

УДК 595.77, 591.1

© А. А. Кругликова и С. И. Черныш

ХИРУРГИЧЕСКИЕ ЛИЧИНКИ И ИСТОРИЯ ИХ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

[A. A. KRUGLIKOVA a. S. I. CHERNYSH. SURGICAL MAGGOTS AND HISTORY OF THEIR MEDICAL USE]

Биохирургия, или личиночная терапия — метод безоперационного лечения различных заболеваний кожи и мягких тканей, основанный на лечебных свойствах так называемых хирургических личинок. Особенно широкое распространение биохирургия получила в период между Первой и Второй мировыми войнами, в последние годы резко возрос интерес к этому направлению в США, Великобритании и ряде стран континентальной Европы. В США этот метод получил название Maggot debridement therapy (очищающей личиночной терапии) (Sherman et al., 2007), в Великобритании — Biosurgery (биохирургии) (Wollina et al., 2000).

Личиночная терапия успешно применяется при лечении хронических ран, зачастую не поддающихся лечению традиционными методами. Широкое распространение штаммов бактерий, устойчивых ко всем традиционным антибиотикам (например, MRSA — устойчивый к метициллину *Staphylococcus aureus*), — серьезная проблема для современной медицины (Thompson et al., 1982). Исследования показали, что личинки *Lucilia sericata* обладают способностью бороться с инфекциями, вызванными *S. aureus*.

Огромное количество публикаций посвящено выдающимся эффектам личиночной терапии, главные из которых — очищение, дезинфекция и быстрое заживление хронических ран, зачастую не поддающихся лечению методами традиционной медицины (Sherman, 2003; Nigam et al., 2006a, 2006b; Whitaker et al., 2007). Несмотря на широкое распространение и длительную историю применения, о механизмах личиночной терапии известно крайне мало.

История применения хирургических личинок

История применения хирургических личинок уходит корнями в далекое прошлое. Личинок мух использовали для заживления ран представители различных древних культур, таких как аборигены племени Нгемба в Новом Южном Уэльсе в Австралии (Dunbar, 1944), племена на севере Бирмы (Greenberg, 1973) и целители майя в Центральной Америке (Sherman, 1988). Исследователи полагают, что майя вымачивали одежду в крови крупного рогатого скота и оставляли ее на солнце перед тем как нанести на рану, чтобы обеспечить наличие личинок мух (Dunbar, 1944).

Французский хирург Амбруаз Паре (1510—1590) был первым врачом, отметившим замечательное влияние личинок мух на заживление ран (Whitaker et al., 2007). Он, однако, утверждал, что личинки повреждают ткани, и предохранял раны пациентов от заражения. Однажды Паре исследовал случай глубокого повреждения черепа, при котором рана не заживала в течение длительного времени. Только после того, как произошло заражение раны огромным количеством личинок мух, пациент вылез, несмотря на серьезные повреждения костной ткани. Впоследствии Паре оставлял личинок развиваться в ранах, чтобы усилить восстановительные процессы.

Доминик Жан Ларей (1766—1842), выдающийся французский военный хирург, участник всех походов Наполеона I, один из основоположников военно-полевой хирургии, во время Египетского похода заметил, что личинки синей мухи питаются только мертвыми тканями и оказывают положительное влияние на нижележащие живые (Whitaker et al., 2007).

Первое официально документированное упоминание о применении хирургических личинок было сделано Джоном Захариасом (1837—1901) во время Гражданской войны в США (Whitaker et al., 2007). В это время было распространено мнение, что личинки мух, как и другие насекомые, «грязные» и способны лишь занести в рану дополнительную инфекцию.

Во время Первой мировой войны смертность от заражения открытых ран достигла 70 % (Baer, 2011). В 1917 г. Вильям Байер, военно-полевой хирург, сообщил о лечении открытых переломов и ран на животе личинками мух. Именно Вильям Байер считается основателем личиночной терапии, свои полевые наблюдения он использовал для лечения остеомиелита (Baer, 2011). Успехи исследовательской работы Байера привели к тому, что личиночная терапия стала активно распространяться: с середины 30-х до начала 40-х годов XX в. свыше 300 американских госпиталей внедрило «личиночную терапию» в качестве стандартного метода лечения инфицированных ран. Чтобы не вызывать чувства брезгливости у пациентов и обслуживающего персонала, а также избежать расползания личинок, врачи накрывали покрытые ими участки специальными сетчатыми повязками. Байер заметил, что в некоторых случаях происходит заражение раневой поверхности определенными видами бактерий (в частности, *Clostridium* sp.), и стал разрабатывать методы стерилизации яиц мух и поддержания асептических условий на всех этапах лечения (Fine, Alexander, 1934).

