

9. Bui Q. T., Prempeh M., Wilensky R. L. Atherosclerotic plaque development // Int. J. Bio-chem. Cell Biol. — 2009. — № 41. — P. 2109 — 2113.

10. Kleemann R., Zadelaar S., Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice // Cardiovasc. Res. — 2008. — № 79. — P. 360 — 376.

РЕЗЮМЕ

И. А. Горбачева, Ю. А. Сычева, П. С. Шабак-Спасский, Л. А. Николаева, Л. Г. Владимировна

Особенности метаболических нарушений у больных с заболеваниями, ассоциированными с атеросклерозом, на фоне функциональных расстройств системы желчеоттока

Приведены результаты оценки патогенетических взаимосвязей атеросклероза и функциональных нарушений системы желчеоттока. Основную группу составили 54 пациента с сердечно-сосудистыми заболеваниями и с установленной дискинезией желчевыводящих путей. В сравнительную группу вошли 20 больных с хроническими формами ИБС. Полученные результаты позволяют считать, что функциональные нарушения системы желчеоттока являются фактором риска прогрессирования атеросклероза, способствуя гиперхолестеринемии и дислипидемии, и должны учитываться в разработке комплексных подходов

к профилактике и лечению заболеваний, обусловленных атеросклерозом.

Ключевые слова: атеросклероз, функциональные нарушения системы желчеоттока, С-реактивный белок.

SUMMARY

I. A. Gorbacheva, Yu. A. Sycheva, P. S. Shabak-Spassky, L. A. Nikolaeva, L. G. Vladimirova

Features of metabolic disorders in the patients with diseases associated with atherosclerosis, on the background of functional bile outflow abnormalities

The paper presents the results of evaluation of the pathogenetic relationship between atherosclerosis and functional abnormalities of the bile outflow. The main group included 54 patients with cardiovascular pathology and biliary dyskinesia. The group of comparison consisted of 20 patients with chronic coronary artery disease. The results suggest that the functional bile outflow abnormality is a risk factor of atherosclerosis progression leading to hypercholesterolemia and dyslipidemia, and should be considered in the development of integrated approaches to prevention and treatment of the diseases caused by atherosclerosis.

Key words: atherosclerosis, functional bile outflow abnormality, C-reactive protein.

© А. С. Кветная, Л. И. Железова, 2014 г.
УДК 616.157:612.111.19

А. С. Кветная, Л. И. Железова

СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ФОСФОТИДИЛХОЛИНА (ЛЕ- ЦИТИНА) НА ПАТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ПНЕВМОКОККА

Отдел микробиологии человека Научно-исследовательского института детских инфекций, Санкт-Петербург; кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова

Пневмококковая инфекция продолжает оставаться актуальной проблемой здравоохранения во всем мире в связи с высокими показателями заболеваемости и смертности, особенно среди детей первых лет жизни, пожилых людей и лиц с хроническими болезнями и развитием целого ряда разнообразных по характеру течения заболеваний: от инвазивных форм, угрожающих жизни (менингит, септицемия, пневмония с бактериемией), до неинвазивных (острый бронхит, пневмония без бактериемии, острый средний отит (ОСО) и синусит) [1 — 4]. В этой связи особую значимость приобретают вопросы, связанные с изучением биологических свойств *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), в частности, факторов патогенности, обеспечива-

ющих ему колонизационную, инвазивную и токсическую функции. Главными факторами патогенности пневмококка считают капсулу и субстанцию С [1 — 5]. Капсула пневмококка — основной фактор вирулентности. Она защищает бактерии от микробицидного потенциала фагоцитов и действия опсонина. Субстанция С пневмококка — тейхоевая кислота клеточной стенки, содержащая холин, специфически взаимодействует с С-реактивным белком, что приводит к активации комплементарного каскада и высвобождению медиаторов острой фазы воспаления. Их накопление в легочной ткани стимулирует миграцию полиморфно-ядерных фагоцитов [3, 5]. Исходя из этого, изучение факторов и условий, влияющих на экспрессию основных факторов патогенности пневмококка, является важной задачей в раскрытии патогенетических механизмов возбудителя, участвующих в развитии пневмококковой инфекции.

