli* в данных условиях и повышении риска канцерогенеза, обусловленного, в частности, способностью Rho GTP-аз повышать уровень таких процессов, как подвижность опухолевых клеток, метастазирование, клеточную инвазивность и блокировать цитогенез [240].

Цикломодулины без ферментативной активности представлены Panton-Valentine leukocidin (PVL) и Фенол растворимыми модулинами (ФРМы) [224, 241, 242].

Лейкоцидин пантон-валентин (*Staphylococcus aureus-S. aureus*) является высокоактивным патогеном, ответственным за развитие широкого круга заболеваний от кожных и тканевых инфекций, до системных заболеваний человека и животных. *S. aureus* обусловленные инфекции – постоянно прогрессирующие патологические состояния, которые обусловлены продуцируемыми возбудителем токсинами. Panton-Valentine лейкоцидин (PVL) является одним из порообразующих токсинов, ассоциированных с повышением вирулентной активности штаммов *S. aureus*. PVL отвечает за деструкцию лейкоцитов и развитие некротической геморрагической пневмонии, высоколетальной инфекции, которая преимущественно поражает детей и лиц молодого возраста [243–245].

PVL представляет собой бикомпонентный токсин, действие которого обусловлено синергидной активностью двух белковых субъ-

единиц, размером в 33 и 34 кДа, поименованные как S и F согласно их структуре или хроматографическим отличиям. Эти белки кодируются двумя ко-транскрипционными генами *lukS-PV* и *lukF-PV*, которые локализованы в профаге. *LukS-PV* и *LukF-PV* субъединицы с бета-баррельной структурой требуют порообразующей конформации после связывания с C5A рецептором, приводя тем самым к гетероолигомеризации в плазматической мембране защитных клеток хозяина. Окончательным эффектом является клеточный лизис [246].

Показано, что *LukS-PV* субъединица одна может ингибировать пролиферацию клеток острого миелобластного лейкоза человека линии THP-1 [247]. Анализ клеточного цикла клеток, обработанных *LukS-PV*, показал в нем изменения: *LukS-PV* снижал количество S-фазных клеток на фоне увеличения количества G0/G1-фазных клеток. Кроме того, *LukS-PV* значительно ингибировал экспрессию циклина-D1, которым регулируется развитие клеточного цикла от фазы G1 к фазе S. В целом, эти данные подтверждают, что *LukS-PV* блокирует клеточный цикл на уровне G0/G1 [248].

Фенол-растворимые модулины (ФРМ) представляют собой пептиды, которые впервые были идентифицированы в 1999 г. как «провоспалительный комплекс», выделенный посредством тепловой феноловой экстракции из *S. epidermidis*. ФРМ в настоящее время выделены в новое семейство токсинов, которые сопряжены с повышенной вирулентностью и агрессивностью изолятов *S. aureus*. ФРМ классифицируются согласно их размерам: короткие (20–25 аминокислот) α -типа пептиды (PSM α 1–PSM α 4) и δ -токсин, длинные (44 аминокислоты) β -типа пептиды (PSM β 1 и PSM β 2) [249].

ФРМ кодируются тремя различными областями в геноме. Четыре PSM α 1–PSM α 4 пептида кодируются в *psma* опероне; PSM β 1 и PSM β 2 кодируются в *psm β* опероне; δ -toxin кодируется внутри кодирующей последовательности для РНКIII.

ФРМ обладают множественными биологическими функциями, которые являются существенными в патогенезе стафилококковой инфекции. ФРМ участвуют в воспалительном ответе, а именно в хемотаксисе и первичном нейтрофилезе у человека, а также индуцируют цитокиновую экспрессию. Показано, что ФРМ ингибируют интерлейкиновую экспрессию в течение длительно текущей

инфекции, что подтверждает вовлечение ФРМ в персистирующую инфекцию. ФРМ лизируют белые и красные клетки крови, а также принимают участие в образовании биопленок. ФРМ также обладают антимикробными и иммуномодулирующими свойствами. Показано, что метициллин-резистентные *S. aureus* MW2 индуцируют снижение митотического индекса и цитопатический эффект в клетках хозяина. Кроме того, показано, что MW2 индуцируется замедление G2/M-фазы в клетках хозяина, что ассоциируется с накоплением циклин-зависимой киназы Cdk1/cdc2 и нефосфорилированных гистонов H3. В настоящее время показано, что ФРМ отвечают за замедление процессов перехода G2-фазы в M фазу, подтверждая тем самым, что ФРМ имеют отношение к семейству цикломодулинов. ФРМ-индуцированное замедление G2/M-фазы ассоциируется с увеличением инфекционности процесса, включая попадание микроорганизмов в клетки хозяина и их внутриклеточное размножение, а также снижение выработки клетками хозяина антимикробных пептидов [250, 251].

К небелковым цикломодулинам относится микролактон [252]. Условно-патогенный микроорганизм *Mycobacterium ulcerans* является этиологической причиной развития язвы Бурули (ЯБ), инфекционного заболевания, которое характеризуется тканевым некрозом и иммуносупрессией [253]. Макролидный микролактон продуцируется *M. Ulcerans* в качестве необходимого и активного вирулентного фактора применительно к патогенезу ЯБ. Микролактон состоит из двух поликетидных цепей, одна из которых образует каркас лактона, 12-членное лактонове кольцо, в результате чего происходит спонтанная циклизация [254].

Микролактон-индуцированная иммуносупрессия была выявлена в связи с предупреждением транслокации белков, которые пассируются через эндоплазматический ретикулум перед секрецией. Следовательно, этот эффект повреждает иммунную функцию различных клеток хозяина, таких как моноциты, макрофаги, Т-лимфоциты и дендритные клетки, которые взаимодействуют с микролактоном в процессе инфекции. Показано, что каркас лактона необходим для его цитотоксичности, в то же время жирно-кислотные сайты его цепи необходимы для проникновения микролактинов в клетки хозяина с последующим взаимодействием с внутриклеточными молекулами-мишенями [253].

В последнее время было показано, что белок синдрома Wiskott-Aldrich (WAPC) и нейромедиатор WAPC (H-WAPC) являются молекулярными мишенями миколактона. WAPC и N-WAPC являются представителями семейства «эшафотных» белков, передающих различные сигналы и принимающих активное участие в ремоделировании актинового скелета. Миколактоном активируются WAPC и H-WAPC посредством внутримолекулярного взаимодействия с различными лигандами, включая регулятор клеточного цикла CDC42. Активация WAPC и H-WAPC низкими дозами миколактона ассоциируется с блокадой клеточного цикла на уровне G0/G1-фазы, приводя к апоптозу [254].

Нарушение клеточного цикла клеток хозяина под влиянием цикломодулинов – преимущественное проявление бактериального поражения. Цикломодулины представляют собой достаточно широкий спектр биологически активных веществ, оказывающих действие через различные клеточные трансдуктивные пути (рис. 4.6).

Например, *E. coli*-продуцируемый токсин CNF индуцирует замедление переключения G2-фазы на M фазу клеточного цикла, вероятно повреждая эпителиальный слой клеток хозяина и, следовательно, способствует преимущественно процессу колонизации бактерий. Другой *E. coli* токсин, CIF, который продуцируется EPEC, EHEC и другими (энтеро) патогенными штаммами, индуцирует блокаду G2 и G1-фаз клеточного цикла, что коррелирует с накоплением CDK ингибиторов, p21cip1 and p27kip1. Эти ингибиторы вовлекаются в действующий клеточный цикл дифференциацию, канцерогенез и живучесть. Таким образом, была выдвинута гипотеза, что CIF обладает способностью пролонгировать процессы бактериального накопления и локальной их персистенции, тем самым способствуя интенсификации инфекции [203, 236, 255–257].

В настоящее время показано, что CIF является *bona fide* вирулентным фактором, поскольку его мутированные аттенуанты патогенных *Yersinia pseudotuberculosis* на мышинной инфекционной модели блокируют бактерицидную активность Перфорина-2 [258]. *H. pylori* ГГТ, которым индуцируется блокада клеточного цикла на уровне G1-фазы, может вызвать апоптоз эпителиальных клеток желудка, в результате чего может повреждаться протективная функция желудочного эпителия и повреждение желудка в процессе развития и прогрессирования *H. pylori* инфекции. Помимо эпителиальных

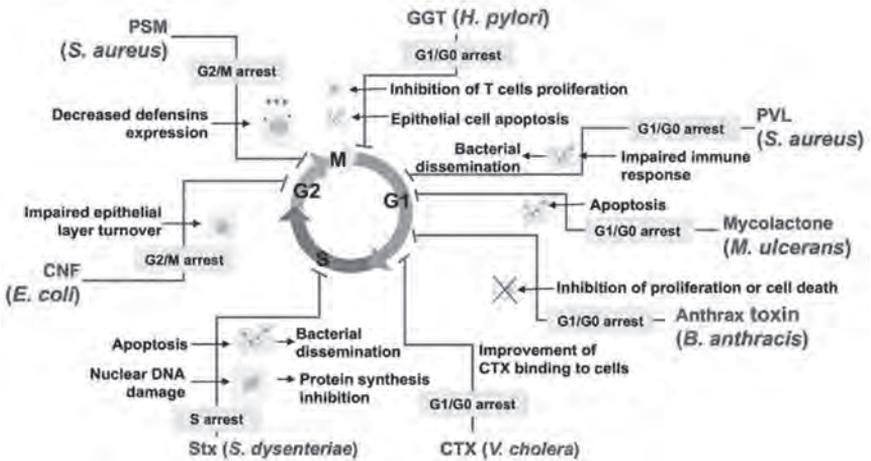


Рис. 4.6. Бактериальные цитомодулины повреждают клеточный цикл для проявления своих патогенных свойств

Примечание. Наименование бактерий и сокращения цикломодулинов, продуцируемых этими бактериями, показаны красным цветом. Фазы клеточного цикла показаны смешанными цветами. Зигзагообразными красными линиями показаны направления к фазам, в которых имеет место блокада клеточного цикла, блокируемого цикломодулинами. Фазы, в которых блокируется клеточный цикл, отмечены текстовым пояснением. Черным цветом обозначены биологические эффекты, относящиеся к цикломодулин-индуцированной блокаде клеточного цикла.

клеток, показано, что Т-клетки также блокируются на уровне G1 фазы, подтверждая тем самым, что ГГТ может повреждать иммунитет в течение *H. pylori* инфекции посредством модуляции Т-клеточного иммунитета.

Миколактоном *M. ulcerans* индуцируется блокада G0/G1 фазы клеточного цикла посредством ремоделирования актинового цитоскелета, вызывая тем самым апоптоз. Миколактон-индуцированный апоптоз играет одну из главных ролей в патологии ЯБ. В частности, выделяемые из апоптотических клеток поглощенные бактерии начинают диссеминировать внутри хозяина. Более того, миколактон-индуцированный апоптоз лейкоцитов периферической крови человека приводит к нарушению функционального состояния Т-клеток, приводя тем самым к супрессии локального иммунного ответа [259].

S. aureus, который в основном инфицирует эпителиальные поверхности, способствует образованию абсцессов, некрозов и нарушению эпителиального барьера хозяина. Также приводит к изменениям морфологии эпителиальных клеток, таким как увеличение клеток и увеличение размеров ядра клеток, а также уменьшение пролиферативной активности клеток хозяина. *S. aureus*-индуцированное уменьшение пролиферативной активности клеток хозяина ассоциировалось с замедлением перехода G2-фазы в M-фазу клеточного цикла, которые подвержены воздействию ФРМ. PSM α -индуцированное замедление приводит к повышению поглощения стафилококков и увеличению их внутриклеточной пролиферации, что представляется более эффективным применительно к G2/M-фазе клеточного цикла, чем в отношении асинхронизма клеток. PSM α -индуцированное замедление клеточного цикла коррелирует с повреждением генов, ответственных за продукцию антибактериальных пептидов, с низкой экспрессией, когда клетки находятся в G2/M-фазе. Это уменьшение антибактериальных функций эпителиальных клеток проявляется ФРМ α -индуцированным замедлением клеточного цикла при инфицировании клеток хозяина *S. aureus* [260].

Лейкоцидин, другой токсин *S. aureus* индуцирует блокаду клеточного цикла и вслед за ним апоптоз TNP-1 клеток, что является общей моделью изучения моноцитарной и макрофагальной активности в данных условиях. Эти данные подтверждают, что лейкоцидин может вовлекаться в модуляцию иммунного ответа в течение *S. aureus* инфекции через деструкцию моноцитов и макрофагов, что способствует диссеминации бактерий. Способность сибиреязвенного токсина, продуцируемого *B. anthracis*, ингибировать клеточный цикл развития меланоцитов и моноцитов может также способствовать выживанию и пролиферации *B. anthracis* внутри организма хозяина [261].

Бактерии могут ингибировать защитные механизмы хозяина через модификацию продукции цитокинов, что тем самым индуцирует изменения клеточной пролиферации и дифференциации. Было показано, что *H. pylori* VacA токсин индуцирует блокаду G1/S в T-лимфоцитах и приводит тем самым к повреждению цитокиновой системы, вовлекаемой в защиту хозяина. Способность VacA индуцировать локальную иммуносупрессию может объяснить хронизацию *H. Pylori* инфекции. CDT A. *actinomycetemcomitans*,

которым индуцируется блокада клеточного цикла фибробластов периодонта, эпителиальных клеток полости рта или Т-лимфоцитов в периодонтальном окружении, приводит к дерегуляторным изменениям локального иммунного ответа и повышению бактериальной инвазии. Кроме того, было показано, что АЦТ цикломодулины, продуцируемые *Bordetella* штаммами и *B. anthracis*, способствуют интерференции с пролиферацией и дифференциацией Т-клеток, уменьшая продукцию TNF- α и увеличивая продукцию IL-10 дендритными клетками. Текущая продукция АЦТ в процессе развития инфекционного процесса согласуется с механизмами, отвечающими за формирование воспалительного ответа, ингибирующего регенерацию популяций защитных клеток. Кроме того, АЦТ, как выявлено в настоящее время, увеличивает проникновение бактерий в нефагоцитирующие клетки. При этом отмечено, что упомянутый процесс связан с АЦТ-индуцированным повреждением клеточного цикла, подобного тому, что имеет место под влиянием стафилококковых ФРМ [262].

Бактериальные токсины могут повреждать клеточный цикл эукариотических клеток для того, чтобы улучшить их способность к адгезии и проникновению в клетки мишени. Показано, что шигатоксин связывается с поверхностью клеток через гликолипидные рецепторы GM1, вследствие чего увеличивается экспрессия количества прикрепляемых сайтов в процессе интерфазы и G1-фазы. Следовательно, шигатоксин-индуцированная блокада клеток в G1-фазе способствует действию шигатоксина [253, 264].

Большое количество токсинов обладают способностью ингибировать различные стадии белкового синтеза в эукариотических клетках и существуют в природе. Одними из таких токсинов являются SubAB и Stx. В то время как SubAB ингибируется продукция провоспалительных цитокинов и хемокинов в течение инфекции, шигатоксин, который также вовлекается в ингибирование белкового синтеза, индуцирует воспалительный ответ. Оба токсина вызывают замедление клеточного цикла и апоптоз. Замедление клеточного цикла может быть ключевым механизмом в плане внутриклеточного паразитирования бактерий, обуславливая тем самым повреждение клеточной активности. Кроме того, индукция апоптоза существенно помогает дисперсии бактерий внутри организма хозяина, поскольку способствует выделению бактерий из апоптоти-

ческих клеток, которые затем мигрируют в другие клетки хозяина [215, 265].

Некоторые бактериальные эффекторы, подобные CDT семейству токсинов, продуцируются многочисленными, неотносящимися к грамотрицательным видам бактерий источниками, что приводит к блокаде клеточного цикла посредством их способности индуцировать повреждение хроматина. После повреждения ДНК CDT активируется ДНК репаративный ответ, в частности, через АТМ-киназу, которой модулируется активация чекпоинтов клеточного цикла, приводя тем самым к клеточному типу – зависимому блокированию клеточного цикла. Благодаря блокированию клеточного цикла повреждаются эпителиальные клетки и увеличивается колонизация бактерий. Кроме того, бактериально-индуцированное ДНК-повреждение может привести к генетическим нарушениям и способствовать тем самым развитию опухолевого процесса.

Эпигенетические модификации, которые могут способствовать бактериально-индуцированному повреждению хроматина, который представляет собой достаточно стабильную структуру в клеточном геноме, является заметной и наиболее важной частью взаимодействия между хозяином и микроорганизмом. Имеется достаточно ограниченное количество сведений относительно микробных факторов, которые индуцируют эпигенетические модификации и могут способствовать созданию патогенных транскрипционных фрагментов в клетках хозяина и изменять иммунный ответ макроорганизма. Следовательно, подобные цикломодулины обладают способностью индуцировать ДНК повреждение и блокировать клеточный цикл и, возможно, увеличивают эпигенетические изменения в клетках хозяина.

4.5. Морские токсины бактериальной природы

Рассматривая токсины бактериальной природы было бы несправедливо не обратиться к большой группе морских токсинов. Дело в том, что по литературным данным ряд морских нейропаралитических токсинов (батрахотоксин, тетродотоксин, сакситоксин и др.) имеют бактериальное происхождение. Они продуцируются как морскими бактериями, так и микроводорослями [266, 267].

Так, тетродотоксин, обнаружен в пресноводных тритонах рода *Taricha*, жабах *Atelopus*, морских червях-немертинах, осьминогах и некоторых крабах. Установлено, что тетродоксин синтезируется некоторыми видами бактерий (*Pseudoalteromonas tetraodonis*, *Vibrio alginolyticus*). Предполагают, что токсинообразующие бактерии защищают половые продукты рыб от поедания хищниками после их выметывания в морскую воду во время нереста [266].

Морские цианобактерии продуцируют и другие, менее активные токсины. Многие из них являются нейротоксинами. Тетродотоксин является специфическим блокатором вероятного механизма некоторых натриевых каналов, нарушающий нервную проводимость [268]. Показано, что в процессах восприятия, обработки и передачи сигналов по нервам основную роль играет перенос ионов (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-) потенциалчувствительными ионными каналами – сложными белковыми структурами, пронизывающими электровозбудимые мембраны нервных и мышечных клеток, которые специфически активируются деполяризацией клеточной мембраны [269].

Таким образом, генез токсического процесса бактериальной природы многогранен, затрагивает практически все жизненно важные системы организма и в первую очередь центральную нервную систему. Токсины микробного происхождения имеют важное значение в жизни человека и поэтому нуждаются в постоянном изучении биологических эффектов и молекулярных механизмов их действия.

Литература

1. Centers for Disease Control and Prevention. Botulism: information and guidance for clinicians. [Electronic resource] Updated June 14, 2006. URL: <http://www.bt.cdc.gov/agent/Botulism/clinicians> (accessed 2 January 2016).
2. *Dembek Z.F.* Botulism: cause, effects, diagnosis, clinical and laboratory identification, and treatment modalities / Z.F. Dembek, L.A. Smith, J.M. Rusnak // *Disaster Med. Public Health Prep.* – 2007. – № 1. – P. 122–134.
3. *Супотницкий М.В.* Биологическая война: введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов и биологических поражений / М.В. Супотницкий. – М.: Русская панорама; Кафедра, 2013. – 1135 с.

4. Мельников В.Н. Анаэробные инфекции (клостридиозы) / В.Н. Мельников, Н.И. Мельников. – М.: Медицина, 1973. – 288 с.
5. Супотницкий М.В. Микроорганизмы, токсины и эпидемии / М.В. Супотницкий. – М., 2005. – 376 с.
6. Schmitt C.K. Bacterial toxins: Friedens or foes? / C.K. Schmitt, K.C. Meysick, A.D. Brien // *Emerg. Infect. Dis.* – 1999. – V. 5. – № 2. – P. 224–234.
7. Finlay B.B. Common themes in microbial pathogenicity / B.B. Finlay, S. Falkow // *Microbiol. Rev.* – 1989. – V. 53, № 2. – P. 210–230.
8. Villar R. The many faces of botulinum toxin and its potential for bioterrorism / R. Villar, S. Elliott, K. Davenport // *Infect. Dis. Clin. North Am.* – 2006. – V. 20. – P. 313–327.
9. Lee W. Correlation of toxic and non-toxic strains of Cl. Botulinum by DNA composition and Homology/ W. Lee, H. Riemann // *J. Gen. Microbiol.* – 1970. – V. 60. – P. 117.
10. Arnon S. Human tetanus and human botulism / S. Arnon // *The clostridia: molecular biology and pathogenesis.* – San Diego: Academic Press, 1997. – P. 95–115.
11. Barr J.R. Botulinum neurotoxin detection and differentiation by mass spectrometry / J.R. Barr, H. Moura, A.E. Boyer et al. // *Emerg. Infect. Dis.* – 2005. – №. 11 (10). – P. 1578–1583.
12. Boyer A.E. From the mouse to the mass spectrometer: detection and differentiation of the endoproteinase activities of botulinum neurotoxins A–G by mass spectrometry / A.E. Boyer, H. Moura, A.R. Woolfitt et al. // *Anal Chem.* – 2005. – V. 77(13). – P. 3916–3924.
13. Rosen O. Improved detection of botulinum type E by rational design of a new peptide substrate for endopeptidase-mass spectrometry assay / O. Rosen // *Anal Biochem.* – 2014. – V. 456. – P. 50–52.
14. Rosen O. A new peptide substrate for enhanced BoNT/B detection by endopep-LC-MS-MS/MRM assay / O. Rosen, L. Feldberg, S. Gura // *Anal Biochem.* – 2015. – V. 473. – P. 7–10.
15. Rosen O. Early, real-time medical diagnosis of botulism by endopeptidase-mass spectrometry / O. Rosen, L. Feldberg, S. Gura et al. // *Clin. Infect. Dis.* – 2015. – V. 61(12). – P. 58–61.
16. Webb R.P. Protection with recombinant Clostridium botulinum C1 and D binding domain subunit (Hc) vaccines against C and D neurotoxins / R.P. Webb, T.J. Smith, P.M. Wright et al. // *Vaccine.* – 2007. – № 25. – P. 4273–4282.
17. Halpern J. Neurospecific binding, internalization and retrograde axonal transport / J. Halpern, E. Neale // *Curr Top Microbiol. Immunol.* – 1995. – V. 195. – № 1. – P. 221–241.

18. *Pier C.L.* Recombinant holotoxoid vaccine against botulism / C.L. Pier, W.H. Tepp, M. Bradshaw et al. // *Infect. Immun.* – 2008. – V. 76. – P. 437–442.
19. *Roux E.* Contribution a l'etude de la diphtherie / E. Roux // *Ann. Inst. Pasteur*, 1888. – P. 629–631.
20. *Schlessinger D.* Bacterial toxins / D. Schlessinger // *Mechanisms of microbial disease.* – Baltimore: Williams and Wilkins, 1993. – P. 162–75.
21. *Songer J.G.* Bacterial phospholipases and their role in virulence / J.G. Songer // *Trends Microbiol.* – 1997. – № 5. – P. 156–161.
22. *Lottenberg R.* Capturing host plasmin (ogen): a common mechanism for invasive Pathogens? / R. Lottenberg, D. Minning-Wenz, M.D. Boyle // *Trends Microbiol.* – 1994. – № 2. – P. 20–24.
23. *Harrington D.J.* Bacterial collagenases and collagen-degrading enzymes and their potential role in human disease / D.J. Harrington // *Infect. Immun.* – 1996. – № 64. – P. 1885–1991.
24. *Кравченко А.Т.* Распространение возбудителей ботулизма и столбняка на территории СССР / А.Т. Кравченко, Л.М. Шишулина. – М.: Медицина, 1970. – 200 с.
25. *Oswald E.* Cytotoxic necrotizing factor type 2 produced by virulent *Escherichia coli* modifies the small GTP-binding proteins Rho involved in assembly of actin stress fibers / E. Oswald, M. Sugai, A. Labigne et al. // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1994. – № 91. – P. 3814–3818.
26. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Notice of CDC's discontinuation of investigational pentavalent (ABCDE) botulinum toxoid vaccine for workers at risk for occupational exposure to botulinum toxins // *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* – 2011. – V. 60. – P. 1454–1455.
27. *Smith L.A.* Botulinum neurotoxin vaccines: past, present, and future / L.A. Smith, J.M. Rusnak // *Crit. Rev. Immunol.* – 2007. – № 27. – P. 303–318.
28. *Bossi P.* Bichat guidelines for the clinical management of botulism and bioterrorism-related botulism / P. Bossi, A. Tegnell, A. Baka et al. // *Euro Surveill.* – 2004. – № 9. – P. 13–P. 14.
29. *Willis B.* The strange case of the botulinum neurotoxin: using chemistry and biology to modulate the most deadly poison / B. Willis, L. Eubanks, T.J. Dickerson // *Angew Chem Int Ed Engl.* – 2008. – V. 47. – P. 8360–8379.
30. *Singh B.R.* Botulinum versus tetanus neurotoxins: why is botulinum neurotoxin but not tetanus neurotoxin a food poison? / B.R. Singh, B. Li, D. Read // *Toxicon.* – 1995. – № 33. – P. 1541–1547.

31. *Jahn R.* Botulinum and tetanus neurotoxins: emerging tools for the study of membrane fusion. / R. Jahn, H.I. Hanson, H. Otto et al. // Cold Spring Harb. Symp. Quan. Biol. – 1995. – № 60. – P. 329–335.
32. *Henderson I.* The genetic basis of toxin production in *Clostridium botulinum* and *Clostridium tetani*. The clostridia: molecular biology and pathogenesis / I. Henderson, T. Davis, M. Elmore. – San Diego: Academic Press, 1997. – P. 261–264.
33. *Schiavo G.* The structure and mode of action of botulinum and tetanus toxins. The clostridia: molecular biology and pathogenesis. – San Diego: Academic Press, 1997. – P. 295–322.
34. *Kessler K.R.* Botulinum toxin: from poison to remedy / K.R. Kessler, R. Benecke // Neurotoxicology. – 1997. – № 18. – P. 761–770.
35. *Halpern J.L.* Neurospecific binding, internalization and retrograde axonal transport / J.L. Halpern, E.A. Neale // Curr. Top. Microbiol. Immunol. – 1995. – № 195. – P. 221–234.
36. *Arnon S.S.* Human tetanus and human botulism. The clostridia: molecular biology and pathogenesis. – San Diego: Academic Press, 1997. – P. 95–115.
37. *Wheeler A.H.* Therapeutic uses of botulinum toxin / A.H. Wheeler // Am. Fam. Physician. – 1997. – № 55. – P. 541–548.
38. *Averbuch-Heller L.* Medical treatments for abnormal eye movements: pharmacological, optical and immunological strategies / L. Averbuch-Heller, R. J. Leigh // Aust. NZJ Ophthalmol. – 1997. – № 25. – P. 7–13.
39. *Carter S.R.* Cosmetic botulinum toxin injections / S.R. Carter, S.R. Seiff // Int. Ophthalmol. Clin. – 1997. – № 37. – P. 79.
40. *Никифоров В.Н.* Ботулизм / В.Н. Никифоров, В.В. Никифоров. – Л.: Медицина, 1985. – 212 с.
41. *Мазо Е.Б.* Ботулинический токсин в урологии / Е.Б. Мазо, Г.Г. Кривобородов, М.Е. Школьников // Consilium Medicum. – 2006. – Т. 8. – № 4. – С. 17–19.
42. *Тимербаева С.Л.* Клиническая жизнь ботулинических токсинов / С.Л. Тимербаева // Атмосфера. Нервные болезни. – 2004. – № 2. – С. 34.
43. Руководство по инфекционным болезням / под ред. Ю. В. Лобзина. – СПб.: Фолиант, 2000. – 932 с.
44. *Возианова Ж.И.* Инфекционные и паразитарные болезни / Ж.И. Возианова. – Киев: Здоровье, 2000. – С. 433–457.
45. *Pearce L.B.* Pharmacologic characterization of botulinum toxin for basic science and medicine / L.B. Pearce, E.R. First, R.D. Maccallum et al. // Toxin. – 1997. – V. 35, № 9. – P. 1373–1412.

46. *Foran P.G.* Evaluation of the therapeutic usefulness of botulinum neurotoxin B, C1, E, and F compared with the long lasting type A. Basis for distinct durations of inhibition of exocytosis in central neurons / P.G. Foran, N. Mohammed, G.O. Lisk et al. // *J. Biol. Chem.* – 2003. – № 278(2). – P. 71–75.
47. *Hateway C.L.* Toxigenic Clostridia / C.L. Hateway // *Clinical. Microbiol. Rev.* – 1990. – V. 3. – № 1. – P. 66–98.
48. *Hill K.K.* Recombination and insertion events involving the botulinum neurotoxin complex genes in *Clostridium botulinum* types A,B,E and F and *Clostridium butyricum* type E strains / K.K. Hill, C. Xie, B.T. Foley et al. // *BMC Biol.* – 2009. – V. 7. – P. 7007–7066.
49. *Шувалова Е.П.* Инфекционные болезни / Е.П. Шувалова. – М.: Медицина, 2001. – С. 128–132.
50. *Ящук Н.Д.* Инфекционные болезни / Н.Д. Ящук, Ю.Я. Венгеров. – М.: Медицина, 2003. – С. 226–232.
51. *Тимченко В.Н.* Инфекционные болезни у детей / В.Н. Тимченко, Л.В. Быстрякова. – СПб.: СпецЛит, 2001. – С. 519–525.
52. *Jones R.G.* An improved method for development of toxoid vaccines and antitoxins / R.G. Jones, Y. Liu, P. Rigsby // *J. Immunol Methods.* – 2008. – V. 337. – P. 42–48.
53. *Blencowe H.* Tetanus toxoid immunization to reduce mortality from neonatal tetanus / H. Blencowe, J. Lawn, J. Vandelaer et al. // *Int. J. Epidemiol.* – 2010. – V. 39. – P. 102–109.
54. *Blum F.C.* Tetanus toxin and botulinum toxin A utilize unique mechanisms to enter neurons of the central nervous system / F.C. Blum, C. Chen, A.R. Kroken et al. // *Infect. Immun.* – 2012. – V. 80(5). – P. 1662–1669.
55. *Shin M.C.* Effects of tetanus toxin on spontaneous and evoked transmitter release at inhibitory and excitatory synapses in the rat SDCN neurons / M.C. Shin, K. Nonaka, M. Wakita et al. // *Toxicon.* – 2012. – V. 59. – P. 385–392.
56. *Sharma A.* Incidence, prevalence, risk factor and outcome of delirium in intensive care unit: A study from India / A. Sharma, S. Malhotra, S. Grover et al. // *Gen. Hosp. Psychiatry.* – 2012. – V. 34. – P. 639–646.
57. *Lambo J.* Neonatal tetanus incidence in Dadu District, Pakistan, 1993–2003 / J. Lambo, Z. Khahro, M. Memon et al. // *Scand. J. Infect. Dis.* – 2014. – V. 3. – P. 175–180.
58. *Van den Berg J.P.* Transplacental transport of IgG antibodies specific for pertussis, diphtheria, tetanus, haemophilus influenzae type b, and Neisseria meningitidis serogroup C is lower in preterm compared with term infants / J.P. Van

den Berg, E.A. Westerbeek, G.A. Berbers et al. // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 2010. – V. 29. – P. 801–805.

59. *Hexsel D.* Field effect of two commercial preparations of botulinum toxin type A: A prospective, double-blind, randomized clinical trial / D. Hexsel, C. Brum, D.Z. do Prado et al. // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2012. – V. 67. – P. 226–232.