С открытием пенициллина и повсеместным внедрением антибиотиков в медицину интерес к хирургическим личинкам стал угасать, однако спустя всего 4 года после широкого распространения пенициллина 50 % госпитальных инфекций, вызванных *Staphylococcus aureus*, не поддавались лечению этим антибиотиком (Barber et al., 1948). В 1960 г. появилась структурная модификация пенициллина, метициллин, который эффективно подавлял устойчивые к пенициллину штаммы *S. aureus*, а в 1961 г. уже были выделены первые клинические культуры устойчивого к метициллину *S. aureus* (MRSA) (Jevons, 1961). Широкое распространение штаммов бактерий, устойчивых ко всем традиционным антибиотикам (например, MRSA и устойчивый к ванкомицину *Enterococcus*), привело к новому расцвету личиночной терапии. В последнее время многие исследования показали, что личинки *L. sericata* способны подавлять рост устойчивого к метициллину золотистого стафилококка (Bexfield et al., 2004; Thomas et al., 1999). В начале 90-х годов XX в. Р. Шерман организовал небольшую лабораторию в Калифорнийском медицинском центре, где усовершенствовал методику ведения стерильной культуры хирургических личинок (Sherman, 1998).

В Великобритании возрождение биохирургии началось с организации Биохирургического исследовательского объединения С. Томасом (Sherman,

1998). В 1995 г. это объединение стало коммерческим учреждением, распространяющим хирургических личинок. В 1995 г. лишь небольшое число врачей в 4 странах использовало хирургических личинок, а сегодня доктора США, Японии, Израиля, Великобритании, Австралии и многих других стран активно рекомендуют личиночную терапию. Только в США насчитывается более 800 учреждений здравоохранения, применяющих этот метод (Sherman, 1998).

Проблема полирезистентных бактериальных штаммов

Инфекционные заболевания составляют одну из главных проблем мирового и отечественного здравоохранения. Особенно остро эта проблема стоит в России, где в последние годы наблюдается взрывной рост ряда инфекционных заболеваний (СПИД, туберкулез, сифилис и др.) (Покровский, Семина, 2000).

Положение усугубляется тем, что многие патогенные микроорганизмы, прежде всего бактерии, приобрели устойчивость к подавляющему большинству антибиотиков, имеющихся в арсенале современной медицины. Темпы развития устойчивости бактерий постоянно возрастают, поскольку в микробных сообществах сформировался и циркулирует пул генов устойчивости, обеспечивающих быструю адаптацию бактерий к любым антибиотикам известных классов. Поскольку за последние 30 лет в мире не зарегистрировано ни одного нового класса антибиотиков, лечение с их помощью может полностью утратить эффективность. В этом случае смертность от бактериальных инфекций у людей и сельскохозяйственных животных может вернуться к уровню начала XX в. (Покровский, Семина, 2000).

Госпитальные инфекции — заболевания или осложнения, развитие которых связано с инфицированием больного во время его нахождения в хирургическом стационаре. Госпитальная инфекция остается важнейшей проблемой хирургии, несмотря на постоянное совершенствование методов асептики и антисептики. Интересно, что с момента открытия антибиотиков, когда казалось, что проблема борьбы с инфекциями решена, частота гнойных осложнений в хирургии снизилась крайне незначительно.

Госпитальные инфекции имеют ряд особенностей.

1. Возбудители их устойчивы к основным антибиотикам и антисептическим средствам. Это связано с пассированием микрофлоры в условиях хирургического стационара, где в воздухе, на различных поверхностях и в организме больных в низких концентрациях присутствуют антимикробные средства.

2. Госпитальные инфекции обычно вызывают условно патогенные микроорганизмы, наиболее часто — *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp., *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp. и некоторые другие.

3. Госпитальные инфекции возникают у ослабленных в результате болезни или операции пациентов и часто являются суперинфекциями (Покровский, Семина, 2000).

В условиях ускоряющегося распространения госпитальных инфекций и формирования полирезистентных штаммов возбудителей личиночная терапия может оказаться важной альтернативой традиционно применяемым антибиотикам.

Биохирургия используется главным образом для лечения незаживающих инфицированных ран. В современной зарубежной литературе фигурируют следующие показания для применения биохирургии: пролежни, травматические повреждения кожи и мягких тканей, послеоперационные раны и раны, инфицированные устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами.

ми, ожоги, варикозные язвы, хронические язвы диабетиков, остеомиелит, мастоидит, послеоперационное лечение некоторых онкологических заболеваний (Sherman, 1998; Nigam et al., 2006a).

Принципы и механизм действия личиночной терапии

Личиночная терапия — это, по сути, искусственно индуцированный и контролируемый миаз. Среди мух, вызывающих миазы человека и животных, выделяют группы облигатных и факультативных паразитов. Факультативные паразиты заражают живого хозяина очень редко, чаще развиваясь на мертвых тканях; таким образом, именно такие виды подходят для медицинских целей. Байер использовал в своих исследованиях личинок зеленой мясной мухи *L. sericata*, которых и по сей день применяют чаще всего. Возможность использования данного вида для личиночной терапии определяется такими его особенностями, как поедание преимущественно некротических тканей без внедрения в живые, возможность ведения лабораторных культур и стерилизации всех возрастов, начиная с яиц (Baer, 2011).

