

<https://doi.org/10.34883/PI.2025.14.1.043>



Кожевникова А.В.^{1,2}, Никифоров В.В.¹⁻³ ✉

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

² Инфекционная клиническая больница № 1, Москва, Россия

³ Академия постдипломного образования Федерального научно-клинического центра специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий, Москва, Россия

Медикаментозная терапия пациентов с ботулизмом: проблемы и решения

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Кожевникова А.В. – написание текста статьи; Никифоров В.В. – подбор литературы для обзора. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Источник финансирования: авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении работы.

Подана: 11.02.2025

Принята: 10.03.2025

Контакты: v.v.nikiforov@gmail.com

Резюме

При относительной редкости наблюдений тяжесть течения ботулизма (летальность в пределах 4–8%) заставляет клиницистов и экспериментаторов всего мира искать пути и методы оптимизации подходов и методов лечения пациентов с данной патологией. В какой-то мере ситуация усугубляется и угрозой использования ботулинического токсина (БнТ) в качестве биологического оружия. Внедрение же программ иммунизации населения против данного заболевания, кроме всего прочего, ограничивается и тем, что вакцинация от ботулизма лишает человека возможности в перспективе использовать препараты БнТ типа ботокса в лечебных целях. Использование антитоксинов, получаемых путем гипериммунизации лошадей, позволило существенно снизить показатели летальности при ботулизме, однако к настоящему времени эти препараты полностью исчерпали свои терапевтические возможности. Ожидается, что в перспективе оптимальным будет создание моноклональных антител ввиду их априорной эффективности и безопасности. Разработки в этой области ведутся, однако в широкой практике моноклональные антитела против БнТ пока не используются ни в одной стране мира. Определенный интерес представляет анализ попыток интранейрональной (антидотной) терапии, направленной на разрыв последовательной цепи внутриклеточных действий БнТ от интернализации в цитоплазму аксона по эндосомальному пути до повреждения комплекса белков SNARE, приводящих в конечном итоге к нарушению выброса ацетилхолина в синаптическую щель. В этом направлении были изучены терапевтические возможности гидрохлорид гуанидина, аминопиридинов, тусенданина, TPEN и пр., однако и они достоверного положительного эффекта на течение и исходы ботулинической интоксикации не оказали. Очевидно, что процессам восстановления нейромышечной передачи мешает неспецифическая интоксикация, закономерно развивающаяся при ботулизме. С целью

ее устранения, кроме классических методов детоксикации (инфузионная терапия с использованием коллоидных и кристаллоидных растворов), перспективным представляется включение в комплексную терапию пациентов с ботулизмом метода энтеральной коррекции с использованием солевого энтерального раствора.

Ключевые слова: ботулизм, антитоксины, моноклональные антитела, гуанидин, аминопиридины, тусенданин, энтеральная коррекция

Kozhevnikova A.^{1,2}, Nikiforov V.¹⁻³ ✉

¹ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

² 1st Infectious Diseases Clinical Hospital, Moscow, Russia

³ Academy of Postgraduate Education of the Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Care and Medical Technologies, Moscow, Russia

Drug Therapy of Botulism Patients: Problems and Solutions

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Kozhevnikova A. – writing the text of the article; Nikiforov V. – selection of literature for the review. All authors confirm that their authorship meets the ICMJE international criteria (all authors made a significant contribution to the conceptualization, conduct of the work and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

Funding source. The authors declare the absence of external funding in the conduct of the work.

Submitted: 11.02.2025

Accepted: 10.03.2025

Contacts: v.v.nikiforov@gmail.com

Abstract

With the relative rarity of observations, the severity of botulism (mortality in the range of 4–8%) forces clinicians and experimentalists around the world to look for ways and methods to optimize approaches and treatment methods for patients with this pathology. To some extent, the situation is also aggravated by the threat of using botulinum toxin (BnT) as a biological weapon. The introduction of population immunization programs against this disease is limited, among other things, by the fact that botulism vaccination makes it impossible for a person to use Botox-type BnT drugs for therapeutic purposes in the future. The use of antitoxins obtained by hyperimmunization of horses has significantly reduced mortality rates in botulism, but by now these drugs have completely exhausted their therapeutic capabilities. It is expected that in the future, the creation of monoclonal antibodies will be optimal due to their a priori efficacy and safety. Developments in this area are underway, but monoclonal antibodies against BnT have not yet been used in any country in the world. Of particular interest is the analysis of attempts at intraneuronal (antidote) therapy aimed at breaking the sequential chain of intracellular BnT actions from internalization into the cytoplasm of the axon along the endosomal pathway to damage to the SNARE protein complex, ultimately leading to disruption of acetylcholine release into the synaptic cleft. In this direction, the therapeutic possibilities of guanidine hydrochloride, aminopyridines, tusendanin, TPEN, etc. were studied, however, they did not have a significant positive effect on the course and outcomes of botulinum intoxication.

Obviously, the processes of neuromuscular transmission restoration are hindered by nonspecific intoxication, which naturally develops in botulism. In order to eliminate it, in addition to classical detoxification methods (infusion therapy using colloidal and crystalloid solutions), it seems promising to include the method of enteral correction using saline enteral solution in the complex therapy of botulism patients.

Keywords: botulism, antitoxins, monoclonal antibodies, guanidine, aminopyridines, tusendanin, enteral correction

Несмотря на то что ботулизм является достаточно редким инфекционным заболеванием (в РФ 300–400 случаев в год), в силу тяжести своего течения (летальность 7–9%) [1] он все-таки заставляет клиницистов и экспериментаторов всего мира искать пути и методы борьбы с ним. В какой-то мере ситуация усугубляется и угрозой использования ботулинического токсина (БНТ) в качестве биологического оружия [2]. С другой стороны, редкость заболевания в сочетании с тем фактом, что вакцинация от ботулизма лишает человека в перспективе возможности использовать в лечебных целях препараты БНТ типа ботокса, ограничивает внедрение программ иммунизации населения против данного заболевания [3].

Тем не менее успехи терапии пациентов с ботулизмом весьма впечатляющие: если в начале прошлого века летальность при ботулизме составляла 70% [4], то начиная с 40–50-х гг. XX в. она стала прогрессивно снижаться и на сегодняшний день она составляет менее 5% с тенденцией к дальнейшему «отрицательному росту», прямо пропорциональному развитию современных методов интенсивной терапии, особенно искусственной вентиляции легких (ИВЛ) [2, 4, 5].

Нынешняя тактика лечения пациентов с ботулизмом (инфузия антитоксинов и длительная интенсивная поддерживающая терапия, включая ИВЛ) является ресурсозатратной и плохо подходит для ситуаций с большим количеством пострадавших. Кроме того, ограниченная способность антитоксина предотвращать и тем более устранять у пациентов явления острой дыхательной недостаточности (ОДН) еще больше усложняет стратегии лечения, особенно с учетом ограниченной доступности учреждений интенсивной терапии [6]. Однако даже если бы было разработано 100% эффективное интранейрональное антидотное лечение, разрешение нервно-мышечного паралича все равно было бы отложено до тех пор, пока белки SNARE не будут регенерированы, что в случае тяжелого течения ботулизма с развитием ОДН будет сопровождаться необходимостью в многодневной респираторной поддержке [7, 8]. Иными словами, даже теоретически не может существовать препарата, в мгновение ока способного восстановить БНТ-ассоциированный блок нейромышечной передачи и повернуть вспять уже развившуюся клиническую картину ботулизма.

Терапевтические мероприятия при ботулизме – как используемые на практике, так и находящиеся в стадии разработки – можно условно разделить на три взаимодополняющие, но неравнозначные по объему, сложности проведения и эффективности группы. Первая группа мероприятий имеет своей целью любыми путями и методами осуществить нейтрализацию свободного БНТ в организме пациента (крови, желудке, кишечнике) и таким образом прекратить дальнейшее поступление БНТ в нервные клетки и, как следствие, купировать нарастание клинических признаков

специфической интоксикации. Сюда же можно отнести и антибактериальную терапию, имеющую целью исключить возможность (в том числе и гипотетическую) синтеза БНТ *in vivo*.

Второй блок мероприятий, находящихся в основной своей массе в стадии разработок «разной степени зрелости», можно условно охарактеризовать как попытки интранейрональной (антидотной) терапии, направленной на разрыв последовательной цепи внутриклеточных действий БНТ от интернализации в цитоплазму аксона по эндосомальному пути до повреждения комплекса белков SNARE (см. ниже), приводящих в конечном итоге к нарушению выброса ацетилхолина в синаптическую щель [9].

Третий блок терапевтических мероприятий направлен на устранение уже вызванных БНТ патологических процессов и явлений на организменном уровне (ИВЛ и пр.) [2].

Нейтрализация токсина может быть осуществлена как физическими, так и иммунологическими методами, причем возможности обоих направлений весьма ограничены.

Так, для чисто химического разрушения БНТ в просвете (и не более того) желудочно-кишечного тракта применяют 5%-ный раствор пищевой соды NaHCO_3 как в виде промываний желудка, так и высоких очистительных клизм [10]. Понятно, что эффективность данной меры весьма и весьма низка и обратно пропорциональна времени, прошедшему от начала приема зараженной пищи [11].

На этапе миграции токсина из просвета кишечника до клетки-мишени токсин может (и должен) быть нейтрализован соответствующими антитоксическими антителами [2].

Необходимость использования специфических антитоксических препаратов в ходе лечения пациентов с ботулизмом стала ясна с момента открытия ван Эрменгемом возбудителя ботулизма в 1897 г. и признания ведущей роли токсемии в патогенезе данного заболевания [8]. В России первые успешные попытки получения противоботулинических сывороток (ПБС) были сделаны еще С.В. Константиновым в 1904–1916 гг., а в 1929 г. И.М. Великанов получил ПБС, не уступающую по качеству зарубежной [12]. В СССР противоботулиническая сыворотка, полученная путем иммунизации лошадей анатоксином по методу, предложенному в середине 20-х гг. XX в. Weinberg M. и Goy P. [13], была получена в промышленных масштабах уже в 1933 г. [14].

В настоящее время во всем мире в качестве единственного широко и повсеместно используемого специфического антитоксического средства применяется лошадиный противоботулинический антитоксин, в России производящийся под наименованием ПБС [15].

В СССР с 1965 г. производилась лошадиная ПБС типов А, В и Е с требованием вводить препарат внутримышечно и многократно. С 1988 г. в обращение была введена ПБС, получаемая не только от лошадей, но и крупного рогатого скота (КРС). При этом спектр антитоксинов был увеличен до типов А, В, С, Е и F, а дозировка ПБС ограничена только одной дозой сыворотки, вводимой строго внутривенно. Сыворотка КРС рассматривалась как альтернатива лошадиной ПБС при непереносимости последней. Однако 17.02.2000 была утверждена и по сей день действует без существенных изменений «Инструкция по применению сывороток противоботулинических...»,

где спектр антитоксинов был вновь сужен до трех (типы А, В и Е), а сыворотка, полученная при гипериммунизации КРС, более не фигурирует (и не производится) [2].

