

ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ МЕХАНИЗМОВ ФОРМИРОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ШТАММОВ CANDIDA ALBICANS

Цель: изучить механизмы формирования клинически значимых штаммов *Candida albicans* (*C. albicans*). **Материал и методы.** Для исследования пролиферативной, морфофункциональной и фосфолипидной активности были взяты клинические изоляты *C. albicans*, выделенные из кишечника больных кандидозом людей, и музейный штамм ATCC 24433. Для выявления механизмов формирования клинически значимых вариантов грибов на музейный штамм *C. albicans* воздействовали флуконазолом и сочетанно флуконазолом с метаболитами бактериальных микросимбионтов. Результаты статистически обработаны. **Результаты.** Временная организация физиологической активности эталонного штамма является видовым признаком *C. albicans*. Выявлены ритмометрические параметры (вклад ритма и амплитудно-фазовая стабильность), различающие клинически значимые культуры грибов, полученные от больных пациентов. Установлено, что сочетанное действие продуктов жизнедеятельности нормофлоры биотопа с субфунгиостатическими концентрациями антимикотика флуконазола приводит к преобразованию временной организации музейного штамма в хроноинфраструктуру, характерную для грибов, изолированных от больных кандидозом. **Обсуждение.** В работе доказано, что одним из механизмов адаптации грибов *C. albicans* к факторам среды является изменение ритмов интенсивности физиологических процессов.

Ключевые слова: временная организация, физиологические свойства *Candida albicans*.

Objective: to study the formation mechanisms of clinically relevant strains of *Candida albicans* (*C. albicans*). **Materials and methods.** To study proliferative, morphological and leading to phospholipase activity was taken as clinical isolates of *C. albicans* isolated from intestinal candidosis of the people and the museum strain of ATSS 24433. To identify the mechanisms for the formation of clinically significant variants of mushrooms on the museum strain *C. albicans* affected Fluconazole and Sochetanno fluconazole with metabolites of bacterial mikrosimbiontov. The results are statistically processed. **Result.** The temporary organization of the museum strain physiological activity of the reference strain is a specific feature of *C. albicans*. Established universal rhythmometric characteristics (contribution rate and amplitude - phase stability) distinguishes between clinically significant cultures of fungi obtained from diseased patients. It is established that the combined effect of metabolic products of normaflora biotope with subfungiostatic concentrations of antimycotics led to the conversional temporal organization of the museum strain in chronoinfrastructure vanishes characteristic of fungi isolated from patients with candidiasis. **Discussion.** It is proved that one of fungi *C. albicans* the mechanisms adaptation of the factors of environment is changing rhythms of physiological processes intensity.

Key words: the temporal organization, the physiological properties of fungi, *Candida albicans*.

М.В. Николенко¹,
Т.Х. Тимохина¹,
Н.Б. Перунова²,

¹ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет»,

²ФГБУН «Научно-исследовательский институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН», г. Оренбург

Николенко Марина Викторовна –
e-mail: nikolenko-marina@mail.ru

В последнее десятилетие возрос интерес к грибам рода *Candida* как к одним из возбудителей оппортунистических микозов при иммунодефицитных состояниях, тяжелых травмах, обменных заболеваниях [1]. Грибы рода *Candida* – уникальные микроорганизмы, обладающие колоссальным адаптивным потенциалом. Доказано, что одним из механизмов адаптации грибов к факторам среды является изменение биологических ритмов интенсивности физиологических процессов [2]. Поэтому использование хронобиологического метода как методического приема позволит оценить резерв саморегуляции микроорганизма, открыть воз-

можности управлять их жизнеспособностью и прогнозировать устойчивость к используемым средствам.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: изучить механизмы формирования клинически значимых штаммов *Candida albicans* (*C. albicans*).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследования было использовано 18 клинических изолятов *C. albicans*, выделенных из кишечника больных кандидозом людей. Контролем служил эталонный штамм *C. albicans* 24433 ATCC. Биологические свойства возбудителей: активность пролиферации [3], морфогенеза [4] и фос-