В настоящее время активно исследуются механизмы воздействия хирургических личинок на хронические раны и разрабатываются способы лечения без непосредственного использования личинок. Повязка с гелеобразным веществом, в которое добавляются выделяемые личинками ферменты, применяется в ходе исследований на слоях искусственной кожи. Повязку можно держать на ране дольше, чем личинок, что позволит лучше стимулировать восстановление тканей и содействовать дальнейшему заживлению (Smith et al., 2006). Возможность создания таких повязок и прочих средств, не требующих прямого контакта личинок с открытой раной, напрямую связана с исследованием механизмов личиночной терапии.

На ранних этапах развития биохирургии зараженность яиц мух бактериями была одной из самых важных проблем. Сейчас яйца, отложенные мухами на мясо или иной питательный субстрат, дезинфицируют с помощью гипохлорита натрия или других веществ (Sherman, Wyle, 1996), а затем помещают в стерильные контейнеры, в которых отрождаются стерильные личинки (Sherman, 1998). Личинки дозированно наносятся на поврежденную поверхность, затем рана изолируется специальной повязкой.

Личиночная терапия характеризуется тремя главными факторами: очищением раневой поверхности, дезинфекцией раны и ускорением процессов заживления (Nigam et al., 2006a). Очищение раны включает в себя удаление омертвевших тканей, а также уничтожение связанных с ними патогенных бактерий. Освобожденный от некротических тканей участок заполняется временной тканью, основу которой составляют фибрин и фибронектин. Протеазы, участвующие в разрушении этого внеклеточного матрикса, выделяются нейтрофилами, макрофагами, фибробластами, эндотелиальными и эпителиальными клетками; в это же время синтезируются новые составляющие, коллаген, эластин и протеогликаны (Schultz et al., 2003). Однако хронические раны не проходят через все эти стадии нормального заживления, а характеризуются затяжным воспалительным процессом, ингибированием клеточной пролиферации, неполной перестройкой внеклеточного матрикса и отсутствием эпителизации. Чрезмерная продукция компонентов внеклеточного матрикса и неэффективная очистка раны от фибрина и фибронектина ведет к тому, что хронические раны практически не заживают (Bucalo et al., 1993).

Существует ряд методов очищения хронических ран; они включают хирургическую, механическую, энзиматическую очистки, промывание и т. д. Каждый из этих методов связан с рядом неудобств, например, продолжи-

тельностью воздействия, болью, механическим повреждением подлежащих здоровых тканей (Schultz et al., 2003). Альтернативный способ очистки — это личиночная терапия, действующая быстро и эффективно без повреждения живых тканей (Nigam et al., 2006a). Показано, что личинки выделяют множество пищеварительных ферментов, включая карбоксипептидазы А и Б, лейциновые аминопептидазы, коллагеназы, аспартиловые и сериновые протеазы (трипсино- и химотрипсиноподобные) и металлопротеазы, сохраняющие активность в широком диапазоне рН. Их субстратами являются фибриновые сгустки, фибронектин, коллаген I и III типов и ламинин (Chambers et al., 2003). Протеолитическая активность экзосекрета личинок связана с изменением адгезии фибробластов человека к коллагеновой поверхности; сила клеточной адгезии, в свою очередь, влияет на скорость миграции клеток, следовательно, экзосекрет влияет на миграцию фибробластов (Nogobin et al., 2005).

Заживление раны — это комплексный процесс. Важными регуляторами этого процесса являются факторы роста — хемокины и цитокины. Ранние теории связывали усиленное ранозаживление под действием личинок за счет дополнительного снабжения тканей кислородом (Wollina et al., 2000). Другие исследователи предполагали, что ускорение процессов регенерации связано с действием аллантаина (Robinson, 1935) или гидрокарбоната аммония (Robinson, 1940). За счет выделения личинками свободного аммиака и аллантаина в качестве конечных продуктов обмена в ране создается щелочная среда (Виноградова, 1984). Во многих исследованиях антибактериальных свойств экзосекрета было показано, что для выделений личинок характерен рН 8—8.5 (Thomas et al., 1999; Bexfield et al., 2004; Cazander et al., 2009, и др.).

Еще один компонент экзосекрета личинок, способствующий процессу заживления, характеризуется воздействием на нейтрофилы. В хронических ранах эти клетки усиливают повреждение тканей, а не способствуют их заживлению. Экзосекрет ингибирует высвобождение эластазы и продукцию пероксида водорода активированными нейтрофилами, т. е. уменьшает повреждение клеток в очаге воспаления. В целом действие экзосекрета сводится к подавлению противовоспалительного действия нейтрофилов (van der Plas et al., 2007).

Антибактериальные свойства экзосекрета, выделяемого хирургическими личинками

Антимикробное действие выделений хирургических личинок изучается много лет. Предполагается, что некоторые механизмы связаны просто с промыванием раны жидкостью, выделение которой личинками стимулируется поглощением размягченных некротических тканей (Wollina et al., 2000).

