

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА АНТИМИКОТИЧЕСКИХ ФИТОПРЕПАРАТОВ

Экспериментально-клинически обоснован выбор антимикотической терапии фитопрепаратами под контролем антилизоцимной и липолитической активности *Candida albicans*.

42 штамма грибов *C. albicans*, выделенные из кишечного микробиоценоза от пациентов с дисплазией соединительной ткани (ДСТ) и дисбиозом кишечника 2–3 степени с гиперколонизацией грибами рода *Candida*. Антилизоцимную активность (АЛА) дрожжевых грибов определяли в мкг/мл\*ОП по методике О.В. Бухарина с соавт., 1999, липолитическую активность (ЛА) – в мм, методом Slifkin, 2000. В качестве фитосредств использовали 7 эфирных масел и настои 6 видов лекарственных растений. Клиническая эффективность фитотерапии оценивалась по динамике кишечного микросимбиоза и частоте развития соматических заболеваний у 59 детей с дисплазией соединительной ткани (ДСТ), получавших лечение фитопрепаратами, группу сравнения составили 36 детей.

Использование АЛА и ЛА *C. albicans* в качестве биомаркера позволило отобрать фитосредства с максимальным ингибирующим эффектом (на 60% и более от исходного уровня) в отношении биологических свойств грибов: настои *Artemisia absinthium* L. и *Rosa cinnamomea* L., среди растительных ароматических веществ: *Juniperus communis* L., *Citrus limon burm.*, *Dianthus*, *Melissa officinalis* Chaix. и *Aloe arborescens* mill. Проведенные клинико-бактериологические исследования подтвердили эффективность отобранных лекарственных фитосредств, которая проявлялась в снижении частоты встречаемости кандидозного дисбиоза у пациентов с ДСТ с 94,0±3,1% (до лечения) до 71,2±5,9% ( $p < 0,05$ ) после лечения и урежении случаев соматических заболеваний до 11,9±4,2% в исследуемой группе против 30,5±7,7% в группе сравнения ( $p < 0,05$ ).

Заключение: полученные экспериментально-клинические данные свидетельствуют о целесообразности способа отбора эффективных антимикотических средств, основанного на ингибировании антилизоцимной и липолитической активности *C. albicans*.

Ключевые слова: *Candida albicans*, настои лекарственных растений, эфирные масла, антилизоцимная активность, липолитическая активность, биомаркер.

### Введение

Антимикотическая терапия в настоящее время представлена широким арсеналом лекарственных препаратов для подавления жизнедеятельности гриба-возбудителя, включая антимикотики как синтетического, так и природного происхождения [1], [2]. Большую актуальность приобретают исследования, направленные на поиск эффективных, немедикаментозных, альтернативных методов лечения микозов препаратами лекарственных растений. Широкое использование антибиотиков привело к снижению интереса к применению фитопрепаратов в качестве антимикробной терапии. Однако, ряд серьезных осложнений антибиотикотерапии, таких как развитие аллергических реакций, токсических состояний, сопровождающихся нарушением колонизационной резистентности кишечника, формирование антибиотикорезистентных штаммов бактерий и грибов, а также отсутствие эффекта при лечении заболеваний грибковой этиологии, послужило толчком к возрастающему

интересу врачей к лекарственным растениям с антимикотическим действием [3], [4]. Известен фунгистатический эффект эфирных масел чайного дерева, гвоздики, туи и других растений [1], [2]. Однако, далек от разрешения вопрос о критериях патогенности и персистенции грибов, что в значительной степени тормозит поиск эффективных средств борьбы с микозами. В качестве критериев оценки патогенного потенциала клинических штаммов *Candida* spp. рассматриваются адгезия и резистентность к антимикотическим препаратам [5]. Известно, что адгезивная способность, во многом, определяется наличием у грибов липолитической активности, а *Candida albicans* является продуцентом экстрацеллюлярных гидролитических энзимов, среди которых липазы, фосфолипазы и секретируемые аспартат протеиназы представляются значимыми факторами вирулентности грибов [6], [7]. Подтверждением тому – результаты работы Bramono K. с соавт. [8], выявивших у клинических штаммов *Candida* spp. наличие коррелятивной связи

между протеиназной активностью, липазной и  $\alpha$ -глюкозидазной активностью, с одной стороны, и ростом грибов, с другой. Если к тому же учесть, что ингибирующее действие на рост *Candida albicans* и продукцию секретруемых протеиназ оказывает лизоцим (фактор врождённого иммунитета), высокие концентрации которого индуцируют кандидацидный эффект, а низкие – снижают количество секретруемых грибами протеиназ в 5 раз, угнетая рост грибов [9], то можно предположить, что в условиях инфицированного организма антилизоцимный фактор грибов, как компонент их персистентного потенциала, может рассматриваться в качестве «биомишени», пригодной для отбора эффективных лекарственных антимикотиков [10], обрывающих персистенцию грибов в организме хозяина.