60. *Matak I.* Behavioral and immunohistochemical evidence for central antinociceptive activity of botulinum toxin / I. Matak, L. Bach-Rojecky, B. Filipović et al. // *A. Neuroscience.* – 2011. – V. 186. – P. 201–207.

61. *Singh B.R.* Botulinum versus tetanus neurotoxins: why is botulinum neurotoxin but not tetanus neurotoxin a food poison? / B.R. Singh, B. Li, D. Read // *Toxicon.* – 1995. – № 33. – P. 7–12.

62. *Weng W.C.* Clinical characteristics of adult tetanus in a Taiwan medical center / W.C. Weng, W.Y. Huang, T.I. Peng et al. // *J. Formos. Med. Assoc.* – 2011. – V. 110. – P. 705–710.

63. *Amare A.* Tetanus in adults: Clinical presentation, treatment and predictors of mortality in a tertiary hospital in Ethiopia / A. Amare, Y. Melkamu, D. Mekonnen // *J. Neurol. Sci.* – 2012. – № 317. – P. 62–65.

64. *Kagoya R.* Cephalic tetanus presenting as acute vertigo with bilateral vestibulopathy / R. Kagoya, S. Iwasaki, Y. Chihara et al. // *Acta Otolaryngol.* – 2011. – V. 131. – P. 334–336.

65. *López-Laso E.* Infant botulism in Andalusia (Southern Spain) / E. López-Laso, I. Roncero-Sánchez-Cano, E. Arce-Portillo et al. // *Eur. J. Paediatr Neurol.* – 2014. – № 18 (3). – P. 6–14.

66. *Franz D.R.* Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents / D.R. Franz, P.B. Jahring, A.M. Friedlander // *JAMA.* – 1997. – V. 278. – № 5. – P. 399–411.

67. *Vandelaer J.* Tetanus in developing countries: an update on the Maternal and Neonatal Tetanus Elimination Initiative / J. Vandelaer, M. Birmingham, F. Gasse et al. // *Vaccine.* – 2003. – V. 21 (24). – P. 112–123.

68. *Brauner J.S.* Changes in severe accidental tetanus mortality in the ICU during two decades psychiatry / J.S. Brauner // *Vaccine.* – 2000. – V. 19. – P. 33–36.

69. *Горшков С.З.* Анаэробная клостридиальная раневая газовая инфекция / С.З. Горшков. – М.: Медицина, 2007. – 128 с.

70. *Петровский Б.В.* Ранение на дуэли и смерть А.С. Пушкина с позиции современной хирургии. Communicatio ad Istoriam arios medicinae / Б.В. Петровский. – Будапешт: Orvostortemetz kozlemenyer, 1983. – С. 36.

71. *Ефуни С.Н.* Клостридиальная раневая инфекция / С.Н. Ефуни, Т.И. Лыскин. – М., 1990. – 687 с.

72. *Астрожников Ю.В.* Современные аспекты лечения газовой гангрены / Ю.В. Астрожников, А.М. Феноменов, Г.В. Еремина // Научный обзор. – М.: ВНИИМИ, – 1981. – 66 с.
73. *Goulon M.* Les gangrenes gazeuses / M. Goulon, P. Gajdos, M. Siguier et al. // *Chirurgie*. – 1976. – V. 102, № 3. – P. 560–566.
74. *Бадиков В.Д.* Микробиология боевой хирургической травмы: автореф дис. ... д-ра мед. наук / В.Д. Бадиков. – СПб.: ВМедА, 2000. – 40 с.
75. *Беркутов А.Н.* Об анаэробной инфекции огнестрельных ран / А.Н. Беркутов // *Воен.-мед. журн.* – 1972. – № 4. – С. 14–20.
76. *Воронов Н.С.* Анаэробная инфекция после второй мировой войны // *Воен.-мед. журн.* – 1972. – № 3. – С. 89–91.
77. *Медуницин Н.В.* Вакцинология / Н.В. Медуницин. – М.: Триада, 1999. – 279 с.
78. *Воробьев А.И.* Состояние медицинской помощи раненым в войсках антиправительственных сил в Афганистане // *Воен.-мед. журн.* – 1992. – № 4. – С. 77–81.
79. *Ефимова М.Г.* Разработка способа получения конъюгатов рибосомы – антитоксин клостридий перфрингенс типа А / М.Г. Ефимова // *Актуальные вопросы медицинской биотехнологии: материалы научной конференции*. – Томск, 1991. – С. 116–117.
80. *Sayeed S.* Characterization of virulence plasmid diversity among *Clostridium perfringens* type B isolates / S. Sayeed // *Infect. Immun.* – 2010. – V. 78. – P. 495–504.
81. *Gurjar A.* Characterization of toxin plasmids in *Clostridium perfringens* type C isolates / A. Gurjar, J. Li, B.A. McClane // *Infect. Immun.* – 2010. – V. 78. – P. 4860–4869.
82. *Bannam T.* Necrotic enteritis-derived *Clostridium perfringens* strain with three closely related independently conjugative toxin and antibiotic plasmids / T. Bannam, X. Yan, P. Harrison et al. // *mBio*. – 2011. – № 2(5). – P. 190–211.
83. *Miyamoto K.* Identification of novel *Clostridium perfringens* type E strains that carry an iota toxin plasmid with a functional enterotoxin gene / K. Miyamoto, N. Yumine, K. Mimura et al. // *PloS*. – 2011. – № 6. – P. 203–276.
84. *Lepp D.I.* Identification of novel pathogenicity loci in *Clostridium perfringens* strains that cause avian necrotic enteritis / D. Lepp, B. Roxas, V. Parreira et al. // *PLoS*. – 2010. – № 5. – P. 107–195.
85. *Li J.* Organization of the cpe locus in CPE-positive *Clostridium perfringens* type C and D isolates / J. Li, K. Miyamoto, S. Sayeed // *PloS*. – 2010. – № 5. – P. 109–132.

86. *Gilbert R.J.* Cholesterol-dependent cytolysins / R.J. Gilbert // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2010. – V. 677. – P. 56–66.
87. *Monturiol-Gross L.* Reactive oxygen species and the MEK/ERK pathway are involved in the toxicity of *Clostridium perfringens* alpha-toxin, a prototype bacterial phospholipase C / L. Monturiol-Gross, M. Flores-Diaz, C. Araya-Castillo et al. // *J. Infect. Dis.* – 2012. – V. 206. – P. 1218–1226.
88. *Oda M.* *Clostridium perfringens* alpha-toxin recognizes the GM1a-TrkA complex / M. Oda, M. Kabura, T. Takagishi et al. // *J. Biol. Chem.* – 2012. – V. 287. – P. 33070–33079.
89. *Ma M.* Genotypic and phenotypic characterization of *Clostridium perfringens* isolates from Darmbrand cases in post-World War II Germany / M. Ma, J. Li, B. McClane // *Infect. Immun.* – 2012. – V. 80. – P. 4354–4363.
90. *Dunstone M.A.* Packing a punch: the mechanism of pore formation by cholesterol dependent cytolysins and membrane attack complex/perforin-like proteins / M.A. Dunstone, B.K. Tweten // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 2012. – № 22. – P. 342–349.
91. *Briggs DC.* Structure of the food-poisoning *Clostridium perfringens* enterotoxin reveals similarity to the aerolysin-like pore-forming toxins / D.C. Briggs, C.E. Naylor, J.G. Smedley et al. // *J. Mol. Biol.* – 2011. – V. 413. – P. 138–149.
92. *Kitadokoro K.* Crystal structure of *Clostridium perfringens* enterotoxin displays features of beta-pore-forming toxins / K. Kitadokoro, K. Nishimura, S. Kamitani et al. // *J. Biol. Chem.* – 2011. – V. 286. – P. 19549–19555.
93. *Chen J.* Cysteine-scanning mutagenesis supports the importance of *Clostridium perfringens* enterotoxin amino acids 80 to 106 for membrane insertion and pore formation / J. Chen, J.R. Theoret, A. Shrestha et al. // *Infect. Immun.* – 2012. – V. 80. – P. 4078–4088.
94. *Robertson S.* Identification of a claudin-4 residue important for mediating the host cell binding and action of *Clostridium perfringens* enterotoxin / S. Robertson, J.G. Smedley, B.A. McClane // *Infect. Immun.* – 2010. – V. 78. – P. 505–517.
95. *Veshnyakova A.* Mechanism of *Clostridium perfringens* enterotoxin interaction with claudin-3/4 protein suggests structural modifications of the toxin to target specific claudins / A. Veshnyakova, J. Piontek, J. Protze // *J. Biol. Chem.* – 2012. – V. 287. – P. 1698–1708.
96. *Shrestha A.* Human claudin-8 and – 14 are receptors capable of conveying the cytotoxic effects of *Clostridium perfringens* enterotoxin / A. Shrestha // *mBio.* – 2013. – №. 4 (1). – P. 594–612.

97. *Macias M.* Freezing or adding trypsin inhibitor to equine intestinal contents extends the lifespan of *Clostridium perfringens* beta toxin for diagnostic purposes / M. Macias, J. Rioseco, F.A. Beingesser // *Anaerobe*. – 2013. – № 18. – P. 357–360.
98. *Popoff M.R.* Epsilon toxin: a fascinating pore-forming toxin / M.R. Popoff // *FEBS J.* – 2011. – V. 278. – P. 4602–4615.
99. *Bokori-Brown M.* Molecular basis of toxicity of *Clostridium perfringens* epsilon toxin / M. Bokori-Brown, C.G. Savva, S.P. Fernandes da Costa et al. // *FEBS J.* – 2011. – V. 278. – P. 4589–4601.
100. *Harkness J.M.* Identification of a lambda toxin-negative *Clostridium perfringens* strain that processes and activates epsilon prototoxin intracellularly / J.M. Harkness, J. Li, B.A. McClane // *Anaerobe*. – 2012. – № 18. – P. 546–552.
101. *Robertson S.L.* Evidence for a prepore stage in the action of *Clostridium perfringens* epsilon toxin / S.L. Robertson, J. Li, F.A. Uzal // *PLoS*. – 2011. – № 6. – P. 220–253.
102. *Ivie S.E.* Gene-trap mutagenesis identifies mammalian genes contributing to intoxication by *Clostridium perfringens* epsilon-toxin / S.E. Ivie, C.M. Fennessey, J. Sheng et al. // *PLoS*. – 2011. – № 6. – P. 177–187.
103. *Ivie S.E.* Identification of amino acids important for binding of *Clostridium perfringens* epsilon toxin to host cells and to HAVCR1 / S.E. Ivie, M.S. McClain // *Biochemistry*. – 2012. – № 51. – P. 7588–7595.
104. *Fennessey C.M.* Oligomerization of *Clostridium perfringens* epsilon toxin is dependent upon caveolins 1 and 2 / C.M. Fennessey, J. Sheng, D.H. Rubin // *PLoS*. – 2012. – № 7. – P. 46–66.
105. *Shimada H.* Mega assemblages of oligomeric aerolysin-like toxins stabilized by toxin-associating membrane proteins / H. Shimada, S. Kitada // *J. Biochem.* – 2011. – V. 149. – P. 103–115.
106. *Nestorovich E.M.* Polymer partitioning and ion selectivity suggest asymmetrical shape for the membrane pore formed by epsilon toxin / E.M. Nestorovich, V.A. Karginov, S.M. Bezrukov // *Biophys. J.* – 2012. – V. 99. – P. 782–789.
107. *Nagahama M.* Cellular vacuolation induced by *Clostridium perfringens* epsilon-toxin / M. Nagahama, Y. Itohayashi, H. Hara et al. // *FEBS J.* – 2011. – V. 278. – P. 3395–3407.
108. *Stiles B.G.* Clostridial binary toxins: iota and C2 family portraits / B.G. Stiles, D.J. Wigelsworth, M.R. Popoff // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2011. – № 1. – P. 11.
109. *Aktorics K.* Bidirectional attack on the actin cytoskeleton. Bacterial protein toxins causing polymerization or depolymerization of actin / K. Aktories, C. Schwan, P. Papatheodorou et al. // *Toxicon*. – 2012. – V. 60. – P. 572–581.

110. *Papatheodorou P.* Lipolysis-stimulated lipoprotein receptor (LSR) is the host receptor for the binary toxin Clostridium difficile transferase (CDT) / P. Papatheodorou, J.E. Carette, G.W. Bell et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2011. – V. 108. – P. 16422–16427.

111. *Papatheodorou P.* Identification of the cellular receptor of Clostridium spiroforme toxin / P. Papatheodorou, C. Wilczek, T. Nolke et al. // Infect. Immun. – 2012. – V. 80. – P. 1418–1423.

112. *Wigelsworth D.J.* CD44 promotes intoxication by the clostridial iota-family toxins / D.J. Wigelsworth, G. Ruthel, L. Schnell et al. // PLoS. – 2012. – № 7. – P. 513–556.

113. *Gibert M.* Endocytosis and toxicity of clostridial binary toxins depend on a clathrin-independent pathway regulated by Rho-GDI. / M. Gibert, M.N. Monier, R. Ruez et al. // Cell. Microbiol. – 2011. № 13. – P. 154–170.

114. *Keyburn A.L.* NetB, a pore-forming toxin from necrotic enteritis strains of Clostridium perfringens / A.L. Keyburn, T.L. Bannam, R.J. Moore et al. // Toxins. – 2010. – № 2. – P. 1913–1927.

115. *Keyburn A.L.* Association between avian necrotic enteritis and Clostridium perfringens strains expressing NetB toxin / A.L. Keyburn, X.X. Yan, T.L. Bannam et al. // Vet. Res. – 2010. – № 41. – P. 21.

116. *Abildgaard L.* In vitro production of necrotic enteritis toxin B, NetB, by netB-positive and netB-negative Clostridium perfringens originating from healthy and diseased broiler chickens / L. Abildgaard, T.E. Sondergaard, R.M. Engberg et al. // Vet. Microbiol. – 2010. – V. 144. – P. 231–235.

117. *Engstrom B.E.* Genetic relatedness and netB prevalence among environmental Clostridium perfringens strains associated with a broiler flock affected by mild necrotic enteritis / B.E. Engstrom, A. Johansson, A. Aspan et al. // Vet. Microbiol. – 2012. – V. 159. – P. 260–264.

118. *Yan X.* Structural and functional analysis of the pore-forming toxin NetB from Clostridium perfringens / X. Yan, C.J. Porter, S.P. Hardy et al. // mBio. – 2013. – № 4(1). – P. 13–19.

119. *Savva C.G.* Molecular architecture and functional analysis of NetB, a pore-forming toxin from Clostridium perfringens / C.G. Savva, S.P. Fernandes da Costa, M. Bokori-Brown et al. // J. Biol. Chem. – 2013. – V. 288. – P. 3512–3522.

120. *Paredes-Sabja D.* Clostridium perfringens tpeL is expressed during sporulation / D. Paredes-Sabja, N. Sarker, M.R. Sarker // Microb. Pathog. – 2011. – № 51. – P. 384–388.

121. *Guttenberg G.* Molecular characteristics of Clostridium perfringens TpeL toxin and consequences of mono-O-GlcNAcylation of Ras in living cells /

G. Guttenberg, S. Hornei, T. Jank et al. // J. Biol. Chem. – 2012. – V. 287. – P. 24929–24940.

122. *Nagahama M.* Clostridium perfringens TpeL glycosylates the Rac and Ras subfamily proteins / M. Nagahama, A. Ohkubo, M. Oda et al. // Infect. Immun. – 2011. – V. 79. – P. 905–910.

123. *Coursodon C.F.* TpeL-producing strains of Clostridium perfringens type A are highly virulent for broiler chicks / C.F. Coursodon, R.D. Glock, K.L. Moore et al. // Anaerobe. – 2012. – №. 18. – P. 117–121.

124. *Арапов Д.А.* Анаэробная газовая инфекция / Д.А. Арапов. – М.: Медицина, 1972. – 216 с.

125. *Ефимова Н.Л.* Научные достижения в области производства анатоксинов / Н.Л. Ефимова // Журн. микробиол. – 1998. – № 2. – С. 28–31.

126. *Зеленова Е.Г.* Микрофлора полости рта: норма и патология / Е.Г. Зеленова, М.И. Заславская, С.П. Рассанов. – Нижний Новгород: НГМА, 2004. – 247 с.

127. *Задорожный А.А.* Раневая газовая инфекция (экспериментальные и клинические данные об этиопатогенезе, ранней диагностике, лечении и профилактике). Научный обзор / А.А. Задорожный, Н.Ф. Калиниченко, Ю.Д. Чиркин (и др.). – М.: ВНИИМИ, 1979. – 119 с.

128. *Кузин М.И.* Раны и раневая инфекция / М.И. Кузин, Б.М. Костюченко. – М.: Медицина, – 1981. – 688 с.

129. *Сергеева Т.И.* Перспективы создания единой системы иммунопрофилактики раневых клостридиозов / Т.И. Сергеева // Журн. микробиол. – 1994. – № 4. – С. 111–116.

130. *Черкасский Б.Л.* Инфекционные и паразитарные болезни человека. Справочник эпидемиолога / Б.Л. Черкасский. – М.: Изд-во «Медицинская газета», 1994. – 617 с.

131. *Воробьев А.А.* Анатоксины / А.А. Воробьев, Н.Н. Васильев, А.Т. Кравченко. – М.: Медгиз, – 1965. – 488 с.

132. *Выгодчиков Г.В.* Экспериментальное изучение иммуногенных свойств ассоциированных анаэробных анатоксинов. Сообщение 5. Иммуногенные свойства комбинированного полианатоксина при первичной иммунизации животных / Г.В. Выгодчиков, А.А. Воробьев, И.А. Ларина (и др.) // Журн. микробиол. – 1963. – № 10. – С. 51–57.

133. *Семенов О.Д.* Современные представления о этиологии, патогенезе, микробиологии и профилактике раневой анаэробной инфекции / О.Д. Семенов, А.В. Степанов. И.А. Добрынина (и др.) // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции, посвященный 90-летию кафедры

микробиологии Военно-медицинской академии «Микробиология: от микроскопа до нанотехнологий»: тез. докл. науч.-прак. конф. – СПб., 2013. – С. 17.

134. *Грицанов А.И.* Система патогенетического лечения газообразующей раневой инфекции при минновзрывных (МВР) и огнестрельных ранах / А.И. Грицанов, И.Л. Миннулин (и др.). // Воен.-мед. журн. – 1967. – № 2. – С. 24–27.

135. *Аносов И.Я.* Морфологические и некоторые гистохимические изменения в организме морских свинок, вызванные гиалуронидазой *Cl. perfringens* типа А. / И.Я. Аносов, Л.В. Климачева // Журн. микробиол. – 1971. – № 9. – С. 133–137.

136. *Беляков В.Д.* Госпитальная инфекция / В.Д. Беляков, А.П. Колесов, П.Б. Остроумов. – Л.: Медицина, 1976. – 229 с.

137. *Вишневский А.А.* Военно-полевая хирургия / А.А. Вишневский, М.И. Шрайбер. – М.: Медицина, 1975. – 33 с.

138. *Bartlett I.C.* Gas Gangrene in Principles and Practices of infection diseases. – Edinburgh, 1990. – P. 1850–1860.

139. *Семенов О.Д.* Изучение возможных механизмов формирования невосприимчивости организма к раневой анаэробной инфекции при иммунизации полианатоксинами / О.Д. Семенов, А.В. Степанов, В.А. Харитонова (и др.) // Сборник материалов третьего съезда военных врачей медико-профилактического профиля Вооруженных Сил Российской Федерации «Достижения науки и практики в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия Вооруженных Сил Российской Федерации». – СПб., 2010. – С. 170–171.

140. *Willis A.T.* Host factors predisposing to anaerobic infections / A.T. Willis // Scand. J. Infect. Dis. – 1985. – № 5. – V. 46. – P. 18–26.

141. *Дерябин И.И.* Принципы профилактики раневой инфекции на этапах медицинской эвакуации / И.И. Дерябин // Воен.-мед. журн. – 1972. – № 4. – С. 22–25.

142. *Adler G.O.* Early diagnosis and immediate therapy of gas gangrene / G.O. Adler // Med. Welt. – 1977. – V. 28. – № 35. – P. 1387–1391.

143. *Колкер И.И.* Иммунологические аспекты проблемы «Раны и раневая инфекция» / И.И. Колкер, Г.К. Вандеев. – М.: ВНИИМИ, 1976. – Вып. 2. – С. 51–91.

144. *Черкас Г.П.* Активная иммунизация против газовой гангрены / Г.П. Черкас, О.И. Овчаренко, Л.Г. Подгорная // Актуальные вопросы борьбы с инфекционными болезнями. – Харьков, 1965. – С. 100–105.

145. *Кулешов С.Е.* Раневая инфекция при синдроме длительного раздавливания / С.Е. Кулешов, Л.А. Блатун, О.Л. Борисова // Анаэробная инфекция в гнойной хирургии. – Тернополь, 1990. – С. 111–112.

146. Мельников В.Н. Исследования по вопросам повышения качества и разработки метода изготовления сорбированного столбнячного анатоксина: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / В.Н. Мельников. – М., 1965.

147. Магазов Р.Ш. Разработка сорбированного оптимально сбалансированного секстаанатоксина для профилактики анаэробных инфекций: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Р.Ш. Магазов. – Уфа, 1985.

148. Ma M. The VirS/VirR two-component system regulates the anaerobic cytotoxicity, intestinal pathogenicity, and enterotoxemic lethality of type C isolate CN3685 / M. Ma, J. Vidal, J. Saputo et al. // mBio. – 2011. – V 2(1). – P. 338–340.

149. Li J. The Agr-like quorum-sensing system regulates sporulation and production of enterotoxin and beta2 toxin by *Clostridium perfringens* type A non-food-borne human gastrointestinal disease strain F5603 / J. Li, J. Chen, J.E. Vidal et al. // Infect. Immun. – 2011. – V. 79. – P. 2451–2459.

150. Vidal J.E. Evidence that the Agr-like quorum sensing system regulates the toxin production, cytotoxicity and pathogenicity of *Clostridium perfringens* type C isolate CN3685 / J.E. Vidal, M. Ma, J. Saputo et al. // Mol. Microbiol. – 2011. – V. 83. – P. 179–194.

151. Scallan E. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens / E. Scallan, R.M. Hoekstra, F.J. Angulo et al. // Emerg. Infect. Dis. – 2011. – V. 17. – P. 7–15.

152. Li J. Evaluating the involvement of alternative sigma factors SigF and SigG in *Clostridium perfringens* sporulation and enterotoxin synthesis / J. Li, B.A. McClane // Infect. Immun. – 2010. – V. 78. – P. 4286–4293.

153. CDC. Fatal foodborne *Clostridium perfringens* illness at a state psychiatric hospital—Louisiana, 2010 // MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. – 2012. – V. 61. – P. 605–608.

154. Caserta J.A. Development and application of a mouse interstitial loop model to study the in vivo action of *Clostridium perfringens* enterotoxin / J.A. Caserta, S.L. Robertson, J. Saputo et al. // Infect. Immun. – 2011. – V. 79. – P. 3020–3027.

155. Lee K.W. *Clostridium perfringens* alpha-toxin and NetB toxin antibodies and their possible role in protection against necrotic enteritis and gangrenous dermatitis in broiler chickens / K.W. Lee, H.S. Lillehoj, M.S. Park et al. // Avian Dis. – 2012. – V. 56. – P. 230–233.

156. Jang S.I. Vaccination with *Clostridium perfringens* recombinant proteins in combination with Montanide ISA 71 VG adjuvant increases protection against experimental necrotic enteritis in commercial broiler chickens / S.I. Jang, H.S. Lillehoj, S.H. Lee et al. // Vaccine. – 2012. – V. 30. – P. 5401–5406.

157. *Gurtner C.* Rapid cytopathic effects of *Clostridium perfringens* beta-toxin on porcine endothelial cells / C. Gurtner, F. Popescu, M. Wyder et al. // *Infect. Immun.* – 2010. – V. 78. – P. 2966–2973.

158. *Garcia J.P.* The effect of *Clostridium perfringens* type C strain CN3685 and its isogenic beta toxin null mutant in goats / J.P. Garcia, J. Beingesser, D.J. Fisher et al. // *Vet. Microbiol.* – 2012. – V. 157. – P. 412–419.

159. *Parreira V.R.* Sequence of two plasmids from *Clostridium perfringens* chicken necrotic enteritis isolates and comparison with *C. perfringens* conjugative plasmids / V.R. Parreira, M. Costa, F. Eikmeyer et al. // *PLoS One.* – 2012. – V. 7. – P. 497–503.

160. *Xiao Y.* A wide variety of *Clostridium perfringens* type A food-borne isolates that carry a chromosomal *cpe* gene belong to one multilocus sequence typing cluster / Y. Xiao, A. Wagendorp, R. Moezelaar et al. // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2012. – V. 78. – P. 7060–7068.

161. *Lahti P.* Comparative genomic hybridization analysis shows different epidemiology of chromosomal and plasmid-borne *cpe*-carrying *Clostridium perfringens* type A / P. Lahti, M. Lindstrom, P. Somervuo et al. // *PLoS One.* – 2012. – V. 7. – P. 461–462.

162. *Lepp D.* Identification of accessory genome regions in poultry *Clostridium perfringens* isolates carrying the NetB plasmid / D. Lepp, J. Gong, J.G. Songer et al. // *J. Bacteriol.* – 2013. – V. 195. – P. 1152–1166.

163. *Popoff M.R.* Epsilon toxin: a fascinating pore-forming toxin / M.R. Popoff // *FEBS J.* – 2011. – V. 278(23). – P. 4602–4615.

164. *Stiles B.G.* *Clostridium perfringens* epsilon toxin: a malevolent molecule for animals and man? / B.G. Stiles, G. Barth, H. Barth // *Toxins (Basel).* – 2013. – V. 5 (11). – P. 2138–2160.

165. *Fernandez Miyakawa M.E.* *Clostridium perfringens* epsilon toxin is cytotoxic for human renal tubular epithelial cells / M.E. Fernandez Miyakawa, O. Zabala et al. // *Hum Exp Toxicol.* – 2011. – V. 30 (4). – P. 275–282.

166. *Ohlsen K.* Immunotherapeutic strategies to combat staphylococcal infections / K. Ohlsen, U. Lorenz // *Int J. Med. Microbiol.* – 2010. – V. 300. – P. 402–410.

167. *Kumar S.* The systemic and pulmonary immune response to staphylococcal enterotoxins / S. Kumar, A. Ménoret, S.M.-Ngoi // *Toxins (Basel).* – 2010. – № 2. – P. 1898–1912.

168. *Morikawa K.* Expression of a cryptic secondary sigma factor gene unveils natural competence for DNA transformation in *Staphylococcus aureus* / K. Morikawa, A.J. Takemura, Y. Inose et al. // *PLoS Pathog.* – 2012. – № 8. – P. 100–103.

169. *Heilmann C.* Adhesion mechanisms of staphylococci / C. Heilmann // Adv. Exp. Med. Biol. – 2011. – V. 715. – P. 105–123.
170. *Berube B.J.* Staphylococcus aureus alpha-toxin: nearly a century of intrigue / B.J. Berube // Toxins (Basel). – 2013. – № 5. – P. 1140–1166.
171. *Inoshima I.* Staphylococcus aureus pore-forming toxin subverts the activity of ADAM10 to cause lethal infection in mice / I. Inoshima, N. Inoshima, G.A. Wilke et al. // Nat. Med. – 2011. – № 17. – P. 1310–1314.
172. *Wilke G.A.* Role of a disintegrin and metalloprotease 10 in Staphylococcus aureus alpha-hemolysin-mediated cellular injury / G.A. Wilke, J. Bubeck Wardenburg. // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2010. – V. 107. – P. 13473–13478.
173. *Nygaard T.K.* Alpha-toxin induces programmed cell death of human T cells, B cells, and monocytes during USA300 infection / T.K. Nygaard, K.B. Pallister, A.L. Dumont et al. // PLoS ONE. – 2012. – № 7. – P. 36–42.
174. *Otto M.* Basis of virulence in community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus / M. Otto // Annu. Rev. Microbiol. – 2010. – V. 64. – P. 143–162.
175. *Alonzo F.* CCR5 is a receptor for Staphylococcus aureus leukotoxin ED / F. Alonzo, L. Kozhaya, S.A. Rawlings et al. // Nature. – 2013. – V. 493. – P. 51–55.
176. *DuMont A.L.* Staphylococcus aureus LukAB cytotoxin kills human neutrophils by targeting the CD11b subunit of the integrin Mac-1 / A.L. DuMont, P. Yoong, C.J. Day et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013. – V. 110. – P. 10794–10799.
177. *Spaan A.N.* The staphylococcal toxin Panton-Valentine Leukocidin targets human C5a receptors / A.N. Spaan, T. Henry, W.J. van Rooijen et al. // Cell Host Microbe. – 2013. – № 13. – P. 584–594.
178. *Loffler B.* Staphylococcus aureus panton-valentine leukocidin is a very potent cytotoxic factor for human neutrophils / B. Loffler, M. Hussain, M. Grundmeier et al. // PLoS Pathog. – 2010. – № 6. – P. 100–107.
179. *Rautenberg M.* Neutrophil responses to staphylococcal pathogens and commensals via the formyl peptide receptor 2 relates to phenol-soluble modulins release and virulence / M. Rautenberg, H.S. Joo, M. Otto // Faseb J. – 2011. – V. 25. – P. 1254–1263.
180. *Kretschmer D.* Human formyl peptide receptor 2 senses highly pathogenic Staphylococcus aureus / D. Kretschmer, A.K. Gleske, M. Rautenberg et al. // Cell Host Microbe. – 2010. – № 7. – P. 463–473.

181. *Cheung G.Y.* Insight into structure-function relationship in phenol-soluble modulins using an alanine screen of the phenol-soluble modulin (PSM) alpha 3 peptide / G.Y. Cheung, D. Kretschmer, S.Y. Queck et al. // *Faseb J.* – 2013. Epub. In press.
182. *Chatterjee S.S.* Essential Staphylococcus aureus toxin export system / S.S. Chatterjee, H.S. Joo, A.C. Duong et al. // *Nat. Med.* – 2013. – № 19. – P. 364–367.
183. *Surewaard B.* Staphylococcal alpha-Phenol Soluble Modulins contribute to neutrophil lysis after phagocytosis / B. Surewaard, C. de Haas, F. Vervoort et al. // *Cell Microbiol.* – 2013. – № 15. – P. 1427–1437.
184. *Geiger T.* The stringent response of Staphylococcus aureus and its impact on survival after phagocytosis through the induction of intracellular PSMs expression / T. Geiger, P. Francois, M. Liebeke et al. // *PLoS Pathog.* – 2012. – № 8. – P. 100–106.
185. *Ventura C.L.* Identification of a novel Staphylococcus aureus two-component leukotoxin using cell surface proteomics / C.L. Ventura, N. Malachowa, C.H. Hammer et al. // *PLoS ONE.* – 2010. – № 5. – P. 116–134.
186. *DuMont A.L.* Staphylococcus aureus elaborates leukocidin AB to mediate escape from within human neutrophils / A.L. DuMont, P. Yoong P, B.G. Surewaard et al. // *Infect. Immun.* – 2013. – V. 81. – P. 1830–1841.
187. *Hennekinne J.A.* Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation / J.A. Hennekinne, M.L. De Buyser, S. Dragacci // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2012. – V. 36. P. 815–836.
188. *Lin C.F.* Different types of cell death induced by enterotoxins / C.F. Lin, C.L. Chen, W.C. Huang et al. // *Toxins (Basel).* – 2010. – № 2. – P. 2158–2176.
189. *Salgado-Pabon W.* Superantigens are critical for Staphylococcus aureus infective endocarditis, sepsis, and acute kidney injury / W. Salgado-Pabon, L. Breshears, A. R. Spaulding et al. // *mBio.* – 2013. – № 4. – P. 178–194.
190. *Wilson G.J.* A novel core genome-encoded superantigen contributes to lethality of community-associated MRSA necrotizing pneumonia / G.J. Wilson, K.S. Seo, R.A. Cartwright et al. // *PLoS Pathog.* – 2011. – № 7. – P. 1002–1201.
191. *Stemerding A.M.* Staphylococcus aureus formyl peptide receptor-like 1 inhibitor (FLIPr) and its homologue FLIPr-like are potent FcγR antagonists that inhibit IgG-mediated effector functions / A.M. Stemerding, J. Kohl, M.K. Pandey et al. // *J. Immunol.* – 2013. – V. 191. – P. 353–362.
192. *Cassat J.E.* A secreted bacterial protease tailors the Staphylococcus aureus virulence repertoire to modulate bone remodeling during osteomyelitis / J.E. Cassat, N.D. Hammer, J.P. Campbell et al. // *Cell Host Microbe.* – 2013. – № 13. – P. 759–772.