Что касается зарубежных коллег, то 22 марта 2013 г. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) ввело в оборот антитоксин сразу против семи типов БНТ (НВАТ) – для нейтрализации всех возможных серотипов ботулизма (А, В, С, D, Е, F и G). НВАТ получают из «деспецифицированных» лошадиных IgG-антител, у которых была отщеплена часть Fc и сохранен F(ab')₂ фрагмент (НВАТ, Cangene Corporation) [16–20].

В Европе в основном используют американский НВАТ (в Великобритании – без лицензии) и лошадиную трехвалентную (типов А, В и Е) антитоксическую сыворотку производства Behring, ФРГ [16, 21].

Ситуация складывается не совсем адекватная – в трехвалентной ПБС явно не хватает 4-го компонента – антитоксина типа F, так как имеются указания на возможность ботулизма этого типа у человека (с доказанной токсемией БНТ типа F на момент госпитализации), причем с весьма неблагоприятным исходом [22], тогда как описаний заболеваний людей, вызванных БНТ типов D и G, в доступной литературе нам не встретилось, ввиду чего целесообразность наличия в американском НВАТ антитоксинов против этих двух типов ботулотоксина внушает вполне обоснованные сомнения.

В то же время как ПБС, так и НВАТ, будучи в своей основе лошадиными белками, способны вызывать целый комплекс аллергических реакций, вплоть до анафилактического шока [23, 24].

В целях если не повысить эффективность специфической антитоксической терапии, то хотя бы снизить количество подобного рода ятрогенных осложнений еще в конце прошлого века, причем именно в нашей стране (на тот период – в СССР), была предпринята попытка заменить лошадиную ПБС донорским противоботулиническим иммуноглобулином. Таким препаратом явился гомологичный (донорский) противоботулинический иммуноглобулин (ГПИГ), изготовленный под руководством Альбицкой Н.Б. на предприятии по производству бактериальных препаратов Томского НИИ вакцин и сывороток. Гомологичный противоботулинический иммуноглобулин представлял собой иммунологически активную белковую фракцию, полученную из сыворотки или плазмы доноров (методом фракционирования этиловым спиртом при низких температурах), привитых ранее в плановом порядке трехкратно сорбированной химической брюшнотифозной вакциной с сорбированным очищенным секста-анатоксином и ревакцинированных однократно сорбированным ботулиническим трианатоксином типов А, В, Е [25]. Препарат продемонстрировал свою высокую эффективность наравне с ПБС при практическом отсутствии аллергических реакций. Однако технология его производства допускала лишь внутримышечное его введение. Были начаты работы по получению ГПИГ с возможностью внутривенной инфузии [2], однако распад СССР остановил эти разработки, тогда как в США подобного рода работы продолжались.

23 октября 2003 г. FDA лицензировало донорский противоботулинический иммуноглобулин для внутривенного введения (детский ботулинический иммуноглобулин) для лечения младенческого ботулизма типов А и В как в США, так и за их пределами (с 2005 г.) [26–29]. Препарат получали из плазмы крови доноров, иммунизированных пентавалентным ботулиническим анатоксином. Для лечения детского ботулизма

рекомендуется его внутривенная инфузия в объеме (дозе) 1 мл/кг (50 мг/кг) [30, 31]. Он доступен в США согласно Программе профилактики и лечения детского ботулизма (The Infant Botulism Treatment and Prevention Program (IBTPP)). Иммуноглобулин вводится однократно внутривенно. Риск анафилактического шока крайне низок, применение препарата существенно (почти на 50%) сокращает длительность госпитализации. Он высокоэффективен, и, несмотря на свою высокую стоимость почти в 50 тысяч долларов за флакон [32, 33], прогнозировалось, что его использование сэкономит более 85 миллионов долларов в течение первых 12 лет после лицензирования в США в 2003 г. за счет сокращения средней продолжительности пребывания в больнице на 3,6 недели на каждого младенца [32]. Несмотря на эти преимущества, он ограничен к применению в некоторых странах именно из-за высокой стоимости по сравнению с традиционными лошадиными антитоксинами [34]. В настоящее время схема его производства обновляется [24, 35].

Подводя к завершению обзор положительных и отрицательных сторон широко используемых в клинической практике лошадиных антитоксина, нельзя не отметить, что их производство ограничено из-за длительного курса иммунизации, необходимого для развития адекватных уровней антител в сыворотке лошади, а короткий период полувыведения гетерологичных антитоксических антител из циркуляции требует больших количеств препарата на одну дозу [34, 36–38]. Вдобавок ко всему сказанному, производство иммунных сывороток и иммуноглобулинов включает в себя сложные и трудоемкие производственные процессы [39] и требует жесточайшего контроля качества и биобезопасности производства.

В то же время понятно, что в перспективе оптимальным будет создание моноклональных антител ввиду их априорной эффективности и безопасности [40], как это удалось сделать при лечении пациентов с COVID-19. Такие попытки в отношении ботулизма (создание мономерного лошадиного иммуноглобулина и моноклональных гомологичных, человеческих антител) делались еще в 80-е гг. прошлого столетия [41, 42], однако ввиду трудностей получения и, как следствие, крайне высокой стоимости препаратов перечисленные выше альтернативные специфические антитоксические средства в то время не вышли за рамки клинических испытаний. Но время вносит свои коррективы – имеется уже достаточно большое количество сообщений о вполне успешных лабораторных разработках моноклональных антител против различных подтипов БНТ, от вполне классических – А, В, С и пр. [43–47] до моноклональных антител против БНТ типа Н [48], существование которого как самостоятельного типа БНТ оспаривается [49]. Рассматривается возможность (пока еще в условиях эксперимента) использования смеси моноклональных антител (против БНТ типов А и В) даже при ингаляционном поступлении токсина ботулизма [50].

Некоторые препараты на основе моноклональных антител уже находятся на рассмотрении FDA [39].

Не отстает от этих исследований и Россия. Минздрав России 26.06.2024 выдал разрешение на клинические исследования нового препарата для нейтрализации токсина ботулизма А, разработанного НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи на основе моноклональных антител [51].

Впрочем, в широкой практике моноклональные антитела против БНТ пока не используются ни в одной стране мира [38].

Исследования в области антитоксической терапии продолжаются – в эксперименте показало многообещающие результаты применение однодоменных антител [52], в том числе и для профилактики ботулизма: получен рекомбинантный аденоассоциированный вирус (rAAV-B11-Fc), экспрессирующий синтез однодоменных антител, слитых с Fc-фрагментом IgG человека (B11-Fc) и специфичных в отношении ботулотоксина типа А [53].

С другой стороны, возможности серотерапии (иммунотерапии, моноклональных антител) отнюдь не бесконечны и ограничиваются возможностью антитоксических антител связать токсин лишь на коротком отрезке времени нахождения его в крови [2], причем в идеале следует вводить антитоксин как можно быстрее от момента появления симптомов ботулизма, чтобы свести к минимуму количество поступающего в нервную клетку (интернализующего) токсина [54].

Данные свидетельствуют о том, что пациентам, получавшим НВАТ в течение 48 ч. от момента появления первых симптомов ботулизма, требуется меньшая длительность стационарного лечения и менее интенсивная терапия [4, 6]. Следовательно, по совету зарубежных авторов, во всех случаях подозрения на ботулизм необходимо вводить НВАТ без промедления и не ждать результатов лабораторной диагностики в связи с быстрым и необратимым прогрессированием ботулинической интоксикации [5]. Именно в связи с подобным положением вещей отечественные инструкции по применению ПБС не просто рекомендуют, а требуют введения ПБС немедленно при появлении первых симптомов ботулизма [55].

В целом можно констатировать, что:

1. Специфическая антитоксическая терапия возможности повышения своих «прямых» лечебных свойств исчерпала еще в середине XX в. и дальнейшие изыскания в этой области направлены лишь на снижение частоты и выраженности побочных (нежелательных) эффектов.

Однако выживание и выздоровление требуют длительного использования огромных ресурсов интенсивной терапии, которые могут быть существенно редуцированы именно применением антитоксинов (ПБС, НВАТ). Системный обзор и мета-анализ данных за 1923–2016 гг. показали, что в целом антитоксин снижал летальность (odds ratio (OR) – отношение шансов (ОШ) = 0,22; 95% доверительный интервал (ДИ) = 0,17–0,29), при этом наибольшее снижение было связано с лечением ботулизма типа Е (ОШ=0,13; 95% ДИ=0,06–0,30), за которым следует ботулизм типа А (ОШ=0,57; 95% ДИ=0,39–0,84). Снижение летальности не было статистически значимым только для ботулизма типа В (ОШ=0,74; 95% ДИ=0,27–1,97), возможно, потому что этот тип токсина вызывает в целом более легкое заболевание. Эти результаты основаны на данных о пациентах, получавших трехвалентный антитоксин против БНТ типов А, В и Е, который при введении для лечения ботулизма типов А, В или Е значительно снижал общую летальность (ОШ=0,13; 95% ДИ=0,04–0,38) [4].

2. В то же время снижение показателей летальности с почти 70% на период первой половины XX в. (при доступности антитоксинов) до менее чем 2–8% в настоящее время при отсутствии существенных качественных изменений (resp – улучшений) состава используемых специфических антитоксических препаратов (ПБС или НВАТ) можно объяснить только развитием современных методов интенсивной терапии, в том числе и (особенно) ИВЛ [4, 5].

Что касается антибактериальной терапии, то при лечении пациентов с раневым ботулизмом зарубежные авторы, кроме назначения антитоксина и хирургической санации инфицированной раны (абсцесса), для предотвращения дальнейшей выработки токсина *in vivo* вводят пенициллин и метронидазол [56]. Это резко контрастирует с принятой за рубежом тактикой лечения младенческого и пищевого ботулизма у взрослых, где антибиотериальная терапия иностранными коллегами не рекомендуется ввиду потенциальной возможности лизиса вегетативных клеток *C. botulinum*, что, по их мнению, может привести к высвобождению внутриклеточного нейротоксина и нарастанию выраженности клинических проявлений ботулизма [28, 57, 58]. Подобные опасения, во всяком случае при пищевом ботулизме у взрослых, нам не вполне понятны, так как однократно введенный антитоксин в течение достаточно продолжительного времени гарантированно нейтрализует любые дополнительные дозы нейротоксина, поступающего в кровотоки из кишечника [2].

Известно, что передача импульса с нерва на мышцу осуществляется ацетилхолином, выбрасываемым из ацетилхолинсодержащей везикулы в синаптическую щель в ответ на приходящий по аксону импульс, и что именно этот механизм и блокирует БНТ [59].

Принципиально важно, что существует энергетический барьер, препятствующий естественному слиянию биологических мембран, в данном случае мембраны ацетилхолинсодержащей везикулы, и пресинаптической мембраны. Белки SNARE (от англ. soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment protein REceptor) [60] – основная «движущая сила» слияния мембран и переноса мембран внутри эукариотических клеток в целом и нейронов в частности. Во время слияния мембран комплексные SNARE, связанные с каждой из мембран, собираются, генерируя необходимые для слияния силу и энергию [61]. Этот комплекс включает белок, ответственный за фиксацию («заякоривание») ацетилхолинсодержащей везикулы (пузырька) в цитоплазме пресинаптического окончания и расположенный в мембране пузырька (синаптобrevин), тогда как за контакт везикулы с пресинаптической мембраной «отвечают» расположенные в акцепторной части мембран белки SNAP-25 и синтаксин.