В связи с этим целью нашей работы явилось экспериментально-клиническое изучение эффективности антимикотической терапии фитопрепаратами, подавляющими антилизоцимную и липолитическую активности *Candida albicans*.

#### **Материалы и методы**

В работе использованы 42 штамма грибов *Candida albicans*, выделенных у пациентов 6–16 лет с дисплазией соединительной ткани и дисбиозом кишечника 2–3 степени. Высев грибов из клинического материала (испражнения) производили на плотные питательные среды: Кандид-агар, Сабуро-агар, после чего выросшие типичные колонии дрожжевых грибов отсеивали и идентифицировали на основании морфологических свойств. Изолированные штаммы грибов имели характерные культуральные признаки: рост на плотных питательных средах в виде белых сметанообразных колоний и в жидких питательных средах – помутнение питательного бульона с образованием кольца. На основании положительного теста по образованию ростовых трубок и хламидоспор, исследуемые штаммы грибов были предварительно отнесены к виду *C. albicans*. У данных культур был оценен биохимический профиль (определение ассимиляции грибами питательных субстратов) с использованием коммерческой тест-системы «API 20C AUX» («BioMérieux», Франция).

Оценку эффективности влияния лекарственных растений на штаммы *C. albicans* проводили под контролем изменений экспрессии антилизоцимной и липолитической активности грибов.

Антилизоцимную активность (АЛА) дрожжевых грибов определяли фотометрическим методом по методике О.В. Бухарина с соавт. [11], где использовали супернатанты (экзометаболиты) грибов, полученные при культивировании *C. albicans* в питательном бульоне в течение 48 часов при температуре 37°С, после чего супернатант микромицетов соинкубировали с лизоцимом. Антилизоцимную активность экзометаболитов грибов определяли с использованием тест-штамма *M. luteus*. Измерение оптической плотности производили на фотометре Elix 808 при длине волны 540 нм. Полученные результаты по экспрессивности антилизоцимной активности выражали в мкг/мл на единицу оптической плотности (мкг/мл\*ОП).

Липолитическую активность (ЛА) грибов определяли на плотной питательной среде по методу Slifkin, 2000. В агаровую среду, приготовленную из Бактопептона (BD Biosciences, Sparks, Md), 5,0 г NaCl, 0,1 CaCl<sub>2</sub>, 15,0 агара и 1,000 мл дистиллированной воды, добавляли 5 мл Tween-80 (Sigma, St.Louis, Mo.). Исследуемые культуры грибов засеивали «пяточками» на среды и инкубировали при 30°С до 10 дней. Наличие зоны помутнения вокруг роста культур на среде с Tween-80, свидетельствовало о положительном результате, а исследуемые штаммы грибов обладали липолитической активностью, продуцируя липазу [12]. Экспрессию ЛА измеряли по диаметру зоны помутнения вокруг колонии на плотной питательной среде с Твином-80 и выражали в миллиметрах (мм).

При изучении антимикотического эффекта фитопрепараты использовали в виде настоев и эфирных масел. Для приготовления настоев лекарственных растений были использованы: *Matricaria chamomilla* L. (цветки ромашки), *Rosa cinnamomea* L. (плоды шиповника), *Artemisia absinthium* L. (трава полыни), *Tanacetum vulgare* L. (цветы пижмы), *Betula verrucosa* ehrh. (листья берёзы), *Taraxacum officinale* wig. (листья одуванчика) (фасовочный отдел центрального аптечного склада Оренбургского аптечного управления). Для изучения влияния

растительных ароматических веществ (РАВ) на антилизоцимную (АЛА) и липолитическую активность (ЛА) дрожжевых грибов использовали эфирные масла *Lavandula officinalis* Chaix. (лаванды), *Juniperus communis* L. (можжевельника), *Citrus limon* burm. (лимона), *Dianthus* (гвоздики), *Melissa officinalis* Chaix. (мелиссы), *Aloe arborescens* mill. (алоэ), *Thea sinensis* L. (чайного дерева) (ООО ТПК «Ароматы жизни», Москва). Опытные пробы содержали 1/2 минимальной подавляющей (субмикростатической) концентрации РАВ.