193. *Bukowski M.* Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus* / M. Bukowski, B. Wladyka, G. Dubin // *Toxins* (Basel). – 2010. – № 2. – P. 1148–1165.
194. *Kwiecinski J.* Staphylokinase promotes the establishment of *Staphylococcus aureus* skin infections while decreasing disease severity / J. Kwiecinski, G. Jacobsson, M. Karlsson et al. // *J. Infect Dis.* – 2013. – V. 208. – P. 990–999.
195. *Cheng A.G.* Contribution of coagulases towards *Staphylococcus aureus* disease and protective immunity / A.G. Cheng, M. McA Dow, H.K. Kim et al. // *PLoS Pathog.* – 2010. – № 6. – P. 10–36.
196. *Toczyska I.* Shiga toxin and tetanus toxin as a potential biologic weapon / I. Toczyska // *Pol Merkur Lekarski.* – 2015. – № 39 (231). – P. 157–161.
197. *Bergan J.* Shiga toxins / J. Bergan, A.B. Dyve Lingelem, R. Simm et al. // *Toxicon.* – 2012. – V. 60. – P. 1085–1107.
198. *Farrokh C.* Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production / C. Farrokh, K. Jordan, F. Auvray et al. // *Int. J. Food Microbiol.* – 2013. – V. 162. – P. 190–212.
199. *Johannes L.* Shiga toxins—from cell biology to biomedical applications / L. Johannes // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2010. – № 8. – P. 105–116.
200. *Lee M.-S.* Shiga toxins as multi-functional proteins: induction of host cellular stress responses, role in pathogenesis and therapeutic applications / M.-S. Lee, S. Koo, D. G. Jeong // *Toxins.* – 2016. – № 8. – P. 77–93.
201. *Melton-Celsa A.R.* Shiga Toxin (Stx) classification, structure, and function / A.R. Melton-Celsa // *Microbiol. Spectr.* – 2014. – № 2. – P. 2024–2013.
202. *Sandvig K.* Endocytosis and retrograde transport of Shiga toxin / K. Sandvig, J. Bergan, A.-B. Dyve et al. // *Toxicon.* – 2010. – V. 56. – P. 1181–1185.
203. *Hsu Y.* Structure of the cyclomodulin Cif from pathogenic *Escherichia coli* / Y. Hsu, G. Jubelin, F. Taieb et al. // *J. Mol. Biol.* – 2008. – V. 384. – P. 465–477.
204. *Gargi A.* Bacterial toxin modulation of the eukaryotic cell cycle: are all cytolethal distending toxins created equally? / A. Gargi, M. Reno, S. R. Blanke // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2012. – № 2. – P. 124.
205. *Boquet P.* Intoxication strategy of *Helicobacter pylori* VacA toxin / P. Boquet // *Trends Microbiol.* – 2012. – № 20. – P. 165–174.
206. *Rossi Paccani S.* T cell targeting by anthrax toxins: two faces of the same coin / S. Rossi Paccani // *Toxins.* – 2011. – № 3 – P. 660–671.
207. *Kim I.-J.* Remodeling the host environment: modulation of the gastric epithelium by the *Helicobacter pylori* vacuolating toxin (VacA) / I.-J. Kim, S.R. Blanke // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2012. – № 2. – P. 37.

208. *Bezine E.* The cytolethal distending toxin effects on mammalian cells: a DNA damage perspective / E. Bezine, J. Vignard, G. Mirey // *Cells*. – 2014. – № 3. – P. 592–615.
209. *Alto N. M.* Subversion of Cell Signaling by Pathogens / N.M. Alto, K. Orth // *Perspect. Biol.* – 2012. – № 4. – P. 61–74.
210. *Gong M.* Helicobacter pylori γ -glutamyl transpeptidase is a pathogenic factor in the development of peptic ulcer disease / M. Gong, S.S.M. Ling, S.Y. Lu et al. // *Gastroenterology*. – 2010. – V. 139. – P. 564–573.
211. *Bierne H.* When bacteria target the nucleus: the emerging family of nucleomodulins / H. Bierne // *Cell. Microbiol.* – 2012. – № 14. – P. 622–633.
212. *Kim K.M.* Helicobacter pylori γ -glutamyltranspeptidase induces cell cycle arrest at the G1-S phase transition / K.M. Kim, S. G. Lee, J.M. Kim et al. // *J. Microbiol.* – 2010. – V. 48. – P. 372–377.
213. *Belibasakis G.N.* Inflammatory and bone remodeling responses to the cytolethal distending toxins / G.N. Belibasakis // *Cells*. – 2014. – № 3. – P. 236–246.
214. *Song J.* Structure and function of the Salmonella Typhi chimaeric A2B5 typhoid toxin / J. Song, X. Gao, J.E. Galán // *Nature*. – 2013. – V. 499. – P. 350–354.
215. *Nours J.L.* Structural basis of subtilase cytotoxin SubAB assembly / J.L. Nours, A.W. Paton, E. Byres et al. // *J. Biol. Chem.* – 2013. – V. 288. – P. 27505–27516.
216. *Odumosu O.* AB toxins: a paradigm switch from deadly to desirable / O. Odumosu, D. Nicholas, H. Yano // *Toxins*. – 2010. – № 2. – P. 1612–1645.
217. *Wang H.* In vivo leukocyte changes induced by Escherichia coli subtilase cytotoxin / H. Wang, A.W. Paton, S.R. McColl et al. // *Infect. Immun.* – 2011. – V. 79. – P. 1671–1679.
218. *Yahiro K.* Regulation of Subtilase cytotoxin (SubAB)-induced cell death by a PKR-like endoplasmic reticulum kinase (PERK)-dependent proteasome pathway in HeLa cells / K. Yahiro, H. Tsutsuki, K. Ogura et al. // *Infect. Immun.* – 2012. – V. 80. – P. 1803–1814.
219. *Balskus E.P.* Colibactin: understanding an elusive gut bacterial genotoxin / E.P. Balskus // *Nat. Prod. Rep.* – 2015. – V. 32. – P. 1534–1540.
220. *Yahiro K.* DAPI, a negative regulator of autophagy, controls SubAB-mediated apoptosis and autophagy / K. Yahiro, H. Tsutsuki, K. Ogura et al. // *Infect. Immun.* – 2014. – V. 82. – P. 4899–4908.
221. *Friebe S.* The ins and outs of anthrax toxin / S. Friebe, F. G. van der Goot, J. Bürgi // *Toxins*. – 2016. – № 8. – P. 69.
222. *Moayeri M., Leppla S.H., Vrentas C.* Anthrax pathogenesis / M. Moayeri, S.H. Leppla, C. Vrentas // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2015. – V. 69. – P. 185–208.

223. *Rossi Paccani S.* T cell targeting by anthrax toxins: two faces of the same coin / S. Rossi Paccani, C.T. Baldari // *Toxins*. – 2011. – № 3. – P. 660–671.
224. *Deplanche M.* Phenol-soluble modulins α induces G2/M phase transition delay in eukaryotic HeLa cells / M. Deplanche, R. A. E.-A. Filho, L. Alekseeva et al. // *FASEB J.* – 2015. – V. 29. – P. 1950–1959.
225. *Martín C.* Adenylate cyclase toxin promotes bacterial internalisation into non phagocytic cells / C. Martín, A. Etxaniz, K.B. Uribe et al. // *Sci. Rep.* – 2015. – № 5. – P. 13774.
226. *Zheng X.* Cholera toxin, a typical protein kinase A activator, induces G1 phase growth arrest in human bladder transitional cell carcinoma cells via inhibiting the c-Raf/MEK/ERK signaling pathway / X. Zheng, Y. Ou, M. Shu et al. // *Mol. Med.* – 2014. – Rep. 9. – P. 1773–1779.
227. *Carbonetti N.H.* Pertussis toxin and adenylate cyclase toxin: key virulence factors of *Bordetella pertussis* and cell biology tools / N.H. Carbonetti // *Future Microbiol.* – 2010. – № 5. – P. 455–469.
228. *Eby J.C.* Selective Translocation of the *Bordetella pertussis* adenylate cyclase toxin across the basolateral membranes of polarized epithelial cells / J.C. Eby, W.P. Ciesla, W. Hamman et al. // *J. Biol. Chem.* – 2010. – P. 285, 10662–10670.
229. *Melvin J.A.* *Bordetella pertussis* pathogenesis: current and future challenges / J.A. Melvin, E.V. Scheller, J.F. Miller // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2014. – V. 12. – P. 274–288.
230. *Gray M.C.* Cell cycle arrest induced by the bacterial adenylate cyclase toxins from *Bacillus anthracis* and *Bordetella pertussis*: adenylate cyclase toxins and cell cycle progression / M.C. Gray, E.L. Hewlett // *Cell. Microbiol.* – 2011. – № 13. – P. 123–134.
231. *Guerra L.* The biology of the cytolethal distending toxins / L. Guerra, X. Cortes-Bratti, R. Guidi et al. // *Toxins*. – 2011. – № 3. – P. 172–190.
232. *Palframan S.L.* Vacuolating cytotoxin A (VacA), a key toxin for *Helicobacter pylori* pathogenesis / S.L. Palframan, T. Kwok, K. Gabriel // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2012. – № 2. – P. 92.
233. *Junaid M.* Vacuolating cytotoxin A (VacA) – A multi-talented pore-forming toxin from *Helicobacter pylori* / M. Junaid, A.K. Linn, M.B. Javadi et al. // *Toxicon*. – 2016. – V. 118. – P. 27–35.
234. *Liyanage N. P. M.* *Helicobacter hepaticus* cytolethal distending toxin causes cell death in intestinal epithelial cells via mitochondrial apoptotic pathway / N. P. M. Liyanage, K.C. Manthey, R. P. Dassanayake et al. // *Helicobacter*. – 2010. – № 15. – P. 98–107.

235. Ricci V. Helicobacter pylori gamma-glutamyl transpeptidase and its pathogenic role. World / V. Ricci, M. Giannouli, M. Romano // J. Gastroenterol. – 2014. – № 20. – P. 630–638.

236. Knust Z. Cytotoxic Necrotizing Factors (CNFs) – a growing toxin family / Z. Knust // Toxins. – 2010. – № 2. – P. 116–127.

237. Jubelin G. Pathogenic bacteria target NEDD8-conjugated cullins to hijack host-cell signaling pathways / G. Jubelin, F. Taieb, D.M. Duda et al. // PLoS Pathog. – 2010. – № 6. – P. 100–128.

238. Krachler A.M. Manipulation of kinase signaling by bacterial pathogens / A.M. Krachler, A.R. Woolery, K. Orth // J. Cell Biol. – 2011. – V. 195. – P. 1083–1092.

239. Lemaître B. Translation inhibition and metabolic stress pathways in the host response to bacterial pathogens / B. Lemaître, S.E. Girardin // Nat. Rev. Microbiol. – 2013. – № 11. – P. 365–369.

240. Rosadi F. Bacterial protein toxins in human cancers / F. Rosadi, C. Fiorentini, A. Fabbri // Pathog. Dis. – 2016. – № 4. – P. 105–117.

241. Spaan A.N. The Staphylococcal toxin panton-valentine leukocidin targets human C5a receptors / A. N. Spaan, T. Henry, W. J. M. van Rooijen et al. // Cell Host Microbe. – 2013. – № 13. – P. 584–594.

242. Deplanche M. Staphylococcus aureus phenol-soluble modulins impair interleukin expression in bovine mammary epithelial cells / M. Deplanche, L. Alekseeva, K. Semenovskaya et al. // Infect. Immun. – 2016. – V. 84. – P. 1682–1692.

243. Ashida H. Bacteria and host interactions in the gut epithelial barrier / H. Ashida, M. Ogawa, M. Kim et al. // Nat. Chem. Biol. – 2012. – № 8. – P. 36–45.

244. Cassat J.E. A secreted bacterial protease tailors the Staphylococcus aureus virulence repertoire to modulate bone remodeling during osteomyelitis / J.E. Cassat, N.D. Hammer, J.P. Campbell et al. // Cell Host Microbe. – 2013. – № 13. – P. 759–772.

245. Grasso F. Bacterial genotoxins: merging the DNA damage response into infection biology / F. Grasso // Biomolecules. – 2015. – № 5. – P. 1762–1782.

246. Kretschmer D. Human Formyl Peptide Receptor 2 (FPR2/ALX) senses highly pathogenic Staphylococcus aureus / D. Kretschmer, A.-K. Gleske, M. Rautenberg et al. // Cell Host Microbe. – 2010. – № 7. – P. 463–473.

247. Chanput W. THP-1 cell line: an in vitro cell model for immune modulation approach / W. Chanput, J.J. Mes, H.J. Wichers // Int. Immunopharmacol. – 2014. – № 23. – P. 37–45.

248. Bu S. LukS-PV induces mitochondrial-mediated apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest in human acute myeloid leukemia THP-1 cells / S. Bu, Q. Xie, W. Chang et al. // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2013. – № 45. – P. 1531–1537.

249. *Peschel A.* Phenol-soluble modulins and staphylococcal infection / A. Peschel // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2013. – № 11. – P. 667–673.
250. *Otto M.* MRSA virulence and spread / M. Otto // *Cell. Microbiol.* – 2012. – № 14. – P. 1513–1521.
251. *Otto M.* Phenol-soluble modulins / M. Otto // *Int. J. Med. Microbiol.* – 2014. – V. 304. – P. 164–169.
252. *Gama J.B.* Proteomic analysis of the action of the *Mycobacterium ulcerans* toxin mycolactone: targeting host cells cytoskeleton and collagen / J.B. Gama, S. Ohlmeier, T.G. Martins et al. // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2014. – № 8. – P. 30–46.
253. *Fraga A.G.* *Mycobacterium ulcerans* triggers T-cell immunity followed by local and regional but not systemic immunosuppression / A.G. Fraga, A. Cruz, T.G. Martins et al. // *Infect. Immun.* – 2011. – V. 79. – P. 421–430.
254. *Guenin-Macé L.* Mycolactone activation of Wiskott-Aldrich syndrome proteins underpins Buruli ulcer formation / L. Guenin-Macé, R. Veyron-Churlet, M.-I. Thoulouze et al. // *J. Clin. Invest.* – 2013. – V. 123. – P. 1501–1512.
255. *Taieb F.* Cycle Inhibiting Factors (Cifs): cyclomodulins that usurp the ubiquitin-dependent degradation pathway of host cells / F. Taieb, J.-P. Nougayrède, E. Oswald // *Toxins.* – 2011. – № 3. – P. 356–368.
256. *Taieb F.* The enterobacterial genotoxins: cytolethal distending toxin and colibactin / F. Taieb, C. Petit, J.-P. Nougayrède // *EcoSal Plus.* – 2016. – № 7. – P. 1–21.
257. *Taieb F.* Cytolethal distending toxin A, B and C subunit proteins are necessary for the genotoxic effect of *Escherichia coli* CDT-V / F. Taieb, D. Sváb, C. Watrin et al. // *Acta Vet. Hung.* – 2013. – V. 63. – P. 1–10.
258. *McCormack R.M.* Enteric pathogens deploy cell cycle inhibiting factors to block the bactericidal activity of Perforin-2 / R.M. McCormack, K. Lyapichev, M.L. Olsson // *Elife.* – 2015. – № 4. – P. 65–75.
259. *Sarfo F.S.* Recent advances: role of mycolactone in the pathogenesis and monitoring of *Mycobacterium ulcerans* infection/Buruli ulcer disease / F.S. Sarfo, R. Phillips, M. Wansbrough-Jones // *Cell. Microbiol.* – 2016. – № 18. – P. 17–29.
260. *Periasamy S.* How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure / S. Periasamy, H.-S. Joo, A.C. Duong et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2012. – V. 109. 1281–1286.
261. *Rolando M.* Transcriptome dysregulation by anthrax lethal toxin plays a key role in induction of human endothelial cell cytotoxicity / M. Rolando, C. Stefani, G. Flatau et al. // *Cell. Microbiol.* – 2010. – V. 12. – P. 891–905.

262. Zhou Y. Diversity of bacterial manipulation of the host ubiquitous pathways / Y. Zhou // Cell. Microbiol. – 2015. – V. 17. – P. 26–34.

263. Aman M.J. Staphylococcal bicomponent pore-forming toxins: targets for prophylaxis and immunotherapy / M.J. Aman // Toxins. – 2014. – № 6. – P. 950–972.

264. Michelacci V. A new pathogenicity island carrying an allelic variant of the Subtilase cytotoxin is common among Shiga toxin producing Escherichia coli of human and ovine origin / V. Michelacci, R. Tozzoli, A. Caprioli et al. // Clin. Microbiol. Infect. – 2013. – № 19. – P. 149–156.

265. Scuron M.D. The cytolethal distending toxin contributes to microbial virulence and disease pathogenesis by acting as a tri-perditious toxin / M.D. Scuron, K. Boesze-Battaglia, M. Dlakić // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2016. – № 6. – P. 168.

266. Стоник В.А. Морские токсины: химические и биологические аспекты изучения / В.А. Стоник, И.В. Стоник // Успехи химии. – 2010. – № 79 (5). – С. 447–465.

267. Монастырная М.М. Полипептиды актиний, их взаимодействие с биологическими мишенями / М.М. Монастырная, Е.В. Лейченко, И.Н. Гладких и др. // Вестник ДВО РАН. – 2014. – № 1. – С. 103–119.

268. Стоник В.А. Изучение природных соединений в ТИБОХ ДВО РАН / В.А. Стоник // Вестник ДВО РАН. – 2005. – № 4. – С. 138–144.

269. Савельев А.П. К вопросу о молекулярно-генетических особенностях действия токсинов бактериального происхождения / А.П. Савельев, Н.Н. Степанов, О.М. Мисников и соавт // Актуальные направления развития медицинских средств защиты от экстремальных факторов: мат-лы Всероссийской научно-практической конференции, приуроченной к 25-летию ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России, 22 ноября 2017; под общ. ред. В.Д. Гладких. – М.: Спектр, 2017. – С. 184–194.

Глава 5

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ТОКСИНЫ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АГЕНТЫ БИОТЕРРОРИЗМА

С глубиной древности у различных народов накапливались тайные знания в области ядовитых природных средств, которые передавались от поколения к поколению «посвященным» и сегодня маскируются обрядами нетрадиционной медицины, колдовства и магии. Колдунами, целителями и отравителями для убийства людей использовались (и используются) в разных сочетаниях следующие «природные средства»: ядовитые растения (дурман, белена, белладонна, мандрагора, болиголов, волчий корень, или аконит, купальница, опиум, маковый сок, ядовитые грибы, наперстянка, безвременник, чемерица, ломонос, молочай, паслен, ветреница, рута); яды животного происхождения (выделения златки, порошок шпанской мушки, слизь старой жабы, трупные яды, слюна бешеной собаки, яды змей, кишечнорастворимых животных, саламандры, тритона, электрического ската); яды минерального происхождения (различные соединения мышьяка, ртути, таллия и их сочетания между собой и с органическими и биологическими ядами) [1,2]. Одновременно с накоплением знаний по токсическим свойствам различных веществ природного происхождения формировались традиции подбора композиций ядов, имеющих определенное предназначение (использования в военных целях, массовые убийства, ритуальная казнь, ликвидация под видом естественной смерти и др.).

5.1. Историческая справка о токсинах биологического происхождения

Коренные племена, живущие на всех континентах Земного шара, занимались разработкой технологии рыболовства посредством отравления воды растительными экстрактами, обладающими поражаю-

щими эффектами. Например, в Азии для этих целей использовался сок корней *Derris elliptica*, содержащих rotenon. Североамериканские индейцы из Калифорнийского региона применяли экстракты растений рода Кротон, содержащие форбол [3]. Эта субстанция также присутствует в экстракте *African piscicides*, ядовитого для рыб. В те времена подобные технологии использовались для достижения целей в конфликтах и войнах. Известен случай заражения водных источников в военной операции в Греции в период около 600 лет до нашей эры. Авторы *Frontinus (Strategemata)* и *Pausanias (Hellados Periegesis)* описали отравление военными легиона Делфи источника питьевой воды из реки *Plaistow* для города Кирха (древний город в Средней Греции) экстрактами *Helleborus spp.*, которые содержали ядовитые вещества, обладающие кардиоактивным и спастическим эффектами (гелебрин, ранункулин). В 14 столетии флорентийский хронограф *Giovanni Villani (Nuova Cronica)* описал отравление питьевой воды экстрактом *Conium maculatum* во время войны флорентийцев против Вероны. Подобные случаи достаточно часто встречались в течение многих столетий [4, 5].

В Китае уже в начале IV в. до нашей эры в военных целях использовались ядовитые дымы, полученные из растений. Например, дым из горчичных и других семян, обладающих раздражающим действием, закачивался китайцами с помощью мехов во вражеские рвы, окружающие город. Во II в. китайцы начали использовать слезоточивый газ из порошковой извести. Открытый в XI в. порох они научились использовать для диспергирования различных ядов. Для этого в пороховой заряд добавлялись токсические вещества, извлеченные из растений и тканей животных и соединения мышьяка. После помещения такой смеси в бамбуковую трубочку получалась отравляющая бомба. Тогда же китайцы научились создавать паралитические и удушающие газы, которые использовали на полях сражений при помощи бумажных змеев и бамбуковых трубочек [2].

Зачастую продукты питания являлись объектом заражения токсинами в военных и террористических целях. Источник этой технологии может быть выявлен в племенах, которые защищались от диких животных, используя обработанные токсинами стрелы. Многочисленные случаи отравления пищи описаны как хитрость времен античности. В историческом плане наибольшую известность получила некая Локуста, которая еще во времена Римской империи в I в. нашей

эры готовила смертоносные порошки из ядовитых грибов (бледная поганка), с помощью которых было немало отравлено претендентов на престол и правящих особ. Важно подчеркнуть, что в предварительных исследованиях на рабах и животных (свиньи, овцы, козлята) Локуста проводила оценку поражающей эффективности того или иного яда или рецептуры.

Случай из средних веков (11 столетие) является достаточно известным, когда шотландцы отравили пищу в лагере норвежской армии, используя сок *Atropa belladonna*, содержащей тропановые алкалоиды.

Наблюдение в природе за возможными атаками змей и других активных в токсинном отношении животных привела человека к описанию и открытию ядов, особенно в палеозойскую эру. Ядовитые стрелы не вызывали массовых разрушений подобно умеренному токсинному оружию, но они представляли собой комплексные системы, содержащие токсический субстрат и техническое средство для его доставки к мишени. Они могут быть представлены как первые исторические предшественники токсинного оружия. Основными компонентами ядовитых стрел являются растительные токсины с различными механизмами действия и клиническими эффектами. Наибольшее распространение и использование получили ядовитые стрелы, основанные на алкалоидах и гликозидах. В Южной Америке применяли алкалоиды, которые включали аконитин или стрихнин, но в ряде случаев токсиферин I, еубокурарин и другие нейромышечные блокаторы и использовали их для обработки стрел. Гликозиды обладают сильным кардиоактивным эффектом (оубаин, конвалатоксин, антиарин) и выявлены в ядовитых стрелах из Африки и Азии. В обобщенном виде основные небелковые растительные токсины, содержащиеся в ядовитых стрелах, приведены в табл. 5.1.

Как показано относительно структурной формулы оубаина (семейство *Arosupaseae*) и антиарина (семейство *Mogaseae*) на рис. 5.1, ядовитые стрелы в различных странах обрабатывались на основе одних и тех же или очень близких по токсическим свойствам субстратов. В большинстве регионов ядовитые стрелы пропитывались токсинами, продуцируемыми змеями, насекомыми или лягушками; ядовитые стрелы Индейцев Южной Америки смазывались кожным секретом улиток семейства *Dendrobatidae*. Кроме того, многие ядовитые стрелы обрабатывались специальными составами, осуществляю-

Таблица 5.1

Основные небелковые растительные токсины, содержащиеся в широко распространенных ядовитых стрелах

Токсин	Структура	Источник (пример)	Регион использования	Величина ЛД ₅₀ , мкг/кг
Аконитин	Алкалоид	<i>Aconitum</i> spp.	Европа, Азия	100 (мыши, в/в)
Антиарин	Гликозид	<i>Antiaris toxicaria</i>	Азия	900 (кошки, в/в)
Цикутоксин	Алкалоид	<i>Cicuta</i> spp.	Северная Америка	~9000 (мыши, в/б)
Конваллятоксин	Гликозид	<i>Parquetina nigrescens</i>	Африка	200 (кошки, в/б)
Оуабаин	Гликозид	<i>Strophanthus</i> spp.	Африка	110 (кошки, в/в)
Стрихнин	Алкалоид	<i>Strychnos nuxvomica</i>	Азия	400 (мыши, в/в)
Токсиферин 1	Алкалоид	<i>Strychnos toxifera</i>	Южная Америка	20 (мыши, в/в)
Тубокурарин	Алкалоид	<i>Chondrodendron</i> spp.	Южная Америка	100 (мыши, в/в)

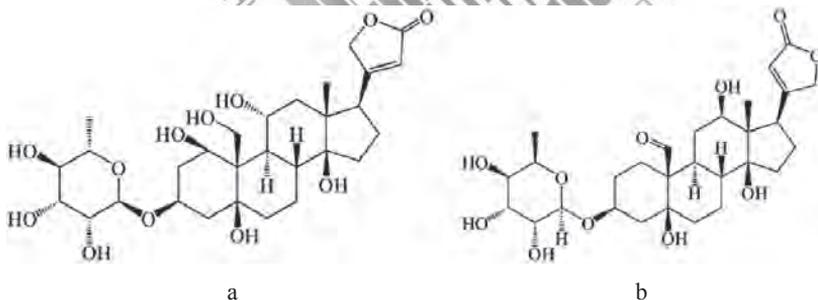


Рис. 5.1. Химическая структура оуабаина (а) и антиарина (b) (по Jones D.E., 2007) [3]

щами абсорбцию токсинов в организме, что делало эти токсины фармакологически активными и повышало их эффективность. В период современного развития науки и технологий, ядовитые стрелы были исследованы на предмет их фармакологической и терапевтической характеристики, но никогда они не подвергались исследованию и оценке с позиции военного применения или при биотеррористических атаках.

В странах третьего мира они могут быть использованы при военных конфликтах.

В историческом аспекте показано, что в регионе рек Тигр и Евфрат местные жители использовали в войнах и социальных конфликтах яды и токсины в виде соответствующих боеприпасов [6]. Анализ действий военного лидера Carthaginian Ганнибала показал, что он рекомендовал использовать сосуды с ядами змей против экипажей вражеских лодок во втором столетии до нашей эры. Согласно греческому историку Herodian, в конце второго столетия защитники месопотамского города Хатра использовали против римской армии сосуды, наполненные скорпионами и другими ядовитыми животными. Аналогичные технологии были использованы в средние века (например, английским королем Ричардом I, также известным как «Ричард львиное сердце»), а также в модернистском веке (например, в течение трехлетней войны) [7, 8]. Индийский стратег Kautilya (Arthashastra, 3–4 столетия до нашей эры) разработал инструкции для военных относительно использования токсических дымов, полученных путем горения ядовитых растений, насекомых, змей и других животных. В перечне рекомендованных субстанций имелись также растения *Ricinus communis* или *Abrus precatorius*, содержащие рицин или абрин соответственно. В период правления династии Dong (9–11 столетия) китайские солдаты использовали токсические дымы, получаемые в результате горения токсических растений (например, *Aconitum* spp., *Croton* spp.) или обогащенные змеиными ядами [9]. Близкие токсические продукты применялись также монголами. С введением в действие артиллерийских снарядов в Европе их пытались начинить экстрактами токсических растений (*Atropa belladonna*) или продуктами токсических дымов. В цивилизованной войне в Америке были созданы несколько проектов боеприпасов для артиллерии с продуктами токсических растений *Capsicum* spp., *Piper nigrum* или *Veratrum* spp., которые в последующем были изготовлены и использовались на поле боя [10–12].

В средневековой Европе случаи использования одного какого-то яда в практике отравлений были редки. Растительные и животные яды, как правило, отравители смешивали между собой и/или с минеральными ядами (соли мышьяка, ртути, мышьяковистая кислота) по тщательно охраняемым прописям. В конце XVII в. в Италии в арсенале отравителей появились весьма токсические композиции, не имевшие запаха, цвета и получившие название Аква тофана. изобре-

тательницей этого яда считается жительница Палермо некая Тофана. Она продавала ядовитый коктейль в особых бутылочках с портретом святого Николая. При ежедневном добавлении 6–7 капель яда в пищу, у жертвы возникали сначала общая слабость, и потеря аппетита, затем человек становился вялым, впадал в депрессию и в течение нескольких месяцев умирал на фоне общей и необъяснимой слабости. Практиковалось длительное отравление сверхмалыми дозами [2].

Особое место в практике токсикологических отравлений занимали трупные яды – птомаины. Ядовитость продуктов гниения белков при распаде тканей трупов обусловлена наличием в них, помимо птомаинов, сильных бактериальных токсинов. Наиболее опасными из птомаинов считаются кадаверин и путресцин, вызывающие в месте введения сильное воспаление и омертвление тканей. Популярностью пользовались трупные яды, полученные из легкого лягушки, крови (бычьей, человеческой) или частей ядовитой змеи [2]. В XVI в. уже имелись конкретные рекомендации по методам и способам распространения ядовитых веществ в войсках противника. Подобные сведения содержатся в книге «Метод сражения», составленной литовским автором Зиминичем в 1850 г. и имеющей указания о том, как изготовлять бомбы, снаряженные различного рода зараженными органическими отбросами [1].

В древних описаниях отравлений зачастую указываются источники происхождения яда, а также подробно описываются клинические симптомы отравления ими.

Широкое распространение имели древние традиции использования дурмана и белладонны ведьмами для совершения преступлений и проведения различных тайных культов.

5.2. Биотоксины в качестве средств поражения

В период Первой мировой войны с невероятной быстротой разрабатывались химические поражающие агенты (ХПА) и их массовое использование носило достаточно широкий характер, особенно на поле боя. Химические программы включали не только разработку синтетических ХПА, но также природных токсинов. Буквально в самом начале войны британские ученые провели исследования по военному использованию никотина (*Nicotiana spp.*), вератрина (*Veratrum spp.*),

капсаицина (*Capsicum spp.*) и, основываясь на этих алкалоидах, они произвели экспериментальный боеприпас [13, 14]. Американские военные химики предложили урушиол для включения в артиллерийские снаряды; токсин, полученный из растений семейства *Anacardiaceae*, вызывал образование волдырей при контакте с кожей, похожие на таковые при контакте с кожей иприта и люизита [15]. Они также проводили эксперименты по возможности использования токсического растительного белка рицина как возможного заменителя фосгена и дифосгена. Два типа боеприпасов были разработаны: шрапнель, где токсин персистировал внутрь организма посредством травм, вызванных осколками, и гранаты, которые при взрыве образовывали токсический аэрозоль. Однако эксперименты показали, что эффективные ингаляционные эффекты достаточно трудно выявить [16].