Образно выражаясь, молекулы синаптобrevина, выступающие со стороны пузырька, и синтаксина плюс SNAP-25 – со стороны пресинаптической мембраны, напоминают две одинаковые по форме (но не по материалу изготовления) расчески, зубья которых при сближении легко входят друг между другом.

Далее эти белки «перекручиваются» между собой и притягивают мембраны друг к другу с последующим их (мембран) слиянием.

При этом важнейшее воздействие на этот сложный белковый комплекс, встроенный в мембраны везикул и пресинаптической мембраны, а также высвобождение транмиттеров (в данном случае – ацетилхолина) регулируется мембранными ионными каналами и тесно связано с изменением внутриклеточной концентрации Ca^{2+} [62, 63].

Согласно принятой в настоящее время точке зрения, т. е. гипотезе четырехступенчатого действия БНТ [64–66], тяжелая цепь нейротоксина избирательно связывается с экторецепторами на нервном окончании. Связываясь с экторецепторами, БНТ пересекает плазматическую мембрану в процессе рецептор-опосредованного эндоцитоза, что приводит к захвату токсина в эндосомальной структуре (интернализации). Затем в результате АТФ-зависимого процесса внутриэндосомальный pH снижается

до 4,5, что приводит к конформационному изменению молекулы токсина и разделению двух цепей. Впоследствии гидрофобные домены N-третьей области тяжелой цепи встраиваются в эндосомальную мембрану, образуя канал для трансляции легкой цепи в цитозоль (транслокация). Легкая цепь, являющаяся цинк-зависимой эндопептидазой, расщепляющей свой субстрат в цитозоле (определенные белки SNARE), является последним этапом, внутриклеточным действием токсина [2, 64].

За последние 10 лет был сделан ряд важных открытий, которые продемонстрировали механизм молекулярного действия БНТ. Сравнение последовательностей показало, что легкая цепь всех серотипов БНТ имеет высококонсервативный сегмент длиной 20 остаточных линий, расположенный в середине пептида, содержащий цинк-связывающий домен цинк-зависимых эндопептидаз (протеаз) His-Glu-Xaa-Xaa-His [67]. Каждый из семи серотипов БНТ в качестве цинк-зависимой протеазы расщепляет один из трех белков SNARE, необходимых для слияния везикул в высвобождении транмиттеров: синаптобревин (везикуло-ассоциированный мембранный белок, VAMP), SNAP-25 (синаптосомально-ассоциированный белок 25 кДа) и синтаксин [66]. В настоящее время установлено, что VAMP является мишенью для БНТ типа В [68], БНТ типа D [69], БНТ типа F [70] и БНТ типа G [71]. Специфической мишенью для расщепления с помощью БНТ типа А и БНТ типа Е является SNAP-25 [72, 73]. Целевым белком для БНТ типа С является синтаксин [74]. В случае если ботулиническая интоксикация не привела к смерти, выздоровление заключается в восстановлении нервно-мышечной передачи, что опосредовано, с одной стороны, синтезом новых белков SNARE взамен денатурированных токсином, а с другой – спрутингом, то есть образованием боковых отростков от поврежденного аксона в обход пораженного синапса [2].

В этой связи второй блок противоботулинических препаратов объединяет группы в основной своей массе только еще изучаемых соединений, которые имеют своей целью содействие высвобождению ацетилхолина в синаптическую щель или вмешательство в связывание, интернализацию, транслокацию, снижение эндопептидазной активности ботулинических токсинов [63] или ускорение деградаци БНТ в цитозоле нервной клетки [9].

Первым среди препаратов, использованных в этом направлении, можно считать гидрохлорид гуанидина, который при лечении пациентов с ботулизмом в 1968 г. рискнули применить Cherington M. и Ryan D.W. [76, 77]. Обосновали они этот свой шаг тем, что гуанидин способствует освобождению ацетилхолина в мионевральных синапсах, оказывая хороший эффект при миастениях. Механизм действия гуанидина основан на его вмешательстве во внутриклеточное связывание ионов Ca^{2+} в нервных терминалях, что тормозит аккумуляцию Ca^{2+} митохондриями. Последнее пролонгирует и увеличивает эффект кальция, который поступает внутрь нервного окончания во время реализации пресинаптического потенциала действия, в конечном итоге увеличивая освобождение ацетилхолина [76]. Действие гуанидина на течение ботулинической интоксикации изучалось как отечественными [78, 79], так и зарубежными [80] авторами. Препарат вводился пациентам в желудок через зонд в дозе от 10 мг/кг до 20–50 мг/кг в сутки, максимальное действие наступало через 30–60 мин. [79, 80]. Однако в ряде случаев лечение пациентов с ботулизмом с использованием гуанидина ожидаемого положительного эффекта не оказало, а при длительном применении препарата был отмечен целый комплекс побочных эффектов от единичных подергиваний мышц до кишечной непроходимости [78, 79]. В двойном

слепом перекрестном исследовании [81], в котором пациенты получали плацебо или активный препарат в течение различных периодов времени, была проанализирована способность гуанидина гидрохлорида (от 20 до 35 мг/кг в сутки перорально) улучшать скорость выздоровления у пациентов с умеренным или тяжелым течением ботулизма типа А. Среди 14 пациентов, получавших традиционную базисную терапию плюс гуанидин, не было зафиксировано облегчения течения болезни по сравнению с результатами в другой группе. Иными словами, добавление гуанидина к базисной терапии не способствует ускорению обратного развития болезни (ботулизма) [81]. В конечном итоге уже в 1994 г. был сделан окончательный вывод, что применение гуанидина, изученное в плацебо-контролируемых исследованиях, не приводит к облегчению клинического течения ботулизма [82].

Долгое время в медицинских кругах циркулировала гипотеза о том, что аминопиридины также могут обратить вспять симптомы ботулизма за счет увеличения высвобождения ацетилхолина [83]. Теоретически в качестве антидотов при ботулической интоксикации можно было бы использовать 4-аминопиридин (4-AP) или 3,4-диаминопиридин (3,4-DAP).

Действительно, было показано, что 3,4-DAP, в зависимости от концентрации, временно уменьшает мышечный паралич, вызванный БНТ [84–87]. 3,4-DAP является селективным блокатором калиевых каналов, который продлевает продолжительность потенциала нейронного действия, тем самым увеличивая приток Ca^{2+} через пресинаптические потенциал-зависимые каналы Ca^{2+} [88–90]. Поскольку слияние везикул сильно зависит от уровня Ca^{2+} , 3,4-DAP увеличивает вероятность высвобождения ацетилхолина [55, 91–95]. Тем не менее, аминопиридины имели различную эффективность в лечении признаков и симптомов ботулизма в доклинических и клинических исследованиях, что вызывало обеспокоенность по поводу их эффективности и механизма действия.

Действительно, исследования *ex vivo* подтверждают терапевтический эффект аминопиридинов при параличе скелетных мышц [83, 90, 96, 97]. Тем не менее, клинические исследования с участием небольшого числа пациентов, подвергшихся воздействию различных серотипов БНТ, в разных дозах и на разных стадиях заболевания, оказались крайне противоречивыми, что привело к неопределенности в отношении терапевтического потенциала аминопиридинов [98–102]. Так, аминопиридины были описаны и как эффективные [103, 104], и как неэффективные препараты [105] в плане устранения признаков ботулизма типа С у крыс. Экспериментально было показано, что 3,4-DAP увеличивает длительность жизни мышей, затравленных летальными дозами БНТ типа А [106] – лечение восстанавливало мышечный тонус и подвижность животных на период, длившийся 2–3 ч. Но в то время, как 3,4-DAP описывается как эффективный в лечении параличей, обусловленных БНТ типа А, и продлении выживаемости животных в экспериментах на грызунах [107–109], клинические исследования нередко указывают на отсутствие эффекта от указанного препарата [99]. Аналогичным образом сообщалось, что 3,4-DAP неэффективен при серотипе В у грызунов [85, 96, 110], однако в клиническом случае серотипа В с использованием ИВЛ была продемонстрирована устойчивая терапевтическая эффективность [100].

Vazquez-Cintron E. et al. (2020) [111] полагают, что 3,4-DAP может являться потенциально важным дополнением к одобренному FDA гептавалентного антитоксину ботулизма (НВАТ), поскольку клиническая польза от НВАТ ограничивается остановкой

прогрессирования ботулизма, а не ускорением выздоровления [19]. Результаты исследований Vazquez-Cintrón E. et al. (2020) [111] свидетельствуют о том, что 3,4-DAP может быть особенно эффективен на ранних этапах развития ботулинической интоксикации, когда у пациентов еще не развилась декомпенсированная дыхательная недостаточность, а также в смягчении длительной мышечной слабости, наблюдающейся в ходе обратного развития клинической картины ботулизма, тем самым ускоряя общее выздоровление. С клинической точки зрения ожидается, что это снизит риск опасных для жизни внутрибольничных заболеваний, затраты на лечение и освободит ограниченные ресурсы здравоохранения для других пациентов в критических состояниях [26, 112]. Фосфатная солевая форма 3,4-DAP (Firdapse) является одобренным FDA симптоматическим средством первой линии для лечения миастенического синдрома Ламберта – Итона (LEMS), являющегося аутоиммунным заболеванием, характеризующимся сниженным количественным содержанием и мышечной слабостью [113]. Поскольку терапевтический механизм действия 3,4-DAP идентичен для ботулизма и LEMS, 3,4-DAP может быть эффективен против обоих заболеваний в эквивалентных дозах [111]. Однако стоимость Firdapse в таблетках для приема внутрь по 10 мг составляет 29 298 долларов США за набор из 120 таблеток [114], что существенно ограничивает возможности его широкого использования.

Данных об эффективности при ботулизме 4-AP очень мало. Известно, например, что однократное введение 4-AP противодействует на ограниченный период времени нейромышечному параличу, вызванному у крыс БНТ типа А [115].

В то же время применение аминопиридинов сопровождается множеством побочных эффектов [106, 116] даже при низких дозах (менее 1 мг на 1 кг веса), наблюдались бессонница, тревога, возбуждение, парестезии, повышение артериального давления и пр. Кроме того, клинические и экспериментальные исследования свидетельствовали об эффективности 4-AP и 3,4-DAP при заболеваниях, вызванных только БНТ типов А и Е. В целом эффект аминопиридинов оказался непредсказуемым, а побочные эффекты полностью нивелировали кратковременные и сомнительные положительные результаты [106, 107, 116]. Единственное явно отмечаемое улучшение движений глазных яблок и конечностей не сопровождалось ожидаемым улучшением функционирования дыхательной мускулатуры [117]. С учетом всего вышесказанного был сделан вывод, что эффективность 4-AP и 3,4-DAP не установлена [118] и использование их в клинической практике при лечении пациентов с ботулизмом нецелесообразно [2].

Интересна и история изучения тритерпеноида растительного происхождения Тусенданина (Toosendanin, TSN) – действующего вещества, выделенного из коры и плодов растения семейства Melia [119, 120], которое в Древнем Китае использовалось против гельминтов пищеварительного тракта и в качестве сельскохозяйственного инсектицида [121, 122].

Использовать TSN для снижения выраженности вызванных БНТ парезов и параличей китайские ученые пробовали еще в 80-х гг. прошлого столетия [123–126], после того, как было установлено, что TSN избирательно блокирует высвобождение ацетилхолина из нервных окончаний [127].