При приготовлении растительных настоев травы измельчали и помещали в стерильные флаконы, заливая водой, закрывали пробкой и ставили на кипящую водяную баню. Настой нагревали в течение 15 минут. После нагревания сосуд охлаждали при комнатной температуре и процеживали. Соотношение сырья и воды составляло 1/30–1/40. Брли 1/100 часть от разовой терапевтической дозы настоя [13] и смешивали с 1,5% мясопептонным агаром. Приготовленную фитосреду засеивали микропипеткой взвесьями ( $1,0 \times 10^7$  микробных клеток) исследуемых дрожжевых грибов, инкубировали в течение 1 часа в термостате, после чего определяли их антилизоцимную активность. Контролем служили культуры, выращенные без фитосредств. Оценку результатов действия фитопрепаратов проводили по изменению экспрессии липолитической и антилизоцимной активности грибов. При снижении АЛА и ЛА *C. albicans* на 20% и более от исходного уровня препарат считался эффективным. Количественная оценка влияния лекарственных растений на антилизоцимную активность *Candida albicans* проводилась по следующим критериям: 1 балл – изменение признака на 20–40%; 2 балла – изменение признака на 40–60%; 3 балла – изменение признака на 60% и более от исходного уровня. В обязательном порядке учитывалось наличие однонаправленного – ингибирующего АЛА дрожжевых грибов эффекта более чем у 75% исследуемых культур [11]. Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) эфирных масел растений определяли методом серийных микроразведений.

Оценку эффективности фитотерапии проводили на пациентах (дети в возрасте 6–16 лет), имеющих симптомы дисплазии соединитель-

ной ткани. Клинический выбор группы пациентов для оценки эффективности фитотерапии был обусловлен тем, что дисплазия соединительной ткани, с одной стороны, является фактором риска развития соматической патологии, а с другой – сопровождается нарушением кишечного микросимбиоза с гиперколонизацией грибами рода *Candida* [14], [15]. Первая исследуемая группа состояла из 59 детей, которые получали препараты лекарственных растений, ингибирующих антилизоцимную и липолитическую активность дрожжевых грибов, курсами от 4 до 6 недель, повторяющимися не реже одного раза в 3 месяца в течение двух лет. Вторую группу (группа сравнения) составили 36 детей, которым лечение фитопрепаратами не проводилось.

Эффективность используемых лекарственных растений оценивалась по динамике нарушений кишечного микробиоценоза и клинического состояния – по частоте развития соматических заболеваний при наблюдении в катамнезе через 6, 12, 18 и 24 месяца.

Данные, полученные в результате исследования, статистически обработаны с помощью параметрических методов с вычислением критерия Стьюдента – Фишера и непараметрического метода определения одностороннего и двухстороннего t-критерия Вилкоксона [16] в компьютерной оболочке Windows с помощью процессора электронных таблиц Excel и программы «Biostat».

### Результаты

Используя определение изменений уровня антилизоцимной активности и липолитической активности *Candida* spp. до и после воздействия фитопрепаратов мы отбирали препараты лекарственных растений, оказывающих выраженное ингибирующее действие в отношении данных биологических свойств грибов. Это был один из ведущих критериев эффективности, тогда как стимулирующее действие в отношении АЛА или ЛА дрожжевых грибов или индифферентность (отсутствие эффекта) более чем у 20% исследуемых штаммов грибов, свидетельствовало о низкой антифунгальной активности фитосредств, либо её отсутствии. Важным критерием эффективности явилось так же определение экспрессивности АЛА и

липолитической активности дрожжевых грибов до и после воздействия препаратами лекарственных растений.

Полученные нами данные о влиянии препаратов лекарственных растений на антилизоцимную активность и липолитическую активность грибов рода *Candida* представлены в таблицах 1 и 2.

Изучение влияния настоев лекарственных растений и растительных ароматических веществ (РАВ) на антилизоцимную активность *Candida albicans* in vitro показало, что к потенциально эффективным антимикотическим фитопрепаратам следует отнести настой *Artemisia absinthium* L. (полыни), который демонстрировал высокий ингибирующий эффект в отношении АЛА – на 60% и более от исходного уровня (3балла) у 91,6% штаммов грибов и настоев плодов *Rosa cinnamomea* L. (шиповника), сни-

жающий уровень антилизоцимной активности также на 60% и более от исходного уровня у 75,0% штаммов *C. albicans*.

