

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616-092

Арзуманян В.Г.¹, Иксанова А.М.¹, Артемьева Т.А.¹, Бутовченко Л.М.¹, Мальбахова Е.Т.²

Экспериментальная модель лечения вагинальных дисбиозов с помощью фракции сывороточных антимикробных пептидов

¹ФГБНУ НИИ Вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, 105064, г. Москва, Россия, Малый Казённый переулоч, д. 5-а;²Клиника репродукции и генетики NGC, 107140, г. Москва, Россия, ул. Верхняя Красносельская, д. 3, стр. 3

Широкое использование антибиотиков и противогрибковых препаратов при лечении дисбиозов влагалища сопровождается появлением резистентных штаммов микроорганизмов. В этой связи актуальной является разработка новых препаратов, в частности, основанных на натуральных антимикробных пептидах (АМП), отличающихся более широким спектром действия и высокой активностью. Цель работы – изучение возможности использования сывороточных АМП в лечении вагинальных дисбиозов различной этиологии на мышинной модели. **Методика.** Активность АМП фракции сыворотки крови кролика оценивали в опытах *in vitro* и *in vivo*. В первом случае проверяли действие АМП на клетки *Candida albicans*, *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* спектрофотометрическим методом. Данный метод основан на поглощении красителя бромкрезолового пурпурного клетками с нарушенной цитоплазматической мембраной и, как результат, снижении оптической плотности надосадочной жидкости в опытных вариантах по сравнению с контрольными. Во втором случае оценивали лечебный эффект концентрированного препарата сывороточных АМП на мышах, зараженных интравагинально теми же культурами. После заражения мышей пролечивали введением препарата тем же путем, а результат оценивали методом высевов из влагалища на селективные среды. **Результаты.** Установлено, что наиболее выраженное действие в опытах *in vitro* сывороточные АМП оказывали на клетки *C. albicans* (активность составила 32,9 % от контроля), тогда как менее выраженный эффект имел место в отношении *E. coli* (23,3 %) и *S. aureus* (14,4 %). Аналогичная закономерность имела место и в опытах *in vivo*: высев *C. albicans* после лечения препаратом АМП составил 44,6% от исходного в сравнении с 42,2% после лечения пимафуцином и 90,2% без лечения (плацебо); высев *E. coli* — 65,6% от исходного в сравнении с 26,3% после лечения метронидазолом и 94,8% в варианте плацебо; высев *S. aureus* — 76,9% от исходного в сравнении с 11,4% после лечения клиндамицином и 73,0% в варианте плацебо. **Заключение.** Наибольшей чувствительностью к сывороточным АМП среди изученных видов обладали клетки *C. albicans*, а наименьшей — *S. aureus*, причем как в опытах *in vitro*, так и *in vivo*. Препарат на основе АМП фракции сыворотки крови можно рассматривать как альтернативу традиционным препаратам при лечении вагинальных дисбиозов, особенно вульвовагинального кандидоза.

Ключевые слова: дисбиоз влагалища, вульвовагинальный кандидоз, бактериальный вагиноз, мышинная модель, антимикробные пептиды

Для цитирования: Арзуманян В.Г., Иксанова А.М., Артемьева Т.А., Бутовченко Л.М., Мальбахова Е.Т. Экспериментальная модель лечения вагинальных дисбиозов с помощью фракции сывороточных антимикробных пептидов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(3): 141-147.

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.141-147

Для корреспонденции: Арзуманян Вера Георгиевна, доктор биол. наук, проф., зав. лаб. физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «НИИ Вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», E-mail: veraar@mail.ru

Финансирование. Исследование выполнено в рамках бюджетного финансирования НИР ФГБНУ Вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Материалы статьи нигде ранее не публиковались.