Относительно новые данные свидетельствуют о том, что TSN является селективным агонистом Ca²⁺ каналов [128, 129] за счет ингибирования K⁺-каналов. Связанное с этим повышение уровня Ca²⁺ будет способствовать высвобождению

нейротрансмиттеров и может быть связано с противоботулиническим эффектом TSN [129].

В 2004 г. Shi Y.L., Wang Z.F. [130] обнаружили, что TSN делает синапсомы устойчивыми к БНТ типа А-опосредованному расщеплению SNAP-25. Антагонизирующий эффект не был при этом обусловлен ингибированием эндопептидазной активности легкой цепи в БНТ типа А. Было высказано предположение, что только блокирование сближения легкой цепи токсина (в качестве протеолитического фермента) с его субстратом (SNAP-25) в некотором роде ответственно за TSN-индуцированный противоботулинический эффект [129, 131].

Есть основания полагать, что TSN нарушает каналобразующую активность БНТ (во всяком случае типа А) в процессе трансляции легкой цепи токсина из эндосомы в цитозоль (транслокация) (см. выше) и, следовательно, защищает этим SNAP-25 от расщепления [132]. Возможно, нарушение тусенданином транслокации легкой цепи справедливо и для БНТ типа В [133].

В экспериментах, проведенных на обезьянах, наблюдался выраженный положительный эффект TSN [134]. Каждой макаке-резусу вводили по одной MLD БНТ типа А подкожно, терапию TSN (в/в, 0,9–1,0 мг/кг) начинали через 24 ч. после заражения БНТ типа А. В группе, получавшей TSN, 10 из 13 обезьян выжили и вернулись к нормальной активности, по сравнению с 2 выжившими из 12 обезьян в контрольной группе, не получавшей TSN. Тут же можно отметить, что TSN обладал аналогичным терапевтическим эффектом в экспериментах на мышах с использованием БНТ типов В и Е [135].

Как следует из обзорной статьи Hu M. et al. (2023) [129], клинические испытания китайских авторов показали, что пероральный прием TSN (1,25–2,25 мг/кг) оказывал значительный терапевтический эффект у пациентов с отравлением ботулотоксином [129].

Перспективно тусенданин оценивают как антидот ботулинического токсина, несмотря на относительно высокую токсичность и малый терапевтический индекс ($LD_{50}/ED_{50} = 4,35-5,25$) [136]. Так, максимальная клиническая «противоботулиническая» доза TSN (2,25 мг/кг при пероральном приеме у человека) была близка к минимальной гепатотоксичной дозе (3,2 мг/кг для человека), что указывает на то, что тусенданин в подобной ситуации может вызывать серьезное повреждение печени [129].

Дальнейшие исследования, по мнению китайских исследователей, должны быть направлены на поиск и изучение терапевтической эффективности малотоксичных синтетических производных тусенданина [129], однако новых результатов таких исследований, кроме как цитированных выше китайских авторов, в доступной нам литературе не найдено. С другой стороны, поскольку TSN подавляет циклы развития насекомых [137–139], его использование в качестве безвредного инсектицида в Китае становится все более популярным [140].

Действие тусенданина на потенциал концевых пластинок сходно с влиянием бета-бунгаротоксина и яда паука каракурта, которые так же повышают его (потенциал) в начальной фазе своего действия, однако обладают значительно большей токсичностью, чем тусенданин [136]. Так, яд паука каракурта в эксперименте улучшает нейромышечную передачу за счет повышения содержания ионов Ca^{++} в терминале двигательного нерва, что приводит к экзоцитозу ацетилхолинсодержащих везикул

и этим устраняет вызванный ботулотоксином блок нейромышечной передачи [142, 143], однако токсичность этого препарата не позволяет использовать его в клинической практике [144].

Как уже отмечалось выше, после связывания с рецепторами на поверхности нервных окончаний БНТ интернализуется эндцитозом. Затем токсин, а точнее его легкая цепь, перемещается (транслоцируется) из эндосомы в цитозоль в результате рН-зависимого процесса. Некоторые препараты действуют на этом этапе, противодействуя эффекту БНТ. Такими соединениями, теоретически противодействующими транслокации, являются хлорид аммония и метиламина гидрохлорид. В 1983 г. Simpson L.L. [145] сообщил, что эти препараты вызывают зависящий от концентрации и времени антагонизм начала нервно-мышечной блокады, вызванной БНТ типов А, В и С. Препараты оказывали свое действие только при добавлении до или в течение 10–20 мин. после введения токсина. В концентрациях, вызывающих антагонизм возникновения ВоНТ-индуцированного паралича, хлорид аммония и гидрохлорид метиламина не инактивировали молекулы токсина и не вызывали необратимых изменений в функции тканей. Кроме того, препараты не ингибировали связывание ВоНТ с рецептором и не обращали вспять нервно-мышечную блокаду. На этом эксперименты в данном направлении и закончились [130].

Сдвиг рН внутренней среды эндосомы в кислую сторону зависит от эндосомальной Н⁺-АТФазы, которая действует как протонный насос для поступления Н⁺ из цитоплазмы в просвет эндосомы. Применение Н⁺-перминированного ионофора может истощить этот градиент рН, не влияя на гидролиз АТФ [146, 147]. Sheridan R.E. в 1996 г. [148] обнаружил, что два ионофора, нигерицин и монензин, увеличивающие проницаемость мембран для Н⁺ и К⁺ или Н⁺, Na⁺ и К⁺ соответственно, блокируют эндосомальное закисление, действуя как Н⁺ шунты для нейтрализации градиентов рН. Наномолярные концентрации нигерицина или монензина задерживали развитие блокады в мышцах, обработанных БНТ типа А или БНТ типа В. Однако более высокая концентрация ионофоров напрямую блокирует синапсы. Таким образом, нигерицин и монензин могут задерживать наступление БНТ-ассоциированного паралича только в узком диапазоне концентраций [148].

В 1982 г. Simpson L.L. показал, что хорошо всем известный хлорохин эффективен в отсрочке индуцированной БНТ типа А нервно-мышечной блокады [149]. Дальнейшие исследования показали, что среди протестированных аминокинолиновых соединений те, которые имеют конфигурацию 7-хлор-4-амино-хинолина, аналогичную хлорохину (или структурно сходную группу 6-хлор-9-аминохинолин в хинакрине), были эффективны для продления времени, необходимого БНТ типа А для блокирования нервно-мышечной передачи [150, 151]. Механизм действия этих противомаларийных средств, вероятно, заключается в повышении уровня эндосомального рН.

Легкие цепи БНТ представляют собой цинк-зависимые металлопротеазы. Таким образом, ингибиторы этих ферментов и хелаторы тяжелых металлов могут быть ингибиторами действия БНТ.

Deshpande S.S., Sheridan R.E., Adler M. в 1995 г. [151] исследовали способность трех ингибиторов металлопротеаз задерживать начало развития паралича диафрагмы мышцы при воздействии ботулотоксинов типа А и В на n. phrenicus. Было установлено, что из трех исследованных соединений только фосфорамидон (phosphoramidon), клинически используемый ингибитор ангиотензинпревращающего фермента,

значительно задерживал начало мышечного паралича, вызванного БНТ типа В, и замедлял до 50% динамику развития паралича, тогда как при использовании БНТ типа А последний эффект отсутствовал. Два других ингибитора металлопротеазы – каптоприл (captopril) и рпептидгидроксамат (peptide hydroxamate) никакого эффекта в рамках описанного эксперимента вообще не оказали [151].

N,N,N'-тетраakis (2-пиридилметил)этилендиамин (N,N,N',N'-tetrakis (2pyridylmethyl) ethylenediamine) (TPEN) является хелатором тяжелых металлов [130]. TPEN может заметно задерживать время блокировки вызванного мышечного напряжения в изолированных нервно-мышечных препаратах, подвергшихся воздействию БНТ, и TPEN эффективен при всех серотипах БНТ. Механизмом, по-видимому, является хелатирование каталитически важного цинка в активном центре легкой цепи БНТ [152, 153]. Для определения защитной эффективности TPEN против воздействия ботулотоксинов *in vivo* мышам вводили TPEN в виде одного болюса или в виде нескольких инъекций за 30 мин. до, одновременно и через 2, 4 и 6 ч. после внутривенного введения БНТ типа А или В. Лечение TPEN не изменяло летальность мышей, которым вводили БНТ типа А или В, но вызывало значительную задержку времени наступления смерти [130, 152, 153].

Выздоровление от ботулизма связано с восстановлением высвобождения нейромедиатора и является следствием действия белка-убиквитина, вызывающего разрушение (деградацию) БНТ в цитозоле и способствующего спрутингу [156, 157]. Считается, что различная токсичность и длительность функционирования ботулинических токсинов в нервном окончании связаны с различной устойчивостью последних к воздействию белков убиквитин-протеасомной системы (UPS) [158, 159]. В настоящее время делаются попытки укорочения времени персистирования вызванных токсинном парезов и параличей за счет ускорения разрушения БНТ убиквитин-протеасомной системой путем ее активации [3, 160].

Однако суммируя все вышесказанное, остается только признать факт, что на сегодняшний день все попытки изыскания препаратов, которые могут разрушить блок нейромышечной передачи, вызванной БНТ [161], не оправдали возложенных на них надежд.

Кроме того, метаанализ на сегодняшний день не выявил доказательств эффективности какого-либо медикаментозного средства борьбы с ботулинической интоксикацией, кроме ботулинического антитоксина [162].

Очевидно, что крайней ступенью развития ботулинической интоксикации является ОДН, борьба с которой и составляет третий блок терапевтических мероприятий при ботулизме. Методики эти хорошо разработаны, анализ их не является целью настоящего обзора.

Однако в патогенезе ботулизма пусть не самую главную и явную (по сравнению с ОДН), но весьма негативную роль играет парез кишечника, напрямую связанный с воздействием БНТ на парасимпатическую нервную систему. Как и в случае с нарушением передачи импульса на поперечнополосатую мускулатуру, возможности обойти этот блок иннервации гладкой мускулатуры кишечника или нейтрализовать его (блок) «в лоб» у современной медицины отсутствуют.

Кишечник, являясь резервуаром инфекции и массы разнообразных токсичных веществ, относится к числу органов с постоянным интенсивным обменом веществ, требующим доставки адекватного количества пластического материала и энергии

для поддержания нормального морфофункционального состояния [164]. Высокая чувствительность клеток эпителия кишечной стенки к гипоксии и ишемии определяет ранние повреждения эпителиального барьера, отделяющего энтеральную среду от внутренней, при состояниях, сопровождающихся нарушением микроциркуляции и гипоксемией [165], что закономерно имеет место быть при ботулизме [10].