Существует теория, что комменсальные бактерии *Proteus mirabilis*, обитающие в кишечнике личинок мясных мух, продуцируют антимикробные компоненты, а именно фенилуксусную кислоту (ФУК) и фенилацетальдегид (ФАА). Однако участие этих веществ в дезинфекции ран маловероятно, поскольку в личиночной терапии используются стерильные личинки, к тому же рН личиночных выделений равен 8—8.5 (Thomas et al., 1999; Bexfield et al., 2004; Cazander et al., 2009), в таких условиях ФУК обладает низким антимикробным потенциалом, а ФАА нестабилен.

Более вероятно, что личинки заглатывают бактерий и уничтожают их в пищеварительном тракте. Робинсон и Норвуд в 1934 г. исследовали жизнеспособность и обилие бактерий в пищеварительном тракте хирургических личинок. Личинок помещали в инфицированную рану на 24—48 ч, затем их

пищеварительную систему делили на фрагменты и наносили на агар или вымачивали в питательной среде. Задняя кишка личинок оказалась практически стерильной, в то время как передняя и средняя были сильно заражены. Наиболее массовыми видами бактерий в пищеварительном тракте личинок были *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus* sp. (Robinson, Norwood, 1934). Похожее исследование с аналогичными результатами было проведено другими исследователями с использованием GFP (green fluorescent protein)-продуцирующих бактерий *Escherichia coli* (Mumcuoglu et al., 2001). Авторы данного исследования предположили, что происходит сорбция бактерий на поверхности перитрофической мембраны за счет лектинов, что было показано для пищеварительного тракта другого вида мясной мухи *Calliphora vicina* (Peters et al., 1983).

В 1935 г. было исследовано прямое антимикробное действие экзосекрета хирургических личинок *L. sericata*. Симмонс (Simmons, 1935) собирал выделения личинок и обнаружил значительную антибактериальную активность в опытах на 7 видах бактерий, вызывающих пиогенные инфекции. Поскольку задняя кишка личинок стерильна, автор полагал, что антимикробной активностью обладают фекалии. В этом же исследовании была обнаружена термостабильность бактерицидных компонентов выделений и было показано, что 5—10 мин воздействия экскрета на бактериальную суспензию достаточно, чтобы бактерии потеряли способность расти и размножаться.

Некоторые исследователи предпринимали попытки определить антимикробную активность личинок *L. sericata* *in vivo*, т. е. непосредственно в ране. Сравнивая численность и разнообразие бактерий до и после проведения личиночной терапии, авторы обнаружили, что число КОЕ (колониеобразующих единиц) снижается, особенно это характерно для грамотрицательных бактерий (Steenvoorde, Jukema, 2004; Jaklic et al., 2008). Подобные исследования, но уже *in vitro*, также проводились разными группами ученых, их результаты были не однозначны. Так, инкубация личинок *L. sericata* с бактериальной суспензией *S. aureus* в течение 3 ч приводила к полному ингибированию роста бактерий (Thomas et al., 1999). Такой же эффект наблюдался при действии живых личинок на культуры бактерий *E. coli* и *Micrococcus luteus* (Daeschlein et al., 2007), однако в другом исследовании даже 16 часов инкубации с экзосекретом не оказали на бактерий никакого действия (Cazander et al., 2009b).

Легко допустить, что искусственно собранный экзосекрет личинок *L. sericata* также способен ингибировать рост ряда бактерий. Такие работы проводились несколькими группами исследователей, но сравнивать их результаты довольно сложно, поскольку и методы получения экзосекрета, и способы изучения его антимикробной активности были различными. Общая особенность этих исследований, которая также характерна и для экзосекрета, действующего *in vivo*, заключалась в том, что выделения личинок оказались более эффективными в отношении грамположительных бактерий, чем грамотрицательных (Thomas et al., 1999; Kerridge et al., 2005; Jaklic et al., 2008). Томас и коллеги использовали в своем исследовании сразу несколько методик и обнаружили, что экзосекрет, действующий в жидкой среде, ингибирует рост грамположительных бактерий (*S. aureus*, *Streptococcus* групп А и В, частично MRSA), а грамотрицательные (*E. coli*, *Enterococcus* sp., *Proteus* sp.) в присутствии экзосекрета растут быстрее; авторы связывают это с повышением pH, потому что данные виды бактерий в отличие от других хорошо переносят слабощелочные условия (Thomas et al., 1999). Другие независимые группы исследователей, используя тот же метод, обнаружили и антиграмположительную (*S. aureus*), и, в меньшей степени, антиграммотрицательную (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) активность в выделениях личинок *L. sericata* (Bexfield et al., 2004; Jaklic et al., 2008). Метод дифференциа-

льного биотестирования на агаровых пластинах, который традиционно используется для определения антимикробной активности бактерицидных препаратов, некоторыми исследователями был признан неэффективным и низко чувствительным (Bexfield et al., 2004, Kerridge et al., 2005). Однако и с помощью этого метода удалось обнаружить бактерицидную активность экзосекрета, более высокую по отношению к грамположительным (*S. aureus*, *Streptococcus*, MRSA) бактериям и меньшую по отношению к грамотрицательным (*E. coli*, *Ps. aeruginosa*) (Kerridge et al., 2005; van der Plas et al., 2008).