В 30-х годах прошлого столетия в Европе развернулись масштабные программы по созданию БО, в том числе токсинного оружия. В результате были разработаны основные способы и технические средства для ведения бактериологической войны:

- стрельба артиллерийскими бактериальными снарядами;
- сбрасывание авиационных бактериальных бомб;
- метание с самолета стеклянных ампул (5–20 г) и «беби-бомб» (до 250 г);
- комбинированное сбрасывание осколочных бомб и ампул с бактериальными средствами в сочетании с распылением микробного тумана;
- распыление микробной взвеси, создание бактериального тумана в воздухе, выпуск так называемых «микробных облаков» и «микробных капелек» с помощью специальных выливных авиационных приборов (ВАП);
- комбинированное применение отравляющих веществ и возбудителей инфекционных болезней;
- сбрасывание на парашютах зараженных животных;
- выпуск с самолетов зараженных насекомых;
- заражение водоисточников и пищевых продуктов на оставляемой территории;
- наземный выпуск зараженных животных: грызунов, зараженных туляремией, бруцеллезом, и собак, зараженных бешенством;
- диверсионные способы применения БО с целью уничтожения сельскохозяйственных животных [17–19].

Во время Второй мировой войны исследования по токсинам проводились внутри формируемых биологических программ. США тестировали ботулинический токсин (*Clostridium botulinum*), являвшимся одним из компонентов четырехпудовых авиационных бомб, но вследствие такого применения ингалирующие эффекты были слабо выражены; большинство экспериментальных животных поражались контаминирующими фрагментами, а не собственно токсином. В связи с такими обстоятельствами большие количества ботулинического токсина были наработаны и складированы к концу войны. Исследования по рицину продолжаются, включая серии полевых испытаний с применением четырехпудовых авиабомб и аэрозолирования водного раствора рицина в виде суспензии в тетрахлолорметане. Тесты показали низкую стабильность аэрозоля, низкую температурную стабильность токсина, а также его недостаточную чистоту. Производственный цикл рицина включает отжим масла из *R. communis*, а выход токсина в этих условиях в США не превышает 1,7 тонн [16].

Во время Второй мировой войны Великобритания вместе с Канадой разработали специальные авиационные бомбы, начиненные многочисленными ядовитыми маленькими стрелами, которые разрывались в воздухе и разлетались на площади 100 ар. Канадские специалисты предпочитали простые небольшие стрелы, обработанные различными токсикантами. Британские специалисты использовали маленькие стрелы в форме острой авторучки, наполненной токсином, рассматривались ботулинический токсин и другие природные токсины. Два метода их диспергирования были апробированы. Первый метод представлял собой бомбу, наполненную 36000 малыми стрелами, которые поражали солдат горизонтально на низкой высоте. Второй тип бомб был в форме кассет, наполненных 30000 малыми стрелами, которые распространялись вертикально на высоту около 900 м и поражали солдат, находившихся в укрытиях. Эксперименты на животных показали высокую эффективность этого оружия, но они не были включены в перечень вооружения по разным причинам. В контексте Британской программы разработки токсинного оружия имеется информация, что ручные гранаты, начиненные ботулиническим токсином, использовались при убийстве Рейнхарда Гейдриха, действующего рейхсляйтера Богемии и Моравии. Убийство было совершено в мае 1942 г. в Праге чехословацкими парашютистами, прошедшими

подготовку в подразделениях британских спецслужб. Однако использование ботулинического токсина при убийстве не было подтверждено.

Разработка биологических боеприпасов также осуществлялась после Второй мировой войны. Например, в США были предложены кассетные бомбы, которые начинялись суспензией рицина в тетрагидрометане или другими токсинами в форме порошка. Также развивалась идея о возможности введения токсинов в боеголовки тактических боеприпасов или применение токсинов с помощью аэрозольирования. Перечень основных типов биологических боеприпасов с жидким и порошковым наполнением, разработанных в США в 1950–1960-х годах, представлен в табл. 5.2.

Большинство развивающихся стран проявляло также интерес в плане возможности разработки токсинного оружия. Например, Ирак в 1990-х годах производил большое количество суспензии ботулинического токсина, а также раствора афлатоксина. Кроме того, этой же страной с высокой степенью вероятности рассматривалась возможность боевого применения рицина. Иракские специалисты также использовали авиабомбы, боеголовки артиллерийских снарядов и ракет для тестирования в качестве биологических боеприпасов [22–24].

Таблица 5.2

Основные типы биологических боеприпасов, разработанные в США в 1950–1960-х годах [1]

Тип	Описание
E44R2	Аэрозольный генератор
A/B45Y-1	Спреевая жидкая рецептура (для тактических авиабомб)
A/B45-4	Сухая рецептура для распыления в виде спрея с самолетов (для тактического применения, начиненная стафилококковым энтеротоксином В)
M114	Суббоеприпас для M33
M33	Кассетная бомба 500 фунтовая (108 pcs M114)
E61R4	Суббоеприпас для E133
E133	Кассетная бомба 750 футовая (536-544 суббомб E61R4)
M143	Суббоеприпас для M210
M210	БЧ управляемые ракеты
E120	Суббоеприпас для кассетных бомб и боеголовок

5.3. Биотоксины как оружие для специальных целей

Во время Второй мировой войны, в немецких концентрационных лагерях Заксенхаузен и Бухенвальд специальными подразделениями проводились эксперименты с использованием пистолетных патронов, начиненных никотином или аконитином [25]. Японская биологическая лаборатория (Unit Ei 1644 Nanjing, Unit 100 Changchun) изучала на людях воздействие змеиного токсина типа *Naja atra*, ядов насекомых, токсины основных видов морских рыб, а также рицина на человеческий организм [26]. Военно-медицинская академия в Токио проводила эксперименты с тетродотоксином (фуготоксином). Было отмечено, что эти эксперименты являлись своего рода толчком к разработке токсинного оружия для последующего его использования в специальных целях. Химическая лаборатория армии США разрабатывала специальные пистолеты, стреляющие обработанными ядом маленькими стрелами для их использования в специальных операциях («стреловидные поражающие элементы») и стреловидные патроны, начиненные ботулиническим токсином или сакситоксином (TZ) в 1950–1960-х годах. Основные количества этих боеприпасов было сосредоточено в арсенале Пайн-Блафф. Специальная лаборатория НКВД (КГБ) в Советском Союзе также вела разработки подобных продуктов – для примера, оружие в форме зонтика, стреляющее миниатюрными пулями с рицином [27, 28].

Учитывая значительные достижения в развитии молекулярной биологии и генетической инженерии в настоящее время возросла опасность создания новых усовершенствованных биологических поражающих агентов (БПА) на основе современных ДНК-технологий и соответственно ведения новых типов войн – «молекулярных» или «тихих» [17]. Генетически модифицированные БПА в составе оружия нелетального действия (ОНД) могут быть применены практически во всех конфликтах, включая региональные.

В качестве усовершенствованных БПА, в том числе токсинов, входящих в состав генетического оружия, могут быть использованы:

- модифицированные токсины животных или растений с повышенной устойчивостью к факторам внешней среды;
- гены, кодирующие токсины пептидной природы (рицин, токсины кобры, токсины бледной поганки и т.п.);

– химические и биологические соединения в малых концентрациях, обладающие токсичным или иным регуляторным действием.

Международная экономическая интеграция открывает благоприятные возможности для применения генетического оружия на основе усовершенствованных БПА. Продовольственная зависимость, огромные миграционные потоки, концентрация населения в крупных городах, загрязнение окружающей среды, истощение водных ресурсов и незащищенность водоснабжения – все это характерно для развивающихся стран и создает объективные предпосылки для применения генетического оружия. Импорт этими странами продовольствия и лекарственных препаратов позволяет практически бесконтрольно использовать генетически измененные микроорганизмы, различные химические добавки в малых концентрациях в качестве регуляторов «молчащих» генов или хронических инфекций [17].

Боевая эффективность современного БО и масштабы последствий его применения, в сопоставлении с традиционными образцами этого оружия, особенно возросли в связи с достижениями науки и биотехнологии. Они предоставили возможность получения принципиально новых БПА (и рецептур на их основе) с чрезвычайно высокими поражающими свойствами, высокой устойчивостью к факторам внешней среды и дезинфектантам, средствам профилактики и лечения, «уклоняющихся» от методов индикации и идентификации и т.д.

По имеющимся данным, исследованиями и разработками в военно-микробиологических аспектах в настоящее время охвачены следующие основные научные и технологические направления:

– ранее принятых на вооружение биологических и токсинных рецептур в целях повышения вирулентности и выживаемости возбудителей инфекций и усиления поражающих свойств токсинов, а также создание комплексных рецептур, содержащих два или несколько БПА и вызывающих микст-поражения, что создает серьезнейшие трудности для диагностики таких поражений, их профилактики, а также лечения пораженных;

– создание новых рецептур бактериальных средств (БС) на основе возбудителей недавно открытых и малоизученных инфекций, а также микроорганизмов-химер, полученных искусственным путем с помощью генно-инженерных технологий и обладающих высокой боевой эффективностью за счет «пробивания» иммунитета, продуцирования необычных токсинов, повышенной устойчивости к факторам окружающей среды, антибиотикам и химиопрепаратам и т.д.;

- изучение закономерностей формирования и распространения аэрозольного облака, выживаемости в нем микроорганизмов и особенностей поражения людей и сельскохозяйственных животных аэрозолями БПА и токсинов, а также разработка способов стабилизации их поражающих свойств при пребывании в таком состоянии;
- разработка более эффективных новых и совершенствование существующих средств доставки и диспергирования биологических и токсинных рецептур [29–33].

5.4. Возможности использования токсинов в биотеррористических целях

Как уже отмечалось, белки, равно как и небелковые токсины, могут быть использованы при разработке экспериментальных образцов токсинного оружия. Многочисленные токсины описаны, но только их небольшая часть может быть эффективно использована в военных целях или целях биотерроризма [29]. В научной и специальной литературе приводятся разнообразные трактовки понятия биотерроризма, которые заслуживают внимания. В большинстве дефиниций прослеживаются такие признаки биотерроризма, как применение биологических агентов или токсинов с целью поражения людей, животных и растений и запугивания населения либо воздействия на органы власти. Так, ряд авторов под биотерроризмом понимают «использование опасных БА для нанесения ущерба жизни и здоровью людей ради достижения целей политического и материального характера» [33]. Другой источник приводит более простое определение понятия «биотерроризма как террористических акций с использованием биологического оружия либо его частей» [34].

О.М. Хлобутов в своей работе употребляет два термина: «акт биологического (бактериологического) терроризма» и «биологический терроризм». Под первым термином автор понимает единичный факт применения или попытки применения БА (бактерий, вирусов, риккетсий, токсинов, грибов и т.д.) для возбуждения эпидемий или эпизоотий в целях оказания давления на органы государственной власти для принятия решений, желательных для террористов. Широкое же использование в целях террористической деятельности БПА автор называет биологическим терроризмом [35].

М.П. Требин считает, что «биологический терроризм – это умышленное применение отдельными лицами, террористическими группами или организациями биологических средств поражения людей, сельскохозяйственных животных и культурных растений с целью уничтожения или вывода из строя людей, нанесения больших экономических потерь в стране, навязывания определенной линии поведения в решении внутренних и внешних споров» [36].

Нельзя не отметить мнение М.А. Пальцева, который под биотеррористическим актом понимает любой из способов целенаправленного воздействия либо непосредственно на человека, либо опосредованно через употребляемые им продукты растительного, животного и искусственного происхождения, применяемые с целью снижения продолжительности и качества жизни [37].

Служба по контролю и предупреждению заболеваний правительства США под «биотеррористической атакой» подразумевает «умышленное использование вирусов, бактерий и других биологических агентов (микроорганизмов, токсинов) для возбуждения заболеваний и смертности у людей, животных и растений» [38].

Для террористов биологические агенты представляются тем инструментом, с помощью которого они могут поставить на колени мощные в военном отношении государства [17, 39–41]. Биологический терроризм, по оценкам ООН и ВОЗ, входит в число наиболее опасных для общества и природы видов терроризма [42]. Последствия террористического использования БПА и токсинов могут быть гораздо более серьезными, чем при ведении боевых действий регулярными войсками с применением БО по той причине, что террористы не ставят перед собой задач по захвату территории. Они стремятся к нанесению максимального демонстративного ущерба с целью запугивания населения, порождения паники, дестабилизации общества и принуждения тем самым властных структур к удовлетворению предъявляемых требований [43, 44].

Вероятность попадания компонентов БО в руки террористических организаций повышает довольно широкая распространенность технологий производства различных биологических препаратов и токсинов, которые могут использоваться и для наработки БПА. Известно, в частности, что базой для наработки боевых биологических средств располагает 21 страна, а предпосылки к их созданию имеются в нескольких десятках государств.

Сегодня специалисты пытаются прогнозировать ход развития событий. Предполагается, что в планах террористов, например, рассылающих

по почте смертоносные бациллы, могут быть использованы в качестве бактериологического оружия возбудители натуральной оспы, чумы, холеры, геморрагических лихорадок, вирусы лошадиных энцефалитов, ботулинический токсин и многое другое. В группу наиболее вероятных болезнетворных агентов попало более десяти вирусов и микробов, но первые места заняли натуральная оспа, чума, сибирская язва и ботулизм. Всего несколько килограммов спор возбудителя сибирской язвы способны уничтожить такое же количество населения, как и ядерная бомба, сброшенная на Хиросиму. Против натуральной оспы уже много лет не проводится плановых прививок. Между тем она легко передается от человека к человеку. Кроме того, между заражением и первыми клиническими проявлениями проходит много времени, в течение которого человек распространяет инфекцию, не подозревая, что болен. Если террористы воспользуются этим оружием, вполне вероятно глобальная пандемия оспы. Кроме инфицированных людей, опасность завоза новых инфекций происходит при импорте продуктов питания, препаратов на основе крови, животных и растений. Животные могут переносить потенциальные патогены (возбудители чумы, оспы обезьян, геморрагических лихорадок Марбург и Эбола, туберкулеза, сибирской язвы, сапа и др.) и их переносчиков (клещи, блохи). Животные, грызуны, комары, клещи могут вместе с людьми путешествовать и, попав в новый регион, укорениться там вместе с принесенными ими патогенными микроорганизмами, либо включаться в поддержание циркуляции уже имеющихся в регионе возбудителей инфекций. Так, в начале XVI в. и в XVII в. суда, перевозившие рабов из Западной Африки в Новый Свет, перенесли на «новые земли» желтую лихорадку и ее переносчика – москита *Aedes aegypti* [32].

В последние годы XX в. во взглядах на БО произошло смещение акцентов с позиций традиционных представлений о боевом использовании этого оружия, и все чаще стали высказываться предположения о более вероятном применении его основных компонентов – БПА в диверсионно-террористических целях [33, 44]. К пересмотру взглядов побудили широко декларируемые руководством ряда стран, радикально настроенных международных организаций и экстремистов-одиночек, намерения владеть оружием массового поражения или хотя бы его основными компонентами с целью использования для достижения своих политических, экономических или религиозных амбиций. Свидетельствуя о недостаточно сдерживающем действии Конвенции 1972 г., ставшие известными в последние годы многочисленные факты

осуществления исследований и разработок в области БО, одновременно указывают косвенно и на относительно легкую доступность их основного действующего начала – БПА. Действительно, даже при условии строжайшей секретности и самой тщательной охраны объектов, на которых проводятся работы с такими материалами, уже само по себе их существование является предпосылкой для попадания потенциальных БПА в руки международных террористических организаций.

Привлекательность агентов БО в качестве средств осуществления биотеррористических актов и их предпочтительность в сравнении с другими видами ОМП определяют следующие обстоятельства:

- относительная доступность и дешевизна, технологическая простота культивирования многих БПА: для наработки опасных биоматериалов не нужны высокие технологии, а необходимые для кустарного изготовления биоматериалов оборудование и сырье доступны на мировом рынке;

- весьма значительный ущерб, обусловленный скрытностью и внезапностью применения БПА, их высоким поражающим действием в отношении атакуемых незащищенных людей и длительным последствием, особенно в случае использования возбудителей контагиозных инфекций, а также обладающих длительной выживаемостью в объектах окружающей среды;

- колоссальный психологический эффект, обусловленный неизвестностью причин массовых заболеваний и неясностью прогнозов, паника и дезорганизация жизнедеятельности общества на фоне мнимого благополучия, порождаемого отсутствием видимых причин трагедии – стихийных бедствий, техногенных катастроф, разрушений инфраструктуры и т.д.;

- возможность применения БПА в экзотических и самых неожиданных формах, в самых разнообразных и непредвиденных ситуациях;

«ускользание» по формальным признакам из-под международных соглашений о БО: отказом от «разработки, производства и накопления» этого оружия и, разумеется, БПА, связаны лишь государства-участники Конвенции 1972 г., но это не касается неправительственных структур и частных лиц.

В целом, основная сложность и ограничение информации относительно перехода от процессов продукции до получения токсинов в производственных масштабах заключается в том, что некоторые токсины могут быть наработаны в небольших количествах в сравне-

нии с классическими ХПА, а также то, что спектр действия этих токсинов постоянно возрастает. Вторым ключевым моментом является сложность их применения в боевых условиях, что может привести к массивным отравлениям своего личного состава войск. В табл. 5.3 приведены основные интересующие в военном отношении и аспектах биотерроризма биотоксины в сравнении с наиболее важными ХПА.

Некоторые отличия между биотоксинами и классическими ХПА приведены в табл. 5.4

Таблица 5.3

Общие характеристики основных биотоксинов для военного и биотеррористического использования и их сравнение с некоторыми химическими поражающими агентами [1]

Токсин/ХПА	Структура	Механизм действия	Величина ЛД ₅₀ (мышь, в/в, мкг/кг)	Молекулярная масса
Ботулинический токсин	Белок	Ингибирование ацетилхолинэстеразы	0,001	150000
Столбнячный токсин	Белок	Ингибирование выделения ГАВА	0,002	150000
Палитоксин	Полиспирт	Блокатор К ⁺ каналов	0,15	2700
Тайпотоксин	Белок	Ингибирование выделения ацетилхолинэстеразы	2	35000
Рицин	Белок	Блокирование белкового синтеза	3	62000
Тетродотоксин	N-гетероароматическое соединение	Блокатор Na ⁺ каналов	8	319
Сакситоксин	N-гетероароматическое соединение	Блокатор Na ⁺ каналов	10	299
Физостигмин	Алкалоид	Ингибирование ацетилхолинэстеразы	450	275
T-2 токсин	Трихотецен	Ингибирование синтеза белка	1200	466
VX	ФОС	Ингибирование ацетилхолинэстеразы	15	267
GD	ФОС	Ингибирование ацетилхолинэстеразы	64	182
GB	ФОС	Ингибирование ацетилхолинэстеразы	100	140

**Принципиальные различия между биотоксинами
и классическими ХПА**

Характеристики	Биотоксины	Классические ХПА
Источник	Природное происхождение	Синтетические продукты
Производство	Сложное, мелкосерийное	Высокотехнологичное
Состояние вещества	Твердое	Жидкое (классические ХПА)
Устойчивость	Неустойчивые	Устойчивые
Токсичность	Высокотоксичные	Низкотоксичные
Чрескожный эффект	Не характерен	Есть
Вкус и запах	Нет	Есть
Токсический эффект	Разнообразный	Однообразный
Иммуногенные свойства	Частично присутствуют	Нет
Образование аэрозолей с помощью взрыва или теплового воздействия	Практически не возможно	Возможно (туманы, роса, дым)
Средства индивидуальной защиты	Антидымовые фильтры	Маски и специальные костюмы
Определение в реальном времени	Невозможно	Возможно

**5.4.1. Растительные токсины как составная часть
биологического оружия**

Растительный мир представлен различными субстанциями, обладающими биологической активностью, которые в типичном виде являются конечными продуктами метаболизма. Вторичные метаболиты с выраженными токсическими эффектами включают терпены, гликозиды, алкалоиды, амины, фенолы и другие органические соединения. Растительные токсины, как мы уже показали, являлись источниками для обработки ядовитых стрел, и они использовались для различных тактических поражающих рецептов. Некоторые из них в современных условиях были исследованы в военных и биотеррористических

целях. Например, алкалоид физостигмин, выделенный из *Physostigma venenosum*, использовался как сравнительный стандарт при разработке синтетических ингибиторов ацетилхолинэстеразы или, возможно, при разработке протективных средств защиты.

Менее многочисленной, но значимой группой метаболитов применительно к их военному или биотеррористическому использованию является группа токсических белков. При этом основное внимание фокусируется на рицине или, возможно, абрине, модецине (*Adenia digitata*), вискумине (*Viscum album*) и волкензине (*Adenia volkensis*), которые имеют близкую структуру, близкий механизм токсического действия (ингибирование белкового синтеза), а также вызывают идентичную картину интоксикации. Величина ЛД₅₀ (для мышей при внутривенном введении) для рицина является ниже в пять раз, чем у VX и ниже в 30 раз, чем у зарина. Поскольку ингаляционная летальная доза рицина для людей находится на уровне зарина, защита от рицинового аэрозоля в форме порошка или раствора не представляется достаточно сложной. Очищенный рицин легко растворим в воде только в том случае, если он находится в замороженном состоянии при низких температурах. Суспензия рицина в тетрахлорометане (начинка экспериментальных бомб) нестабильна, что оказывает определенное влияние на баллистические параметры боеприпаса. Все формы рицина очень чувствительны к ультрафиолетовому облучению, поэтому могут возникнуть определенные сложности при его использовании в период высокой солнечной активности. Основным недостатком рицина – его медленное действие (токсический эффект развивается после 8–72 ч), что исключает его из использования в оперативно-тактических целях [45].

5.4.2. Животные токсины как составная часть биологического оружия

Важным источником белковых и небелковых токсинов, проявляющих различные токсические эффекты, являются представители животного царства. Основная часть ядовитых животных имеют специальный орган (железу), продуцирующий токсины (например, змеи, пауки, скорпионы, группа активно ядовитых морских животных), некоторые виды животных, не имеющих такой орган и в связи с чем их токсины являются продуктами их метаболизма или, возможно,

частью биохимической структуры. Часть животных приобретают токсины из своего окружения (например, из пищи) и токсины впоследствии накапливаются в их телах. Военное и биотеррористическое использование животных токсинов ограничено в сравнении с растительными токсинами, что обусловлено наличием определенных проблем в их наработке в больших количествах. Однако эта проблема может быть решена с развитием новых методов химического синтеза и биотехнологическими подходами. Животные токсины, которые могут быть интересными для военного или биотеррористического применения, отличаются высокой токсичностью, и включают батрахотоксин, эпибатидин (рис. 5.2), зетекитоксин АВ и другие алкалоиды из кожного секрета лягушек семейства Dendrobatidae и Bufonidae, некоторые активные компоненты змеиных ядов – тайпоксин (*Oxyuranus scutallatus*), бунгаротоксин (*Bungarus multicinctus*), α -кобротоксин (*Naja siamensis*), токсины пауков, например, α -латротоксин, выделенный из *Latrodectus mactans*, а также другие токсины земноводных животных [46–48].

5.4.3. Морские токсины как составная часть биологического оружия

Интересную группу ядов представляют токсины морской природы, продуцируемые токсигенными водорослями, цианобактериями

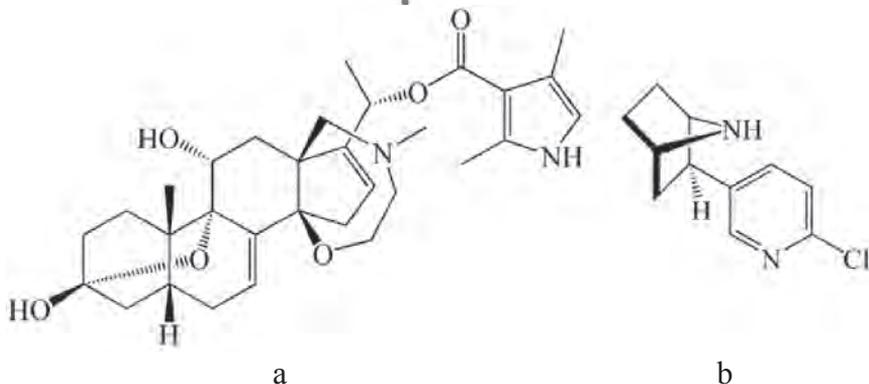


Рис. 5.2. Химическая структура батрахотоксина (а) и эпибатидина (б)

и бактериями, которые в общем представляют собой пищу для морских животных (основные виды рыб, рачков и моллюсков), в которых они находятся. Эти небелковые субстанции, способствуют алиментарным отравлениям человека и животных с различными синдромами: паралитические отравления моллюсками (ПОМ), нейротоксические отравления моллюсками (НОМ), амнестические отравления моллюсками (АОМ), диарейные отравления моллюсками (ДОМ), цигватерные отравления рыбой (ЦОР) и азаспирацидные отравления моллюсками (АСОМ) [49]. Высокий риск представляют нейротоксины со специфическими эффектами на нервную систему (сакситоксин, тетродотоксин, палитоксин, майототоксин, α -конотоксин и другие), которые также характеризуются значительным военным и биотеррористическим потенциалом. Морские токсины также обладают высокой эффективностью при ингаляционном применении и ими могут быть начинены боеприпасы, способные образовывать токсические аэрозоли. В 1980-х годах было показано, что ингаляционное применение сакситоксина (СТ) у мышей в 10 раз более эффективно в сравнение с внутривенным его введением. Это объясняется фактом, что при ингаляции токсический эффект фокусируется преимущественно на уровне легких, а не на организме в целом, как это имеет место при внутривенном введении токсина. Ингаляционная летальная доза (LC_{50}) сакситоксина для человека составляет около $5 \text{ мг} \cdot \text{мин} / \text{м}^3$, то есть в два раза ниже, чем для субстанции VX, и в 15 раз ниже, чем для зарина. Аэрозоль сакситоксина очень нестабилен. Он разрушается со скоростью 17 % в минуту. Сакситоксин (близкий к низкомолекулярным токсинам тетродотоксину, палитоксину, бреветоксину, анатоксину, T-2 токсину) также способен преодолевать кожный барьер, но не является высокоэффективным как ФОС ПХА. Величина кожной летальной дозы сакситоксина для человека не известна, но аналогичный бреветоксин может в значительной степени оказаться близким по активности. Эксперименты показали, что кожная доза бреветоксина выше, чем его летальная парентеральная доза примерно в 20 раз. Поскольку большинство интересных морских токсинов, в частности, сакситоксин, тетродотоксин (рис. 5.3), палитоксин достаточно трудны в плане наработки в промышленных масштабах, возможности использования высоко токсигенных химических (токсичных) боеприпасов ограничены [50].

Литературные данные подтверждают, что наиболее реальное применение токсинов в практических условиях перспективно в виде

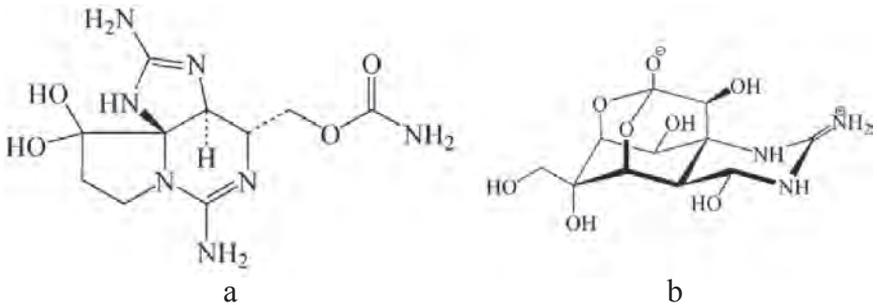


Рис. 5.3. Химические структуры сакситоксина (а) и тетродотоксина (б)

небольших начиненных или боеприпасов или при разгоне несанкционированных митингов и демонстраций, а также в виде агентов биотерроризма, в основном при заражении пищи.

5.4.4. Бактериальные токсины как составная часть биологического оружия

Белковые токсины продуцируются микроорганизмами и индуцируют многочисленные бактериальные заболевания (например, дифтерия, ботулизм, столбняк). Их биохимическая структура значительно различается; они могут быть в форме простых цепей или субстанций, объединяющих несколько единиц. Основываясь на химической структуре, термостабильности, а также методах выделения из патогена, бактериальные токсины могут быть разделены на две группы: экзотоксины (токсические бактериальные белки) и эндотоксины (токсические липополисахариды). Экзотоксины, которые значительно более токсичны, чем эндотоксины, выделяются бактериальными клетками в окружающую среду; эндотоксины, напротив, связаны с клеточной стенкой грамотрицательных бактерий. Основные экзотоксины (например, дифтерийный) выделяются бактериальной клеткой в форме неактивного протоксина, который в дальнейшем активируется протеолитическим расщеплением. В зависимости от механизма действия бактериальные токсины могут быть разделены на токсины, повреждающие мембраны (например, α -toxin), токсины, ингибирующие белковый синтез (например, шигатоксин), токсины, активирующие

вторичные мессенджерные пути (например, холерный токсин), активаторы иммунного ответа (например, стафилококковый энтеротоксин), а также протеолитические токсины (например, ботулинический и столбнячный токсины). В экспериментах на животных низкие величины ЛД₅₀ установлены для ботулинического токсина и столбнячного токсина, которые близки по структуре, ферментативной активности и воздействию на клетки нервной системы. Высокий риск поражения частично ассоциируется с токсическими экзотоксинами, такими как ботулинические токсины, стафилококковые энтеротоксины, дифтерийный токсин, столбнячный токсин, шигатоксин. Некоторые из них могут быть использованы для отравления воды и пищи, или для продуцирования фрагментов боеприпасов (отравляющее оружие). Основные токсины могут также действовать в форме аэрозолей для индуцирования массовых ингаляционных интоксикаций на больших площадях поражения, но в таком качестве их применение проблематично. Например, ботулинический токсин типа А, который наиболее перспективен в плане военного и биотеррористического использования характеризуется как эффективный поражающий фактор, около 100 раз более активный, чем субстанция VX (LCt₅₀ ботулинического токсина при ингаляционном применении составляет 0,02–0,1 мг•мин/м³), однако он менее чувствителен при боевом применении. Основная проблема заключается в стабильности токсина в аэрозоле. Наиболее эффективные фракции (менее 10 мкм) дисперсируют в верхних слоях атмосферы [1, 51].