Целью работы явилось изучение стимулирующего влияния фосфотидилхолина (лецитина), производного холина, на патогенные свойства *Streptococcus pneumoniae*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования выполнены на базе отдела микробиологии человека ФГБУ «Научно-исследовательский институт детских инфекций ФМБА России» (Санкт-Петербург). В опыте использована жидкая питательная среда, разрабо-

танная в институте [1], приготовленная на основе коммерческого бульона производства Дагестанского НИИ питательных сред (г. Махачкала), с содержанием фосфотидилхолина-лецитина (Lecitin-Standart, Предприятие по производству бактериальных препаратов, г. Харьков, Украина) в концентрации 0,1 – 0,01 г/л. Для контроля использовали среду без лецитина, приготовленную на той же бульонной основе, но с добавлением 20 %-й сыворотки рогатого скота. Влияние лецитина на культуральные, тинкториальные, морфологические, серологические и патогенные свойства *Streptococcus pneumoniae* изучено в эксперименте *in vitro* на трех клинических штаммах пневмококка, выделенных от детей с пневмонией (№ 46 и 605), от ребенка с гнойным отитом (№ 7858), а также на референс-штамме *Streptococcus pneumoniae* (АТСС № 49619). Проведена сравнительная оценка влияния лецитина на культуральные, тинкториальные, морфологические, серологические и патогенные свойства испытуемых штаммов *Streptococcus pneumoniae* до постановки опыта, после пассажей на питательном бульоне с лецитином и контрольной среде без лецитина – на 20 %-м сывороточном бульоне (аминный азот, рН 7,2 – 7,4). Для контрольной и опытной сред в качестве инокулята использовали 6-тичасовые культуры пневмококка, выращенные на бульоне (аминный азот, рН 7,2 – 7,4) с 20 %-й сыворотки крупного рогатого скота. Количество жизнеспособных микробных клеток (колониеобразующих единиц – КОЕ) инокулята при постановке опыта и контроля составляло $2,5 \times 10^5$ м. кл./мл. Периодическое культивирование испытуемых штаммов осуществлялось на шуттель-аппарате при 37°C, в колбах емкостью 0,2 л, содержащих по 50 мл питательной среды. Отбор проб для пересева на 5 %-й кровяной агар производили через 3, 6, 9 и 18 часов инкубации. КОЕ, выраженные в lg, вычисляли по количеству сформировавшихся колоний в посевах на 5 %-ом кровяном агаре. Для изучения адгезивной активности испытуемых штаммов пневмококка использовали модель фарингеального эпителия [2, 4]. О степени адгезивности штаммов к эпителиальным клеткам судили по индексу адгезивности (ИА) – среднему количеству микробных клеток, прикрепившихся к 1 эпителиоциту, из 50 – 100 сосчитанных клеток фарингеального эпителия. Использовали следующие критерии адгезивности: «низкая» – <20 м. кл./эпителиоцит; «средняя» – >20 – <50 м. кл./эпителиоцит; «высокая» – >50 м. кл./эпителиоцит. Определение вирулентности пневмококка проводили на белых беспородных мышях массой 14 – 16 г путем внутрибрюшного введения различных доз суточной культуры жизнеспособных клеток пневмококка, смытых с 5 %-го кровяного агара физиологическим раствором (рН 7,2 – 7,4). Уровень вирулентности устанавливали по LD_{50} для мышей [4]. Исследова-

ния выполнены с соблюдением всех требований Хельсинской декларации по гуманному обращению с животными и директивами Совета Европейского сообщества по защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. Опытную группу животных (n = 10) заражали суточными культурами штаммов пневмококка (КОЕ $\times 10^5$ м.кл./мл), выросших на бульоне с лецитином (0,1 – 0,01 г/мл), после 4 – 5-кратных пассажей. Контрольную группу (n = 10) мышей заражали суточными культурами штаммов пневмококка (КОЕ $\times 10^5$ м.кл./мл), выросших на 20 %-м сывороточном бульоне без лецитина (аминный азот, рН 7,2 – 7,4).