Попытки определить и выделить из экзосекрета определенный действующий компонент или их смесь стали предприниматься недавно. В одном из таких исследований с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и электрофоретического разделения был выделен компонент массой 6 кДа, обладающий широким спектром антимикробной активности (по отношению и к грамотрицательным *E. coli*, *Salmonella* sp., *Ps. aeruginosa*, и к грамположительным бактериям *S. aureus*, MRSA, *S. epidermidis*, *Listeria* sp.). Но, к сожалению, дополнительные характеристики данного фактора не исследовались (Mumcuoglu et al., 2001).

Фракционирование экзосекрета личинок *L. sericata* позволило обнаружить, что фракции экзосекрета от 5 до 10 кДа и менее 1 кДа обладают антистафилококковой активностью (Kerridge et al., 2005).

В одной из работ чешских исследователей был описан дефензин, выявленный в гемолимфе, слюнных железах, жировом теле, кишечнике и экзосекрете личинок зеленой мясной мухи. Пептид, названный люцифенином, характеризуется молекулярной массой 4114 Да (Cеровский et al., 2010). И полученный из экстрактов, и искусственно синтезированный люцифенин обладает антиграмположительной активностью и слабо подавляет рост *Candida albicans* (Cеровский et al., 2011).

Наиболее активно исследовалась фракция экзосекрета с молекулярной массой < 500 Да. Данная фракция ингибирует рост ряда бактерий; наиболее чувствительными из них были *Bacillus subtilis* и *Klebsiella pneumoniae*, а также 12 штаммов MRSA. Резистентными к этой фракции оказались *Ps. mirabilis* и *S. epidermidis*. После инкубации с фракцией экзосекрета < 500 Да бактерии *Bacillus cereus* образовывали филаментозные формы, превышающие длину отдельной бактериальной клетки в контроле в 17 раз; бактерии *E. coli* приобретали лимонovidную форму, и их деление полностью ингибировалось. Использование проточной цитометрии позволило определить характер действия фракции экзосекрета < 500 Да на бактерии. На MRSA и цельный экзосекрет, и его фракция < 500 Да оказывают бактериостатическое действие. Для *E. coli* фракция < 500 Да оказалась бактерицидной (Bexfield et al., 2008).

Как известно, насекомые продуцируют значительное количество антимикробных и фунгицидных пептидов, полипептидов и гликопептидов (Hoffmann, 1995). Однако молекулярная масса этих веществ превышает 500 Да, например, масса дефензина *Protoformia terranova* составляет около 4кДа (Hoffmann et Hoffmann, 1990), масса диптерицинов *C. vicina* — около 9 кДа (Черныш и др., 2008). Но известно, что насекомые синтезируют и короткие антимикробные пептиды. Личинки серой мясной мухи *Neobellieria bullata* продуцируют модифицированный дипептид, β -аланил-тирозин, молекулярная масса которого 252 Да (Meylaers et al., 2003). Личинки зеленой мясной мухи продуцируют не только антимикробные полипептиды, дефензины и диптерицины, (Altincicek, Vilcinskas, 2009), но и низкомолекулярные антимикробные вещества, к которым относятся некоторые органические кислоты и дипептид, циклический димер пролина с молекулярной массой 194 Да (Huberman et al., 2007). Однако все вышеперечисленные бактерицидные

агенты выделяются в гемолимфу, и их синтез зачастую имеет индуцибельный характер (Huberman et al., 2007).

В нашей лаборатории исследованы молекулярная природа и особенности функционирования двух основных защитных систем личинок *L. sericata* — антимикробных соединений гемолимфы и экзосекрета, выделяемого питающимися личинками в окружающую среду. В гемолимфе личинок, подвергнутых бактериальному заражению, идентифицирован при помощи методов хромато-масс-спектрометрии набор индуцибельных антибактериальных пептидов, включающий дефензины (3844, 4062 и 4117 Да), в том числе и вышеупомянутый люцифензин, Р-пептид (3043 Да) и 4 новых полипептида (3235, 3702, 3746 и 3768 Да). В состав экзосекрета личинок *L. sericata* входят пептиды, аналогичные или идентичные антимикробным пептидам гемолимфы (диптерицины: 8882 и 9025 Да), высокомолекулярные соединения пептидной природы (6466, 6633, 5772, 8631 Да и др.), отличные от известных компонентов гемолимфы, и низкомолекулярные соединения (130—700 Да).

Спектр бактерицидной активности экзосекрета включает представителей различных групп бактерий, в том числе наиболее важный патоген — золотистый стафилококк, что отличает экзосекрет от гемолимфы, не проявляющей антистафилококковой активности. Компоненты экзосекрета, подавляющие рост и развитие устойчивого к метициллину золотистого стафилококка, представляют собой вещества низкомолекулярной природы (от 160 до 1020 Да: Кругликова, 2011).