5.4.5. Микотоксины как составная часть биологического оружия

Токсины также продуцируются микроскопическими и макроскопическими грибами. В частности, микотоксины, низкомолекулярные вторичные метаболиты микроскопических грибов, которые ответственны за различные массивные пищевые отравления (микотоксикозы), которые также могут иметь важное значение для применения в военных и биотеррористических целях в виде оружия. Известные микотоксины легко нарабатываются в больших количествах (культивируемые технологии или синтетические методы) и преимущественно являются высокостабильными (они резистентны к нагреванию). Однако имеющиеся наблюдения со стороны военных при проведении экспериментов с несколькими микотоксинами не могут являться

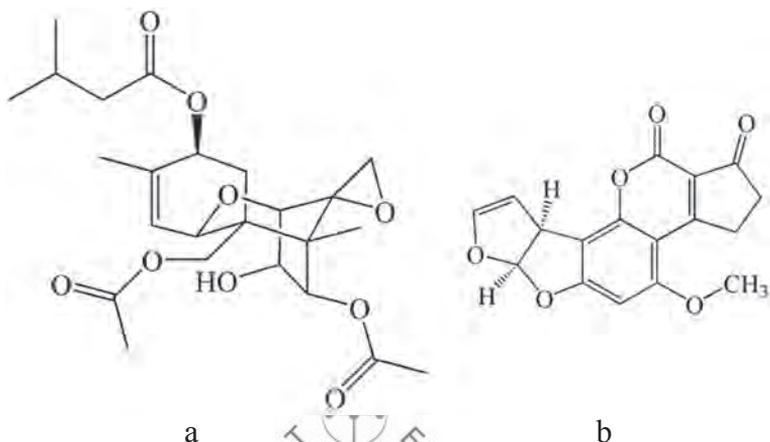


Рис. 5.4. Химическая структура (а) токсина Т-2 и (б) афлатоксина В1

прямыми подтверждениями для всей группы микотоксинов, поскольку они различаются по химической структуре, биологическим характеристикам и эффектам (цитотоксичности, нейротоксичности, иммуносупрессии и т.д.) [52].

Повышенное внимание военных специалистов к алкалоидам спорыньи (*Claviceps purpurea*), афлатоксинам (*Aspergillus spp.*), а также в последнее десятилетие к трихотеценам (*Fusarium spp.*), в частности группе, включающей Т-2 токсины (рис. 5.4), показывает структуру Т-2 токсина в сравнении со структурой афлатоксина В1, НТ-2 или диацетоксискирпенол.

Эксперименты на животных показали, что ингалирование мелкодисперсного аэрозоля Т-2 токсина обеспечивало летальную дозу ниже в 10–20 раз в сравнении с парентеральным применением этого же токсина. Представляется, что LCt_{50} для человека составляет около $5800 \text{ мг} \cdot \text{мин} / \text{м}^3$, то есть примерно в два раза выше в сравнении с заринном. После кожного применения основной токсический эффект Т-2 токсина имеет место. Кожная летальная доза Т-2 токсина (LD_{50} для крыс составляет $12,5 \text{ мг} / \text{кг}$), что примерно в 20 раз выше, чем для субстанции VX, а его активность намного ниже. Кроме того, токсин должен быть в растворенном виде, так как в растворе он проявляет наиболее выраженную поражающую активность. Согласно

имеющимся сведениям, трихотецены не могут быть признаны идеальным компонентом токсинного оружия. Однако это полностью не исключает возможность их военного и биотеррористического использования [53, 54].

5.5. Риботоксины бактериальной и небактериальной природы

5.5.1. Риботоксины грибов

Помимо дериватов растений, представляющих собой белковые структуры и обладающие способностью ингибировать белковый синтез, подобного рода биологически активные субстраты были выделены из различных видов грибов, подобные субстраты относились к α -сарцинам, образующим определенное семейство [55].

Сарцин представляет собой мономерный белок, секретируемый грибами *Aspergillus giganteus*, который ингибирует белковый синтез в клеточных системах [56]. Сарцин относится к семейству грибковых риботоксинов со специфической РНК эндонуклеазной активностью, кодируемой сарцин-рициновой областью 28S рРНК [57]. Преимущественно воздействуя на аналогичную структуру рРНК как и РНК N-гликозидазную RIPs, сарцин и аналогичные риботоксины дестабилизируют функции рибосом посредством уникального механизма. Нарушение рРНК обусловлено удалением A4324, посредством нарушения фосфодиэстеразной связи между G4325 и A4326 [58]. Это изменение нарушает структуру сарцин-рицинового локуса, тем самым предупреждая процесс элонгации факторов, участвующих в белковом синтезе. Структурные исследования множества риботоксинов показали, что сарцин, РНаза T1 и РНаза A объединяются единым каталитическим механизмом и относятся к циклическому классу рибонуклеаз [59]. В последних исследованиях показано, что Arg-121 необходим для RIP активности и цитотоксичности сарцина, поскольку когда это окончание нарушается вследствие белковой конформации обе функции снижаются [60]. Несмотря на изменения в ферментативной функции между риботоксинами и классической N-гликозидазной активностью RIPs, имеются противоречия в части того каким образом риботоксины могут быть распознаны как обычные RIPs.

5.5.2. Летальный фактор микроорганизмов рода *Burkholderia* (БЛФ1)

Риботоксины инактивируют рибосомы, используя механизм, который не требует депуринизации 28S рРНК. В настоящее время открыт БЛФ1 токсин, который подобен шигатоксинам, поскольку он участвует в патогенности бактерий, представляя тем самым новую дополнительную группу РНК N-гликозидазо-независимых рибосомных инактиваторов.

Внутриклеточный патоген *Burkholderia pseudomallei* является причинным агентом мелиоидоза, хронической и часто фатальной инфекции, которая поразила миллионы людей в мире [60]. Бактерия была выделена столетие назад, но механизмы, которыми она убивает и/или достаточно длительный период времени остается жизнеспособной внутри инфицированных клеток хозяина, пока неизвестны. Определенные достижения в отношении защиты против мелиоидоза были сделаны в 2011 году, когда международные исследовательские группы, возглавляемые Wilson и Rice из Университета Шеффилда впервые охарактеризовали летальный цитотоксический фактор, выделенный из *B. pseudomallei*, который способствовал инактивации белкового синтеза в организме хозяина [61]. Этот белок является основным в плане патогенеза поражения, вызываемого *B. pseudomallei*, хотя нельзя не отметить, что и другие токсины, которые вызывают клеточную смерть/тканевую некроз составляют достаточно большой арсенал вирулентных факторов. Этот летальный токсин, как было установлено, кодируется геном с неизвестной функцией, именуемым BPSL1549 после выяснения и секвенирования генома *B. pseudomallei* в 2004 г. [62]. BPSL1549 токсин был в последствие назван BLF1 [63, 64]. Сравнение протеомом *B. pseudomallei* и непатогенного, но активного штамма *Burkholderia thailandensis* показало, что 14 неохарактеризованных белковых маркеров экспрессировались в экстракте патогенного штамма. Структурированные программные исследования некоторых из этих белков привели к определению кристаллической структуры BPSL1549/BLF1 группой исследователей под руководством Rice [61]. Введение рекомбинантного белка внутримышечно или внутрибрюшинно убивало инфицированных мышей, которым вводили 10 мкг BLF1 в комбинации с адьювантом, или 100 мкг BLF1 без адьюванта.

Трансфекция BLF1 также убивала линии клеток млекопитающих, например макрофагальные линии клеток. Потенциальные цитотоксические эффекты регистрировались в концентрации ниже $2,5 \times 10^{-7}$ М [65]. Это было близко к концентрациям, описанным для депуризации РНК под влиянием рицина, которая наблюдалась при $KM = 1-2 \times 10^{-7}$ М. BLF1 был также охарактеризован как деаминазный фермент, который специфически воздействовал на Gln-339 эукариотическую трансляцию фактора eIF4A, инактивирующего RNA-геликазную активность [61]. Эта РНК-геликазная активность необходима для раскручивания вторичной структуры в 5' нетранслируемых областях циркулярной мРНК, приводя тем самым к образованию большой и малой рибосомных субъединиц и инициации процесса трансляции [66–69].

eIF4a фактор является важной составляющей для функционирования 40S рибосомальной субъединицы (и других факторов инициации), покрывающей мРНК и остается ассоциированной с иницирующим рибосомальным комплексом на протяжении приоритетного считывания в процессе трансляционной элонгации. Нельзя не отметить, что действие БЛФ1 в прямую не направлено на повреждение рибосом, тем не менее, важно отметить, что БЛФ1-модифицированные eIF4A фактор не может быть рециклирован в течение нескольких раундов трансляционной инициации, так как преиницирующий 80S рибосомальный комплекс необратимо блокирует молекулы мРНК, приводя к их потере. Это ведет к продолжительному накоплению заблокированных 80S рибосом и сопровождающему этот процесс снижению количества полисом, измеряемому в процессе исследования. Кроме того, в исследованиях на клеточных системах эффекты, опосредованные БЛФ1 в отношении экзогенного рекомбинантного eIF4A, не могут быть направлены на заблокированные рибосомы, подчеркивая тем самым необратимость природы рибосомальной инактивации и доминирование негативного эффекта, БЛФ1-модифицированного eIF4A, фактора на функцию рибосом [61]. Каталитическая обратимость БЛФ1 определялась на уровне 700 субстратных молекул в минуту, что приближалось к рРНК депурикации, катализируемой рицином, предполагая тем самым, что высокая оборачиваемость БЛФ1-зависимого ингибирования белкового синтеза приводит к клеточной гибели, когда все функционирующие рибосомы в клетке инактивируются модифицированным eIF4A [63, 64].

5.5.3. Рибосомо-инактивирующие пептиды как потенциальные биологические поражающие агенты и потенциальные химические поражающие агенты

В 1997 г. правительство США выделило несколько рибосомо-инактивирующих пептидов в качестве «избирательных агентов», с потенциальной возможностью избирательно влиять на здоровье людей и безопасность. В число этих избирательных агентов вошли *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei* и несколько токсинов, включая ризин, которые в последствии были отнесены к категории В биологических поражающих агентов [70]. К этой категории отнесены «агенты, склонные к умеренной диссеминации и способные вызывать патологический процесс, но» которые, преимущественно, обладают менее выраженной способностью вызывать заболевание и летальный исход, чем биологические агенты, относящиеся к категории А, к числу которых отнесены возбудители сибирской язвы и ботулизма.

БЛФ1-продуцирующий патоген, *B. pseudomallei*, легко размножается в окружающей среде и лабораторных условиях, в любых климатических условиях и представляет собой приоритетного кандидата для использования в качестве агента биотерроризма [71]. Он может выживать в дистиллированной воде в течение нескольких лет и инфицировать практически всех млекопитающих и томаты, что является своеобразным подтверждением его легкой диссеминации и потенциальной способности поражать окружающую среду при использовании в качестве агента нападения. Отсутствие вакцинных препаратов делает этого агента и вызываемые им поражения чрезвычайно опасными [72–75]. Предпосылки для использования *B. pseudomallei* в качестве компонента биологического оружия исходят из истории использования бактерий *B. mallei*. Эта бактерия является этиологическим агентом «сапа», представляющего собой заболевание лошадей, контагиозное для человека, которое очень близко мелиоидозу [76, 77]. Это было первым биологическим оружием, использованным во время американской войны, а затем применялось во время Первой мировой войны германской армией для контаминации мышей-полевков и людей [78–81].

5.5.4. Разработка средств специфической активной и пассивной профилактики мелиоидоза

К настоящему времени показано, что вакцинные препараты на основе генетических модифицированных вакцинных штаммов возбудителя мелиоидоза проходили или проходят оценку на наличие у них протективных эффектов. При этом перечень оцениваемых препаратов включал живые аттенуированные вакцины, убитые цельноклеточные вакцины, вакцины на основе дендритных клеток, а также субъединичные плазмидные ДНК вакцины [82].

Выявление определенных генетических последовательностей в геноме *B. pseudomallei* существенно продвинуло вперед технологии разработки вакцинных препаратов, а также альтернативных терапевтических и профилактических подходов. Например, исследования позволили открыть потенциальный токсин, названный Burkholderia летальный фактор-1 (БЛФ-1), который защищает клетки возбудителя от гибели и нарушения белковых процессов в них в инфицированном организме. В результате молекулярно-генетических и микробиологических исследований выявлено у возбудителя мелиоидоза два поверхностных антигена, капсульный полисахаридный (КПС) и ЛПС, которые ответственны за патогенные свойства *B. pseudomallei*. В связи с этим разрабатываются средства пассивной иммунопрофилактики мелиоидоза на основе растворимых моноклональных антител к КПС и ЛПС. При этом препараты на основе моноклональных антител к КПС используются в основном для идентификации антигена из проб крови и мочи инфицированных пациентов. Моноклональные антитела к КПС самостоятельно или в комбинации с моноклональными антителами к ЛПС, предупреждают развитие инфекции, вызванной *B. pseudomallei*, у мышей. Хотя эффект от применения обоих видов моноклональных антител имеет место, когда они применяются однократно, комбинированное применение обеспечивает значительно лучшую защиту при их применении в более низких дозах [83–85].

5.6. Полиморфные токсины

Полиморфные токсины (ПТ) представляют собой многодоменные белки, которые продуцируются различными бактериями и принимают участие в патогенезе вызываемых ими поражений [86].

Большинство имеющихся на сегодняшний день известных бактерий в своем геноме структуры, кодирующие не менее одной ПТ системы [87]. К числу полиморфных токсинов относятся колицины, растворимые пиоцины, токсические эффекторы, относящиеся к V типу секреторных систем (Т5СС), некоторые токсические эффекторы VI типа секреторных систем (Т6СС), а также MafB токсины [88–90]. Семейство ПТ определяется по N-концевой области, покрытой одним или более постоянно действующих доменов. Например, домен с неизвестной функцией, именуемый DUF1020 (PF06255) выявлен в N-концевой области всех MafB токсинов [91]. В этой же области VgrG токсинов выявлены домены, ответственные за функциональное состояние этих токсинов, а также структурные особенности. Большинство ПТ обладает РНКазной, ДНКазной, пептидазной или другими протеин-модифицирующими свойствами. ПТ секретируются различными секреторными системами [87]. CdiA и VspA токсины секретируются CdiB и VspB соответственно, а относятся к одному секреторному белковому семейству (Т5СС). CdiA и VspA токсины требуют непосредственного контакта для ингибирования конкурентов бактерий, что в настоящее время объединяется под термином «система контактно-зависимого ингибирования» [92–93]. Основные семейства ПТ, включающие VgrG, Hcr и PAAR белки, обладают структурной близостью к Т6СС эффектам в дополнение к их токсической активности [94]. В этих семействах имеются два основных домена, отвечающих за синтез каноникальных белков без С-концевого расширения и ПТ, несущие С-концевое расширение с токсической активностью [95–97]. С другой стороны было показано, что С-концевое расширение VgrG белка внутриагрегативного штамма *Escherichia coli* не обладает токсическим доменом, но опосредует связывание и транспорт токсического эффектора [98].

Когда бактерия продуцирует бактериальный токсин, ей необходима защита самой себя от поражения этим токсином и предупреждение самоингибирования. В большинстве случаев малая открытая область, кодирующая синтез белка специфического иммунитета, локализуется в непосредственной близости от гена токсичности. ПТ модулируют динамику микробного накопления посредством киллерных и ингибирующих рост конкурентов. Для примера, доминирующий штамм *E. coli* EC93 в кишечнике некоторых линий крыс (лабораторных) связывается с CdiA для продукции токсина. В то же время CdiA EC93 ин-

гибирует рост *E. coli* K12 штаммов. У *Burkholderia thailandensis*, *ВсрА* также вовлекается в ингибирование размножения сходных бактерий через контакт. Кроме того, *Вср* система допускает воздействие на родственные микроорганизмы посредством иммунных белков, продуцируемых бактериями. *CdiA* и *ВсрА* токсины способствуют модуляции реакций между бактериями одного и того же вида. Напротив, эффекторы Т6СС вовлекаются во внутри- и межвидовые взаимоотношения и могут также входить в контакт с эукариотическими клетками. Кроме того, *VgrG* белок *Vibrio cholerae* отвечает за ремоделирование актинового цитоскелета, когда инъецируется в эукариотические клетки хозяина, в то же время *VgrG* токсин другого штамма *Vibrio* гидролизует конкурентами клеточной стенки грамотригативных бактерий [99–103].

В результате сравнительных исследований, целевыми задачами которых являлись характеристики ПТ систем в различных родах протеобактерий (например, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Vibrio* и *Neisseria*), только семейства *WXG/LXG* и *Rhs* ПТ были выявлены в монодерме. Среди этих бактерий ответственными за здоровье человека являлись *Firmicutes* и *Actinobacteria*. Эти микроорганизмы составляют большой класс микробиоты человека, включающий >50 % штаммов, выделенных из кожи, носа, полости рта и влагалища, причем среди них выявляется достаточно большое количество патогенных для человека микроорганизмов. Несколько *WXG/LXG* токсинов описано для *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, а также *Streptococcus intermedius*. Роль этих токсинов в межбактериальных взаимоотношениях показана на последних двух видах. Кроме того, *Rhs* токсин, именуемый *WapA*, вовлекается в определенные негативные эффекты *B. Subtilis* [104–111].

Имеется много примеров профагов, кодирующих токсины с антиэукариотической активностью, вовлекаемые в бактериальную вирулентность. Они включают *E. coli* профаги, кодирующие шигатоксин, филаментный фаг СТХφ, кодирующий холерный токсин, *S. aureus* профаги, кодирующие Panton-Valentine лейкоцидин. Несколько профаговых токсин-антитоксиновых генов описано, то есть, например, в экстрахромосомальных профагах P1 и N15, где они могут стабилизировать присутствие профагов посредством пост-сегрегационного киллинга, что представляет собой частный случай плазмид. Кроме того, мультибелковые структуры, именуемые термином «тайлоцины» описаны в геноме *Pseudomonas*. Тайлоцины являются морфологически

близкими к тайлам бактериофагов и эксгибируют бактериотоксическую активность через прямую перфорацию клеточной стенки. Бактериоцины часто кодируются посредством тайловой кассеты [112, 113].

Некоторые ПТ с нуклеазной активностью обладают высокой токсичностью и позиционируются как биологическое оружие. Например, показано, что *cd13442* токсинный домен *CdiA-2* токсина *Burkholderia pseudomallei* 1026b обладает тРНК нуклеазной активностью и играет существенную роль в плане контактно-зависимого ингибирования роста близкородственных микроорганизмов [114, 115]. Такой высокотоксичный компонент как *MuFs* может увеличивать роль краевых бактериофагов в бактериальном воздействии. Высказано положение относительно того, что бактерии используют свои профаги для удаления конкурентов из среды обитания, что в конечном итоге может способствовать развитию поражающего действия бактерий [115, 116]. Этот механизм можно представить следующим образом: лизогенная популяция может продуцировать фаги посредством лизиса субпопуляции клеток и, следовательно, убивать чувствительных конкурентов (осуществлять защиту вирулентных микроорганизмов от воздействия кодируемых этими же микроорганизмами иммунных белков). Однако, эффект этого механизма коротко живущий, поскольку фаг может эвентуально лизировать несколько конкурентов, способствуя развитию у них иммунитета к суперинфекции [118].

5.7. Токсины псевдомонад

Белковые токсины являются основным оружием бактериальных патогенов. Большинство грамотрицательных патогенов, включая условно патогенных для человека *Pseudomonas aeruginosa*, секретируют токсины в культуральную среду или при введении в организм непосредственно проникают в цитоплазму клеток хозяина.

P. aeruginosa представляют собой бациллы, которые в большом количестве находятся в окружающей среде и колонизируют различных хозяев от растений до насекомых, а также млекопитающих [119–121]. *P. aeruginosa* достаточно хорошо адаптируется к организму человека и способствуют развитию инфекционного процесса в различных органах и тканях макроорганизма, включая мочевыводящий тракт, легкие, глаза и поврежденные участки кожи. Эти микроорганизмы часто

ассоциируются с нозокомиальными инфекциями, развивающимися в палатах интенсивной терапии и у пожилых пациентов с хронической патологией, а также у пациентов с фиброзом мочевого пузыря, при котором они являются приоритетной причиной возникновения заболевания и смертности пациентов [122]. Целостно-геномный анализ встречающихся в природе и клинических изолятов *P. aeruginosa* позволил их разделить на три основные группы штаммов PAO1, PA14 и PA7 [123–128]. В основном в мире встречаются штаммы двух групп («PAO1» и «PA14»), третью группу («PA7») составляют штаммы, квалифицирующиеся как клональные объекты, основанные на их последовательности и геномных нарушениях [129–131].

Основное различие между клональными объектами и основной популяцией штаммов заключается в их цитотоксичности и вирулентности по отношению к млекопитающим. «Классические» штаммы, относящиеся к группам «PAO1» и «PA14» характеризуются хорошо исследованными вирулентными свойствами, относящимися к имеющейся у них секреторной системе типа Т (ССТ3). Данная система включает в себя молекулярные структуры, обладающие способностью выделять бактериальные белки и направлять их непосредственно в клетки хозяина через три мембраны [132, 133]. Данная система кодируется четырьмя оперонами хромосомного локуса, составляющего ~25 kb, содержащего гены для структурных и регуляторных белков. Четыре токсин-эффекторы транспортируются ССТ3, два из которых ExoS и ExoU присутствуют в большинстве клинически выделенных штаммов [123, 135].

Напротив, штаммы, относящиеся к группе «PA7» делятся на лишённые ССТ3 системы и имеющие данную систему в плане токсинобразования. С другой стороны, они вырабатывают токсин массой 170 кДа, именуемый экзолизин (ЭкзЛА), имеющий отношение к инфекционному процессу. Экзолизин впервые был выявлен в культуральной среде высокоцитотоксического штамма CLJ1, выделенного от пациента с хроническим обструктивным легочным заболеванием (ХОЛЗ), сопровождавшимся кровоизлияниями в легкие. Рекомбинантная экспрессия exlVA была выявлена в качестве причины фатального исхода на мышинной модели острой пневмонии и оба гена, ответственные за цитотоксичность эукариотических клеток. exlVA локус, кодирующий токсинобразование, отсутствует у классических штаммов *P. aeruginosa* и локализуется между генами,

относящимися к PA0874 и PA0873 в референс-штамме PAO1. Такая генетическая организация имеет место во всех клональных штаммах. Биоинформационный анализ позволил выявить все геномы в базах данных *Pseudomonas* и присутствие *exlA* генов в нескольких видах *Pseudomonas*, включая *P. putida*, *P. entomophila*, *P. protegens* and *P. fluorescens* [1136–138].

5.7.1. Экзолизин относится к семейству порообразующих токсинов

exlA геном кодируется полипептид, состоящий из 1651 остатка, характеризующегося как 1) сигнальный пептид, 2) так называемый Two-Partner Secretion (TPS) домен и 3) наличием нескольких филаметных гемагглютинирующих последовательностей. Отсутствие какой-либо известной последовательности, например, ~280 остаточного С-концевого домена, может способствовать потере *ExlA* активности в отношении эукариотических клеток [139].

ЭкзЛA обычно выявляется в супернатантах культивируемых бактерий, однако не ясно в какой секретируемой форме, то есть его плохая растворимость может способствовать диффузии токсина в культуральную среду. Необходимо отметить, что ЭкзЛA-опосредованная вирулентность, характеризующаяся контактом между бактерией и клеткой-мишенью, также подтверждает, что диффузия секретируемого экзолизина А происходит вокруг *P. aeruginosa*. Эти данные были получены с использованием *S. marcescens* *ShlA*, у которого идентичность с ЭкзЛA составляет 34% [139].

Экзолизин А относится к семейству цитолизин/гемолизин, из которых активность наиболее охарактеризована для *ShlA*. *ShlA* является ответственным за связывание с клетками-мишенями гемолитического фенотипа *S. marcescens*. *ShlB* и *ShlA* были основными в плане воспроизведения основной модели для ранней характеристики TPS [140]. В экспериментах *in vitro* по гемолизу с использованием бактериальных клеток и мочеэкстрактов с короткоживущим нативным токсином показано, что *ShlA* секретируется в два этапа, первый из которых был посвящен синтезу неактивной периплазматической формы *ShlA*, которая была неактивна, и второй был посвящен ее активации посредством гемолитической активности, что необходимо было для последующей транслокации *ShlA* через наружную мембрану. Периплазматический *ShlA* получали из *shlB* мутантов *S. marcescens*, который

мог быть активирован либо ShlB, либо секретировался в виде ShlA конструкций, сравнимых с TPS доменом.

Подобный механизм активации был выявлен для HrmA и ЭкзЛА. Активный ShlA погружается в мембрану эритроцита, где происходит его адаптация к новым условиям и порообразование диаметром 1–3 нм, что было близко найденным при воздействии ЭкзЛА [140, 141].

5.7.2. Аффинность экзолзина к мембранам

Порообразующие токсины (ПОТ) классически соединяются с рецептором, поскольку они воздействуют на мембрану-мишень, представляют собой белок с остатками сахаров или липидных групп. После связывания ПОТ олигомеризуются, затем образуют пору внутри плазматической мембраны [142]. Изменяя выделение гемоглобина из красных клеток крови в присутствии осмопротектантов различных размеров, показано, что ЭкзЛА образуют поры диаметром 1–6 нм. Ни ЭкзЛА, выделенный из супернатанта культивируемых *P. aeruginosa*, ни очищенный ненативный ЭкзЛА не обладают литической активностью в отношении эукариотических клеток. Более того, только бактерии в контакте с эукариотическими клетками обладали способностью обеспечивать ЭкзЛА-зависимый цитолиз. Используя клеточный скрининг для бактериальных факторов, которые могут повысить ЭкзЛА порообразующую активность, показано, что тип IV ворсинок был ответственен за ЭкзЛА-опосредованную цитотоксичность. Следовательно, ворсинки могут обладать ЭкзЛА функцией, облегчающей доступ бактерий к клеточной мембране хозяина. Следствием этого является повышение локальной концентрации ЭкзЛА около мембраны и способствует активному порообразованию в ней, что подтверждает наличие и оригинальность этого порообразующего TPS токсина. Однако выявление подобных рецепторов на клеточной мембране для экзолзинов остается пока недоказанным [143, 144].

5.7.3. Вирулентность штаммов *P. aeruginosa*, секретирующих экзолзин

Современный перечень ЭкзЛА-позитивных штаммов (ЭкзЛА+) включает изоляты из материалов, полученных при различных патологических состояниях (инфекции слухового и мочевыводящего

тракта, ожоги, абсцессы, бактериемия, фиброзный цистит, пневмония, COPD) или из окружающей среды (растения и сточные воды). Лабораторная идентификация этих штаммов показывает, что только небольшое количество обладает LasB-типом протеолитической активности или продукцией HCN, двумя вирулентными факторами, продуцируемыми большинством классических штаммов («РА01» и «РА14»). Подобно другим штаммам *P. aeruginosa*, ЭкзЛА+ штаммы сильно варьируют по их способности к подвижности, колониеобразованию и другим свойствам. Все типы эукариотических клеток (эпителиальные, эндотелиальные, фибробластные, миелоидные) были чувствительны к ЭкзЛА-цитотоксичности, подтверждая тем самым, что ЭкзЛА+ бактерии могут поражать различные органы и ткани *in vivo*.

Роль ЭкзЛА в вирулентности РА7-подобных штаммов была подтверждена двумя исследованиями: 1) уровень токсического действия штаммов на клетки коррелировал с количеством секретируемого экзотоксина А, 2) *exlA* мутация способствовала потере цитотоксичности. Нельзя не отметить, что имеет место различие в токсичности *in vivo*, которая отличалась от определенной *in vitro* цитотоксичности на клеточных линиях, подтверждая тем самым, что взаимодействие с иммунными компонентами варьирует между штаммами и играет в общем патогенезе вызываемого поражения. На модели легочной инфекции у мышей наиболее вирулентный штамм CLJ1 индуцировал смертность значительно более высокую, чем РА01 штамм, экспрессирующий SST3 и ExoS, ExoT и ExoY эффекторы.

Гистологическая оценка CLJ1-инфицированных легких выявила присутствие эритроцитов в пространстве альвеол в дополнение к инфильтрации нейтрофилами, что подтверждает возникновение геморрагических симптомов у пациента с аналогичной патологией. С использованием электронной микроскопии показано, что CLJ1 провоцирует возникновение существенных изменений в стенке альвеол. В частности, ткань дезорганизована и имеет место некротические изменения отдельных пневмоцитов и эндотелиальных клеток с распадом цитоплазмы и поражением альвеол и капилляров. Эти типы поражений не наблюдались в легких, инфицированных SST3-положительным штаммом РА01. ЭкзЛА ясно отделяет бактерии со способностью к пролиферации в легких и диссеминации из легких в другие органы: печень, селезенку, почки и головной мозг. Следовательно, преодоление альвеоло-капиллярного барьера индуцируется ЭкзЛА и открыва-

ет попадание микробов в кровь и диссеминацию. Однако, когда кровь была непосредственно инфицирована в процессе мышинной бактериальной модели, все штаммы *P. aeruginosa* были элиминированы вне зависимости от способности к секреции ЭкзЛА или ССТ3-токсинов, причем более быстро этот процесс проходил применительно к ЭкзЛА+ штамму CLJ1. Эти результаты показывают, что выживание бактерий в крови и их способность к резистентности в отношении иммунной системы зависит в большей степени от генетики бактерий, чем от секреторной способности токсина(ов) [145].

Sh1A токсин из *S. marcescens* индуцирует подобные изменения в легочной ткани, то есть геморрагическую пневмонию, инфильтрацию нейтрофилами и быстрое нарастание легочной дисфункции, вслед за которой наблюдается гибель мышей [146]. Некоторые другие штаммы псевдомонад индуцируют более серьезные повреждения в легких либо в результате прямого воздействия на ткань, либо посредством воспалительных эффектов; два механизма часто зависят друг от друга. Например, *Streptococcus pneumoniae*, продуцирующий PLY токсин, вызывает деструкцию легочной ткани, опосредованную индукцией апоптоза и массивной инфильтрацией нейтрофилов в место инфекции. Очищенным белком индуцируется проницаемость легочных альвеол мышей, равно как и некоторая легочная гипертензия и дисфункция легочного барьера [147].

Лейкоцидином PVL *S. aureus* опосредованно индуцируются поражающие эффекты на легкие. При этом увеличивается секреция провоспалительного цитокина ИЛ-8 и МХБ-1 (монокитарный хемотаксический белок-1) иммунными клетками, чем индуцируется массивная инфильтрация моноцитами места инфекции. Эта инфильтрация ответственна за некроз легочной ткани, альвеолярные геморрагии, что приводит к нарушению легочного барьера [148]. Следовательно, подобно ЭкзЛА, эти псевдомонадные токсины обеспечивают продукцию в легких поражающих факторов, хотя и посредством различных механизмов.

5.7.4. Каспас-1-зависимая гибель макрофагов

Порообразование отдельными псевдомонадными токсинами индуцируется дополнительными эффектами на эукариотические клетки, такими как активация инфламмасом, незамедлительно приводящая к клеточной гибели [149].

ЭкзЛА-секретирующие бактерии индуцируют активацию инфламмосом преимущественно макрофагов посредством двухэтапного механизма. Первоначально так называемым первичным сигналом опосредуется распознавание ЛПС и флагеллина TLR4 и TLR5 соответственно, что приводит к транскрипции генов, кодирующих провоспалительные цитокины, такие как про-интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β). Вторым сигналом инициируется собственно ЭкзЛА порообразование, что приводит к массивному выходу ионов из клетки, среди которых ионы калия (K⁺). Снижением концентрации K⁺ при NLRP3-инфламмосомной активации происходит посредством активации каспаса-1. Активный каспас-1 индуцирует созревание и преобразование про-ИЛ-1 β в ИЛ-1 β . Помимо этого достаточно большие количества провоспалительного ИЛ-1 β выделяется в окружающую среду. Следовательно, подобно T3SS-положительным штаммам, ЭкзЛА-секретирующие штаммы обладают способностью обеспечивать активацию инфламмосом и приводить к провоспалительной гибели клеток *in vitro* [149].