Полученные экспериментальные данные статистически обрабатывали, достоверность различий определяли с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведена сравнительная оценка влияния лецитина на культуральные, тинкториальные, морфологические, серологические и патогенные свойства испытуемых штаммов *Streptococcus pneumoniae* до постановки опыта, после 4 – 5-кратных пассажей на питательном бульоне с лецитином (0,1 – 0,01 г/л) и контрольной среде без лецитина – на 20 %-м сывороточном бульоне (аминный азот, рН 7,2 – 7,4). Все штаммы пневмококка, взятые в опыт, были представлены типичными грамположительными диплококками с выраженной капсулой. На 5 %-м кровяном агаре они росли в виде плоских, полупрозрачных, блестящих колоний величиной от 1 до 2 мм в диаметре, обладали α -гемолитической активностью и были чувствительны к оптохину в концентрации 6 мкг/мл (зона ингибиции составляла ≥ 18 мм). По антигенной структуре клинические изоляты относились к пятому (№ 7858), шестому (№ 605) и четырнадцатому (№ 46) сероварам и характеризовались средним и низким уровнями вирулентности для белых мышей (LD_{50} для белых мышей была в пределах ≤ 3 lg КОЕ/мл – ≥ 6 lg КОЕ/мл).

Результаты испытания штаммов пневмококка на средах с содержанием лецитина 0,1 – 0,01 г/л свидетельствовали о стимулирующем влиянии лецитина на рост и размножение испытуемых штаммов пневмококка. Концентрация лецитина в среде 0,1 г/л оказывала стимулирующий эффект уже после 2 часов инкубации. Регистрировали увеличение КОЕ на 1 lg. Однако в более поздние сроки инкубации (9, 18 и более часов), наоборот, имело место практически полное исчезновение жизнеспособных клеток пневмококка (p < 0,05). По-видимому, концентрация лецитина 0,1 г/л после 9 часов инкубации активирует муромидазу аутолитической системы молодых клеток пневмококка, и к 9 – 18 часам инкубации мы имели

Уровень адгезивности штаммов *S. pneumoniae* в процессе 4–5-кратных пассажей на среде с лецитином (0,01 г/л)

Испытуемые штаммы <i>S. pneumoniae</i>	Адгезивность штаммов <i>S. pneumoniae</i> *		
	"исходная"	пассирование в питательном бульоне с лецитином	пассирование в 20 %-м сывороточном бульоне
Штамм № 7858, серовар 5 (выделенный от пациента с гнойным отитом)	40 м.кл./эпителиоцит	150 м.кл./эпителиоцит*	5 м.кл./эпителиоцит
Штамм № 605, серовар 6 (выделенный от пациента с пневмонией)	10 м.кл./эпителиоцит	80 м.кл./эпителиоцит*	5 м.кл./эпителиоцит
Штамм № 46, серовар 14 (выделенный от пациента с пневмонией)	35 м.кл./эпителиоцит	200 м.кл./эпителиоцит*	4 м.кл./эпителиоцит
АТСС штамм <i>S. pneumoniae</i> № 49619	45 м.кл./эпителиоцит	170 м.кл./эпителиоцит*	12 м.кл./эпителиоцит

* – показатели достоверны (0,05).

дело практически с аутолизированной культурой испытуемых штаммов. Вместе с тем при выращивании испытуемых штаммов на бульоне с лецитином в концентрации 0,01 г/л к 2–4-м часам инкубации наблюдали увеличение КОЕ на 1–2 lg, к 9-ти часам – на 2–4 lg.

Сравнительная оценка биологических свойств «исходных» штаммов пневмококка и после проведения опыта с лецитином (0,01 г/л) свидетельствовала о сохранении видовых и серотиповых свойств у испытуемых штаммов. Средний диаметр колоний пневмококка, выросших на 5 %-м кровяном агаре, после предварительного подрачивания на среде с концентрацией лецитина в пределах 0,01 г/л превышал тот же показатель в контроле на 0,5–2,5 мм. Испытуемые штаммы пневмококка росли в виде блестящих, полупрозрачных колоний с ровными краями и выраженной зонной α -гемолиза, сохраняли чувствительность к оптохину в концентрации 6 мкг/мл (зона ингибиции роста микроорганизма составляла ≥ 18 мм). Микроструктура колоний была представлена диплококками с более выраженной капсулой. Кроме того, 4–5-кратные пассажи испытуемых штаммов на среде, содержащей оптимальную концентрацию (0,01 г/л) лецитина, не изменяли серологические свойства штаммов, но сопровождалась увеличением их адгезивной активности (таблица) и повышением ΔD_{50} для белых мышей на 2 и более lg.