Проведенные исследования характеризуют стратегии, используемые хирургическими личинками для защиты от патогенов и подавления микробных конкурентов, и позволяют лучше понять молекулярные механизмы личиночной терапии гнойных инфекционных заболеваний. В перспективе эти исследования могут послужить основой для создания принципиально новых препаратов для борьбы с обычными и резистентными к антибиотикам бактериальными инфекциями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Личиночная терапия применяется очень давно, и в последние годы хирургические личинки снова стали активно применяться в медицинской практике. Многие развитые страны решили вернуться к этому методу лечения хронических ран с совершенно различной этиологией. Хирургические личинки имеют ряд преимуществ перед методами традиционной медицины. Во многих случаях только биохирургия способна бороться с серьезными инфекциями, вызванными полирезистентными штаммами бактерий. К сильным сторонам личиночной терапии относится не только антимикробная активность, но и быстрое очищение раневой поверхности, а также усиление процессов ранозаживления. Ученые многих стран мира активно изучают особенности действия хирургических личинок в ранах. Механизмы его очень сложны и включают в себя взаимодействие биологически активных веществ, выделяемых личинками, и различных типов клеток человека, а также синтезируемых ими цитокинов, хемокинов и ферментов. Заменить личинок какими-либо аналогами очень непросто, но в этом направлении тоже интенсивно ведутся исследования: создаются повязки, пропитанные веществом с ферментами экзосекрета личинок, и активно изучаются содержащиеся в экзосекрете антимикробные и иммуномодулирующие компоненты. Поскольку хирургические личинки помогают бороться с инфекциями, вызываемыми бактериями, которые устойчивы ко всем ныне существующим антибиотикам, то можно предположить, что экзосекрет личинок со-

держит определенные вещества, подавляющие эти виды бактерий. Следовательно, проблема изучения антибактериальных компонентов, синтезируемых хирургическими личинками, выходит за рамки биохирургии и становится частью биофармакологии — междисциплинарной области науки, целью которой является создание новых лекарственных веществ на основе изучения механизмов, действующих в живых системах.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Федеральной программы поддержки ведущих научных школ (проект НШ-3332.2010.4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Виноградова Е. Б. Мясная муха (*Calliphora vicina*) — модельный объект физиологических и экологических исследований // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 1984. Т. 118. 272 с.
- Кругликова А. А. Антимикробные факторы гемолимфы и экзосекрета личинок *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera, Calliphoridae) // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 2011. Т. 47, № 6. С. 25—32.
- Покровский В. И., Семина Н. А. Внутрибольничные инфекции: проблемы и пути // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2000. Т. 5. С. 12—14.
- Черныш С. И., Гордя Н. А., Несин А. П., Симоненко Н. П., Тулин Д. В., Яковлев А. Ю. Иммунная система насекомых как источник новых лекарственных средств // Фундаментальные основы инновационных биологических проектов в «Наукограде». Тр. Биол. н.-и. ин-та СПбГУ, 2008. Вып. 54. 256 с.
- Altincicek B., Vilcinskas A. Septic injury-inducible genes in medicinal maggots of the green blow fly *Lucilia sericata* // Insect Mol. Biol. 2009. Vol. 18, N 1. P. 119—125.
- Baer W. S. The treatment of chronic osteomyelitis with the maggot (larva of the blow fly) // Clin. Orthop. Relat. Res. 2011. Vol. 469. P. 920—944.
- Barber M., Rozwadowska-Dowzenko M. Infection by penicillin-resistant staphylococci // Lancet. 1948. Vol. 2. P. 641—644.
- Bexfield A., Nigam Y., Thomas S., Ratcliffe N. Detection and partial characterisation of two antibacterial factors from the excretions/secretions of the medicinal maggot *Lucilia sericata* and their activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) // Microbes and infection. 2004. Vol. 6, N 14. P. 1297—1304.
- Bexfield A., Bond E., Roberts E. C., Dudley E., Nigam Y., Thomas S., Newton R. P., Ratcliffe N. A. The antibacterial activity against MRSA strains and other bacteria of a < 500 Da fraction from maggot excretions/secretions of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) // Microbes and Infection. 2008. Vol. 10, N 4. P. 325—333.
- Bucalo B., Eaglstein W. H., Falanga V. Inhibition of cell proliferation by chronic wound fluid // Wound Repair Regener. 1993. Vol. 1. P. 181—186.
- Cazander G., van Veen K. E. B., Bouwman L. H., Bernards A. T., Jukema G. N. The influence of maggot excretions on PAO1 biofilm formation on different biomaterials // Clinical Orthopaedics and Related Res. 2009. Vol. 467, N 2. P. 536—545.
- Cazander G., van Veen K. E. B., Bernards T., Jukema G. N. Do maggots have an influence on bacterial growth? A study on the susceptibility of strains of six different bacterial species to maggots of *Lucilia sericata* and their excretions/secretions // J. Tissue Viability. 2009. Vol. 18, N 3. P. 80—87.
- Cerovsky V., Zdarek J., Fucik V., Monincova L., Voburka Z., Bem R. Lucifensin, the long-sought antimicrobial factor of medicinal maggots of the blowfly *Lucilia sericata* // Cell. Mol. Life Sci. 2010. Vol. 67, N 3. P. 455—466.
- Cerovsky V., Slaninova J., Fucik V., Monincova L., Bednarova L., Malon P., Stokrova J. Lucifensin, a novel insect defensin of medicinal maggots: synthesis and structural study // ChemBiochem. 2011. Vol. 12, N 9. P. 1352—1361.