В группу активных антимикотических средств мы включили все семь исследуемых растительных ароматических веществ, обладающих высокой ингибирующей способностью в отношении антилизоцимного признака дрожжевых грибов: *Juniperus communis* L., *Citrus limon* burm., *Lavandula officinalis* Chaix., *Dianthus*, *Melissa officinalis* Chaix., *Thea sinensis* и *Aloe arborescens* mill. которые снижали антилизоцимную активность на 60% и более от исходного уровня у подавляющего большинства (83,1–98,4%) штаммов *Candida albicans*.

Средний уровень ингибирующего действия на антилизоцимную активность *C. albicans* оказывали настои *Matricaria chamomilla* L. и *Tanacetum vulgare* L., снижающие АЛА на 40–60% (2балла).

Таблица 1. Ингибирующее влияние настоев лекарственных растений и эфирных масел на антилизоцимную активность *Candida albicans* (n=12)

Фитопрепараты		АЛА штаммов	
		Экспрессивность (в баллах)	пенетрантность М±m,%
Настои	Полынь ( <i>Artemisia absinthium</i> L.)	-3	91,6±8,0
	Шиповник ( <i>Rosa cinnamomea</i> L.)	-3	75±12,5
	Ромашка ( <i>Matricaria chamomilla</i> L.)	-2	75±12,5
	Пижма ( <i>Tanacetum vulgare</i> L.)	-2	66,6±13,6
	Береза ( <i>Betula verrucosa</i> ehrh.)	-2	33,3±13,6
	Одуванчик ( <i>Taraxacum officinale</i> wig.)	-1	66,6±13,6
эфирные масла	Лимон ( <i>Citrus limon</i> burm.)	-3	96,7±3,1
	Гвоздика ( <i>Dianthus</i> )	-3	90,0±5,5
	Можжевельник ( <i>Juniperus communis</i> L.)	-3	86,7±6,1
	Алоэ ( <i>Aloe arborescens</i> mill.)	-3	86,7±6,1
	Лаванда ( <i>Lavandula officinalis</i> Chaix.)	-3	83,3±6,8
	Мелисса ( <i>Melissa officinalis</i> Chaix.)	-3	83,3±6,8
	Чайное дерево ( <i>Thea sinensis</i> L.)	-2	60,0±8,9

Примечание: «-» – снижение признака; «1 балл» – изменение признака на 20-40%; «2 балла» – изменение признака на 40-60%; «3 балла» – изменение признака на 60% и более от исходного уровня.

Отсутствие стимулирующего эффекта в отношении антилизоцимной активности дрожжевых грибов у настоя ромашки (*Matricaria chamomilla* L.) позволило отнести его в группу эффективных антимикотических средств. В то же время, фитопрепарат *Tanacetum vulgare* L. (пижмы) характеризовался разнонаправленным действием на антилизоцимную активность и, наряду с ингибированием, повышал АЛА на 40–60% от исходного уровня у 16,6% штаммов дрожжевых грибов, что послужило причиной для исключения настоя пижмы из группы эффективных антимикотических препаратов.

Учитывая, что настой *Betula verrucosa* Ehrh. (берёзы) также снижал экспрессию антилизоцимной активности *C. albicans* на 40–60% от исходного уровня, но лишь у 1/3 штаммов дрожжевых грибов, при наличии стимулирующего влияния на АЛА у 1/4 штаммов и отсутствии эффекта в отношении антилизоцимного признака более чем у 1/3 штаммов дрожжевых грибов, настой берёзы так же отнесли в группу неэффективных средств.

Аналогичным образом из перечня эффективных антимикотиков был исключен настой одуванчика (*Taraxacum officinale* wig.), который снижал изучаемый персистентный признак всего лишь на 20,0% от исходного уровня (1балл) более чем у половины исследуемых штаммов, одновременно повышая антилизо-

цимную активность на 20,0% от исходного уровня у 1/5 штаммов *Candida albicans* или вообще не оказывал эффекта на АЛА у 1/5 штаммов дрожжевых грибов, что позволило исключить этот препарат из числа эффективных.

Что же касается использования в качестве биомаркера другого признака грибов – липолитической активности, было установлено, что у 30,0–90,0% штаммов *C. albicans* происходило снижение экспрессии ЛА (уменьшение диаметра зон помутнения вокруг колоний от 3 до 5 мм;  $p < 0,05$ ) под действием растительных ароматических веществ, таких как *Lavandula officinalis* Chaix. (лаванды), *Juniperus communis* L. (можжевельника), *Citrus limon* burm. (лимона), *Dianthus* (гвоздики), *Melissa officinalis* Chaix. (мелиссы), *Aloe arborescens* mill. (алоэ), *Thea sinensis* L. (чайного дерева).