5.7.5. Воздействие экзолизина на клетки хозяина посредством соединения с ними

Экзолизином А индуцируется разрушение E- и VE-кадгеринов, двух адгезивных белков, необходимых для клеточной интеграции. Порообразование под влиянием экзолизина А в плазматической мембране регистрируется раньше, чем нарушения в плазматической мембране. В результате порообразования массивное быстрое выделение ионов кальция происходит в цитоплазму в процессе созревания и активации ADAM10, эукариотической протеазы, индуцирующей потерю кадгерина. В нормальном состоянии предшественник ADAM10 представляет собой основной инактиватор внутри комплекса с калмодулином, белком, имеющим высокую аффинность для кальция. Когда происходит увеличение концентрации внутриклеточного кальция, калмодулин связывается с кальцием и диссоциирует от ADAM10, который в дальнейшем протеолитически активируется фибрином, пропротеиновой конвертазой. ADAM10 затем располагается на мембране, где проявляет свою протеолитическую активность против E- и VE-кадгеринов [150–153].

Таким образом, бактериальные штаммы, секретирующие экзотоксины, повреждают эндогенные клеточные механизмы и участвуют в тканевой интеграции. Подобная активация преформ токсинов в активные формы посредством активации ADAM10 была впервые описана для Hla из *S. aureus*, PLY из *Streptococcus pneumoniae* и Sh1A из *S. marcescens*. В то время как ADAM10 является клеточным рецептором для Hla, два других токсина (PLY и Sh1A) активируют ADAM10 через порообразование и кальциевый заброс без использования ADAM10 в качестве рецептора, подобно экзотоксину А [154–155].

Нарушение целостности плазматических мембран посредством экзотоксина А дает объяснение поражающим эффектам этого субстрата, наблюдаемым в отношении альвеол мышей в течение инфекции. В результате подобного действия бактерии проникают через слизистую легких и колонизируют другие органы.

5.7.6. Структурные особенности экзотоксина

К настоящему времени отсутствуют сведения о молекулярной основе порообразующей активности токсинов Sh1A/Ex1A. В случае Sh1A отмечается, что гемолитическая активность была виртуально утрачена в результате изменения С-концевого участка [156]. С-концевая локализация активности в основном сопряжена с TPS субстратами и в последствие Экз1А-опосредованный гемолиз и цитотоксичность изменяются, когда имеет место потеря 295 остатков белка. PFTs относятся к 6 классам кластеров в двух группах, α -спиральному и β -спиральному, основанным на вторичной структуре пептида, участвующего в порообразовании. Данные по структурной гомологии с другими токсинами отсутствуют [157].

5.8. Токсины и конвенциональные аспекты

Пятьдесят лет назад токсины представляли собой более эффективные субстанции в плане использования в качестве потенциальных поражающих агентов, чем классические поражающие агенты химической природы. Однако исследования военных специалистов показали, что при тестировании этих агентов с различными типами обмундирования в различных условиях обитания установлено,

что они не настолько превосходили традиционные химические агенты. Более поздние разработки токсинов не встречаются в доступной литературе, поскольку они были в определенной степени заблокированы, в частности, разработкой химических поражающих агентов с нервно-паралитическим эффектом. Исторические аспекты военных исследований по разработке и использованию токсинов были также прекращены на основании международных ограничительных документов: Женевского протокола 1925 г., Конвенцией о нераспространении биологического и токсинного оружия 1972 г. и Конвенцией о запрещении химического оружия 1993 г. Эти конвенции в ограничительном плане оказались более важными, поскольку резко уменьшили вероятность использования химического, биологического и токсинного оружия. Они также сформировали условия для разработок в области защиты против этих видов оружия. Например, основной недостаток Конвенции 1972 г. заключался в постоянном отсутствии механизмов контроля за разработками в области химического и биологического оружия. Только во второй редакции этого документа 1986 г. показано, что заслуживают беспокойства токсины (белковой и небелковой природы) микробного, животного и растительного происхождения, а также их синтетические аналоги. Применительно к Конвенции о запрещении химического оружия термин «химическое оружие» ассоциируется с оружием, содержащим какие-либо токсические химические соединения, которые могут вызвать летальный исход, временную нетрудоспособность, или постоянный вред человеку и животным, обусловленным их химическим действием на процессы жизнедеятельности. Они включают токсические химикаты вне зависимости от природы и метод продукции, то есть токсины подходят как нельзя лучше.

5.8.1. Токсины и терроризм

Научный и технологический прогресс и информация о технологиях синтеза токсинов свидетельствует о том, что они могут нарабатываться в больших количествах не для военных целей, что может само по себе оказывать психологическое воздействие. В связи с этим на первый план выходит проблема химического (биологического) терроризма, который является частью широко известных концепций,

именуемых супертерроризмом или ультратерроризмом. Поэтому токсины в этих концепциях занимают достаточно значимое место, поскольку могут использоваться отдельными лицами, негосударственными объединениями (группами) или поддерживаемыми государством субъектами против различных социальных групп, вызывая страх или террор. Применительно к последнему имеются многочисленные запланированные или незапланированные террористические атаки подобного рода. Например, в 1980 г. Западногерманская террористическая группа Red Army Faction была причастна к террористическому использованию ботулинического токсина, который был получен в лабораторных условиях в Париже [158]. Этот опасный токсин был также использован Японской группой Aum Shinrikyo, известной, в частности, своей зариновой атакой в Токийском метро [159]. Американская националистическая антиправительственная организация Minnesota Patriots Council планировала использовать рицин в растворе диметилсульфоксида или в форме аэрозоля в 1991 г. [160]. В настоящее время рицин представляет собой наиболее привлекательный субстрат для террористических атак. Использование токсинов для террористических целей менее вероятно, чем классических химических поражающих агентов, но эта вероятность выше, чем военное использование токсинов. Возникают определенные вопросы относительно их реальных эффектов. Рицин, как и другие известные токсины, относительно легко может быть получен квалифицированными специалистами для использования относительно немногочисленной группы лиц, но их использование в террористической атаке с целью индукции массовой интоксикации посредством ингалирования затруднительно. Это снижает вероятность ингаляционной атаки. Террористы фокусируются на воде и пище, а также на уничтожении отдельных персон или мелких групп [161].

5.8.2. Токсины как перспективный компонент нелетального действия

Имеется многочисленная информация относительно нелетального химического оружия. Например, в соответствии с представлениями специалистов НАТО, к такому виду оружия относится «Оружие, которое специально предназначено и разработано для выведения из

строя или отражения живой силы противника, обладающее низкой вероятностью развития летального исхода или выраженных повреждений, или обладающее минимальными поражающими эффектами. Нелетальные виды оружия в настоящее время дополняют конвенциональные системы вооружения. Одна из многочисленных нелетальных технологий, используемых при разработке нелетального оружия, является технология, основанная на токсических принципах. В этом случае наиболее приемлем термин “нелетальное химическое оружие”, но подобное оружие можно также назвать термином “нелетальное биологическое оружие” или “нелетальное токсинное оружие”» [162].

5.8.3. Токсины как *инкапаситирующие агенты*

Активные компоненты нелетального химического оружия представляют собой традиционно агенты, выводящие из строя, с очень различающимися биологическими эффектами на человека или животных. Они могут физически вывести из строя (различные раздражающие агенты, треморгены, эметики, наркотические анальгетики, анестетики или нейролептики), но также и психологически вывести из строя (симпатомиметики или антихолинэргические средства). Многие из этих временно выводящих из строя агентов изучены как потенциальные химические поражающие агенты (компоненты химического оружия), а также некоторые из них фигурируют как стандартное вооружение (например, раздражающие агенты психоактивный агент VZ – все они представляют собой синтетические компоненты, не относящиеся к токсинам). В ассоциации с этими агентами токсины можно рассматривать как нелетальное химическое оружие, но многие из них относятся к природным токсинам или имеют химическую структуру, которая позволяет их рассматривать как аналоги встречающихся в природе субстанций. Природный алкалоид капсаицин или его синтетические аналоги, например, ваниллиламид пеларгоновой кислоты или морфолид пеларгоновой кислоты могут служить примерами такой взаимосвязи. Галлюциноген LSD-25, интенсивно изучавшийся в военных лабораториях пятьдесят лет назад, является синтетическим аналогом (диэтиламид) лизергиновой кислоты, которая относится к алкалоидам спорыньи. Структура и токсичность (антихолинэргический) эффект синтетического пси-

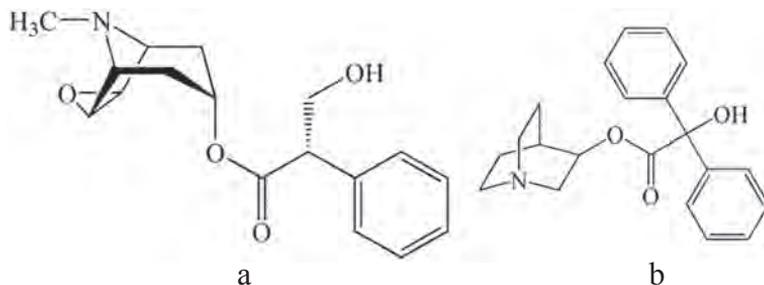


Рис. 5.5. Химическая структура скополамина (а) и его синтетического аналога (нетоксина), агента BZ (б)

хоактивного агента BZ близки к тропановым алкалоидам, например, скополамину (рис. 5.5).

Белковые токсины, в частности стафилококковый энтеротоксин В (СЭВ), являющийся активатором иммунного ответа, в последнее время изучался как агент, временно выводящий из строя (компонент нелетального биологического оружия). Этот токсин индуцировал сильную рвоту, а также его можно сравнить с активными эметиками в эффективных дозах (ED_{50}) от 0,1 до 1 мкг/кг (в зависимости от способа применения). В большинстве экспериментов стафилококковый энтеротоксин используется как стандарт для сравнения синтетических эметиков, разработанных как возможные кандидаты для агентов, временно выводящих из строя.

Военный потенциал токсинов не обязательно связан с их летальными эффектами. Многие токсины обладают уникальными эффектами, которые могут повреждать когнитивные функции или интеллектуальные способности человека. Домоевая кислота представляет собой относительно простой компонент по структуре, относящийся к глютаминовой кислоте, встречающийся в моллюсках, может действовать как ее аналог. Она обладает умеренной токсичностью (LD_{50} у мышей при внутривенном введении выше, чем 10,00 мкг/кг), но она обладает способностью связываться с NMDA-глутаматными рецепторами нейронов, создавая тем самым многочисленные неврологические нарушения и вызывая постоянные нарушения кратковременной памяти. Это не является необходимым требованием для нелетального химического (биологического) оружия, но возможное военное использование домоевой кислоты и других токсинов для создания подобных эффектов не исключается [163].

5.8.4. Токсины как полицейские агенты

Конвенцией по запрещению химического оружия не учитывается «нелетальное химическое оружие» или «агенты, временно выводящие из строя» в противоположность другим документам [162]. Однако в нее введена категория «агенты, контролирурующие беспорядки», под которыми объединены какие-либо химические агенты, которые способны быстро вызывать раздражение сенсорных органов человека или вызывать ненормальные физические эффекты, которые обладают кратковременным действием после окончания экспозиции с ними. Временно выводящие из строя агенты, в противоположность агентам, контролирующим беспорядки, могут также вызывать разрушающие физические эффекты, которые длятся длительный период времени после воздействия этими агентами на организм. Эти эффекты более серьезные.

Конвенцией по запрещению химического оружия предписывается использование «агентов, контролирующих беспорядки» как «метод устрашения», без определения этого термина. Это может быть расценено как предупреждение военного использования этих агентов, что, например, было продемонстрировано во время войны во Вьетнаме. Несмотря на это сохраняется риск использования таких агентов в военных целях. Незадолго до начала Первой мировой войны использование этих агентов могло быть прецедентом, который мог привести к последующему использованию летальных агентов для эскалации химической войны.

На практике имеются в дополнение к малодорантам другие раздражающие агенты. Однако исследования показывают, что имеется риск от применения агентов, относящихся к данной категории, который может включать не только раздражающие эффекты, но также эффекты, связанные с нарушением умственной и физической работоспособности. Например, в течение московской антитеррористической операции 2002 г. были использованы синтетические опиоиды (нетоксины) – дериваты фентанила (карфентанил, ремифентанил), которые характеризовались более выраженными успокаивающими эффектами, чем природный опиат морфин [164]. Эти агенты могут иметь отношение не только к синтетическим соединениям, но и токсинам. В полицейской практике для персональной защиты алкалоид капсаицин и его синтетические производные используются. Возможно, новые

токсины или их аналоги будут синтезированы и окажутся более эффективными в плане кратковременного вывода из строя (раздражение, психоактивность, успокоительность), которые пока не известны. Например, ресинифератоксин структурно более сложное соединение, чем капсаицин (рис. 5.6), выделен из штаммов *Euphorbia resinifera* или *E. poissonii* (синтез осуществлен в 1997 г.) [165], эффективно раздражает кожу человека в чрезвычайно низких дозах (ЕД50) от $2,4 \times 10^{-7}$ до $2,4 \times 10^{-9}$ мг/см². Это может иметь важное значение применительно к их военному применению. Защита от аэрозолей токсинов и их аналогов важна в плане их военного использования обычно не представляет серьезной проблемы. Защита поверхности тела полностью предотвращает эффекты токсических аэрозолей и в настоящее время сопровождается использованием защитных масок, которые способствуют понижению концентрации исходного аэрозоля в сотни тысяч раз в сравнении с таковой в окружающей среде. В отдельных ситуациях может быть важным использование современных суперэффективных раздражающих токсинов (возможно ресинифератона). С появлением новых методов, особенно для полевых условий, представляется возможным повысить концентрации сухих аэрозолей до уровня 1^{-10} мг/м³ для удлинения периода воздействия. В этом случае суперэффективные токсины могут вызвать слезотечение, кашель, респираторные проблемы, а также другие нежелательные эффекты, которые резко возрастают при удалении индивидуальных средств защиты.

Разработка агентов нелетального действия, включая «агентов, контролирующих беспорядки» во многом сходна с разработкой препаратов медицинского назначения с высоким терапевтическим эффектом. Это является определенной проблемой, которая, в частности, была отмечена при проведении антитеррористической операции в Москве в 2002 г., где использовались агенты из разряда временно выводящих из строя широкие группы людей, имеющих различную степень чувствительности (возраст, пол, состояние здоровья) без нарушения их здоровья, что представляется достаточно сложным, если вообще возможным. Основываясь на этих сведениях, многие специалисты заключили, что имеет место низкая вероятность рассматривать данные субстанции как полностью безопасными для человека [166]. В связи с этим очевидно, что термин «нелетальный» может в полной мере подходить к агентам, временно выводящим из строя [167].

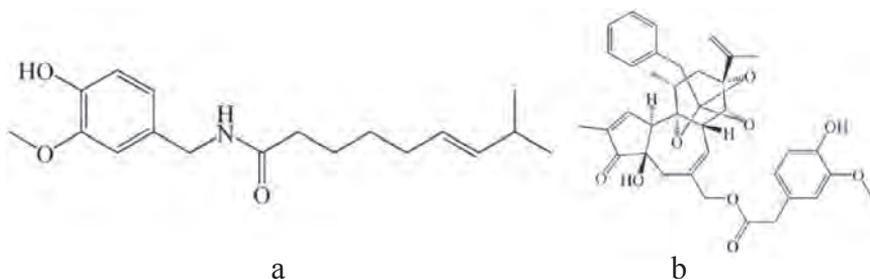


Рис. 5.6. Химическая структура капсаицина (а) и резинифератоксина (b)

5.8.5. Биорегуляторы

Вместе с токсинами активно изучаются биорегуляторы, которые представляют собой естественно встречающиеся субстанции, обычно пептиды, участвующие в физиологических и неврологических процессах в организме. Они необходимы в регуляции кровяного давления, активности миокарда, мышечных сокращений, температуры тела, сна, эмоционального настроения, иммунных реакций и т.д. Они проявляют свою активность в чрезвычайно низких дозах, а их эффекты развиваются достаточно быстро. Биорегуляторы по формальным признакам не относятся к группе токсинов, но они обладают определенным потенциалом в плане использования в военных целях. Известные биорегуляторы могут иметь близкую структуру и обладать механизмами токсического действия как токсины (например, биорегулятор эндотелин, который увеличивает кровяное давление, близок по эффектам кардиоактивным сафратоксинам, выделенным из ядовитой железы змей рода *Atractapis*). Биорегуляторы как потенциальное вновь разработанное химическое или биологическое оружие (в частности, нелетальное химическое оружие или «агенты, контролирующие беспорядки») характеризуются низкой резистентностью к ферментам при попадании в организм человека, например, в коже. Этот факт можно иметь в виду при разработке средств защиты против биорегуляторов и в плане модернизации их токсических эффектов. Оружие, основанное на биорегуляторах, представляется как гормональное оружие и вместе с токсинами может именоваться как биохимическое оружие [168].

5.9. Основные риски дальнейших разработок токсинного оружия

5.9.1. Исследования в области токсинов

Исследование природных источников позволило открыть новые эффективные токсины. В этом аспекте особый интерес имеют знания в области морской фармакологии и морской токсикологии. Тысячи субстанций выявляются в морях ежегодно, что позволило открыть новые аспекты живых процессов в морском окружении и применить эти открытия в медицине и других приоритетных областях деятельности человека [169]. Некоторые из этих субстанций морской природы могут также быть интересными с точки зрения их биотеррористического применения. Множество открытых токсинов растительного и животного происхождения, которые имеют близкую структуру к морским токсинам, в настоящее время описаны. Зетекитоксин АВ, структурный аналог сакситоксина, может являться одним из таких примеров, который был выделен из панамской улитки *Atelopus zeteki* [170].

Исследование токсинов обычно являются частью разработок новых медицинских продуктов в биохимических и фармацевтических лабораториях. Новые медицинские продукты традиционно представляют собой открытие биологически активных субстанций (включающих токсины или биорегуляторы), продуцируемые живыми организмами. Однажды открытая субстанция может модифицироваться химически различными способами с однозначной потенцией в плане повышения ее биологической активности. Новые фармацевтические субстанции в настоящее время получают методами комбинированной химии, которые позволяют комбинировать различные структурные блоки между собой и тем самым накопить большое количество относительно низкомолекулярных компонентов и белков [170, 171]. Среди этого многообразия субстанций могут встречаться синтетические аналоги токсинов с повышенной вероятностью использования в биотеррористических целях. Однако полученные токсикологические данные обычно основываются на *in vitro* скрининге (в противоположность *in vivo* скринингу, используемому при разработке химического и биологического оружия).

Одним из интересных направлений разработки белковой инженерии является создание гибридных или модифицированных белковых токсинов, получаемых путем комбинации связывающих и каталитических доменов двух различных токсинов. Результатом этого является токсин с запрограммированными характеристиками, предполагаемый к использованию в различных областях. В сельском хозяйстве гибридные инсектициды являются ядами; например, основанные на дельта-эндотоксине, продуцируемом бактериями *Bacillus thuringiensis* [172]. В онкологической практике иммунотоксины могут быть приоритетными, содержащими два домена, один из которых представляет собой природный антиген, а второй токсическую ферментативную субъединицу. Как ферментативный компонент, ферментация доменов токсинов, блокирующих синтез белка, была отмечена, например, для рицина [173]. В плане биотеррористического использования гибридный токсин может быть интересен только тот, который получен комбинацией ботулинического токсина и стафилококкового энтеротоксина, который не только чрезвычайно токсичен, но также очень стабилен для окружающих [174].

Среди основных групп природных субстанций (включая токсины, интересные в плане биотеррористического применения) равно как и синтетических компонентов (включая химические поражающие агенты), основной природой в биологической активности сопряжен с увеличением молекулярной массы. Модификация химической структуры может также повысить токсичность. Однако подобные модификации ограничены. В настоящее время в биологическом отношении наиболее активной субстанцией является ботулинический токсин, молекулярная масса которого (150 кДа) приближается к верхней границе возможной молекулярной массы белков. Основываясь на теоретическом анализе, можно высказать предположение, что молекулярная масса токсинов с LD_{50} ниже, чем у ботулинического токсина, должна находиться около 150 кДа (только несколько белков с такой молекулярной массой известно). Если токсины должны быть более токсичными, чем ботулинический токсин как минимум в два раза, они должны иметь молекулярную массу около 150 кДа, но такие белки к настоящему времени еще не описаны. Следовательно, токсичность ботулинического токсина является минимальной и для большинства природных токсинов. Модификация какого-либо токсина будет возможна только вследствие изменения спектра его эффектов. С другой

стороны, токсичность является важным критерием токсина в плане его использования в биотеррористических целях [175].

5.9.2. Производство токсинов

Основной метод получения токсинов – непосредственно из природного источника. Некоторые процедуры, такие как экстракция из природных материалов, ферментация и др., известны и используются в течение столетий (например, производство ядов для стрел); другие, например, биотехнологические процедуры, являются относительно новыми и представляют собой модернизированные методы выделения и очистки соответствующих ядов. Токсины могут быть также получены из естественных источников в количествах, необходимых для биотеррористического применения, например, в случае использования рицина, ботулинического токсина, стафилококкового энтеротоксина В и капсаицина. Промышленное производство отдельных токсинов таким путем может быть, однако, экономически, экологически или по другим причинам не эффективно, если вообще невозможно.

Многие низкомолекулярные токсины становятся пригодными для использования в биотеррористических целях только после изменения их химической структуры или разработки методологии их химического синтеза. Это достижение снижает зависимость от природных источников (во всяком случае теоретически) и позволяет осуществить продукцию токсинов в промышленных масштабах. Например, обоснована возможность наработки сакситоксина или группы химически близкородственных компонентов под названием сакситоксины (57 аналогов уже известно к 2010 г.) [176]. Сакситоксин представляет собой оригинальный компонент, экстрагированный из ткани морских животных, но выход его при получении из природного источника очень низкий (всего несколько грамм из тонны сырья). Эта технология позволяет использовать сакситоксин только в незначительных количествах. Лишь открытие морских микроорганизмов как первоисточников сакситоксина даст возможность с использованием биотехнологических методов нарабатывать его в больших количествах. Кроме того, основываясь на химической структуре сакситоксина, процесс химического синтеза был внедрен в производственный процесс наработки сакситоксина; первый большой синтез был осуществлен в 1977 г. [177]. Основываясь на этом достижении возможность

биотеррористического использования сакситоксина в форме токсического аэрозоля стала более реальной. Кроме того, в лабораторных условиях и в последующем в производственном аспекте производные сакситоксина могут также быть синтезированы, которые не встречаются в природе и могут обладать важными характеристиками, интересными в плане их биотеррористического использования.

Однако химический синтез не всегда достижим. Например, T-2 токсин был впервые выделен в конце 1960-х годов и основывался на знаниях о его химической структуре, метод его синтеза был разработан, однако выход продукта был недостаточен. Его наработка микробиологическими методами основана на культивировании токсигенных штаммов грибов, что более предпочтительно.

Значительный прогресс в разработке технологии очистки химических и фармацевтических субстанций достигнут в результате использования в соответствующих исследованиях методов химической микротехнологии [178]. Использование микропроцессоров и реакторов небольшой мощности преобладает в научно-практических лабораториях, занимающихся наработкой биотоксинов, но подобная технология связана с определенным риском в плане возможного нарушения действующих Конвенций 1972 и 1993 гг. Подобные технологии также подходят для производства высокомолекулярных токсинов и их синтетических аналогов, которые могут быть наработаны в больших количествах.

В конце 1970-х годов получили быстрое развитие генные технологии, которые в настоящее время пригодны к производству основных природных субстанций с большей легкостью, чем ранее. Сам факт, что методы генной и метаболической инженерии используются в фармацевтике или пищевой индустрии, подтверждает, что они могут быть использованы с большей эффективностью при производстве токсинов, приводя тем самым к повышению вероятности их использования в качестве химического и биологического оружия. Благодаря генетическим манипуляциям выявлены специфические гены, важные для получения токсинов – компонентов БО, более того определены места их дислокации внутри клеточного генома, воздействие на которые позволит существенно повысить их активность и экспрессировать токсинообразование. Современный биотехнологический прогресс может позволить эти гены вмонтировать в геном клеток других (альтернативных) микроорганизмов, что может способствовать

увеличению токсинообразования, в том числе в массовом масштабе. В дальнейшем биосинтез токсинов наиболее интересен для военных целей, поскольку могут встречаться искусственно полученные (еще не известные) микробиологические структуры, разработанные методами синтетической биологии. [178].

5.9.3. Технологии применения токсинов

Микрокапсулирование представляет достаточно широко распространенный методологический подход, используемый в фармацевтической промышленности для образования микрокапсул их биологически разрушаемых полимерных носителей. Цель микрокапсулирования защитить активную субстанцию от разрушения, возможность контролирования выделения субстанции в организм, а также более простая форма активного образца [179]. Подобный подход уже был использован в плане создания последних образцов классических химических и биологических агентов и может также быть доступен в плане создания образцов токсинного оружия. При создании капсулированных токсинов может быть повышена их стабильность при аэрозольном введении в атмосфере и достигнута при их применении ингаляционно такая же активность, что и при парентеральном использовании (например, чрескожно), что в плане использования многих токсинов является достаточно серьезной проблемой, особенно в случае применения токсинов традиционными методами.

Развитие нанотехнологий позволяет заключить, что они могут быть использованы при разработке химического и биологического оружия, включая токсинное оружие. Данное утверждение основано на том, что наночастицы обладают высокой химической и каталитической активностью, что не характеризует большие частицы аналогичной субстанции, способствуют достижению высоких концентраций субстанции в окружающей среде и позволяют легко пенетрировать в живой организм человека и животных. Наличие нанотехнологических подходов в плане существенного повышения эффективности существующих форм химических и биологических агентов и токсинов (или их синтетических аналогов) имеет важное значение для военных целей. С другой стороны, нанотехнологии могут существенно повысить эффективность доставки биологически активных субстанций

к клеткам-мишеням. Например, фармацевтическая индустрия широко начинает использовать наночастицы в качестве носителей фармацевтических препаратов с ингаляционным применением, которые транспортируются в форме аэрозоля в легкие и оттуда попадают в сосудистое русло. Наночастицы могут также участвовать в контролируемом выделении медицинских препаратов, в их прохождении через мембранный барьер и в специфических эффектах на клетки или органы [180–182].

Применение токсинов в форме тактической смеси представляет собой другую возможность их военного использования. Эта технология в основном используется для повышения физических и химических свойств химических и биологических агентов. Готовые смеси позволяют увеличить стабильность химических и биологических агентов, улучшить баллистические характеристики частиц и осуществить более эффективный перенос агентов в военных условиях. Основной добавляемый компонент (например, диметил сульфоксид) улучшает абсорбцию химических и биологических агентов кожей, что увеличивает их чрескожные эффекты. В военных лабораториях смеси химических и биологических агентов создают с целью получения максимального токсического эффекта и повышения требований для химического анализа, а также создания средств защиты, деконтаминации и терапии. Не менее важной задачей смесей является включение в их состав классических химических и биологических агентов в комбинации с токсинами, например, смесь иприта с афлотоксинами. Повышение эффективности может быть также достигнуто растворением рицина в растворе химических поражающих агентов [183].

Литература

1. *Alouf J.E.* A 116-year story of bacterial protein toxins (1888–2004): From «diphtheric poison» to molecular toxinology. In *The Comprehensive Sourcebook of Bacterial Protein Toxins*, 2nd ed./ J.E.Alouf, M.R. Popoff. – San Diego, CA, USA, 2006. – P. 3–21.
2. *Супотницкий М.В.* Биологическая война: введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов и биологических поражений / М.В. Супотницкий. – М.: Русская панорама; Кафедра, 2013. – 1135 с.

3. *Jones D.E.* Poison Arrows. North. American Indian Hunting and Warfare, 1st ed.; University of Texas Press. – Austin, TX, USA, 2007. – P. 39–42.
4. *Neuwinger H.D.* Afrikanische Arzneipflanzen und Jagdgifte Chemie Pharmakologie Toxikologie; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft. – Stuttgart, Germany, 1998. – P. 911–920.
5. *Lewin L.* Die Pfeilgifte. Eine Allgemeinverständliche Untersuchung Historischer und Ethnologischer Quellen; Gernstenberg Verlag. – Hildesheim, Germany, 1984.
6. *Neufehl E.* Insects as warfare agents in the ancient Near East / E. Neufehl // *Orientalia*. 1980. – № 49. – P. 30–57.
7. *Lockwood J.A.* Six-Legged Soldiers. Using Insects as Weapons of War. – Orford University Press: New York, NY, USA, 2009. – P. 147–148.
8. *Mayor A.* Greek Fire, Poison Arrows, and Scorpion Bombs: Biological and Chemical Weapons in the Ancient World. – Overlock Press: New York, NY, USA, 2003. – P. 181.
9. *Partington J.R.* A History of Greek Fire and Gunpowder. – The Johns Hopkins University Press: Baltimore, MD, USA, 1999. – P. 263–271.
10. *Gabriel R.A.* Gengis. Khan's Greates. General: Subotai the Valiant.- University of Oklahoma Press: Norman, OK, USA, 2006. – P. 41.
11. *Lewin L.* Die Gifte in der Weltgeschichte. – Tosa Verlag: Vienna, Austria, 2007. – P. 466.
12. *Hagesawa G.R.* Proposals for chemical weapon during the American Civil War / G.R. Hagesawa // *Mil. Med.* – 2008. – № 173. – P. 495–506.
13. *Richter D.* Chemical Soldiers, British Gas. Warfare in World War I. – University Press of Kansas: Lawrence, KS, USA, 1992. – P. 18.
14. *Palazzo A.* Seeking Victory in the Western Front: The British Army and Chemical Warfare in World War I. – University of Nebraska Press: Lincoln, NE, USA, 2000. – № 163. – P. 44–45.
15. *Garrett B.* The CW Almanac / B. Garrett // *The ASA Newsletter*. – 1999. – V. 72. – P. 15.
16. *Kirby R.* Ricin Toxin. A Military History / R. Kirby // *Army Chemical Review*, 2004. – P. 38–40.
17. *Маркович И.В.* Биологическое оружие: проблемы распространения терроризма, политика противодействия / И.В. Маркович, А.Е. Симонова. – М.: Издательство ЛКИ, 2011. – 240 с.
18. *Hu W.S.* Design of retro viral vectors and helper cells for gene therapy / W.S. Hu, V.K. Pathak // *Pharmacol. Rev.* – 2000. – V. 52. – №. 4. – P. 493–511.