фолипазы [5], изучали в течение двух суток с 4-часовым интервалом, в зимнее время года, IV фаза Луны. Для выявления механизмов формирования клинически значимых вариантов грибов на музейный штамм *C. albicans* воздействовали флуконазолом и сочетанно флуконазолом с метаболитами бактериальных микросимбионтов методом серийных разведений, используя минимальную подавляющую концентрацию (МПК) препарата [6]. В качестве антимикотика был выбран флуконазол, так как он широко используется в лечении поверхностного и глубокого кандидоза. Доминанты – *Bifidobacterium bifidum* (*B. bifidum*) № 791 («Бифидумбактерин»), именно они являются важнейшими представителями облигатной микрофлоры кишечника. Одной из функций бифидофлоры является поддержание нормального микробиологического статуса занимаемого биотопа [7]. Ассоциантами являлись *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) №1 («Лактобактерин»), *Escherichia coli* (*E. coli*) лактозопозитивная негемолитическая 301, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) № 104, *E. coli* № 111 лактозонегативная, гемолитическая, изолированные от пациентов при обследовании на дисбиоз кишечника. Результаты статистически обработаны.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе экспериментов у штамма *C. albicans* ATCC выявлены ультрадианные (12-часовые) ритмы пролиферативной и морфологической активности ($p=0,009$) и циркадианный (околосуточный) ритм активности фосфолипазы ($p=0,01$). Хронологические ряды физиологических свойств эталонного штамма характеризовались утренним типом ритмично-

сти в диапазоне от 03.00 до 12.00 часов (рис. 1). У микромицетов, полученных от больных острой кандидозной инфекцией, регистрировался ультрадианный вклад ритмов всех изучаемых параметров ($p=0,01$), показатели морфогенеза и фосфолипазы зафиксированы в ночное и дневное время, а максимальная активность роста зарегистрирована в утренние и вечерние часы (рис. 2). Корреляционный анализ выявил четкую прямую корреляцию всех свойств культур, полученных от больных пациентов ($r=0,35-0,43$; $p=0,01$).

Для выявления регуляторов ритмичности, характерной для микромицетов при кандидозе, на эталонный штамм *C. albicans* воздействовали субфунгиостатическими концентрациями флуконазола. Данные концентрации антимикотика у *C. albicans* ATCC нарушали исходную архитектуру ритмов: регистрировалось снижение мезора, уменьшение амплитуды, асинхронность вплоть до противофазности, наличие достоверных ультрадианных гармоник физиологической активности ($p=0,007$). При сочетанном действии флуконазола и экзометаболитов бактерий *B. bifidum*, *E. coli* «lac+», *E. coli* «lac-», *S. aureus* метаболиты не влияли на спектральный состав биоритмов изучаемых свойств. Следовательно, вклад ритма эталонного штамма изменился именно под действием флуконазола.

Сочетанное действие продуктов жизнедеятельности нормофлоры (*B. bifidum*, *E. coli* «lac+») толстого кишечника с антимикотиком привело к изменению временной организации эталонного штамма в «хроном», характерный для грибов, изолированных от больных кандидозом (рис. 3, 4). Корреляционный анализ выявил прямую зависимость

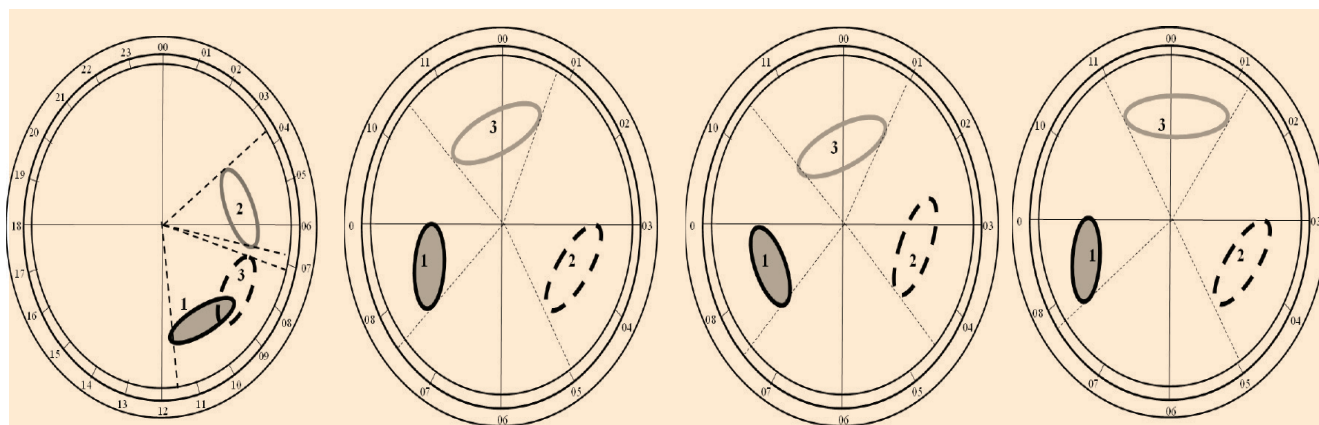


Рис. 1

Рис. 2

Рис. 3

Рис. 4

РИС. 1–4.