В итоге были отобраны наиболее перспективные фитопрепараты, оказывающие выраженное ингибирующее действие в отношении антилизоцимной и липолитической активности грибов, при подборе антимикотических средств. Ими оказались – настои *Artemisia absinthium* L. (полыни) и *Rosa cinnamomea* L. (шиповника), а также растительные ароматические вещества: *Lavandula officinalis* Chaix. (лаванды), *Thea sinensis* L. (чайного дерева), *Juniperus communis* L. (можжевельника), *Citrus limon* burm. (лимона), максимально ингибиру-

Таблица 2. Ингибирующее влияние эфирных масел на липолитическую активность *Candida albicans* (n=30)

Эфирные масла	Липолитическая активность	
	Экспрессивность (в баллах)	пенетрантность М±m,%
Можжевельник ( <i>Juniperus communis</i> L.)	-3	90,0±5,5
Лаванда ( <i>Lavandula officinalis</i> Chaix.)	-3	86,7±6,1
Лимон ( <i>Citrus limon</i> burm.)	-3	83,3±6,8
Чайное дерево ( <i>Thea sinensis</i> L.)	-2	76,7±7,8
Гвоздика ( <i>Dianthus</i> )	-1	40,0±8,9
Алоэ ( <i>Aloe arborescens</i> mill.)	-1	36,7±8,8
Мелисса ( <i>Melissa officinalis</i> Chaix.)	-1	30,0±8,3

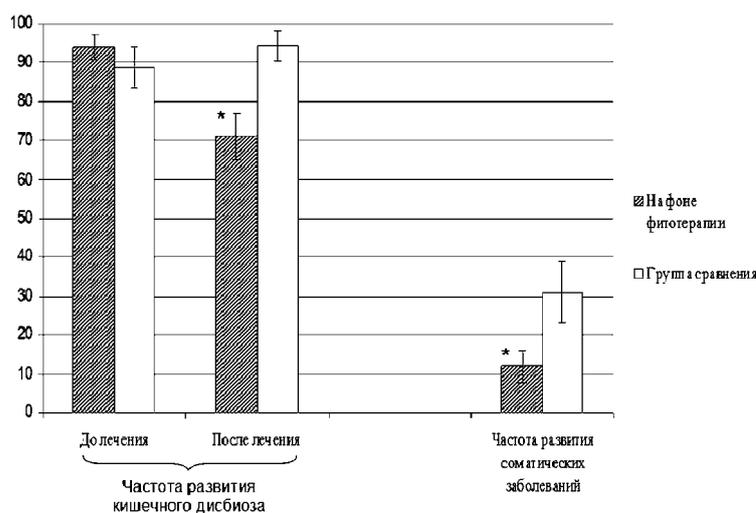
Примечание: «-» – снижение признака; «1 балл» – изменение признака на 20–40%; «2 балла» – изменение признака на 40–60%; «3 балла» – изменение признака на 60% и более от исходного уровня.

ющие как антилизоцимную, так и липолитическую активность *S. albicans*.

На следующем этапе работы после проведения инвитральных экспериментов нами была проведена клиническая апробация разработанного способа выбора антимикотических фитосредств. В качестве клинической модели с этой целью мы сформировали группу детей с дисплазией соединительной ткани. Прежде всего, это обусловлено тем, что соединительная ткань, как известно, является важной интегративной системой, выполняющей ряд жизненно важных функций и работающей в единстве с иммунной системой при участии кишечного микробиоценоза. В тоже время, многочисленные литературные источники свидетельствуют о высокой частоте встречаемости диспластического статуса у детей с различными персистирующими, хроническими соматическими заболеваниями [17], [18]. Особенно высока частота развития патологии опорно – двигательного аппарата (артриты, артрозы), сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной системы, являющихся основными органами-мишенями, которые вовлекаются в патологический процесс при транслокации кишечных бактерий и грибов [14], [15]. Установлено, что у детей с ДСТ дисбиоз толстого кишечника встречается в 8

раз чаще в сравнении со здоровыми детьми ( $p < 0,001$ ). Выявлена прямая корреляция между тяжестью нарушений кишечного микробиоценоза, гиперколонизацией дрожжевыми грибами, достигающей 70,1% и экспрессивностью симптомов диспластического статуса [15]. Эти факты определили целесообразность использования коррекции кишечного микробиоценоза, включающей антимикотическую фитотерапию, в качестве превентивного фактора, предупреждающего развитие острых и хронических соматических заболеваний у детей.