Таким образом, полученные результаты позволяют считать лецитин поставщиком холина – основного структурного компонента тейхоевой (С-карбогидрат) и липотейхоевой кислот, необходимых для конструирования клеточной стенки пневмококка. Необходимо отметить, что потребность пневмококка в холине, хотя и не имеет непосредственного отношения к детерминантам патогенности, видимо, существенна для экспрессии вирулентности пневмококка в связи с обеспечением ему функции питания. И если учесть, что сурфактант легкого, мозговая ткань и мембрана клеток респираторного тракта содержат до 80 % фосфотидилхолина

(лецитина), который, как показали проведенные эксперименты, оказывает стимулирующее влияние на физиологию пневмококка, в том числе и патогенные свойства, то экстраполяция полученных нами данных на процессы, происходящие в организме, предполагает развитие механизмов, способствующих проявлению вторичной выработанной колонизации пневмококка в органах с высоким содержанием этого соединения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кветная А. С., Железова Л. И. Экспериментальное обоснование эффективности фосфотидилхолина (лецитина) на физиологию пневмококка // Медицинский алфавит. Эпидемиология и гигиена. – 2013. – № 1. – С. 18–21.
2. Кветная А. С., Костюкова Н. Н., Иванова В. В., Волкова М. О. Адгезия *Streptococcus pneumoniae* // Журн. микробиол. – 1995. – № 5. – С. 23–26.
3. Козлов Р. С. Пневмококки: прошлое, настоящее и будущее. – Смоленск, 2005. – 128 с.
4. Костюкова Н. Н., Кветная А. С., Волкова М. О., Иванова В. В. Факторы патогенности штаммов *Streptococcus pneumoniae*, вызывающих менингит // Журн. микробиол. – 1996. – № 3. – С. 47–49.
5. Покровский В. И., Брико Н. И., Ряпис Л. А. Стрептококки и стрептококкозы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006.

РЕЗЮМЕ

А. С. Кветная, Л. И. Железова

Стимулирующее влияние фосфотидилхолина (лецитина) на патогенные свойства пневмококка

Изучено влияние на биологические свойства *Streptococcus pneumoniae* фосфотидилхолина (лецитина), производного холина. Установлено, что концентрация 0,01 г/л лецитина в простом питательном бульоне оказывала стимулирующий эффект на размножение, стабилизацию популяции *in vitro* и патогенные свойства пневмококка. 4–5-кратное пассирование штаммов на данной среде не изменяло видовые и типовые свойства пневмококка, но приводило к усилению капсулообразования, повышению вирулентности и адгезивности. Полученные результаты позволяют предположить, что фосфотидилхолин (лецитин), являясь поставщиком холина – стимулятора роста пневмококка, оказывает тем самым экспрессирующее влияние на капсулообразование основного фактора патогенности и субстанцию С-тейхоевой кислоты клеточной стенки пневмококка, специфически взаимодействующей с С-реактивным белком.

Ключевые слова: пневмококк, факторы патогенности, фосфотидилхолин, лецитин.

SUMMARY

A. S. Kvetnaya, L. I. Zhelezova

Phosphatidylcholine (lecithin) stimulating effect on pathogenic properties of pneumococcus.

The authors have studied the effect of phosphatidylcholine (lecithin) – a derivative of choline – on the biological properties

of streptococcus pneumonia. The concentration of lecithin 0.01 g/l in a simple nutrient broth has a stimulating effect on proliferation, on *in vitro* stabilization of the population, and on pathogenic properties of the pneumococcus. Four – five times passaging of the strains on this medium (as opposed to the commonly used 20 % serum broth) retained the species and the typical properties of pneumococcus, but led to increased capsule formation, increased virulence and expressed β -hemolytic activity.