19. *Cramplon J.M.* Model system to evaluate the use of transgenic haematophagous insects to deliver protective vaccines / J.M. Cramplon, S.L. Stowell // *Parassitologm.* – 2003. – V. 41. – № 1–3. – P. 473–477.
20. *Haynes D.* Britain Came Close to Dropping Poisoned Darts on German Troops. *The Times*. [Electronic resource] 26 June 2009. URL: <http://www.thetimes.co.uk/tto/news/uk/article1943659.ece> (accessed 27 April 2016).
21. *Harris R.* A Random House Trade Paperbacks / R. Harris, J. Paxman. – New York, USA, 2002. – P. 96.
22. *Letourneau R.L.* Light High Explosive Bomb for Dispersing Toxic and Insecticidal Aerosols. – U.S. Patent 3,207. № 071, 21 September 1965.
23. *Roach P.G.* Gas Ejection Bomb for Dispersing Solid Particulates. – U.S. Patent 3, 188. № 954, 15 June 1965.
24. *Leitenberg M.* The Soviet Biological Weapons Program: A History; Harvard University Press / M. Leitenberg, R.A. Zilinskas. – Cambridge, MA, USA, 2012. – P. 298–302.
25. *Satpathy G.C.* Biological Weapons and Terrorism; Kalpaz Publications. – Delhi, India, 2004. – V. 2. – P. 72.
26. *Franke S.* Lehrbuch. der Militärchemie. Band 1. – Militärverlag der DDR: Berlin, Germany, 1977. – P. 19.
27. *Harris S.H.* Factories of Death: Japanese Biological Warfare, 1832–45 and the American Cover-Up, 1st ed.; Routledge. – London, UK, 1994.
28. *Regis E.* The Biology of Doom: The History of America's Secret Germ Warfare Project; Henry Holt and Company. – New York, NY, USA, 1999. – P. 87.
29. *Магазов Р.Ш.* Эпидемиология и профилактика управляемых инфекций / Р.Ш. Магазов, А.П. Савельев, С.В. Чепур и др. – Уфа: Башк. энцикл., 2017. – 688 с.
30. *Lauder J.A.* (Special Assistant to the Director of Central Intelligence for Nonproliferation). Unclassified statement for the record on the worldwide WMD threat to the Commission to Assess the Organization of the Federal Government to Combat the Proliferation of Weapon Mass Destruction. 29 Apr. 1999.
31. Center for Disease Control and Prevention. Update: investigation of anthrax associated with intention exposure and interim public health guidelines. October 2001 // *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* – 2001. – V. 50. – № 42. – P. 889–897.
32. *Онищенко Г.Г.* Актуальные задачи обеспечения биологической безопасности в Российской Федерации / Г.Г. Онищенко, И.Г. Дроздов, Ю.М. Федоров и др. // Санитарная охрана территорий государств-участников СНГ: проблемы биологической безопасности и противодействия биотерроризму в современных условиях: мат-лы Межгосударственной научно-прак. конф. /

под ред. Г.Г. Онищенко, В.В. Кутырева, В.В. Алексеева. – Волгоград: Панорама, 2005. – С. 7–8.

33. *Пименов Е.В.* Система биологической безопасности – инструмент эффективного решения проблем биотерроризма / Е.В. Пименов, И.В. Дармов, Е.В. Чеботарев // Санитарная охрана территорий государств-участников СНГ: проблемы биологической безопасности и противодействия биотерроризму в современных условиях: мат-лы Межгосударственной научно-прак. конф. / под ред. Г.Г. Онищенко, В.В. Кутырева, В.В. Алексеева. – Волгоград: Панорама, 2005. – С. 76–77.

34. *Фридинский С.Н.* Экстремизм как угроза национальной безопасности / С.Н. Фридинский // Современные проблемы законодательного обеспечения глобальной и национальной безопасности, эффективного противодействия терроризму: сб. науч. ст. – М.: Совет Федерации Федерального Собрания, 2003. – С. 22–32.

35. *Пешхоев С.С.* Терроризм – угроза всему человечеству / С.С. Пешхоев // Современные проблемы законодательного обеспечения глобальной и национальной безопасности, эффективного противодействия терроризму: сб. науч. ст. – М.: Совет Федерации Федерального Собрания, 2003 – С. 132–139.

36. *Иванова Е.Б.* Биологический терроризм и защита населения России / Е.Б. Иванова // Современные проблемы законодательного обеспечения глобальной и национальной безопасности, эффективного противодействия терроризму: сб. науч. ст. – М.: Совет Федерации Федерального Собрания, 2003 – С. 349–362.

37. *Малышев В.П.* Актуальные проблемы защиты населения от последствий террористических актов биологического характера / В.П. Малышев // Инф. сборник № 27. Центр стратегических исследований ГЗ МЧС. – М.: Изд-во ООО «Мульти Медиа», 2005. – С. 5–6.

38. *Petro J.B.* Biotechnology: impact on biological warfare and diodefense / J.B. Petro, T.R. Plase, J.A. Mc Nulty // Biosecurity and Bioterrorism: Biodefense Strategy, Practice and Science. – 2003. – V. 1. – № 3. – P. 7–12.

39. *Супотницкий М.В.* Микроорганизмы, токсины и эпидемии / М.В. Супотницкий. – М.: 2005. – 376 с.

40. *Siegrist D.W.* The Threat of Biological Attack: Why Concern Now? / D.W. Siegrist // Emerging Infectious Diseases. – 1999. – V. 5. – № 4. – P. 567–570.

41. *Franz D.R.* Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents / D.R. Franz, P.B. Jahring, A.M. Friedlander et al. // JAMA. – 1997. – V. 278. – № 5. – P. 399–411.

42. Противодействие биологическому терроризму // Практическое руководство по противоэпидемическому обеспечению / под ред. Г.Г. Онищенко. – М.: Петит-А, 2003. – 301 с.
43. Ковалев С.В. Ликвидация последствий применения противником биологического оружия / С.В. Ковалев. – М.: Изд-во ВУ РХБЗ, 2003. – 160 с.
44. Онищенко Г.Г. Актуальные аспекты проблемы противодействия биологической опасности / Г.Г. Онищенко, И.Г. Дроздов // Вестн. РАМН. – 2004. – № 5. – С. 14–20.
45. Антонов Н.С. Chemical Weapons at the Turn of the Century. – М.: Прогресс, 1994. – 175 с.
46. Franz D.R. Defense against Toxin Weapons. In Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare; Sidell, F.R., Ed.; Office of The Surgeon General Department of the Army. – Washington, DC, USA, 1997.
47. Franz D.R. Biological terrorism: Understanding the threat, preparation, and medical response / D.R. Franz, R. Zajchuk // Dis. Mon. – 2002. – № 48. – P. 493–564.
48. Zhang X. Military potential of biological toxins / X. Zhang, K. Kuča, V. Dohnal et al. // J. Appl. Biomed. – 2014. – № 12. – P. 63–77.
49. Wang Q. A novel and functional assay for pharmacological effects of marine toxins, saxitoxin and tetrodotoxin by cardiomyocyte-based impedance biosensor / Q. Wang, K. Su, L. Hu et al. // Sens. Actuators B: Chem. – 2015. – № 209. – P. 828–837.
50. Jansson D. Analysis of paralytic shellfish toxins, potential chemical threat agents, in food using hydrophilic interaction liquid chromatography-mass spectrometry / D. Jansson // J. Chromatogr. A. – 2015. – № 1417. – P. 41–48.
51. Schmitt C.K. Bacterial toxins: Friends or foes? / C.K. Schmitt, K.C. Meysick, A.D. O'Brien // Emerg. Infect. Dis. – 1999. – № 5. – P. 224–234.
52. Marin S. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment / S. Marin, A.J. Ramos, G. Cano-Sancho // Food Chem. Toxicol. – 2013. – № 60. – P. 218–237.
53. Bigalke H. Medical aspects of toxin weapons / H. Bigalke // Toxicology. – 2005. – V. 214. – P. 210–220.
54. Tucker J.B. The “yellow rain” controversy: Lessons for arms control compliance / J.B. Tucker // Nonproliferation Rev. – 2001. – № 8. – P. 25–42.
55. Olson B.H. Alpha-Sarcin, a new antitumor agent. I. Isolation, purification, chemical, composition, and the identity of a new amino acid / B.H. Olson, G.L. Goerner // Appl. Microbiol. – 1965. – № 13. – P. 314–321.
56. Endo Y. Mechanism of Action of Alpha-Sarcin and Eukaryotic Ribosome Structure / Y. Endo // Fed. Proc. – 1985. – V. 41. – P. 1456.

57. *Martinez-Ruiz A.* Ribotoxins are a more widespread group of proteins within the filamentous fungi than previously believed / A. Martinez-Ruiz, R. Kao, J. Davies et al. // *Toxicon*. – 1999. – V. 37. – P. 1549–1563.

58. *Lacadena J.* Role of histidine-50, glutamic acid-96, and histidine-137 in the ribonucleolytic mechanism of the ribotoxin alpha-sarcin / J. Lacadena, A. Martinez-Ruiz, J.M. Perez-Cariadillas et al. // *Proteins*. – 1999. – V. 37. – P. 474–484.

59. *Masip M.* Arginine 121 is a crucial residue for the specific cytotoxic activity of the ribotoxin Alpha-Sarcin / M. Masip, J. Lacadena, J.M. Mancherio et al. // *Eur. J. Biochem.* – 2001. – V. 268. – № 6. – P. 6190–6196.

60. *Wersinga W.J.* Melioidosis: insights into the pathogenicity of *Burkholderia pseudomallei* / W.J. Wersinga, T. van der Poll, N.J. White et al. // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2006. – № 4. – P. 272–282.

61. *Cruz-Migoni A.* A *Burkholderia pseudomallei* toxin inhibits helicase activity of translation factor eIF4A / A. Cruz-Migoni, G.M. Hautbergue, P.J. Artymiuk et al. // *Science*. – 2011. – V. 334. – P. 821–824.

62. *Holden M.T.G.* Genomic plasticity of the causative agent of melioidosis, *Burkholderia pseudomallei* / M.T.G. Holden, R.W. Titball, S.J. Peacock et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2004. – V. 101. – P. 14240–14245.

63. *Hautbergue G.M.* BLF1, the *Burkholderia pseudomallei* toxin, connects inhibition of host protein synthesis with melioidosis / G.M. Hautbergue // *Biochemical Society Transactions*. – 2012. – V. 40. – P. 842–845.

64. *Hautbergue G.M.* Characterisation of *Burkholderia pseudomallei* Lethal Facnjt 1 (BLF1). A breakthrough against melioidosis / G.M. Hautbergue // *Med. Sci. (Paris)*. – 2012. – V. 28. – P. 262–264.

65. *Endo Y.* The RNA N-glycosidase activity of ricin A-chain. The characteristics of the enzymatic activity of ricin A-chain with ribosomes and with rRNA / Y. Endo, K. Tsurugi // *J. Biol. Chem.* – 1988. – V. 263. – P. 8735–8739.

66. *Parsyan A.* mRNA helicases: the tacticians of translational control / A. Parsyan, Y. Svitkin, D. Shahbazian et al. // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2011. – № 12. – P. 235–245.

67. *Linder P.* From unwinding to clamping—the DEAD box RNA helicase family / P. Linder, E. Jankowsky // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2011. – № 12. – P. 505–516.

68. *Andreou A.Z.* The DEAD-box helicase eIF4A: paradigm or the odd one out? / A.Z. Andreou, D. Klostermeier // *RNA Biol.* – 2013. – № 10. – P. 19–32.

69. *Marintchev A.* Roles of helicases in translation initiation: a mechanistic view / A. Marintchev // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2013. – V. 182. – P. 799–809.

70. *Rotz L.D.* Public health assessment of potential biological terrorism agents / L.D. Rotz, A.S. Khan, S.R. Lillibridge et al. // *Emerg. Infect. Dis.* – 2002. – № 8. – P. 225–230.
71. *Stone R.* Infectious disease. Racing to defuse a bacterial time bomb / R. Stone // *Science.* – 2007. – V. 317. – P. 1022–1024.
72. *Aldhous P.* Tropical medicine: melioidosis? / P. Aldhous // *Never heard of it. Nature.* – 2005. – V. 434. – P. 692–693.
73. *Sprague L.D.* Melioidosis in animals: a review on epizootiology, diagnosis and clinical presentation / L.D. Sprague // *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health.* – 2004. – V. 51. – P. 305–320.
74. *Lee Y.H.* Identification of tomato plant as a novel host model for *Burkholderia pseudomallei* / Y.H. Lee, Y. Chen, X. Ouyang et al. // *BMC Microbiol.* – 2010. – V. 10. – P. 28–38.
75. *Patel N.* Development of vaccines against *Burkholderia pseudomallei* / N. Patel, L. Conejero, M. De Reynal // *Front Microbiol.* – 2011. – № 2. – P. 198.
76. *Neubauer H.* Human glanders / H. Neubauer, H. Meyer, E.J. Finke // *Rev. Int. Serv. Sante Forces Armees.* – 1997. – V. 70. – P. 258–265.
77. *Nierman W.C.* Structural flexibility in the *Burkholderia mallei* genome / W.C. Nierman, D. De Shazer, H.S. Kim et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – V. 101. – P. 1426–1451.
78. *Sharrer G.T.* The great glanders epizootic, 1861–1866: a Civil War legacy / G.T. Sharrer // *Agric Hist.* – 1995. – V. 69. – P. 79–97.
79. *Christopher G.W.* Jr. Biological warfare. A historical perspective / G.W. Christopher, T.J. Cieslak, J.A. Pavlin et al. // *JAMA.* – 1997. – V. 278. – P. 412–417.
80. *Wheelis M.* First shots fired in biological warfare / M. Wheelis // *Nature.* – 1998. – V. 395. – P. 213.
81. *Fong I.W.* Bioterrorism and infectious agents: a new dilemma for the century. – New York: Springer, 2005. – P. 99–145.
82. *Barness J.L.* Development of protective immunity in a murine model of melioidosis is influenced by the source of *Burkholderia pseudomallei* antigens / J.L. Barness, N. Ketheesan // *Immunol. Cell Biol.* – 2007. – V. 85. – P. 551–557.
83. *Barness J.L.* Susceptibility to *Burkholderia pseudomallei* is associated with host immune responses involving tumor necrosis factor receptor-1 (TNFR1) and TNF receptor-2 (TNFR2) FEMS / J.L. Barness, N.L. Williams, N. Ketheesan // *Immunol. Med. Microbiol.* – 2008. – V. 52. – P. 379–338.
84. *Breitbach K.* Induction of protective immunity against *Burkholderia pseudomallei* using attenuated mutants with defects in the intracellular life cycle /

K. Breitbach, J. Kohler, I. Steinmetz // Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. – 2008. – V. 102 (Suppl. 1) – P. 589–594.

85. Peacoc S.J. Melioidosis vaccines: a systematic review and appraisal of the potential to exploit biodefense vaccines for public health purposes / S.J. Peacoc, D. Limmathurotsaki, Y. Lubell et al. // PLoS Negl. Trop. Dis. – 2012. – № 6. – P. 1488.

86. Jamet A. New players in the toxin field: polymorphic toxin systems in bacteria / A. Jamet // mBio. – 2015. – № 6(3). – P. 285–315.

87. Zhang D. Polymorphic toxin systems: comprehensive characterization of trafficking modes, processing, mechanisms of action, immunity and ecology using comparative genomics / D. Zhang, R.F. de Souza, V. Anantharaman // Biol. Direct. – 2012. – № 7. – P. 18.

88. Poole S.J. Identification of functional toxin/immunity genes linked to contact-dependent growth inhibition (CDI) and rearrangement hotspot (Rhs) systems / S.J. Poole, E.J. Diner, S.K. Aoki et al. // PLoS Genet. – 2011. – № 7(8). – P. 1002–1217.

89. Ghequire M.G. Ribosomally encoded antibacterial proteins and peptides from *Pseudomonas* / M.G. Ghequire // FEMS Microbiol. Rev. – 2014. – № 38(4). – P. 523–526.

90. Jamet A. A new family of secreted toxins in pathogenic *Neisseria* species / A. Jamet // PLoS Pathog. – 2015. – № 11(1). – P. 1004–1092.

91. Brooks T.M. Lytic activity of the *Vibrio cholerae* type VI secretion toxin VgrG-3 is inhibited by the antitoxin TsaB / T.M. Brooks, D. Unterweger, V. Bachmann et al. // J. Biol. Chem. – 2013. – № 288(11). – P. 7618–7625.

92. Aoki S.K. Contact-dependent inhibition of growth in *Escherichia coli* / S.K. Aoki, R. Pamma, A.D. Hernday et al. // Science. – 2005. – V. 309 (5738). – P. 1245–1248.

93. Anderson M.S. The *Burkholderia* bcp AIOB genes define unique classes of two-partner secretion and contact dependent growth inhibition systems / M.S. Anderson, E.C. Garcia, P.A. Cotter et al. // PLoS Genet. – 2012. – № 8(8). – P. 100–102.

94. Durand E. VgrG, Tae, Tle, and beyond: the versatile arsenal of Type VI secretion effectors / E. Durand, C. Cambillau, E. Cascales // Trends Microbiol. – 2014. – № 22(9). – P. 498–507.

95. Shneider M.M. PAAR-repeat proteins sharpen and diversify the type VI secretion system spike / M.M. Shneider, S.A. Buth, B.T. Ho et al. // Nature. – 2013. – V. 500(7462). – P. 350–353.

96. Ma J. The Hcp proteins fused with diverse extended-toxin domains represent a novel pattern of antibacterial effectors in type VI secretion systems / J. Ma, Z. Pan, J. Huang et al. // Virulence. – 2017. – Jan 6. – P. 1–14.

97. *Pukatzki S.* Type VI secretion system translocates a phage tail spike-like protein into target cells where it cross-links actin / S. Pukatzki, A.T. Ma, A.T. Revel et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2007. – V. 104(39). – P. 15508–15513.
98. *Flaunatti N.* A phospholipase A1 antibacterial Type VI secretion effector interacts directly with the C-terminal domain of the VgrG spike protein for delivery / N. Flaunatti, T.T. Le, S. Canaan et al. // *Mol. Microbiol.* – 2016. – V. 99(6). – P. 1099–1118.
99. *Zhang D.* A novel immunity system for bacterial nucleic acid degrading toxins and its recruitment in various eukaryotic and DNA viral systems / D. Zhang // *Nucleic Acids Res.* – 2011. – № 39(11). – P. 4532–4552.
100. *Aoki S.K.* Toxin on a stick: modular CDI toxin delivery systems play roles in bacterial competition / S.K. Aoki, S.J. Poole, C.S. Hayes // *Virulence.* – 2011. – № 2(4). – P. 356–359.
101. *Anderson M.S.* Kind discrimination and competitive exclusion mediated by contact-dependent growth inhibition systems shape biofilm community structure / M.S. Anderson, E.C. Garcia, P.A. Cotter // *PLoS Pathog.* – 2014. – № 10(4). – P. 40–76.
102. *Garcia E.C.* Interbacterial signaling via Burkholderia contact-dependent growth inhibition system proteins / E.C. Garcia, A.I. Perault, S.A. Marlatt // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2016. – № 113 (29). – P. 296–301.
103. *Jiang F.* A *Pseudomonas aeruginosa* type VI secretion phospholipase D effector targets both prokaryotic and eukaryotic cells / F. Jiang, N.R. Waterfield, J. Yang // *Cell Host Microbe* – 2014. – № 15(5). – P. 600–610.
104. *Holberger L.E.* A novel family of toxin/antitoxin proteins in *Bacillus* species / L.E. Holberger, F. Garza-Sanchez, J. Lamoureux // *FEBS Lett.* – 2012. – V. 586(2). – P. 132–136.
105. *Koskiniemi S.* Rhs proteins from diverse bacteria mediate intercellular competition / S. Koskiniemi, J.G. Lamoureux, K.C. Nikolakakis et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2013. – V. 110 (17). – P. 7032–7037.
106. *Cho I.* The human microbiome: at the interface of health and disease / I. Cho // *Nat Rev Genet.* – 2012. – №. 13(4). – P. 260–270.
107. *Woodford N.* Infections caused by Gram-positive bacteria: a review of the global challenge / N. Woodford // *J. Infect.* – 2009. – № 59 (Suppl 1). – S. 4–16.
108. *Elbaz M.* Following the fate of bacterial cells experiencing sudden chromosome loss / M. Elbaz // *MBio.* – 2015. – № 6 (3). – P. 92–115.
109. *Cao Z.* The type VII secretion system of *Staphylococcus aureus* secretes a nuclease toxin that targets competitor bacteria / Z.Cao, M.G. Casabona, H. Kneuper et al. // *Nat. Microbiol.* – 2016. – № 2. – P. 161–183.

110. *Whitney J.C.* A broadly distributed toxin family mediates contact-dependent antagonism between gram-positive bacteria / J.C. Whitney, S.B. Peterson, J. Kim et al. // *Elife*. – 2017. – V. 6.
111. *Lyons N.A.* A combinatorial kin discrimination system in *Bacillus subtilis* / N.A. Lyons, B. Kraigher, P. Stefanic et al. // *Curr. Biol*. – 2016. – № 26 (6). – P. 733–742.
112. *Touchon M.* Genetic and life-history traits associated with the distribution of prophages in bacteria / M. Touchon, A. Bernheim, E.P. Rocha // *ISME J*. – 2016. – № 10(11). P. 2744–2754.
113. *Fokine A.* Molecular architecture of tailed double-stranded DNA phages / A. Fokin // *Bacteriophage*. – 2014. – № 4(1). – P. 282–285.
114. *Nikolakakis K.* The toxin/immunity network of *Burkholderia pseudomallei* contact-dependent growth inhibition (CDI) systems / K. Nikolakakis, S. Amber, J.S. Wilbur et al. // *Mol. Microbiol*. – 2012. – № 84 (3). – P. 516–529.
115. *Morse R.P.* Structural basis of toxicity and immunity in contact-dependent growth inhibition (CDI) systems / R.P. Morse, K.C. Nikolakakis, J.L. Willett et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. – 2012. – V. 109 (52). – P. 21480–21485.
116. *Bossi L.* Prophage contribution to bacterial population dynamics / L. Bossi // *J. Bacteriol*. – 2003. – V. 185 (21). – P. 6467–6471.
117. *Davies E.V.* Temperate phages enhance pathogen fitness in chronic lung infection / E.V. Davies, C.E. James, I. Kukavica-Ibrulj et al. // *ISME J*. – 2016. – № 10 (10). – P. 2553–2555.
118. *Gama J.A.* Temperate bacterial viruses as double-edged swords in bacterial warfare / J.A. Gama, A.M. Reis, I. Domingues et al. // *PLoS One*. – 2013. – № 8 (3). – P. 590–643.
119. *Lyczak J.B.* Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: Lessons from a versatile opportunist / J.B. Lyczak // *Microbes Infect*. – 2000. – № 2. – P. 1051–1060.
120. *Cao H.* Common mechanisms for pathogens of plants and animals / H. Cao // *Annu. Rev. Phytopathol*. – 2001. – № 39. – P. 259–284.
121. *Rahme L.G.* Plants and animals share functionally common bacterial virulence factors / L.G. Rahme, F.M. Ausubel, H. Cao et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2000. – № 97. – P. 8815–8821.
122. *Brewer C.* Ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa* / C. Brewer, R.G. Wunderink, C.B. Jones // *Chest*. – 1996. – V. 109. – P. 1019–1029.
123. *Kos V.N.* The resistome of *Pseudomonas aeruginosa* in relationship to phenotypic susceptibility / V.N. Kos, M. Deraspe, R.E. McLaughlin R.E. // *Antimicrob. Agents Chemother*. – 2015. – № 59. – P. 427–436.

124. *Huber P.* *Pseudomonas aeruginosa* renews its virulence factors / P. Huber // *Environ. Microbiol. Rep.* – 2016.
125. *Roy P.H.* Complete genome sequence of the multiresistant taxonomic outlier *Pseudomonas aeruginosa* PA7 / P.H. Roy, S.G. Tetu, A. Larouche et al. // *PLoS ONE.* – 2010. – № 5. – P. 8–42.
126. *Stover C.K.* Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen / C.K. Stover, X.Q. Pham, A.L. Erwin et al. // *Nature.* – 2000. – V. 406. – P. 959–964.
127. *Lee D.G.* Genomic analysis reveals that *Pseudomonas aeruginosa* virulence is combinatorial / D.G. Lee, J.M. Urbach, G. Wu et al. // *Genome Biol.* – 2006. – P. 7.
128. *Pseudomonas Database.* [Electronic resource]; URL: www.pseudomonas.com (accessed 9 November 2017).
129. *Wiehlmann L.* Habitat-associated skew of clone abundance in the *Pseudomonas aeruginosa* population / L. Wiehlmann // *Environ. Microbiol. Rep.* – 2015. – № 7. – P. 955–960.
130. *Thrane S.W.* The Widespread Multidrug-Resistant Serotype O12 *Pseudomonas aeruginosa* Clone Emerged through Concomitant Horizontal Transfer of Serotype Antigen and Antibiotic Resistance Gene Clusters Θ / S.W. Thrane, V.L. Taylor, L. Freschi // *mBio.* – 2015. – № 6. – P. 1396–1415.
131. *Hilker R.* Interclonal gradient of virulence in the *Pseudomonas aeruginosa* pangenome from disease and environment / R. Hilker, A. Munder, J. Klockgether et al. // *Environ. Microbiol.* – 2015. – № 17. – P. 29–46.
132. *Hauser A.R.* The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: Infection by injection / A.R. Hauser // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2009. – № 7. – P. 654–665.
133. *Filloux A.* Protein Secretion Systems in *Pseudomonas aeruginosa*: An Essay on Diversity, Evolution, and Function / A. Filloux // *Front. Microbiol.* – 2011. – № 2. – P. 155.
134. *Berthelot P.* Grouped Etudes des Septicémies à *Pseudomonas aeruginosa* Genotypic and phenotypic analysis of type III secretion system in a cohort of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia isolates: Evidence for a possible association between O serotypes and exo genes / P. Berthelot, I. Attree, P. Plesiat et al. // *J. Infect. Dis.* – 2003. – V. 188. – P. 512–518.
135. *Shaver C.M.* Relative contributions of *Pseudomonas aeruginosa* ExoU, ExoS, and ExoT to virulence in the lung / C.M. Shaver // *Infect. Immun.* – 2004. – № 72. – P. 6969–6977.

136. *Reboud E.* Phenotype and toxicity of the recently discovered exlA-positive *Pseudomonas aeruginosa* strains collected worldwide / E. Reboud, S. Elsen., S. Bouillot // *Environ. Microbiol.* – 2016. – № 18. – P. 3425–3439.

137. *Elsen S.* A type III secretion negative clinical strain of *Pseudomonas aeruginosa* employs a two-partner secreted exolysin to induce hemorrhagic pneumonia / S. Elsen, P. Huber, S. Bouillot // *Cell Host Microbe.* – 2014. – № 15. – P. 164–176.

138. *Basso P.* Multiple *Pseudomonas* species secrete Exolysin-like toxins and provoke Caspase-1-dependent macrophage death / P. Basso // *Environ. Microbiol.* – 2017.

139. *Basso P.* *Pseudomonas aeruginosa* Pore-Forming Exolysin and Type IV Pili Cooperate To Induce Host Cell Lysis / P. Basso // *mBio.* – 2017. – V. 8.

140. *Braun V.* Identification of the *Serratia marcescens* hemolysin determinant by cloning into *Escherichia coli* / V. Braun, B. Neuss, Y. Ruan // *J. Bacteriol.* – 1987. – V. 169. – P. 2113–2120.

141. *Schiebel E.* Integration of the *Serratia marcescens* haemolysin into human erythrocyte membranes / E. Schiebel // *Mol. Microbiol.* – 1989. – № 3. – P. 445–453.

142. *Schonherr R.* Interaction of *Serratia marcescens* hemolysin (ShIA) with artificial and erythrocyte membranes. Demonstration of the formation of aqueous multistate channels / R. Schonherr // *Eur. J. Biochem.* – 1994. – № 223. – P. 655–663.

143. *Faudry E.* Synergistic pore formation by type III toxin translocations of *Pseudomonas aeruginosa* / E. Faudry, G. Vernier, E. Neumann // *Biochemistry.* – 2006. – № 45. – P. 8117–8123.

144. *Hertle R.* *Serratia marcescens* hemolysin (ShIA) binds artificial membranes and forms pores in a receptor-independent manner / R. Hertle // *J. Membr. Biol.* – 2002. – V. 189. – P. 1–14.

145. *Bouillot S., Munro P., Gallet B.* *Pseudomonas aeruginosa* Exolysin promotes bacterial growth in lungs, alveolar damage and bacterial dissemination / S. Bouillot, P. Munro, B. Gallet // *Sci. Rep.* – 2017. – № 7. – P. 2120.

146. *Gonzalez-Juarbe N.* Requirement for *Serratia marcescens* cytolysin in a murine model of hemorrhagic pneumonia / N. Gonzalez-Juarbe // *Infect. Immun.* – 2015. – № 83. – P. 614–624.

147. *Garcia-Suarez Mdel M.* The role of pneumolysin in mediating lung damage in a lethal pneumococcal pneumonia murine model / M. Garcia-Suarez Mdel // *Respir. Res.* – 2007. – № 8. – P. 3.

148. *Diep B.A.* Polymorphonuclear leukocytes mediate *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin-induced lung inflammation and injury /

B.A. Diep, L. Chan, P. Tattevin et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2010. – № 107. – P. 5587–5592.

149. *Greaney A.J.* Bacterial exotoxins and the inflammasome / A.J. Greaney // Front. Immunol. – 2015. – № 6. – P. 570.

150. *Ebsen H.* Identification of SH3 Domain Proteins Interacting with the Cytoplasmic Tail of the A Disintegrin and Metalloprotease 10 (ADAM10) / H. Ebsen // PLoS ONE. – 2014. – № 9. – P. 1028–1099.

151. *Seals D.F.* The ADAMs family of metalloproteases: multidomain proteins with multiple functions / D.F. Seals // Genes Dev. – 2003. – № 17. – P. 7–30.

152. *Horiuchi K.* Substrate selectivity of epidermal growth factor-receptor ligand sheddases and their regulation by phorbol esters and calcium influx / K. Horiuchi // Mol. Biol. Cell. – 2007. – № 18. – P. 176–188.

153. *Nagano O.* Cell-matrix interaction via CD44 is independently regulated by different metalloproteinases activated in response to extracellular Ca²⁺ influx and PKC activation / O. Nagano // J. Cell Biol. – 2004. – № 165. – P. 893–902.

154. *Inoshima I.* A *Staphylococcus aureus* pore-forming toxin subverts the activity of ADAM10 to cause lethal infection in mice / I. Inoshima // Nat. Med. – 2011. – № 17. P. 1310–1314.

155. *Powers M.E.* ADAM10 Mediates Vascular Injury Induced by *Staphylococcus aureus* alpha-Hemolysin / M.E. Powers // J. Infect. Dis. – 2012. – V. 206. – P. 352–356.

156. *Poole K.* Molecular characterization of the hemolysin determinant of *Serratia marcescens* / K. Poole // J. Bacteriol. – 1988. – V. 170. – P. 3177–3188.

157. *Guérin J.* Two-Partner Secretion: Combining Efficiency and Simplicity in the Secretion of Large Proteins for Bacteria-Host and Bacteria-Bacteria Interactions / J. Guérin // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2017. – № 7. – P. 148.