Амплитудно-фазовая характеристика биологических свойств

C. albicans ATCC контроль (рис. 1); клинических изолятов *C. albicans* (рис. 2); при воздействии флуконазола сочетанно с метаболитами *E. coli* «lac+» на *C. albicans* ATCC (рис. 3); при воздействии флуконазола сочетанно с метаболитами *B. bifidum* на *C. albicans* ATCC (рис. 4); T=12 часов.

Примечание: 1) пролиферация; 2) морфогенез; 3) фосфолипаза. По окружности – время суток, часы.

между всеми изучаемыми показателями факторов патогенности эталонной культуры *C. albicans* под влиянием флуконазола в сочетании с метаболитами *B. bifidum* или *E. coli* «Iac+», что также характерно для клинических изолятов грибов при кандидозе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, одним из главных механизмов адаптации грибов рода *Candida* к факторам среды и компенсации нарушенных функций является соответствующее изменение ритмов интенсивности физиологических процессов. Изменение исходной периодичности у эталонных штаммов дрожжевых грибов характеризовалось не только нарушением постоянства периода, но и изменением амплитуды колебательного процесса вследствие активации расхода и восстановления энергетических и пластических ресурсов, т. е. активации обеих сторон обмена веществ – катаболизма и анаболизма. Одним из возможных механизмов изменения амплитуды биоритмов является взаимная синхронизация ритмов отдельных функциональных структур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Татарова Н.А. Особенности течения и профилактика кандидозного вульвовагинита у женщин репродуктивного возраста, использующих комбинированную гормональную контрацепцию. Проблемы репродукции. 2009. Т. 15. № 5. С. 66-69.

Tatarova N.A. *Osobennosti techeniya i profilaktika kandidoznogo vul'vovaginita u zhenshhin reproduktivnogo vozrasta, ispol'zuyushhix kombinirovannuyu gormonal'nyu kontratsipciyu. Problemy reproduktsii.* 2009. T. 15. № 5. S. 66-69.

2. Николенко М.В. Особенности временной организации биологических свойств изолятов *Candida species*: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Оренбург, 2013. 44 с.

Nikolenko M.V. *Osobennosti vremennoj organizatsii biologicheskikh svoystv izolyatov Candida species: avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk. Orenburg, 2013. 44 s.*

3. Кашуба Э.А., Тимохина Т.Х. Способ диагностики госпитальных штаммов / Патент на изобретение № 2285258. 2006. 11 с.

Kashuba E.A., Timoxina T.X. *Sposob diagnostiki gospital'nykh shtammov / Patent na izobretenie № 2285258. 2006. 11 s.*

4. Елинов Н.П., Васильева Н.В., Степанова А.А. *Candida. Кандидозы. Лабораторная диагностика* / под ред. проф. Н.П. Елинова. СПб.: Коста, 2010. 224 с.

Elinov N.P., Vasil'eva N.V., Stepanova A.A. *Candida. Kandidozy. Laboratornaya diagnostika / pod red. prof. N.P. Elinova. SPb.: Kosta. 2010. 224 s.*

5. Суплотов С.Н., Журавлева Т.Д. Адаптация человека к авиационным полетам. Липопероксидация в эритроцитах и ее регуляция. Методы лабораторной диагностики. Тюмень: ООО «Печатник», 2009. 104 с.

Suplotov S.N., Zhuravleva T.D. *Adaptatsiya cheloveka k aviapoletam. Lipoperoksidatsiya v eritrocitax i eyo regulyatsiya. Metody laboratornoy diagnostiki. Tyumen': OOO «Pechatnik», 2009. 104 s.*

6. Клиническая лабораторная аналитика / под ред. В.В. Меньшикова. ООО «Агат-Мед», 2000. 815 с.

Klinicheskaya laboratornaya analitika / pod red. V.V. Men'shikova. OOO «Agat-Med», 2000. 815 s.

7. Перунова Н.Б. Биорегуляция микросимбионтов в микросимбиотозе кишечника человека: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Оренбург, 2011. 43 с.

Perunova N.B. *Bioregulyatsiya mikrosimbiontov v mikrosimbioctenozе kishchnika cheloveka: avtoref. dis. ... dokt. med. nauk. Orenburg, 2011. 43 s.*