Проведённые клиничко-бактериологические исследования подтвердили эффективность использования лекарственных растений у детей с дисплазией соединительной ткани, сопровождающейся гиперколонизацией кишечника грибами рода *Candida* (рис. 1). Положительный эффект проявлялся в снижении частоты встречаемости кандидозного дисбиоза у пациентов исследуемой группы с  $94,0 \pm 3,1\%$  (до лечения) до  $71,2 \pm 5,9\%$  после лечения ( $p < 0,05$ ), в то время как в группе сравнения этот показатель был в пределах физиологических колебаний ( $88,8 \pm 5,26\%$  и  $94,4 \pm 3,8\%$ ). Снижение гиперколонизации дрожжевыми грибами отмечалось у 22,8% детей, из них у 10,2% пациентов имела место полная эрадикация, у 12,6% – снижение показателя микробной обсеменённости грибами с  $10^5 - 10^7$  КОЕ/мл до  $10^2 - 10^3$  КОЕ/мл. Кроме того,



\* –  $p < 0,05$  (критерий достоверности различия показателей исследуемой группы и группы сравнения).

Рисунок 1. Клиническая эффективность фитопрепаратов, ингибирующих АЛА и ЛА *Candida albicans*

за время наблюдения у лиц исследуемой группы снизилась частота развития соматических заболеваний, которые были зарегистрированы у  $11,9 \pm 4,2\%$  детей, получавших профилактическое лечение фитопрепаратами, тогда как в группе сравнения – у  $30,5 \pm 7,7\%$  пациентов ( $p < 0,05$ ), что в совокупности с бактериологическими данными свидетельствовало о клинической эффективности использования лекарственных растений для коррекции кандидозного дисбиоза и предупреждения развития соматических заболеваний у детей с дисплазией соединительной ткани.

### Обсуждение

Процессы изменчивости бактерий и грибов, обеспечивая их устойчивость к антимикробным препаратам, значительно снижают эффективность лекарственных средств, в частности, за счёт формирования антибиотикорезистентных клонов в микробной популяции. Традиционный способ решения данной проблемы предусматривает разработку новых антибиотиков, способных противостоять механизмам антибиотикорезистентности. Однако, большая часть новых антибиотиков – это структурные аналоги существующих семейств, имеющих те же точки приложения, что и их предшественники. Одним из альтернативных подходов к отбору эффективных антимикробных препаратов является поиск новых мишеней воздействия на структурные компоненты патогенов.

Мы сочли целесообразным использование в качестве новых «биомишеней» грибов – антилизоцимную и липолитическую активности, так как эти свойства соответствуют основным критериям «биомишени», пригодность которой подтверждена при отборе эффективных химических средств и биологически активных препаратов на модели персистирующей бактериальной инфекции [10]. Учитывая тот факт, что лизоцим обладает не только бактерицидным, но и определённым фунгицидным эффектом [2], очевидно, что защита от него (АЛ) необходима не только бактериям, но и грибам для реализации своего патогенного потенциала. Значение липолитической активности *Candida albicans* в качестве одного из ведущих факторов патогенности убедительно показано исследованиями ряда авторов [6], [7], [8], [9].

Проведенные инвитральные эксперименты по изучению влияния фитопрепаратов на АЛ и ЛА *Candida albicans* позволили выявить выраженное ингибирующее действие в отношении антилизоцимной и липолитической активности дрожжевых грибов у препаратов лекарственных растений, предположительно оцененных нами в качестве эффективных противогрибковых средств. Эта группа фитосредств включала настои *Artemisia absinthium* L. (полыни), *Rosa cinnamomea* L. (шиповника) и *Matricaria chamomilla* L. (ромашки) и растительные ароматические вещества *Lavandula officinalis* Chaix (лаванды), *Juniperus communis* L. (можжевельника), *Citrus limon* burm. (лимона), *Dianthus* (гвоздики), *Melissa officinalis* Chaix. (мелиссы) и *Aloe arborescens* mill. (алоэ).

Полученные результаты экспериментальных исследований *in vitro* были подтверждены клинико-бактериологическими данными, которые продемонстрировали клиническую эффективность применения отобранных фитопрепаратов: снижение частоты встречаемости нарушений кишечного микробиоценоза, сопровождающихся гиперколонизацией грибами рода *Candida*, снижение показателя микробной обсеменённости грибами с  $10^5$ – $10^7$  КОЕ/мл до  $10^2$ – $10^3$  КОЕ/мл у  $10,2\%$  детей и полная эрадикация дрожжевых грибов из кишечника у  $12,6\%$  пациентов, а также урежение случаев развития соматических заболеваний у детей с дисплазией соединительной ткани. Таким образом, совпадение экспериментальных и клинических результатов исследования свидетельствуют о пригодности использования разработанного способа для отбора эффективных антимикотических фитопрепаратов в клинических условиях.