- Chambers L., Woodrow S., Brown A. P., Harris P. D., Phillips D., Hall M., Church J. C. T., Pritchard D. I. Degradation of extracellular matrix components by defined proteinases from the greenbottle larva *Lucilia sericata* used for the clinical debridement of non-healing wounds // *Br. J. Dermatol.* 2003. Vol. 148. P. 14—23.
- Daeschlein G., Mumcuoglu K. Y., Assadian O., Hoffmeister B., Kramer A. In vitro antibacterial activity of *Lucilia sericata* maggot secretions // *Skin Pharmacol. Physiol.* 2007. Vol. 20, N 2. P. 112—115.
- Dunbar G. Notes on the Ngemba tribe of the Central Darling River of Western New South Wales // *Mankind.* 1944. Vol. 3. P. 140—148.
- Fine A., Alexander H. Maggot therapy. Technique and clinical application // *J. Bone Joint Surg.* 1934. Vol. 16. P. 572—582.
- Greenberg B. Flies and Disease. Princeton: Princeton University Press, 1973. 447 p.
- Hoffmann J. A., Hoffmann D. The inducible antibacterial peptides of dipteran insects // *Research in Immunology.* 1990. Vol. 141, N 9. P. 910—918.
- Hoffmann J. A. Innate immunity of insects // *Current Opinion in Immunology.* 1995. Vol. 7. P. 4—10.
- Horobin A. J., Shakesheff K. M., Pritchard D. I. Maggots and wound healing: an investigation of the effects of secretions from *Lucilia sericata* larvae upon the migration of human dermal fibroblasts over a fibronectin-coated surface // *Wound Repair Regener.* 2007. Vol. 13, N 4. P. 422—433.
- Huberman L., Gollop N., Mumcuoglu K. Y., Breuer E., Bhusare S. R., Shai Y., Galun R. Antibacterial substances of low molecular weight isolated from the blowfly, *Lucilia sericata* // *Med. Veter. Entomol.* 2007. Vol. 21, N 2. P. 127—131.
- Jaklic D., Lapanje A., Zupancic K., Smrke D., Gunde-Cimerman N. Selective antimicrobial activity of maggots against pathogenic bacteria // *J. Med. Microbiol.* 2007. Vol. 57, N 5. P. 617—625.
- Jevons M. P. Celbenin-resistant staphylococci // *Br. Med. J.* 1961. Vol. 1. P. 124—125.
- Kerridge A., Lappin-Scott H., Stevens J. R. Antibacterial properties of larval secretions of the blowfly, *Lucilia sericata* // *Med. Veter. Entomol.* 2005. Vol. 19, N 3. P. 333—337.
- Meylaers K., Cerstiaens A., Vierstraete E., Baggerman G., Michiels C. W., De Loof A., Schoofs L. Antimicrobial compounds of low molecular mass are constitutively present in insects: characterisation of beta-alanyl-tyrosine // *Current Pharmaceut. Design.* 2003. Vol. 9, N 2. P. 159—174.
- Mumcuoglu K. Y., Miller J., Mumcuoglu M., Friger M., Tarshis M. Destruction of bacteria in the digestive tract of the maggot of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) // *J. Med. Entomol.* 2001. Vol. 38, N 2. P. 161—166.
- Nigam Y., Bexfield A., Thomas S., Ratcliffe N. A. Maggot Therapy: The Science and Implication for CAM Part I — History and Bacterial Resistance // *eCAM.* 2006a. Vol. 3, N 2. P. 223—227.
- Nigam Y., Bexfield A., Thomas S., Ratcliffe N. A. Maggot therapy: the science and implication for CAM Part II — maggots combat infection // *eCAM.* 2006b. Vol. 3, N 3. P. 303—308.
- Peters W., Kolb H., Kolb/Bachofen V. Evidence for a sugar receptor (lectin) in the peritrophic membrane of the blowfly larva, *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera) // *J. Insect Physiol.* 1983. Vol. 29. P. 275—280.
- Robinson W. Stimulation of healing in non-healing wounds by allantoin in maggot secretions and of wide biological distribution // *J. Bone Joint Surg.* 1935. Vol. 17. P. 267—271.
- Robinson W. Ammonium bicarbonate secreted by surgical maggots stimulates healing in purulent wounds // *Amer. J. Surg.* 1940. Vol. 47. P. 111—115.
- Robinson W., Norwood V. H. Destruction of pyogenic bacteria in the alimentary tract of surgical maggots implanted in infected wounds // *J. Lab. Clin. Med.* 1934. P. 581—586.
- Schultz G. S., Sibbald R. G., Falanga V., Ayello E. A., Dowsett C., Harding K. Wound bed preparation: A systematic approach to wound management // *Wound Repair Regener.* 2003. Vol. 11. P. 1—28.
- Sherman R. A. Maggot debridement in modern medicine // *Infect. Med.* 1998. Vol. 15, N 9. P. 651—656.