158. *Alouf J.E.* A 116-year story of bacterial protein toxins (1888–2004): From “diphtheric poison” to molecular toxinology. In The Comprehensive Sourcebook of Bacterial Protein Toxins, 2nd ed. / J.E. Alouf, M.R. Popoff. – Elsevier: San Diego, CA, USA, 2006. – P. 3–21. [Google Scholar]

159. *Supotnitskiy M.V.* Biological Warfare. – Russkaya Panorama–Kafedra: Moskva, Russia, 2013. [Google Scholar]

160. *Salzman M.* Toxins: Bacterial and marine toxins / M. Salzman // Clin. Lab. Med. – 2006. – 26. – P. 397–419. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

161. *Jones D.E.* Poison Arrows. North. American Indian Hunting and Warfare, 1st ed. – University of Texas Press: Austin, TX, USA, 2007. P. 39, 42. [Google Scholar]

162. *Neuwinger H.D.* Afrikanische Arzneipflanzen und Jagdgifte Chemie Pharmakologie Toxikologie. – Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart, Germany, 1998. – P. 911–920. [Google Scholar]
163. *Hesse M.* Alkaloids. Nature's Curse or Blessing? Verlag Helvetica Chimica Acta. – Zürich, Switzerland, 2002. – P. 353. [Google Scholar]
164. *Lewin L.* Die Pfeilgifte. Eine Allgemeinverständliche Untersuchung Historischer und Ethnologischer Quellen. – Gernstenberg Verlag: Hildesheim, Germany, 1984. [Google Scholar]
165. *Neufehl E.* Insects as warfare agents in the ancient Near East // *Orientalia*. – 1980. – 49. – 30–57. [Google Scholar]
166. *Lockwood J.A.* Six-Legged Soldiers. Using Insects as Weapons of War. – Orford University Press: New York, NY, USA, 2009. – P. 147–148. [Google Scholar]
167. *Mayor A.* Greek Fire, Poison Arrows, and Scorpion Bombs: Biological and Chemical Weapons in the Ancient World; Overlock Press: – New York, NY, USA, 2003. – P. 181. [Google Scholar]
168. *Partington J.R.* A History of Greek Fire and Gunpowder. – The Johns Hopkins University Press. Baltimore, MD, USA, 1999. – P. 263–271. [Google Scholar]
169. *Gabriel R.A.* Gengis. Khan's Greatest General: Subotai the Valiant; University of Oklahoma Press- Norman, OK, USA, 2006. – P. 41. [Google Scholar]
170. *Lewin L.* Die Gifte in der Weltgeschichte; Tosa Verlag. – Vienna, Austria, 2007. – P. 466. [Google Scholar]
171. *Hagesawa G.R.* Proposals for chemical weapon during the American Civil War. *Mil. Med.* – 2008. – 173. – 495–506. [Google Scholar]
172. *Richter D.* Chemical Soldiers. British Gas. Warfare in World War I. – University Press of Kansas: Lawrence, KS, USA, 1992. – P. 18. [Google Scholar]
173. *Palazzo A.* Seeking Victory in the Western Front: The British Army and Chemical Warfare in World War I. – University of Nebraska Press: Lincoln, NE, USA, 2000. – P. 44, 45, 163. [Google Scholar]
174. *Garrett B.* The CW Almanac // *The ASA Newsletter*. – 1999. – V. 72. – P. 15. [Google Scholar]
175. *Kirby R.* Ricin Toxin: A Military History / R. Kirby // *Army Chemical Review*. – 1 April 2004. P. 38–40.
176. *Haynes D.* Britain Came Close to Dropping Poisoned Darts on German Troops. *The Times*. 26 June 2009. [Electronic resource] URL: <http://www.thetimes.co.uk/tto/news/uk/article1943659.ece> (accessed 27 April 2016).
177. *Harris R.* A Higher Form of Killing: The Secret History of Chemical and Biological Warfare. – Random House Trade Paperbacks: New York, NY, USA, 2002. – P. 96. [Google Scholar]

178. *Letourneau R.L.* Light High Explosive Bomb for Dispersing Toxic and Insecticidal Aerosols. U.S. Patent 3,207,071, 21 September 1965. [Google Scholar]

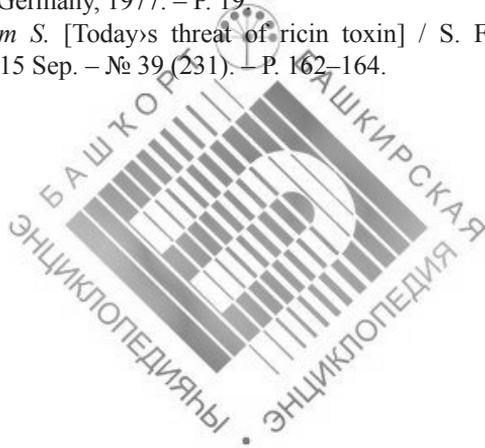
179. *Roach P.G.* Gas Ejection Bomb for Dispersing Solid Particulates. U.S. Patent 3,188,954, 15 June 1965. [Google Scholar]

180. *Leitenberg M.* The Soviet Biological Weapons Program: A History. – Harvard University Press: Cambridge, MA, USA, 2012. – P. 298–302. [Google Scholar]

181. *Satpathy G.C.* Biological Weapons and Terrorism. – Kalpaz Publications: Delhi, India, 2004. – V. 2. – P. 72.

182. *Franke S.* Lehrbuch. der Militärchemie. Band 1. – Militärverlag der DDR: Berlin, Germany, 1977. – P. 19.

183. *From S.* [Today's threat of ricin toxin] / S. From // Pol. Merkur. Lekarski. – 2015 Sep. – № 39 (231). – P. 162–164.



Заключение

Случайное или намеренное употребление в пищу ядовитых растений, грибов, рыб, а также укусы ядовитых животных и насекомых позволило накапливать сведения о токсических свойствах различных средств природного происхождения. Эти данные использовались колдунами, целителями, отравителями, военными для различных ритуальных казней, массовых убийств в военных целях и ликвидации вероятных соперников в политических целях [1].

Список природных соединений достаточно представлен и включает ядовитые растения (дурман, белладонна, белена, болиголов, волчий корень, опиум, мандрагора, наперстянка, чемерис, ломонос, молочай, паслен, рута, ядовитые грибы и др.), животных (слизь старой жабы, трупный яд, слона бешеной собаки, шпанская мушка, яды змей, кишечнорастворимых животных, саламандры, тритоны и др.) и природные минералы (соединения ртути, мышьяка, галлия и др.).

В настоящее время термин «токсин» чаще всего относят к индивидуальному химическому веществу (независимо от его природы), полученному из микроорганизмов, грибов, растений, животных или биотехнологическим путем, в низких концентрациях токсичного для позвоночных животных. Тем самым разграничиваются действующее начало яда и яд, являющийся, как правило, многокомпонентной смесью различных биологически активных веществ.

Токсины по их происхождению, клиническим проявлениям отравления и химической природе токсины подразделяются на четыре группы [2, 3]:

– зоотоксины – токсические соединения, содержащиеся в ядах животных с высокой поражающей способностью, обусловленной высокой специфичностью действия на определенные биосубстраты [3]. Так, нейротоксины змей нарушают передачу возбуждения в нервно-мышечных синапсах; токсины амфибий (батрахотоксин), рыб (тетродотоксин), простейших (сакситоксин) блокируют распространение нервного импульса по нервному волокну; ферменты ядов гадюк и гремушников воздействуют на систему свертываемости крови;

– фитотоксины – ядовитые химические соединения, содержащиеся в высших растениях. Среди них токсальбумины, алкалоиды, глюкозиды, эфирные масла, органические кислоты, ангидриды органических кислот (синильная кислота), лактоны и др. Наибольшую известность получил рицин, содержащийся в семенах клещевины; соединения, содержащиеся в высших растениях;

– микотоксины – токсины, образуемые грибами (эрготоксины, трихотеценовые микотоксины, орахотоксины, патуалин и др.), являющиеся природными загрязнителями зерна злаковых, бобовых, семян подсолнечника, овощей и фруктов. Многие из них синтезируют опасные для человека токсические вещества. В организм человека они попадают алиментарным путем при употреблении зараженных продуктов питания. К наиболее опасным микотоксинам относятся: эрготоксины, продуцируемые грибами группы *Claviceps* (спорынья, маточные рожки); афлатоксины, вызываемые грибами группы *Aspergillus*; трихотеценовые микотоксины (более 40 наименований); орахотоксины (В, С), патулин и др.;

– бактериальные токсины – токсины, синтезируемые бактериями, являются высокомолекулярными соединениями белковой, пептидной или липополисахаридной природы с антигенными свойствами. В настоящее время выделены и изучены более 150 токсинов, многие из которых относятся к числу самых ядовитых веществ. Среди них ботулотоксины, дифтерийный, столбнячный и дифтерийный токсины, стафилококковые токсины и др.

В настоящее время насчитывается более 5000 видов ядовитых животных, которые разделены на 2 большие группы: первично-ядовитые и вторично-ядовитые. К первично-ядовитым относят животных, имеющих ядовитый секрет или ядовитые продукты метаболизма. К вторично-ядовитым относят животных, которые способны вырабатывать экзогенные яды, проявляющие токсичность только при приеме их в пищу. В свою очередь первично-ядовитые животные различаются по способам выработки яда и его применения и делятся на активно или пассивно-ядовитых. Активно-ядовитые животные вооружены ранящим устройством. При этом ядовитый аппарат имеет ядовитую железу с выводным протоком и ранящее приспособление: зубы у рептилий, жало у насекомых, колючки и шипы у рыб. Другую группу активно-ядовитых животных составляют организмы, ядовитый аппарат которых лишен ранящего приспособления (кожные

железы амфибий, анальные железы насекомых, кювьеровы органы голотурий) и относятся к невооруженным ядовитым животным. Ядовитые секреты таких желез проявляют свой токсический эффект при контакте с покровами тела жертвы.

В группе пассивно-ядовитых животных ядовитые метаболиты вырабатываются в различных органах и тканях (рыбы, хвостатые амфибии, моллюски, насекомые). Обе эти группы (пассивно-ядовитые и вторично-ядовитые) представляют опасность только при попадании их яда в пищеварительный тракт.

Биотоксины отличаются от классических химических поражающих агентов источником получения, физическими и биологическими характеристиками.

Химическая структура зоотоксинов имеет характерные отличия, обусловленные эволюцией ядовитости среди животных. Так, многие виды рыб, амфибий, насекомых сохранили черты примитивной ядовитости, выраженной в накоплении ядовитых метаболитов в тканях и органах [3]. У кишечнополостных встречаются яды белковой природы в виде неэнзиматических полипептидов и ферментов с различной субстратной специфичностью (цитокины, нейротоксины).

Основными компонентами зоотоксинов могут быть следующие вещества: адреналин; алкалоиды (баграхотоксин, гефиротоксин, самандарин и др.); ацетилхолин; ацетилхолинэстераза; брадикинин; васкулярный эндотелиальный фактор роста (VEGF-F); гиалуронидаза; гистамин; дофамин; ингибиторы протеаз; кардиотоксины; кинины; меллитин; мембрано-активные пептиды (МАП); МСД-пептид, пептид 401; нейротоксины; норадреналин; оптоидные пептиды, дермофины; протеазы змеиных ядов (гадюки, гремучники); серотонин; синильная кислота; стероиды; сфингомиелинидаза Д; тахикинины; уперолеин-тахикинин; факторы, воздействующие на систему комплемента (не менее 3); фасцикулин; фибринолизин; физалемин; фосфолипаза А; фосфолипаза А2; фосфолипаза В; цитотоксины; церулеин; холин и щелочная фосфатаза.

Действующими веществами ядовитых растений являются алкалоиды, гликозиды, эфирные масла, органические кислоты лакитоны и токсальбумины (конин, никотин, лобелин, гиасциамин, скополамин, платифиллин, сенецифилин, эхинопсин, папаверин, морфин, кодеин, даурицин, хелидонин, сангвинарин, галенитами, винканин, эрготамин, пилокарпин, кофеин, теофиллин, аконит, дельсимин, соланин, йервин, эфедрин, колхицин).

Класс фикомицетов включает микотоксины, обладающие нейротоксическим, гепатотоксическим, нефротоксическим, гепатокарциногенным, мутагенным и иммунодепрессивным действием. К ним относятся афлатоксины, охратоксины, патулин, зеараленон, эрготоксины и трихотеценовые микотоксины (НТ-2, неосоланиол, ниваленол, дезоксиниваленол и др. Класс макроцетов продуцирует аманитоксины, фаллондицины, фаллины, випратоксины и др.

В настоящее время не вызывает сомнения, что токсины биологического происхождения являются ключевыми факторами обострения эпидемиологического процесса, вызванного тем или иным источником их продукции в окружающую среду. Помимо этого, токсины биологического происхождения – это регуляторные элементы, действующие в гетерологических клеточных системах вне их контроля и сдвигающие равновесие, протекающих в них физиологических процессов. Нельзя также не отметить, что токсины биологического происхождения, особенно продуцируемые различными микроорганизмами, являются важной составляющей их патогенных и вирулентных свойств. Наконец, токсины биологического происхождения – это потенциальные биологические поражающие агенты, способные как самостоятельно, так и в составе многокомпонентных биологических систем обеспечить массовые поражения людей, животных и всего живого, тем самым нанести ощутимый урон социально-экономической составляющей любого государства и миру в целом.

Достаточно подчеркнуть, что поражающие свойства биологических токсинов можно сопоставить с аналогичными свойствами, присущими потенциальным химическим поражающим агентам, а применительно к отдельным представителям, например, ботулинические токсины, даже превзойти их. В связи с этим очевидно, что постоянное углубление представлений о широте и свойствах биологических токсинов их биологической активности и возможных направлениях создания высоко эффективных средств профилактики и лечения может существенно помочь в плане борьбы с ними и вызываемыми ими поражениями. Одним из сложных вопросов биологической токсинологии является неоднородность самих биологических токсинов и особенно в отношении механизма их патологического воздействия на организм и его отдельные биосистемы.

На сегодняшний день все известные токсины биологического происхождения классифицируются по происхождению, роли в жиз-

недеятельности организма-продуцента, токсическому действию на поражаемый организм. В зависимости от происхождения биологические токсины подразделяют на фитотоксины, зоотоксины, микробные токсины, синтетические токсины; по роли в жизнедеятельности организма-продуцента на эндотоксины и экзотоксины (эктотоксины); по действию на поражаемый организм на нейротоксины; цитотоксины (токсины-эффекторы); токсины-ферменты; токсины-ингибиторы ферментов. Приемлема также тактическая классификация биологических токсинов, согласно которой их делят на токсины смертельного действия и токсины, временно выводящие живую силу из строя (инкапсита́нты).

Большинство биологических токсинов представляют собой А-В структуру, которая предполагает наличие двух компонентов – В-домена, участвующего в связывании токсина с рецептором на поверхности клетки хозяина, что способствует транспортировке токсина в клетку хозяина, и А-домена, проявляющего собственно токсическую активность в организме хозяина. Структура В-домена зависит от структуры рецепторов-мишеней, с которыми взаимодействует токсин. А-домены по структуре более консервативны чем В-домены, особенно в участках, критических для их ферментативной активности.

Сложность и многофункциональность молекул токсинов свидетельствуют об их длительном эволюционном пути. Это в полной мере относится и к бактериальным токсинам. В настоящее время выделяют 5 типов бактериальных токсинов (порообразующие; ингибиторы белкового синтеза; образование вторичных мессенджеров; активаторы иммунного ответа;

Порообразующие биотоксины действуют посредством встраивания в плазматическую мембрану клеток хозяина с целью формирования в ней трансмембранных пор, приводящих клетку к лизису. Перечень токсинов с таким механизмом действия включает: гемолизин *E.coli* (HlyA), аденилатциклазу *B.pertussis*, лейкотоксин *Pasterella haemolítica*.

Токсины, ингибирующие синтез белка, действуют как специфические АДФ-рибозилтрансферазы, которые рибозилируют фактор элонгации 2, инактивируя его, и тем самым подавляют синтез белка в клетках. Перечень токсинов с таким механизмом действия включает шигатоксин, дифтерийный токсин и др.

Токсины, генерирующие образование вторичных мессенджеров (посредников), влияют на синтез и функцию отдельных белков эукариотической клетки, не приводя ее к гибели. При этом они активируют вторичные посредники, которые способны усиливать и искажать клеточную реакцию на внеклеточные сигналы.

Протеолитические токсины (ботулотоксины) связываются с рецепторами на поверхности пресинаптической мембраны двигательных нейронов периферической нервной системы и вызывают в них протеолиз белков, что приводит к ингибированию высвобождения ацетилхолина и к предотвращению мышечных сокращений. К этой же группе относится столбнячный токсин, который первоначально связывается с рецепторами на пресинаптической мембране моторных нейронов, затем с помощью ретроградного везикулярного транспорта перемещается в нейроны спинного мозга, приводя к развитию спастических параличей вследствие расщепления везикуло-ассоциированных белков и синаптобrevина в нейронах и нарушения высвобождения глицина и гамма-амино-бутириковой кислоты [4].

Активаторы иммунного ответа действуют непосредственно на Т-клетки и антигенпрезентирующие клетки иммунной системы. Их иммуностимулирующий потенциал является следствием способности связывать различные участки белков главного комплекса гистосовместимости II типа, экспрессированных на поверхности антигенпрезентирующих клеток и бета-элементы на Т-клеточном рецепторе, в результате чего активируются процессы пролиферации иммунокомпетентных клеток, а также синтеза и секреции интерлейкинов (1, 2 и 6 типов), гамма-интерферона, факторов некроза опухолей (альфа и бета) и др., что в конечном итоге приводит к гипотензии, гипертермии и эритематозным высыпаниям [5, 6].

Из вышеизложенного очевидно, что биологические токсины рассматривались и продолжают рассматриваться в качестве составной, очень важной, части современного БО. В качестве потенциальных агентов биотерроризма или потенциальных БПА биотоксины могут применяться для заражения обширных территорий окружающей среды или поражения массовых контингентов людей. По взглядам зарубежных специалистов, в качестве потенциальных агентов биотерроризма или БПА токсины целесообразно применять скрытно, чтобы в максимальной степени использовать поражающие свойства токсинов. Благодаря особенностям физических свойств и высокой физио-

логической активности применение биологических токсинов в аэрозоле легко поддается маскировке путем одновременного применения дымовых и других маскирующих средств. Это создает реальную опасность не распознавания атаки биологическими токсинами, что чревато тяжелыми последствиями [7].

Углубление знаний относительно спектра опасных для человека биологических токсинов, механизма их патологического действия, источников-продуцентов основной своей целью преследует сбор как можно большей объективной информации в плане последующего ее использования при обосновании и разработке эффективных средств профилактики и лечения вызываемых ими поражений. Нельзя также не отметить, что сведения о биологических токсинах весьма важны и в плане разработки средств и методов их выявления, причем как можно более раннего, поскольку в виду их быстроедействия может наступить критический период и применение средств профилактики и лечения может оказаться уже не эффективным.

В отношении эффективного и быстрого выявления биологических токсинов в окружающей среде и клинических материалах от пораженных в настоящее время приоритет отдается в основном иммунобиологическим диагностическим тест-системам на основе методов иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Исследования в данном направлении активно ведутся как у нас в стране, так и за ее пределами [8–18].

Аналогичным образом обстоит дело и в отношении исследований по разработке эффективных лекарственных средств профилактики и лечения поражений биотоксинами различной природы. При этом очевидно, что в области специфической иммунопрофилактики приоритет отдается созданию моно- или полианатоксинов [19]. Подобный подход неслучаен, поскольку основной механизм патологического действия практически любого биологического токсина – это связывание со специфическим рецептором на мембране клеток хозяина, погружение его внутрь этих клеток посредством пиноцитоза и далее вовлечение в их метаболические процессы, приводя тем самым к апоптозу [20]. Воспрепятствовать этому можно только предварительно связав попавший в организм токсин соответствующими специфическими антителами, наработка которых и осуществляется при иммунизации живого организма соответствующими анатоксинами. Правильность данного подхода с успехом подтверждена использованием анатоксинов в качестве

специфических средств профилактики интоксикаций ботулиническими токсинами, клостридиальными (гангренозными) токсинами, столбнячным токсином, рициновым токсином и др. Накопленный современный научный опыт позволяет говорить о том, что в ближайшее время могут появиться анатоксины и к другим биологическим токсинам не только микробной, но и иной природы.

Представленные в монографии данные свидетельствуют о том, что средствами специфической профилактики не ограничивается формирование невосприимчивости организма к воздействию биологических токсинов. Важное значение в этом плане придается и поиску средств антитотной терапии, поскольку по своему поражающему действию и биологической активности многие биологические токсины даже превосходят существующие химические токсиканты. Однако следует признать, что в данном направлении достижения пока весьма скромные, что во многом обусловлено отсутствием достаточной информации относительно патофизиологических аспектов воздействия биотоксикантов на живой организм. Тем не менее отдельные средства в данной области уже либо разработаны, либо находятся на различных стадиях разработки и оценки. В частности, препараты на основе ингибирования АДФ-рибозилирования апробированы в доклинических условиях в отношении интоксикаций ботулиническими токсинами и дифтерийным токсином; препарат «иминаквинон» показал себя как эффективное средство профилактики и раннего лечения интоксикаций растительными токсинами рицином и абрином, препарат «каркол» показал себя как эффективное средство профилактики и лечения интоксикаций T2-микотоксином и др. Следует отметить, что вышеперечисленные средства в основном находятся на доклинической стадии изучения.

Таким образом, на сегодняшний день биологические токсины продолжают оставаться достаточно мощным фактором биологической угрозы мирового масштаба ввиду их высокой поражающей активности и отсутствия к большинству из них эффективных средств выявления, а также профилактики и лечения вызываемых ими патологических состояний. Приведенные в монографии сведения позволят расширить представления не только о перечне существующих на сегодняшний день потенциально опасных для человека биологических токсинов, но и механизмах их патологического действия и, как следствие, наметить направления поиска и разработки недостающих

средств диагностики, профилактики и терапии вызываемых ими поражений. Учитывая приведенные сведения, проблемы предотвращения поражений биотоксинами продолжают оставаться приоритетными и диктуют необходимость использования всех ресурсов для разработки и реализации мероприятий по предупреждению и ликвидации последствий таких поражений.

В монографии недостаточно уделено внимания профилактике отравлений токсинами биологического происхождения. Сделано это умышленно, так как предыдущие наши монографии «Ассоциированная и комплексная иммунизация. Состояние и перспективы» (2014 г.), «Вакцинопрофилактика клостридиальных инфекций» (2016 г.) и «Эпидемиология и профилактика управляемых инфекций» (2017 г.) были посвящены детальному обсуждению этих вопросов, особенно вакцинопрофилактики актуальных инфекционных заболеваний.

Литература

1. *Магазов Р.Ш.* Эпидемиология и профилактика управляемых инфекций / Р.Ш. Магазов, А.П. Савельев, С.В. Чепур и др. – Уфа: Башк. энцикл., 2017. – 688 с.
2. *Finlay B.B.* Common themes in microbial pathogenicity / B.B. Finlay, S. Falkow // *Microbiol. Rev.* – 1989. – V. 53, № 2. – P. 210–230.
3. *Супотницкий М.В.* Биологическая война: введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов и биологических поражений / М.В. Супотницкий. – М.: Русская панорама; Кафедра, 2013. – 1135 с.
4. *Patocka J.* Botulinum toxin: from poison to medicinal agent / J. Patocka, M. Splino // *ASA Newsletter.* – 2002. – V. 88. – P. 14–19.
5. *Pohanka M.* Biological warfare agents/ M. Pohanka, K. Kuca // *EXS.* – 2010. – V. 100. – P. 559–578.
6. *Hepburn M.J.* Pathogenesis and sepsis caused by organisms potentially utilized as biologic weapons: opportunities for targeted intervention / M.J. Hepburn, B.K. Purcell, J. Paragas // *Curr. Drug Targets.* – 2007. – V. 8, № 4. – P. 519–532.
7. *Dando M.* The new biological weapons: threat, proliferation, and control / M. Dando. – Boulder: CO Lynne Rienner, 2001. – P. 67–85.
8. *Anderson G.P.* Development of antiricin single domain antibodies toward detection and therapeutic reagents / G.P. Anderson // *Anal Chem.* – 2008. – V. 80, № 24. – P. 9604–9611.

9. *Korcheva V.* Administration of ricin induces a severe inflammatory response via nonredundant stimulation of ERK, JNK, and P38 MAPK and provides a mouse model of hemolytic uremic syndrome / V. Korcheva // *Am. J. Pathol.* – 2005. – V. 166, № 1. – P. 323–339.
10. *Malloy C.D.* Mycotoxins and public health: a review / C.D. Malloy, J.S. Marr // *Journal of Public Health Management and Practice.* – 1997. – V. 3. – P. 61–69.
11. *Rafai P.* Effect of dietary T-2 fusariotoxin concentrations on the health and production of white Pekin duck broilers / P. Rafai // *Poult. Sci.* – 2000. – V. 79, № 11. – P. 1548–1550.
12. *Arthur T.M.* Escherichia coli O157 prevalence and enumeration of aerobic bacteria, Enterobacteriaceae, and Escherichia coli O157 at various steps in commercial beef processing plants / T.M. Arthur // *J. Food Prot.* – 2004. – V. 67. – P. 658–665.
13. *Bunting M.* Alpha toxin from Clostridium perfringens induces proinflammatory changes in endothelial cells / M. Bunting // *J. Clin Invest.* – 1997. – V. 100. – P. 565–574.
14. *Smedley J.C.* The enteric toxins of Clostridium perfringens / J.C. Smedley // *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* – 2004. – V. 152. – P. 183–204.
15. *Robertson A.* First report of saxitoxin in octopi / A. Robertson // *Toxicol.* – 2004. – V. 44. – P. 765–771.
16. *Garcia C.* Paralytic Shellfish poisoning: post-mortem analysis of tissue and body fluid samples from human victims in the Patagonia fjords / C. Garcia // *Toxicol.* – 2004. – V. 43. – P. 149–158.
17. *Ramos A.J.* Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium aluminosilicate addition to feed stuffs: a review / A.J. Ramos, E. Hernandez // *Animal Feed Sci. Technol.* – 1997. – V. 65. – P. 197–206.
18. Компиляция информационных заявлений государств-участников КБО в соответствии с расширенными мерами укрепления доверия, согласованными на третьей Конференции по рассмотрению действия Конвенции. – Нью-Йорк: Организация Объединенных Наций, Департамент по вопросам разоружения, 1992 (документ DDA/4-92/BW3, Add.1, Add.2 и Add.3: Форма F, представленная Российской Федерацией).
19. *Магазов Р.Ш.* Вакцинопрофилактика клостридиальных инфекций / Р.Ш. Магазов, А.П. Савельев, О.П. Мисников и др. – Уфа: Гилем, Башк. энцикл., 2016. – 288 с.
20. *Belibasakis G.N.* Inflammatory and bone remodeling responses to the cytotoxic distending toxins / G.N. Belibasakis, N. Bostanci // *Cells.* – 2014. – V. 3. – P. 236–246.

Оглавление

Перечень сокращений, условных обозначений, символов, единиц и терминов	3
Предисловие	5
Глава 1. Токсины биологического происхождения.	
Понятие и классификация	
1.1. Общие сведения о токсинах биологического происхождения	7
1.2. Химическая природа токсинов животного происхождения, в том числе обитателей морей и океанов	10
1.3. Химическая природа токсинов растительного происхождения, в том числе грибов.....	16
1.3.1. <i>Фитотоксины</i>	16
1.3.2. <i>Микотоксины</i>	21
1.3.3. <i>Яды грибов</i>	26
1.4. Химическая природа токсинов бактериальной природы.....	30
Литература	43
Глава 2. Природа, механизм повреждающего действия, клинические проявления, диагностика отравлений токсинами животного происхождения	45
2.1. Биологические токсины ядовитых змей.	46
2.1.1. <i>Эволюция яда змей</i>	46
2.1.2. <i>Змеиный укус – забытое тропическое заболевание</i>	49
2.1.3. <i>Змеиные укусы – причина множественной патологии</i> ...	52
2.1.4. <i>Характеристика змеиных токсинов</i>	63
2.2. Токсины морского происхождения	67
Литература	97
Глава 3. Этиология, механизм повреждающего действия, клинические проявления, диагностика и профилактика отравлений токсинами растительного происхождения	105
3.1. Токсические свойства фитотоксинов.....	106
3.1.1. <i>Токсические свойства высших растений</i>	107
3.1.2. <i>Характеристика отдельных токсинов растительного происхождения</i>	115

3.2. Токсические свойства грибов.....	123
3.2.1. Токсические свойства низших растений	123
3.2.2. Клиническая картина отравлений грибами-макромицетами.....	136
3.3. Основные методы выявления микотоксинов в пищевых продуктах	140
Литература.....	144
Глава 4. Патогенез, основные клинические проявления, диагностика бактериальных токсинов	
4.1. Характеристика токсинов ботулизма.....	150
4.2. Характеристика токсина столбнячной инфекции	174
4.3. Характеристика токсинов раневых клостридиозов	187
4.4. Характеристика токсинов других актуальных инфекций (стафилококки, шигеллы и др.).....	213
4.5. Морские токсины бактериальной природы.....	245
Литература.....	246
Глава 5. Биологические токсины – потенциальные агенты биотерроризма.....	268
5.1. Историческая справка о токсинах биологического происхождения.....	268
5.2. Биотоксины в качестве средств поражения	273
5.3. Биотоксины как оружие для специальных целей.....	277
5.4. Возможности использования токсинов в биотеррористических целях.....	279
5.4.1. Растительные токсины как составная часть биологического оружия	284
5.4.2. Животные токсины как составная часть биологического оружия	285
5.4.3. Морские токсины как составная часть биологического оружия	286
5.4.4. Бактериальные токсины как составная часть биологического оружия	288
5.4.5. Микотоксины как составная часть биологического оружия	289
5.5. Риботоксины бактериальной и небактериальной природы	291
5.5.1. Риботоксины грибов	291

5.5.2. Летальный фактор микроорганизмов рода <i>Burkholderia</i> (БЛФ1)	292
5.5.3. Рибосомо-инактивирующие пептиды как потенциальные биологические поражающие агенты и потенциальные химические поражающие агенты	294
5.5.4. Разработка средств специфической активной и пассивной профилактики мелиоидоза	295
5.6. Полиморфные токсины	295
5.7. Токсины псевдомонад	298
5.7.1. Экзолизин относится к семейству порообразующих токсинов	300
5.7.2. Аффинность экзолизина к мембранам	301
5.7.3. Вирулентность штаммов <i>P. aeruginosa</i> , секретирующих экзолизин	301
5.7.4. Каспас-1-зависимая гибель макрофагов	303
5.7.5. Воздействие экзолизина на клетки хозяина посредством соединения с ними	304
5.7.6. Структурные особенности экзолизина	305
5.8. Токсины и конвенциональные аспекты	305
5.8.1. Токсины и терроризм	306
5.8.2. Токсины как перспективный компонент нелетального действия	307
5.8.3. Токсины как инкапсулирующие агенты	308
5.8.4. Токсины как полицейские агенты	310
5.8.5. Биорегуляторы	312
5.9. Основные риски дальнейших разработок токсинного оружия	313
5.9.1. Исследования в области токсинов	313
5.9.2. Производство токсинов	315
5.9.3. Технологии применения токсинов	317
Литература	318
Заключение	333
Литература	341

ДЛЯ ЗАМЕТОК



ДЛЯ ЗАМЕТОК



ДЛЯ ЗАМЕТОК



ДЛЯ ЗАМЕТОК



ДЛЯ ЗАМЕТОК





Научное издание

Магазов Риза Шаихьянович, **Степанов** Александр Валентинович,
Чепур Сергей Викторович, **Савельев** Александр Павлович

**ТОКСИНЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
(ПРИРОДА, СТРУКТУРА, БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ
И ДИАГНОСТИКА)**

Под редакцией Р. Ш. Магазова

Редактор *Л. Д. Петрова*

Компьютерная верстка *Е. Т. Хомяковой*

Подписано в печать 27.08.2019. Формат 60×84 ¹/₁₆. Бумага офисная «Снегурочка».

Гарнитура «Таймс». Печать на ризографе.

Усл. печ. л. 20,23. Уч.-изд. л. 22,75.

Тираж 200 экз. Заказ № 20.



ГАУН РБ «Башкирская энциклопедия».
450006, г. Уфа, ул. Революционная, 55. Тел.: (347) 250-06-72.
<http://www.bashenc.ru>
E-mail: gilem@bashenc.ru

Отпечатано в типографии
ООО «Информационно-просветительский центр «Башакадемкнига»».
450006, г. Уфа, ул. Революционная, 55.