Полученные результаты не противоречат данным других исследователей о наличии антимикотического эффекта у отобранных нами экспериментальным путём препаратов лекарственных растений, В настоящее время большинство авторов связывают антифунгальный эффект фитопрепаратов с особенностями их состава и физико-химическими свойствами [3], [19]. Прежде всего, это содержание терпеноидных фенолов в составе полыни, пижмы, лимона; эвгенола гвоздики, а также фенольных кислот и полифенолов ромашки и мелиссы, катехинов чайного дерева, латек-

са алоэ в сочетании со сложным комплексом других биологически активных веществ [3]. Терпеноиды бисаболол и хамазулен, а также флавоноид-апигенин, извлечённые из цветков ромашки, характеризуются противогрибковой активностью, противовоспалительным, противоаллергическим, спазмолитическим и антибактериальным эффектами [20], [21]. Кроме того, появились результаты исследований, указывающих на содержание в полыни таких биологически активных веществ как производные даванона и сильфиперфолана, обладающие самой высокой противогрибковой активностью [22]. Значительный интерес представляют данные о наличии антимикотической активности у метаболитов эндофитных микроорганизмов полыни [23].

Изучены и механизмы антифунгального действия вышеуказанных активных структурных компонентов фитопрепаратов, способствующих разрыву клеточных мембран грибов, ингибированию ферментативных систем, препятствующих адгезии дрожжевых грибов к эукариотическим клеткам [3], [4], [24]. Кроме того, известно, что терпеноидные фенолы, входящие в состав растительных масел с антифунгальным эффектом, содержат карвакрол, эвгенол, тимол, каждый из которых не только тормозит рост грибов,

но также влияет на их биологические свойства, такие как биоплёнообразование и множественную лекарственную резистентность дрожжевых грибов-мутантов [25].

Результаты проведенных нами исследований демонстрируют более высокий ингибирующий эффект в отношении антилизоцимной и липолитической активности *Candida albicans* у эфирных масел в сравнении с настоями лекарственных растений, что согласуется с имеющимися литературными данными [26] и имеет важное прикладное значение.

Таким образом, проведённые экспериментально-клинические исследования показали, что фитопрепараты в виде настоев лекарственных растений и растительных эфирных масел, наряду с другими антифунгальными механизмами, обладают способностью изменять биологические свойства грибов рода *Candida*, в том числе, их антилизоцимную и липолитическую активность, что может быть использовано для отбора эффективных антимикотических фитопрепаратов. Полученные результаты свидетельствуют, что отобранные нами растительные препараты подавляют патогенный и персистентный потенциал грибов, что позволяет рекомендовать их в качестве перспективного сырья для создания противогрибковых препаратов.