Не умаляя значимости постоянно совершенствующейся технологии внутривенной инфузионной терапии, ряд авторов в качестве ее дополнения или альтернативы рассматривают возможность интенсивной коррекции нарушений гомеостаза с помощью введения специальных жидкостей в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) [165]. Для осуществления энтеральной коррекции (ЭК) при различных патологических состояниях предложены растворы и смеси различного состава [166, 167]. Из литературных источников следует, что наиболее пригодными для ЭК являются химусоподобные жидкости [168]. Есть основания полагать, что в основу создания современных солевых энтеральных растворов легло авторское свидетельство на изобретение Гальперина Ю.М. и Баклыковой Н.М. «Способ определения пригодности питательных смесей для энтерального питания» (1980) [169], вслед за чем Гальперин Ю.М. с соавт. в 1988 г. [170] был предложен близкий по макроэлементному составу химусу солевой энтеральный раствор (СЭР). В настоящее время в МО РФ наиболее широко используется СЭР в виде набора концентратов для приготовления специализированного пищевого продукта диетического лечебного питания (энтерального питания) «СЭР» (солевой энтеральный раствор) [171].

При использовании ЭК, кроме детоксикации путем очищения ЖКТ, происходит коррекция нарушений водно-электролитного баланса, кислотно-основного состояния, гемореологии, микроциркуляции, про- и антиоксидантного равновесия, микробиоценоза кишечника и моторной функции ЖКТ [172]. Маткевичем В.А. с соавт. в 2020 г. [164] было показано, что ЭК с использованием СЭР, например, при острых отравлениях психофармакологическими препаратами, оказывает многоплановое корригирующее воздействие на нарушенные физиологические показатели, ключевым моментом которого является устранение водно-электролитного и кислотно-основного дисбаланса. Такой результат можно объяснить, с одной стороны, следствием детоксикационного эффекта энтеральных солевых растворов – устранения первопричины всех нарушений, а с другой – непосредственным влиянием СЭР на водно-электролитный обмен через кишечную стенку по принципу ауторегуляции благодаря химусоподобным физико-химическим характеристикам раствора. Таким образом, в основе лечебных механизмов ЭК лежат два процесса: удаление из организма патологических и избыточных химических веществ и поступление в кровеносное русло сбалансированного количества электролитов и воды. Присутствие в СЭР глюкозы повышает абсорбцию ионов натрия из кишки в кровь, за которыми «следует» вода, что в целом увеличивает скорость всасывания раствора [173, 174]. Кроме того, считается, что энтеральная коррекция с использованием солевого энтерального раствора является одним из наиболее эффективных методов восстановления моторной функции кишечника [175].

Выше уже отмечалось, что ботулинические токсины необратимо ингибируют белки группы SNARE. При благоприятном течении заболевания, для преодоления возникшего блока нейромышечной передачи, нервная клетка с одной стороны синтезирует новые молекулы белков SNARE, а с другой использует спрутинг, т. е.

формирует боковые коллатеральные отростки аксона в обход заблокированного си-напса. Очевидно, что процессам восстановления нейромышечной передачи мешает неспецифическая интоксикация, закономерно развивающаяся при ботулизме.

Есть основания полагать, что проявления синдрома кишечной недостаточности в той или иной степени возникают и сопровождают любое угрожаемое жизни состояние, особенно если речь идет о нарушении адекватной оксигенации тканей [176–180], которая закономерно имеет место при ботулизме [2, 10]. В условиях гипоксемии неизбежно страдает кровоснабжение кишечных ворсин с последующим каскадом механизмов, приводящих в итоге к снижению пищеварительной, эвакуаторной и барьерной функции кишечника. Следует отметить, что у пациентов, находящихся на ИВЛ, ввиду выключения механизма дыхательной помпы создаются предпосылки для венозного полнокровия, отека кишечной стенки и секвестрации жидкости в просвет кишечника [181]. При наличии воспалительных процессов в легочной ткани, нередко сопровождающих ботулизм, особенно у пациентов на ИВЛ и требующих параметров респираторной поддержки с постоянным положительным давлением в конце выдоха, возникает дополнительная нагрузка на правые отделы сердца, что усугубляет ситуацию. Безусловно, вышеописанные факторы приводят как к локальной ишемии кишечных ворсин, так и функциональной недостаточности эпителиального энтероцитарного барьера. Учитывая сроки жизни энтероцита при благоприятных физиологических условиях (не более 5 суток), при имеющихся неблагоприятных условиях неизбежно возникают локусы кишечника с несостоятельным или полным отсутствием эпителиального защитного слоя, что в свою очередь облегчает процесс транслокации и требует от организма усилий по созданию лейкоцитарного (преимущественно лимфоцитарного) постэпителиального барьера для поддержания гомеостаза [181].

Вне зависимости от генеза угнетения перистальтики в паретичном кишечнике накапливаются биологически активные вещества (гистамин, брадикинин, лизосомальные ферменты) и неспецифические токсины с последующей их транслокацией в кровоток. Происходит изменение pH, осмолярности и электролитного состава химуса. Кроме того, на фоне проводимой массивной антибактериальной терапии происходит угнетение роста нормальной микрофлоры кишечника, что сопровождается стремительным ростом условно-патогенной и патогенной микрофлоры [176–179, 181–185] и, как следствие, нарушением состава микробиоты с почти обязательной последующей транслокацией неспецифических (бактериальных) токсинов из просвета кишечника в кровоток [185].

В этой связи целесообразным представляется устранение неспецифической интоксикации в целях ускорения процессов синтеза белков SNARE в нервных клетках и динамики спрутинга.

Таким образом, есть все основания считать, что применение ЭК с использованием СЭР при ботулизме является научно и практически оправданным, однако в доступной литературе нам не удалось найти ни единого упоминания о применении этой методики при данной патологии ни в эксперименте, ни на практике. Мы с успехом применили ЭК при лечении ряда пациентов с ботулизмом типа А во время вспышки в Москве в июне 2024 г., отчет о чем составит основу нашей последующей публикации.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Temporary guidelines for the diagnosis and treatment of botulism. Approved by the Deputy Minister of Health of the Russian Federation A.N. Plutnitsky on August 5, 2024. http://epid.gcgje.ru/documents/2_5370607684523413139.pdf
2. Nikiforov V.V. *Botulism*. St. Petersburg: Eco-Vector, 2024. 528 p.: ill. <https://doi.org/10.17816/b.bot2023> (In Russian)
3. Yongpeng Wei, Guangyao Li, Zhuo Wang, et al. (2024) Development and characterization of a novel neutralizing scFv vectored immunoprophylaxis against botulinum toxin type A. *Journal of Drug Targeting*. 32(2):213–222.
4. John C O'Horo, Eugene P Harper, Abdelghani El Rafei, et al. Efficacy of Antitoxin Therapy in Treating Patients with Foodborne Botulism: A Systematic Review and Meta-analysis of Cases, 1923–2016. *Clinical Infectious Diseases*. 2018;66(1):S43–S56. <https://doi.org/10.1093/cid/cix815>
5. Rao AK, Sobel J, Chatham-Stephens K, Luquez C. Clinical Guidelines for Diagnosis and Treatment of Botulism. *MMWR Recomm Rep*. 2021;70(Nos. RR-2):1–30. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.rr7002a1>
6. Yu PA, Lin NH, Mahon BE, et al. Safety and Improved Clinical Outcomes in Patients Treated With New Equine-Derived Heptavalent Botulinum Antitoxin. *Clin Infect Dis*. 2017 Dec 27;66(suppl_1):S57–S64. doi: 10.1093/cid/cix816
7. Zanetti G, Sikorra S, Rummel A, et al. Botulinum neurotoxin C mutants reveal different effects of syntaxin or SNAP-25 proteolysis on neuromuscular transmission. *PLoS Pathog*. 2017 Aug 11;13(8):e1006567. doi: 10.1371/journal.ppat.1006567
8. Cohen LD, Zuchman R, Sorokina O, et al. (2013) Metabolic Turnover of Synaptic Proteins: Kinetics, Interdependencies and Implications for Synaptic Maintenance. *PLoS ONE* 8(5): e63191. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063191>
9. Rawson AM, Dempster AW, Humphreys CM, Minton NP. Pathogenicity and virulence of Clostridium botulinum. *Virulence*. 2023 Dec;14(1):2205251. doi: 10.1080/21505594.2023.2205251
10. Nikiforov V.N., Nikiforov V.V. *Botulism*. Leningrad: Medicine, 1985. 199 p.
11. Lonati D., Schicchi A., Crevani M., et al. Foodborne Botulism: Clinical Diagnosis and Medical Treatment. *Toxins*. 2020;12(8):509. <https://doi.org/10.3390/toxins12080509>
12. Velikanov I.M., Kolesnikova M.Kh. Successes of serotherapy of botulism in the USSR. *Soviet Medical Newspaper*. 1934;10:743–749. (In Russian)
13. Weinberg M., Goy P. De l'anatoxine botulinique. *Compt. Rend. Soc. M. Biol.*, 1924;91:148.
14. Weinberg M., Goy P. Emploi de l'anatoxine dans la preparation de serum antitobotulinique. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 1924;92:564.
15. Gogin E., Dreitzer P., Makarova-Tarasevich Yu. Production of therapeutic serum against botulism. *Soviet Medical Newspaper*, 1933;3–4:124–127. (In Russian)
16. *Antibotulinum serum*: https://www.vidal.ru/drugs/serum_antibotulinic_type_a_horse_purified_concentrated_liquid_31545
17. *US Food and Drug Administration (FDA). Approval History, Letters, Reviews, and Related Documents – BAT (Botulinum Antitoxin Heptavalent (A, B, C, D, E, F, G)) (Equine) [Internet]*. 2013 [cited 20th October 2022]; Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/approved-blood-products/bat-botulism-antitoxin-heptavalent-b-c-d-e-f-g-equine>
18. *Package Insert – Botulinum Antitoxin Heptavalent (A, B, C, D, E, F, G) – (Equine)*. <https://www.fda.gov/media/85514/download>
19. Schussler E., Sobel J., Hsu J. et al. Allergic reactions to botulinum antitoxin: a systematic review. *Clin. Infect. Dis*. 2017;66(1):S65–72. DOI:10.1093/cid/cix827
20. Yu P.A., Lin N.H., Mahon B.E., et al. Safety and improved clinical outcomes in patients treated with new equine – derived heptavalent botulinum antitoxin. *Clin. Infect. Dis*. 2017;66:S57–S64. DOI: 10.1093/cid/cix816
21. Lonati D., Schicchi A., Crevani M., et al. Foodborne botulism: clinical diagnosis and medical treatment. *Toxins*. 2020;12(8):509. DOI: 10.3390/toxins12080509
22. Pirazzini M., Rossetto O. Challenges in searching for therapeutics against botulinum neurotoxins. *Expert Opin. Drug Discov*. 2017;12:497–510.
23. Nicolaeva Irina, Gilmullina Fayruza, Kazancev Aleksander, et al. The case of food botulism F. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2023;27:360–367. 10.17816/EID120021
24. Black RE, Gunn RA. Hypersensitivity reactions associated with botulinum antitoxin. *Am j med*. 1980;69(4):567–570.
25. Pirazzini M, Rossetto O. Challenges in searching for therapeutics against Botulinum Neurotoxins. *Expert Opin Drug Discov*. 2017;12(5):497–510.
26. Tashpulatov Sh.A. *Comparative effectiveness of homologous antitoxin immunoglobulin and heterologous antitoxin serum in different severity of botulism (4.00.10 – infectious diseases)*. (PhD Thesis). M., 1985, 23 p.
27. Arnon SS, Schechter R, Maslanka SE, Jewell NP, Hatheway CL. Human botulism immune globulin for the treatment of infant botulism. *N Engl J Med*. 2006;354:462–71. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa051926>
28. Arnon S.S. Creation and Development of the Public Service Orphan Drug Human Botulism Immune Globulin. *Pediatrics*. 2007;119(4):4.
29. Fenicia L, Annibaldi F. Infant botulism. *Ann Ist Super Sanita. Annali dell'Istituto superiore di sanita*. 2009;45(2):134–146.
30. *US Food and Drug Administration (FDA). BabyBIG [Internet]*. 2003 [cited 20th October 2022]; Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/approved-blood-products/babybig>
31. Culler E. E., Lennart E. Lögdberg. *Albumin IVIG and derivatives*. *Blood Banking and Transfusion Medicine*. 2nd ed. 2007.
32. Rasetti-Escargueil C., Popoff M.R. Antibodies and Vaccines against Botulinum Toxins: Available Measures and Novel Approaches. *Toxins*, 2019;11(9):528. <https://doi.org/10.3390/toxins11090528>
33. Payne JR, Khouri JM, Jewell NP, et al. Efficacy of Human Botulism Immune Globulin for the Treatment of Infant Botulism: the First 12 Years Post Licensure. *J Paediatr*. 2018;193:172–177.
34. *Van Horn NL, Street M. Infantile Botulism*. 2023 Jun 12. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan.
35. Vanella de Cuetos EE, Fernandez RA, Bianco MI, Sartori OJ, Piovano ML, Lúquez C, de Jong LIT. Equine Botulinum Antitoxin for the Treatment of Infant Botulism. *Clin Vaccine Immunol*. 2011;18. <https://doi.org/10.1128/CVI.05261-11>
36. Khouri J.M., Motter R.N., Arnon S.S. (2018) Safety and immunogenicity of investigational recombinant botulinum vaccine, rBV A/B, in volunteers with pre-existing botulinum toxoid immunity. *Vaccine*. 2018;36:2041–2048.
37. Thanongsaksrikul J, Chaicumpa W. Botulinum neuro-toxins and botulinum type F: a novel therapeutic approach. *Toxins (Basel)*. 2011;3(5):469–488.
38. Fagan RP, Neil KP, Sasich R, et al. Initial Recovery and Rebound of Type F Intestinal Colonization Botulism After Administration of Investigational Heptavalent Botulinum Antitoxin. *Clin Infect Dis*. 2011;53(9):e125–8.
39. Rasetti-Escargueil C, Popoff MR. Antibodies and vaccines against botulinum toxins: available measures and novel approaches. *Toxins (Basel)*. 2019;11:528. DOI:10.
40. Matsumura T, Amatsu S, Misaki R, et al. Fully Human Monoclonal Antibodies Effectively Neutralizing Botulinum Neurotoxin Serotype B. *Toxins (Basel)*. 2020 May 7;12(5):302. doi: 10.3390/toxins12050302