- Sherman R. A. Maggot therapy for treating diabetic foot ulcers unresponsive to conventional therapy // *Diabetes Care*. 2003. Vol. 26, N 2. P. 446—451.
- Sherman R. A., Morrison S., David N. Maggot debridement therapy for serious horse wounds — A survey of practitioners // *Veter. J.* 2007. Vol. 174, N 1. P. 86—91.
- Sherman R. A., Pechter E. A. Maggot therapy: a review of the therapeutic application of fly larvae in human medicine, especially for treating osteomyelitis // *Med. Veter. Entomol.* 1988. N 2. P. 225—230.
- Sherman R. A., Wyle P. A. Low-cost, low-maintenance rearing of maggots in hospitals, clinics, and schools // *J. Amer. Soc. Trop. Med. Hygiene*. 1996. Vol. 54. P. 38—41.
- Simmons S. W. The bactericidal properties of excretions of the maggot of *Lucilia sericata* // *Bull. Entomol. Res.* 1935. Vol. 26. P. 559—563.
- Smith A. G., Powis R. A., Pritchard D. I., Britland S. T. Greenbottle (*Lucilia sericata*) larval secretions delivered from a prototype hydrogel wound dressing accelerate the closure of model wounds // *Biotechnology Progress*. 2006. Vol. 22, N 6. P. 1690—1696.
- Steenvoorde P., Jukema G. N. The antimicrobial activity of maggots: in-vivo results // *J. Tissue Viability*. 2004. Vol. 14, N 3. P. 97—101.
- Thomas S., Andrews A., Hay P., Bourgoise S. The antimicrobial activity of maggot secretions: results of a preliminary study // *J. Tissue Viability*. 1999. Vol. 9. P. 127—132.
- Thompson R. L., Cabezudo I., Wenzel R. P. Epidemiology of nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // *Ann. Intern. Med.* 1982. Vol. 97. P. 309—17.
- Van der Plas M. J. A., van der Does A. M., Baldry M., Dogterom-Ballering H. C. M., van Gulpen C., van Dissel J. T., Nibbering P. H., Jukema G. N. Maggot excretions/secretions inhibit multiple neutrophil pro-inflammatory response // *Microbes and Infection*. 2007. Vol. 9. P. 507—514.
- Van der Plas M. J. A., Jukema G. N., Wai S.-W., Dogterom-Ballering H. C. M., Lagendijk E. L., van Gulpen C., van Dissel J. T., Bloembergen G. V., Nibbering P. H. Maggot excretions or secretions are differentially effective against biofilms of *S. aureus* and *P. aeruginosa* // *J. Antimicrob. Chemotherapy*. 2008. Vol. 61, N 1. P. 117—122.
- Whitaker I. S., Twine C., Whitaker M. J., Welck M., Brown C. S., Shandall A. Larval therapy from antiquity to present day: mechanisms of action, clinical application and future potential // *Postgrad. Med. J.* 2007. Vol. 83. P. 409—413.
- Wollina U., Karte K., Herold C., Looks A. Biosurgery in wound healing — the renaissance of maggot // *JEADV*. 2000. Vol. 14. P. 285—289.

Санкт-Петербургский государственный
университет.
a.a.kruglikova@yandex.ru

Поступила 10 XI 2012.

SUMMARY

Biosurgery or maggot therapy is a method of nonoperative treatment of chronic wounds of skin and soft tissue based on the medicinal properties of the so called «surgical maggots». The biosurgery became popular in the period between World Wars I and II and recently aroused great interest in the U. S. A., United Kingdom and some countries of continental Europe. The method is known as maggot debridement therapy in the United States and biosurgery in the United Kingdom.

Surgical maggots are currently used in the treatment of chronic wounds and ulcers infected with antibiotic resistant bacteria. The problem of antibiotic resistance became especially relevant in the last years since bacterial pathogens with acquired multiple drug resistance cause, in addition to septic wounds, a multitude of nosocomial infections. Three kinds of therapeutic efficacy charac-

terize the maggot therapy: debridement of wound surface, disinfection and acceleration of wound healing.

Large body of experimental data characterizing an antibacterial activity of the surgical maggots' secretion has been accumulated so far. Particularly, the secretion compounds were found to suppress growth of the most common and dangerous pathogen, methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Moreover, the secretion demonstrated broad activity spectrum against Gram-positive bacteria.

Compounds of the maggots' secretion are potentially useful as active substances of drugs applicable for chronic wounds and ulcers therapy. Thus, a prototype bandage impregnated with gel containing the compounds is under assessment now in experiments with artificial skin model. The bandage may be kept on the wound for a longer time than maggots themselves. Development of this kind of bandages and other similar medications excluding direct contact with the maggots is one of prospective future directions in the field of the maggot therapy.