10.12.2014

#### Список литературы:

1. Андреев В.А., Москалёв А.В., Сбойчаков В.Б., ред. Медицинская микология: руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008. – С.10-15.
2. Ахметова С.Б., Ахметова Н.Т., Котенева Е.Н., Адекенов С.М., Рязанцев О.Г. Антигрибковые свойства перспективных эфирных масел, выделенных из некоторых представителей флоры Казахстана // Проблемы медицинской микологии. – 2013. – Т.2. – С.55.
3. Cowan M.M. Plant products as antimicrobial agents // Clinical microbiology reviews. – 1999. – V.12. – №4. – P.564-82.
4. Prabuseenivasan S., Jayakumar M., Ignacimuthu S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils // BMC Complementary and alternative medicine. – 2006. – V.6. – №39. – P.156-61.
5. Лисовская С.А. и соавт. Адгезия и резистентность как критерии оценки патогенного потенциала клинических штаммов *Candida albicans* // Проблемы медицинской микологии. – 2009. – №2. – С.91-92.
6. Naglik J. et al. *Candida albicans* proteinases and host pathogen interactions // Cell Microbiol. – 2004. – V.6. – №10. – P.915-26.
7. Staniszecka M. et al. Virulence factors of *Candida albicans* // Pizegl. Epidemiol. – 2012. – V.66. – №4. – P.629-33.
8. Bramono K. et al. Comparison of proteinase, lipase and alpha-glucosidase activities from the clinical isolates of *Candida* species // Jpn. J. Infect Dis. – 2006. – V.59. – №2. – P.73-76.
9. Wu T. et al. Inhibition of growth and secreted aspartyl proteinase production in *Candida albicans* by lysozyme // J. Med Microbiol. – 1999. – V.48. – №8. – P.721-30.
10. Бухарин О.В. и соавт. Симбиоз и его роль в инфекции // Екатеринбург, УрО РАН. – 2011. – 301 с.
11. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий // М.: Медицина. – 1999. – 365 с.
12. Slifkin M. Tween 80 capacity test responses of various *Candida* species // J. Clin. Microbiol. – 2000. – V.38. – №12. – P.4626-28.
13. Соколов С.Я. Справочник по лекарственным растениям. М.: Медицина. – 1984. – С.259-64.
14. Суменко В.В. Недифференцированный синдром соединительнотканной дисплазии в популяции детей и подростков // Дис. канд. мед. наук. Оренбург. – 2000.
15. Челпаченко О.Е. Патогенетическое значение микробиоценоза кишечника у детей с синдромом дисплазии соединительной ткани и возможные пути коррекции // Дис. докт. мед. наук. Оренбург. – 2003.
16. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк. – 1990. – С.352.
17. Земцовский Э.В. Диспластические фенотипы. Диспластическое сердце. Аналитический обзор. СПб.: Изд-во «Ольга». – 2007. – С.80.
18. Кадурина Т.И., Горбунова В.Н. Дисплазия соединительной ткани. СПб. – 2009. – С.722.

19. Карташова О.Л., Уткина Т.М. Регуляция персистентных свойств микроорганизмов факторами различной природы // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2013. – №1. – <http://www.elmag.uran.ru>.
20. Gardiner P. Complementary, holistic, and integrative medicine: chamomile // *Pediatr Rev.* – 2007. – V. 28. – P.16–8.
21. Srivastava J.K., Sanjay G.E. Characterization, Stability and Biological Activity of Flavonoids Isolated from Chamomile Flowers // *Mol Cell Pharmacol.* – 2009. – V.1. – №3. – P.138.
22. Obistioiu D., Cristina R.T., Schmerold I., Chizzola R., Stolze K., Nichital I., Chiurciu V. Chemical characterization by GC-MS and in vitro activity against *Candida albicans* of volatile fractions prepared from *Artemisia dracunculoides*, *Artemisia abrotanum*, *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris* // *Chemistry Central Journal.* – 2014. – V.8. – №6. – P.1-11.
23. Lu H., Zou W.X., Meng J.C., Hu J., Tan R.X. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua* // *Plant Sci.* – 2000. – V.151. – P.67-73.
24. Samy R.P., Manikandan J., Qahtani M.A. Evaluation of aromatic plants and compounds used to fight multidrug resistant infections // *Evidence – Based complementary and alternative medicine.* – 2013. – V.2013. – 17p.
25. Zhang Y., Muend S., Rao R. Dysregulation of ion homeostasis by antifungal agents // *Frontiers in microbiology.* – 2012. – V.3. – №10. – P.3389-95.
26. Thormar H. Antibacterial and antifungal activities of essential oils // *Lipids and essential oils as antimicrobial agents.* – 2011. – V.12. – P.256-93.

Сведения об авторах:

**Бухарин Олег Валерьевич**, главный научный сотрудник лаборатории биомониторинга и молекулярно-генетических исследований Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, доктор медицинских наук, академик РАН, e-mail: [perunovanb@gmail.com](mailto:perunovanb@gmail.com)

**Перунова Наталья Борисовна**, заведующий лабораторией биомониторинга и молекулярно-генетических исследований Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, доктор медицинских наук, доцент, e-mail: [perunovanb@gmail.com](mailto:perunovanb@gmail.com)

**Андрющенко Сергей Валерьевич**, старший научный сотрудник лаборатории биомониторинга и молекулярно-генетических исследований Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, кандидат медицинских наук, e-mail: [rattus000@gmail.com](mailto:rattus000@gmail.com)

**Иванова Елена Валерьевна**, ведущий научный сотрудник Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, кандидат медицинских наук, доцент, e-mail: [walerewna13@gmail.com](mailto:walerewna13@gmail.com)

**Челпаченко Ольга Ефимовна**, ведущий научный сотрудник Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, доктор медицинских наук, профессор, e-mail: [walerewna13@gmail.com](mailto:walerewna13@gmail.com)

460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11, тел. (3532) 775908