41. Nowakowski A, Wang C, Powers DB, et al. Potent neutralization of botulinum neurotoxin by recombinant oligoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci, USA*. 2002;99(17):11346–11350.
42. Morris I.G., Hatheway C.L. Botulism in the U.S. 1979. *Infect. Dis.* 1980;14(2):302–305.
43. Lewis G.E.Jr. *Approaches to the prophylaxis, immunotherapy, and chemotherapy of botulism // Biomedical Aspects of Botulism*. Ed. by G.E.Jr. Lewis. New York, NY: Academic Press, 1981. P. 261–270.
44. Nayak S.U., Griffiss J.M., McKenzie R., et al. Safety and Pharmacokinetics of XOMA 3AB, a Novel Mixture of Three Monoclonal Antibodies against Botulinum Toxin A. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014;58:5047–5053. doi: 10.1128/AAC.02830-14
45. Fan Y, Dong J, Lou J, et al. Monoclonal antibodies that inhibit the proteolytic activity of botulinum neurotoxin serotype/B. *Toxins (Basel)*. 2015;7:3405–3423. doi: 10.3390/toxins7093405.
46. Fan Y, Garcia-Rodriguez C., Lou J, et al. A three monoclonal antibody combination potently neutralizes multiple botulinum neurotoxin serotype F subtypes. *PLoS ONE*. 2017;12:e0174187. doi: 10.1371/journal.pone.0174187
47. Garcia-Rodriguez C, Raza A, Geren IN, et al. A Three Monoclonal Antibody Combination Potently Neutralizes Multiple Botulinum Neurotoxin Serotype E Subtypes. *Toxins (Basel)*. 2018 Mar 1;10(3):105. doi: 10.3390/toxins10030105
48. Snow DM, Rilling K, Kimbler A, et al. Safety and Pharmacokinetics of a Four Monoclonal Antibody Combination Against Botulinum C and D Neurotoxins. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019 Sep 9;63(12):e01270–19. doi: 10.1128/AAC.01270-19
49. Fan Y, Barash JR, Lou J, et al. (2016) Immunological characterization and neutralizing ability of monoclonal antibodies directed against botulinum neurotoxin type H. *J Infect Dis.* 213:1606–1614. doi: 10.1093/infdis/jiv770
50. Maslanka S.E., Luquez C., Dykes J.K., et al. A Novel Botulinum Neurotoxin, Previously Reported as Serotype H. Has a Hybrid-Like Structure With Features of Similarity to the Structures of Serotypes A and F and Is Neutralized With Serotype A Antitoxin. *J. Infect. Dis.* 2015;213:379–385.
51. Snow DM, Cobb RR, Martinez J, et al. A Monoclonal Antibody Combination against both Serotypes A and B Botulinum Toxin Prevents Inhalational Botulism in a Guinea Pig Model. *Toxins (Basel)*. 2021 Jan 5;13(1):31. doi: 10.3390/toxins13010031
52. *The Ministry of Health has approved clinical trials of a new drug for the treatment of botulism* <https://www.interfax.ru/russia/968108>
53. Godakova SA, Noskov AN, Vinogradova ID, et al. Camelid VHHs Fused to Human Fc Fragments Provide Long Term Protection Against Botulinum Neurotoxin a in Mice. *Toxins (Basel)*. 2019;11:464. DOI:10.3390/toxins11080464
54. Derkaev AA, Ryabova EI, Esmagambetov IB, et al. rAAV expressing recombinant neutralizing antibody for the botulinum neurotoxin type A prophylaxis. *Front Microbiol.* 2022 Sep 27;13:960937. doi: 10.3389/fmicb.2022.960937
55. Tacket CO, Shandera WX, Mann JM, et al. Equine antitoxin use and other factors that predict outcome in type a foodborne botulism. *Am j med.* 1984;76(5):794–798.
56. *Equine antibotulinum serum type A purified concentrated liquid (injection solution, 10000 IU/dose), instructions for medical use RU No. LS-001212.*
57. Schulte M, Hamsen U, Schildhauer TA, et al. Effective and rapid treatment of wound botulism, a case report. *BMC Surg.* 2017;17(1):103.
58. Brook I. Infant botulism. *Journal of Perinatology.* 2007;27(3):175–180.
59. Arnon SS. *Botulism as an intestinal toxemia*. In: *S BM, RJ PD GH GR, editors. Infections of the gastrointestinal tract*. New York: Raven Press; 1995. pp. 257–271.
60. Ambache N. The peripheral action of Cl. botulinum toxin. *J Physiol.* 1949 Mar 15;108(2):127–41.
61. Berg J.M., John L. Tymoczko, Gregory J. Gatto Jr., Stryer L. *Biochemistry. 6th ed.*, Edition Medicine-Sciences Flammarion, 2006. P. 882–883.
62. fr.wikipedia.org/SNARE. <https://fr.wikipedia.org/wiki/SNARE>, 2022.
63. Catterall W.A. Structure and function of neuronal Ca²⁺ channels and their role in neurotransmitter release. *Cell Calcium.* 1998;24(5-6):307–323. [https://doi.org/10.1016/S0143-4160\(98\)90055-0](https://doi.org/10.1016/S0143-4160(98)90055-0)
64. Shi YL, Wang ZF. Cure of experimental botulism and antibotulismic effect of toosendanin. *Acta Pharmacol Sin.* 2004 Jun;25(6):839–48.
65. Montecucco C, Papini E, Schiavo G. Bacterial protein toxins penetrate cells via a four-step mechanism. *FEBS Lett.* 1994 Jun 6;346(1):92–8. doi: 10.1016/0014-5793(94)00449-8
66. Shi YL, Hu Q. Progress on study of mechanism of botulinum neurotoxin action. (in Chinese with English abstract). *Prog Biochem Biophys.* 1998;25:126–30.
67. Schiavo G, Matteoli M, Montecucco C. Neurotoxins affecting neuroexocytosis. *Physiol Rev.* 2000;80:717–66.
68. Fujii N, Kimura K, Yokosawa N, et al. A zinc-protease specific domain in botulinum and tetanus neurotoxins. *Toxicon.* 1992;30:1486–8.
69. Schiavo G, Benfenati F, Poulain B, et al. Tetanus and botulinum-B neurotoxins block neurotransmitter release by proteolytic cleavage of synaptobrevin. *Nature.* 1992 Oct 29;359(6398):832–5. doi: 10.1038/359832a0
70. Yamasaki S, Hu Y, Binz T, Kalkuhl A, et al. Synaptobrevin/vesicle-associated membrane protein (VAMP) of *Aplysia californica*: structure and proteolysis by tetanus toxin and botulinum neurotoxins type D and F. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994 May 24;91(11):4688–92. doi: 10.1073/pnas.91.11.4688
71. Schiavo G, Shone C.C., Rossetto O., et al. Botulinum neurotoxin serotype F is a zinc endopeptidase specific for VAMP/synaptobrevin. *J. Biol. Chem.* 1993;268:11516–1151.
72. Schiavo G, Malizio C, Trimble WS, et al. Botulinum G neurotoxin cleaves VAMP/synaptobrevin at a single Ala-Ala peptide bond. *J Biol Chem.* 1994 Aug 12;269(32):20213–6.
73. Blasi J, Chapman ER, Link E, et al. Botulinum neurotoxin A selectively cleaves the synaptic protein SNAP-25. *Nature.* 1993 Sep 9;365(6442):160–3. doi: 10.1038/365160a0
74. Binz T, Blasi J, Yamasaki S, et al. Proteolysis of SNAP-25 by types E and A botulinum neurotoxins. *J Biol Chem.* 1994 Jan 21;269(3):1617–20.
75. Blasi J, Chapman ER, Yamasaki S, et al. Botulinum neurotoxin C1 blocks neurotransmitter release by means of cleaving HPC-1/syntaxin. *Eur Mol Biol Org J.* 1993;12:4821–8.
76. Shi YL, Wang ZF. Cure of experimental botulism and antibotulismic effect of toosendanin. *Acta Pharmacol Sin.* 2004 Jun;25(6):839–48.
77. Cherington M., Ryan D.W. Treatment of botulism with guanidine: early neurophysiologic studies. *N. Engl. J. Med.* 1970;282:195–197. DOI: 10.1056/NEJM197001222820405
78. Puggiari M., Cherington M. Botulism and guanidine. Ten years later. *JAMA.* 1978;240:2276–2267. DOI: 10.1001/jama.1978.03290210058027
79. Morrison V.V. *Effect of guanidine on the development of experimental botulinum intoxication. Mechanisms of the infectious process and reactivity of the organism. Part 1.* Saratov, 1980; pp. 69–71.
80. Morrison V.V. *Guanidine therapy for botulism. Pathophysiology of the infectious process and allergy.* Saratov, 1981. pp. 42–49.
81. Sebald M., Jouglard J. Aspects actuels du botulisme. *Rev. Prat.* 1977;27(3):173–180.
82. Kaplan JE, Davis LE, Narayan V, et al. Botulism, type A, and treatment with guanidine. *Ann Neurol.* 1979 Jul;6(1):69–71. doi: 10.1002/ana.410060117