These results suggest that phosphatidylcholine (lecithin), as the main supplier of pneumococcus growth stimulant – choline, has an expressing impact on the capsule formation – the main pathogenic factor, and on the substance of P-teichoic acid in the cell wall of pneumococcus that specifically interacts with the C-reactive protein.

Key words: *Streptococcus pneumoniae*, pathogenicity factors, phosphatidylcholine, lecithin.

© О. Л. Романова, 2014 г.
УДК 616.5-002.525.4-072.7

О. Л. Романова

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА АКНЕ

Кафедра дерматовенерологии с клиникой, Межклиническое отделение лазерной медицины Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова

Acne – хроническое рецидивирующее заболевание кожи преимущественно лиц молодого возраста, являющееся результатом гиперпродукции кожного сала и закупорки гиперплазированных сальных желез с последующим их воспалением. Угри и их последствия негативно влияют на психику пациентов, вызывая тревогу и депрессию, существенно снижают их самооценку и качество жизни.

В фокусе внимания дерматологов остается усиленная колонизация *Propionibacterium acnes*. Известно, что уже на стадии микрокомедонов отмечается колонизация *P. acnes* в фолликуле, масштабы которой увеличиваются в «закрытых» и «открытых» комедонах. По современным представлениям, именно *P. acnes* играют основную роль в превращении комедонов в воспалительные высыпания. Количество бактерий в высыпаниях не коррелирует с тяжестью заболевания. Наиболее высокая степень колонизации наблюдается при комедональной и папулопустулезной формах. Невысокое содержание этих микроорганизмов в узловатокистозных акне объясняется фагоцитозом *P. acnes* клетками микроокружения и генерацией лейкоцитами различных активных форм кислорода, действующих на микроаэрофильные бактерии. Существует мнение, что именно *P. acnes* вырабатывают порфирины, которые под влиянием видимого света вызывают фотодинамическую реакцию, губительно действующую на патогенные штаммы. Предполагается также, что в коже человека в присутствии определенного количества порфиринов происходит разрушение *P. acnes* сальных желез.

Повышение накопления протопорфирина-9 в патологически измененных тканях сопровождается общим повышением флуоресценции собственных

тканей. Выявленные различия в спектрах лазерно-индуцированной флуоресценции тканей отражают особенности их метаболизма и могут быть использованы в качестве диагностических критериев.

Зарубежными исследователями показано, что *Propionibacterium acnes* производят большое количество внутриклеточных порфиринов и способны к созданию эндогенных порфиринов. Культуральные исследования демонстрировали пики эмиссии приблизительно 612 нм и 405 нм, которые являются характерными для порфиринов. Порфирины, продуцируемые *P. acnes* главным образом являются копропорфиринами. Использование 5-аминолевуленовой кислоты увеличивало внутриклеточный синтез порфирина, и были отмечены более высокие показатели копропорфирина. Снижение *P. acnes* эндогенными порфиринами было зафиксировано после освещения интенсивным синим светом в 407 – 420 нм в два раза. Лучший фотодинамический эффект был получен, когда культуры были освещены дважды или три раза последовательно с легкой дозой 75 Дж и интервалом в 24 часа между освещением. Освещение эндогенного копропорфирина синим светом (407 – 420 нм), очевидно, играет главную роль в фотоинактивации *P. acnes*.

Lee, Shalita и Poh-Fitzpatrick обнаружили что *Propionibacterium acnes* синтезируют копропорфирин-3, который ответственен за хорошо известную оранжево-красную фолликулярную флуоресценцию. Интенсивность флуоресценции пропорциональна плотности *Propionibacterium acnes* и уменьшается под эффективной антибактериальной терапией [7].

Объективная оценка комедолизиса в условиях *in vivo* была продемонстрирована на мышах в комбинации с топическим применением ретиноидной кислоты как комедолитического агента с использованием спектральной флуоресценции в оценке невоспалительных акне. Результаты указывают, что имеется высокая корреляционная связь между спектральными особенностями в возбуждении флуоресценции и гистологическими изменениями. Авторы считают, что спектральная флуоресценция является многообещающим новым и полезным методом в количественной оценке псевдокомедонов