83. Roblot P, Roblot F, Fauchere J.L. et al. Retrospective study of 108 cases of botulism in Poitiers, France. *J. Med. Microbiol.* 1994;40:379–384.
84. Lundh H, Leander S, Thesleff S. Antagonism of the paralysis produced by botulinum toxin in the rat. The effects of tetraethylammonium, guanidine and 4-aminopyridine. *J. Neurol Sci.* 1977;32(1):29–43.
85. Bradford AB, Machamer JB, Russo TM, McNutt PM. 3,4-diaminopyridine reverses paralysis in botulinum neurotoxin-intoxicated diaphragms through two functionally distinct mechanisms. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2018;341:77–86.
86. Siegel LS, Johnson-Winegar AD, Sellin LC. Effect of 3,4-diaminopyridine on the survival of mice injected with botulinum neurotoxin type A, B, E, or F. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1986;84(2):255–263.
87. Mayorov AV, Willis B, Di Mola A, et al. Symptomatic relief of botulinum neurotoxin/a intoxication with aminopyridines: a new twist on an old molecule. *ACS Chem Biol.* 2010 Dec 17;5(12):1183–91. doi: 10.1021/cb1002366
88. Adler M, Capacio B, Deshpande SS. Antagonism of botulinum toxin A-mediated muscle paralysis by 3, 4-diaminopyridine delivered via osmotic minipumps. *Toxicon.* 2000;38(10):1381–1388.
89. Thomsen RH, Wilson DF. Effects of 4-aminopyridine and 3,4-diaminopyridine on transmitter release at the neuromuscular junction. *J Pharmacol Exp Ther.* 1983;227(1):260–265.
90. Meriny SD, Lacomis D. Reported direct aminopyridine effects on voltage-gated calcium channels is a high-dose pharmacological off-target effect of no clinical relevance. *J Biol Chem.* 2018;293(41):16100.
91. Delbono O, Kotsias BA. Relation between action potential duration and mechanical activity on rat diaphragm fibers. Effects of 3,4-diaminopyridine and tetraethylammonium. *Pflügers Arch.* 1987;410(4–5):394–400.
92. Lin-Shiau SY, Day SY, Fu WM. Use of ion channel blockers in studying the regulation of skeletal muscle contractions. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1991;344(6):691–697.
93. Sudhof TC, Rizo J. Synaptic vesicle exocytosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011;3(12):a005637.
94. Lundh H., Thesleff S. The mode of action of 4-aminopyridines and guanidine on transmitter release from motor nerve terminals. *Eur. J. Pharmacol.* 1977;42:411–412.
95. Sellin LC. The action of botulinum toxin at the neuromuscular junction. *Med. Biol.* 1981;59(1):11–20.
96. Qiao J., Hayes K.C., Hsieh J.T.C. et al. Effects of 4-aminopyridine on motor evoked potentials in patients with spinal cord injury. *J. Neurotrauma.* 1997;14:135–149.
97. Simpson LL. A preclinical evaluation of aminopyridines as putative therapeutic agents in the treatment of botulism. *Infect Immun.* 1986;52(3):858–862.
98. Adler M, Scovill J, Parker G, et al. Antagonism of botulinum toxin-induced muscle weakness by 3,4-diaminopyridine in rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparations. *Toxicon.* 1995;33(4):527–537.
99. Friggeri A, Marçon F, Marciniak S, et al. 3,4-Diaminopyridine may improve neuromuscular block during botulism. *Crit Care.* 2013 Sep 5;17(5):449. doi: 10.1186/cc12880
100. Davis LE, Johnson JK, Bicknell JM, et al. Human type A botulism and treatment with 3,4-diaminopyridine. *Electromyogr Clin Neurophysiol.* 1992;32(7–8):379–383.
101. Dock M, Ben Ali A, Karras A, et al. Traitement d'un botulisme grave par la 3,4-diaminopyridine [Treatment of severe botulism with 3,4-diaminopyridine]. *Presse Med.* 2002 Apr 6;31(13):601–2. (in French).
102. Oriot C, D'Aranda E, Castanier M, et al. One collective case of type A foodborne botulism in Corsica. *Clin Toxicol (Phila).* 2011 Oct;49(8):752–4. doi: 10.3109/15563650.2011.606222
103. Ball AP, Hopkinson RB, Farrell ID, et al. Human botulism caused by Clostridium botulinum type E: the Birmingham outbreak. *Q J Med.* 1979 Jul;48(191):473–91.
104. Morrison VV, Kryzhanovskii GN. Effect of 4-aminopyridine on the development of experimental botulism. *BiullEksp Biol Med.* 1985;100(10):445–447.
105. Morbiato L, Carli L, Johnson EA, et al. Neuromuscular paralysis and recovery in mice injected with botulinum neurotoxins A and C. *Eur J Neurosci.* 2007;25(9):2697–2704.
106. Siegel LS, Price JI. Ineffectiveness of 3,4-diaminopyridine as a therapy for type C botulism. *Toxicon.* 1987;25(9):1015–1018.
107. Lewis G.E. Jr. *Approaches to the prophylaxis, immunotherapy, and chemotherapy of botulism. Biomedical Aspects of Botulism.* Ed. by G. E. Jr. Lewis. New York, NY: Academic Press, 1981. P. 261–270.
108. Siegel LS, Johnson-Winegar AD, Sellin LC. Effect of 3,4-diaminopyridine on the survival of mice injected with botulinum neurotoxin type A, B, E, or F. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1986;84(2):255–263.
109. Adler M, Capacio B, Deshpande SS. Antagonism of botulinum toxin A-mediated muscle paralysis by 3, 4-diaminopyridine delivered via osmotic minipumps. *Toxicon.* 2000;38(10):1381–1388.
110. Harris TL, Wenthur CJ, Diego-Taboada A, et al. Lycopodium clavatum exine microcapsules enable safe oral delivery of 3,4-diaminopyridine for treatment of botulinum neurotoxin A intoxication. *Chem Commun (Camb).* 2016;52(22):4187–4190.
111. Adler M, Macdonald DA, Sellin LC, Parker GW. Effect of 3,4-diaminopyridine on rat extensor digitorum longus muscle paralyzed by local injection of botulinum neurotoxin. *Toxicon.* 1996;34(2):237–249.
112. Vazquez-Cintrón E, Machamer J, Ondeck C, et al. Symptomatic treatment of botulism with a clinically approved small molecule. *JCI Insight.* 2020 Jan 30;5(2):e132891. doi: 10.1172/jci.insight.132891
113. Souayah N, Mehyar LS, Khan HM, et al. Trends in outcome and hospitalization charges of adult patients admitted with botulism in the United States. *Neuroepidemiology.* 2012;38(4):233–6. doi: 10.1159/000336354
114. Sanders DB. 3,4-Diaminopyridine (DAP) in the treatment of Lambert-Eaton myasthenic syndrome (LEMS). *Ann N Y Acad Sci.* 1998;841:811–816.
115. *Firdapse: drugs.com/price-guide/firdapse*
116. Lundh H., Thesleff S. The mode of action of 4-aminopyridines and guanidine on transmitter release from motor nerve terminals. *Eur. J. Pharmacol.* 1977;42:411–412.
117. Morris I.G. *Current trends in therapy of botulism in the United States. Biomedical aspects of botulism.* New York, Acad. Press. Inc., 1981. P. 317–326.
118. Neal K. R., Dunbar E. M. Improvement in bulbar weakness with guanoxan in type B botulism. *Lancet.* 1990;335:1286–1287.
119. Dock M., Ali A.B., Karras A. et al. Treatment of severe botulism with 3,4-diaminopyridine. *La Presse Med.* 2002;31:601–602.
120. Chang CC, Hsie TH, Chen SF, Liang HT. The structure of Chuanliansu. *Acta Chem Sin* 1975;33:35–47.
121. Shu GX, Liang XT. A correction of the structure of Chuanliansu. *Acta Chim Sin* 1980;38:196–8.
122. Shi YL. *Toosendanin, a new presynaptic blocker: pharmacology, antitoxin effect and as an antifeedant against insects. (in Chinese).* In: Chen Y C and Yuan S L, editors. *Study and Utility of Toxins.* Science Press, Beijing. 1998;192–206.

123. Shi YL, Wang WP, Liao CY, Chiu SH. Effect of toosendanin on the sensory inputs of chemoreceptor in the amyworm larval (Mythimna Seperata). *Acta Entomol Sin.* 1986;29:233–9. (In Chinese with English abstract)
124. Cip P, Jou J, Miao N. Efficacy of the treatment of botulism toxin poisoning of toosendanin. *Chem. Abstr.* 1983;98(3):12662.
125. Shih YL, Hsu K. Anti-botulismic effect of toosendanin and its facilitatory action on miniature end-plate potentials. *Jpn J Physiol.* 1983;33(4):677–80. doi: 10.2170/jjphysiol.33.677.
126. Zhuo J, Gu J, Rou C, Zhao P. Study on toosendanin in dynamics in the lark of media toosendanin s. et z. *Chem. Abstr.* 1981;95(23):200564.
127. Shi Y.L., Wang W.P., Xu K. Electrophysiological analysis on the presynaptic blocking effects of toosendanin on neuromuscular transmission. *Acta Physiol. Sin.* 1981;33:259–265.
128. Xu TH, Ding J, Shi YL. Toosendanin increases free-Ca(2+) concentration in NG108-15 cells via L-type Ca(2+) channels. *Acta Pharmacol Sin.* 2004 May;25(5):597–601
129. Hu M, Xu M, Chen Y, et al. Therapeutic potential of toosendanin: Novel applications of an old ascaris repellent as a drug candidate. *Biomed Pharmacother.* 2023 Nov;167:115541. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115541
130. Shi YL, Wang ZF. Cure of experimental botulism and antibotulismic effect of toosendanin. *Acta Pharmacol Sin.* 2004 Jun;25(6):839–48.
131. Zhou JY, Wang ZF, Ren XM, Tang MZ, Shi YL. Antagonism of botulinum toxin type A-induced cleavage of SNAP-25 in rat cerebral synaptosomes by toosendanin. *FEBS Lett* 2003;555:375–79.
132. Li M.F., Shi Y.L. Toosendanin inhibits pore formation of botulinum toxin type A at PC12 cell membrane. *Acta Pharmacol. Sin.* 2006;27:66–70.
133. Sun S., Suresh S., Liu H., et al. Edwardson, E. R. Chapman, Receptor binding enables botulinum neurotoxin B to sense low pH for translocation channel assembly. *Cell Host Microbe.* 2011;10(3):237–247.
134. Zou J, Miao WY, Ding FH, et al. The effect of toosendanin on monkey botulism. *J Tradit Chin Med.* 1985;5(1):29–30.
135. Li PZ, Zou J, Miao WY, et al. Treatment of animals intoxicated by botulinum toxin with toosendanin. *Chin Tradit Herb Drugs.* 1982;13(6):28–33.
136. Shin J., Hsu K. Anti-botulismic effect of toosendanin and its facilitatory action on miniature and plate potentials. *Jap. J. Physiol.* 1983;33(4):677–680. DOI: 10.2170/jjphysiol.33.677
137. Shi Y.L., Wang W.P., Liao C.Y., Chiu S.H. Effect of toosendanin on the sensory inputs of chemoreceptors in the armyworm larvae (Mythimna Separata). *Acta Entomol. Sin.* 1986;29:233–239.
138. Chiu S.F. Recent advances in research on botanical insecticides in China. In: *Arnason, J.T., Philogene, B.J.R., Morand, P. (Eds.), Insecticides of Plant Origin. Am. Chem. Soc. Symp. Ser.*, 1989; 387. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 69–77.
139. Carpinella M.C., Defago M.T., Valladares G., Palacios S.M. Anti-feedant and insecticide properties of a limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management. *J. Agric. Food Chem.* 2003;51:369–374.
140. Zhang X., Wang X.L., Feng J.T. (1993) An innocuous insecticide, toosendanin. *Acta Northwe. Uni. Agricult. Sin.* 1993;21:1–5.
141. Fritz L.C., Atwood H.L., Jahromi S.S. Lobster neuromuscular junctions treated with black widow spider venom: Correlation between ultrastructure and physiology. *J Neurocytol.* 1980;9:699–721. <https://doi.org/10.1007/BF01205034>
142. Pumplin L.W., Reese T.S. Action of brown widow spider venom and botulinum toxin on the frog neuromuscular function examined with freeze-fracture technique. *J. Physiol.* 1977;273:443–457. DOI: 10.1113/jphysiol.1977.sp012103
143. Pumlín D.W., Me Clure W.O. The release of acetylcholine elicited by extracts of black widow spider glands: studies using rat superior cervical ganglia and inhibitors of electrically stimulated release. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1977;20(1):312–319.
144. Clark A.W., Huklbut W.P., Mauro A. Changes in the fine structure of the frog caused by black widow spider venom. *J. Cell Biol.* 1972;52(1):1–14. DOI: 10.1083/jcb.52.1.1
145. Simpson LL. Ammonium chloride and methylamine hydrochloride antagonize clostridial neurotoxins. *J Pharmacol Exp Ther* 1983;225:546–52.
146. Anderson DC, King SC, Parsons SM. Proton gradient linkage to active uptake of [3H]acetylcholine by Torpedo electric organ synaptic vesicles. *Biochemistry.* 1982;21:3037–43.
147. Lukacs GL, Rotstein FD, Grinstein S. Phagosomal acidification is mediated by a vacuolar-type H⁺-ATPase in murine macrophages. *J Biol Chem.* 1990;265:21099–107.
148. Sheridan RE. Protonophore antagonism of botulinum toxin in mouse muscle. *Toxicon* 1996;34:849–55.
149. Simpson LL. The interaction between aminoquinolines and presynaptically acting neurotoxins. *J Pharmacol Exp Ther* 1982;222:43–8.
150. Deshpande SS, Sheridan RE, Adler M. Efficacy of certain quinolines as pharmacological antagonists in botulinum neurotoxin poisoning. *Toxicon.* 1997;35:433–45.
151. Deshpande SS, Sheridan RE, Adler M. A study of zinc-dependent metalloendopeptidase inhibitors as pharmacological antagonists in botulinum neurotoxin poisoning. *Toxicon.* 1995;33:551–7.
152. Simpson LL, Coffield JA, Bakry N. Chelation of zinc antagonizes the neuromuscular blocking properties of the seven serotypes of botulinum neurotoxin as well as tetanus toxin. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993;267:720–7.
153. Sheridan RE, Deshpande SS. Interactions between heavy metal chelators and botulinum neurotoxin at the neuromuscular junction. *Toxicon.* 1995;33:539–49.
154. De Paiva A, Meunier FA, Molgó J, et al. Functional repair of motor endplates after botulinum neurotoxin type A poisoning: biphasic switch of synaptic activity between nerve sprouts and their parent terminals. *Proc Nat Acad Sci.* 1999;96(6):3200–3205.
155. Holland RL, Brown MC. Nerve growth in botulinum toxin poisoned muscles. *Neuroscience.* 1981;6(6):1167–1179.
156. Adler M, Franz DR. *Toxicity of botulinum neurotoxin by inhalation: implications in bioterrorism.* In: Salem H, Katz S, editors. *Aerobiology: the Toxicology of Airborne Pathogens and Toxins.* Cambridge, U.K.: Royal Society of Chemistry; 2016;167–185.
157. Meunier FA, Schiavo G, Molgó J. Botulinum neurotoxins: from paralysis to recovery of functional neuromuscular transmission. *J Physiol Paris.* 2002;96(1–2):105–113.
158. Tsai YC, Maditz R, Kuo C-L, et al. Targeting botulinum neurotoxin persistence by the ubiquitin-proteasome system. *Proc Nat Acad Sci.* 2010;107(38):16554–16559.
159. Tsai YC, Kotiy A, Kiris E, et al. Deubiquitinating enzyme VCIPI35 dictates the duration of botulinum neurotoxin type A intoxication. *Proc Nat Acad Sci.* 2017;114(26):E5158–66.
160. Sen E, Kota KP, Panchal RG, et al. Screening of a Focused Ubiquitin-Proteasome Pathway Inhibitor Library Identifies Small Molecules as Novel Modulators of Botulinum Neurotoxin Type A Toxicity. *Front Pharmacol.* 2021;12:2659.
161. Burn J. H. Evidence that acetylcholine releases noradrenaline in the sympatic fibre. *J. Pharm. Pharmacol.* 1977;29(6):325–329. DOI: 10.1111/j.2042-7158.1977.tb11329.x
162. O'Horo J.C., Harper E.P., El Rafei A. et al. Efficacy of antitoxin therapy in treating patients with foodborne botulism: a systematic review and metaanalysis of cases, 1923–2016. *Clin. Infect. Dis.* 2017;66(1):S43–56. DOI: 10.1093/cid/cix815

163. Potskhveriya M.M., Matkevich V.A., Goldfarb Yu.S., et al. The program of enteral correction of homeostasis disorders and its effect on intestinal permeability in acute poisoning. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2022;14(1):45–57. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-1-45-57>
164. Matkevich V.A., Potskhveriya M.M., Simonova A.Yu., et al. Management of Disorders of Homeostasis with Saline Enteral Solution in Acute Poisoning with Psychopharmacological Drugs. *Russian Sklifosovsky Journal "Emergency Medical Care"*. 2020;9(4):551–563. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-4-551-563>
165. Zarivchatsky M.F. *Enteral route of maintaining and correcting homeostasis in surgical patients (PhD Thesis)*. Perm, 1990. <https://search.rsl.ru/record/01000141491>. Accessed October 30, 2020.
166. Bryusov P.G., Butko G.V. Enteral correction of hemodynamics in massive blood loss. *Herald of surgery*. 1998;1:39–43.
167. Booth IP, Ferreira RC, Desjeux JF. Recommendations for composition of oral rehydration solution from the children of Europe. Report of an ESPGAN working group. *J Pediatr Gastroenterol*. 2010;4(5):108–114.
168. Galperin Yu.M., Lazarev P.I. *Digestion and homeostasis*. Moscow: Nauka; 1986, 304 p.
169. Galperin Yu.M., Baklykova N.M. *Method for determining the suitability of nutrient mixtures for enteral nutrition. Author's certificate for invention 1102571 USSR IPC4 A 61 B 10/00. Application No. 2907093/28-13 dated 02.04.1980*. Published: 15.07.1984.
170. Galperin Yu.M., Kovalskaya K.S., Katkovsky G.B. Enteral infusions of monomer-electrolyte solutions in massive blood loss. *Surgery*. 1988;4:75–80.
171. *Saline enteral solution. Certificate of state registration No. RU.77.99.32.004.R.000813.03.22 dated 17.03.2022*.
172. Matkevich V.A. Intestinal lavage. In the book: Luzhnikov E.A. (ed.) *Medical toxicology: national guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2012. Ch. 4. p. 162–186. (Series: National guidelines).
173. Ershova I.B., Molchanova A.A., Chernousova S.N., et al. Relevance of oral rehydration as a natural method of replenishing the body's water-salt balance. *Child Health*. 2012;8(43):105–107.
174. Abaturov A.E., Gerasimenko O.N., Vysochina I.L., et al. Modern principles of oral rehydration in the treatment of acute intestinal infections in children. *Child Health*. 2012;2(37):84–90.
175. Kiselev V.V., Ryk A.A. *Enteral correction as a component of initial therapy of enteral nutrition in patients in the intensive care unit: abstracts of a speech at the XVIII Congress of the All-Russian public organization "Federation of Anesthesiologists and Resuscitators", October 19, 2019*.
176. *Intensive care: national guidelines: in 2 volumes / Ed. by I. B. Zabolotskikh, D. N. Protsenko. 2nd ed., revised and enlarged*. Moscow: GEOTAR-Media, 2020;2:1056 p.: ill. DOI: 10.33029/9704-5018-5-ICNG-2020-1-1056
177. Matkevich V.A., Luzhnikov E.A., Ilyashenko K.K., et al. *Intestinal lavage in exo- and endotoxiosis. Methodical recommendations*. Moscow Health Department, 2010. 20 p.
178. Mazurok VA, Golovkin AS, Bautin AE, et al. Gastrointestinal tract in critical conditions: the first suffers, the latter, who are given attention. *Bulletin of Intensive Therapy*. 2016;2:28–37. (in Russian)
179. Leapheart C.L., Tapes J.J. The gut is a motor of organ system disfunction. *Surgery*. 2007;141:563–569.
180. Klingensmith NJ, Coopersmith CM. The Gut as the Motor of Multiple Organ Dysfunction in Critical Illness. *Crit Care Clin*. 2016 Apr;32(2):203–12. doi: 10.1016/j.ccc.2015.11.004
181. Bykov M.V. et al. The use of oxygenated saline enteral solution in the complex intensive care of severe community-acquired pneumonia caused by COVID-19. *Lechashchiy vrach*. 2020;7:58–63.
182. Belikov V.L. *Enteral oxygen therapy for enteropathies of critical conditions (PhD Thesis)*. St. Petersburg, 2016. 34 p. https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_006663778
183. Bykov M.V. et al. *Patent No. 2709113 RU. dated 16.12.2019. Method for treating intestinal failure with oxygenated saline enteral solution*. https://yandex.ru/patents/doc/RU2709113C1_20191216
184. Hill L.T. Gut dysfunction in the critically ill – mechanisms and clinical. Implications. *J. Crit. Care*. 2013;29(1):11–15.
185. Matkevich V.A., Luzhnikov E.A., Belova M.V., et al. The role of intestinal translocation in the origin of endotoxemia in acute poisoning and detoxification effect of intestinal lavage. *Russian Sklifosovsky Journal "Emergency Medical Care"*. 2015;4:16–21.