Поступила 15.03.2019

Arzumanyan V.G.¹, Iksanova A.M.¹, Artemyeva T.A.¹, Butovchenko L.M.¹, Malbakhova Ye.T.²

Experimental model of vaginal dysbiosis treatment with fraction of serum antimicrobial peptides

¹Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, 105064, Malyi Kazennyi per., 5-a;²Clinic of reproductology and genetics NGC, Moscow, 107140, Verkhniaya Krasnoselskaya ul., 3, 3

Extensive use of antibiotics and antimycotics in the treatment of vaginal dysbiosis may result in emergence of resistant microbial strains. Therefore, development of new, broad-spectrum and highly active drugs, particularly based on antimicrobial peptides

(AMP) is relevant. **The aim** of the present study was to evaluate a possibility of using serum AMP in the treatment of vaginal dysbiosis of different etiology on a murine model. **Methods.** Activity of the AMP fraction of rabbit serum was evaluated in *in vitro* and *in vivo* experiments. In the *in vitro* experiment, the effect of AMP on *Candida albicans*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* cells was measured spectrophotometrically. This method was based on uptake of the bromocresol purple stain by cytoplasmic membranes of destroyed cells, which resulted in decreased optical density of the supernatant in experimental variants compared to the control. In the *in vivo* experiments, the therapeutic effect of concentrated serum AMP was evaluated in mice intravaginally infected with the same microbial cultures. The infected mice were treated similarly with the AMP preparation, and the outcome was evaluated using the inoculation of plates with selective media by vaginal material. **Results.** The serum AMP fraction exerted the most noticeable effect in *in vitro* experiments on *C. albicans* cells (activity 32.9 % of control) vs. lower effects on *E. coli* (23.3 %) and *S. aureus* (14.4 %). Consistently in the *in vivo* experiments, the abundance of *C. albicans* colonies was 44.6% of the initial value after the AMP drug treatment compared to 42.2% after the pimafucin treatment and 90.2% in placebo. The abundance of *E. coli* colonies after the AMP drug treatment was 65.6% of the initial compared to 26.3% after the metronidazole treatment and 94.8% in placebo; for *S. aureus*, the abundance was 76.9% (AMP) compared to 11.4% (clindamycin) and 73.0% (placebo). **Conclusion.** Among the studied microorganisms, *C. albicans* had the highest susceptibility to serum AMP while *S. aureus* was the least susceptible both in *in vitro* and *in vivo* experiments. Drugs based on the serum AMP preparation may be considered as a possible alternative to traditional medications for the treatment of vaginal dysbiosis, especially for vulvovaginal candidiasis.

Keywords: vaginal dysbiosis, vulvovaginal candidiasis, bacterial vaginosis, murine model, antimicrobial peptides.

For citation: Arzumanyan V.G., Iksanova A.M., Artemyeva T.A., Butovchenko L.M., Malbakhova Y.T. Experimental model for treatment of vaginal dysbiosis with a fraction of serum antimicrobial peptides. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63(3): 141-147. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.141-147

For correspondence: Arzumanyan Vera G., Ph.D., Professor, Head of laboratory of fungal and bacterial physiology, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, E-mail: veraar@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Information about authors:

Arzumanyan V.G. <https://orcid.org/0000-0001-9769-1634>

Received 15.03.2019

Введение

Дисбиоз влагалища характеризуется нарушением микробиологического равновесия в данном локусе, сопровождающегося, с одной стороны, снижением численности нормобиоты (лакто- и бифидобактерий), а с другой стороны увеличением обсемененности условно-патогенными микроорганизмами. Различают дисбиоз, вызванный грибами рода *Candida* (чаще всего *C. albicans*), так называемый вульвовагинальный кандидоз (ВВК) [1], и бактериальный вагиноз (БВ), при котором этиологическими агентами часто являются бактерии *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* [2]. Доступность и бесконтрольный прием лекарственных препаратов против ВВК и БВ привели к росту заболеваемости и формированию устойчивых штаммов этиологически значимых микроорганизмов.

Естественной преградой на пути распространения условно-патогенной микробиоты влагалища являются фагоцитирующие клетки, иммуноглобулины и антимикробные пептиды/полипептиды (АМП), называемые также эндогенными антибиотиками [3]. В защите данного локуса принимают участие кальпротектин [4], лизоцим [4], лактоферрин [5], псориазин [6], дефензины [4], секреторный ингибитор лейкопротеазы [4], катели-

цидин [4], липокалин [7] и РНКаза [8], причем концентрации первых четырех здесь наиболее высоки ($10^4 - 10^5$ нг/мл). Несмотря на структурное разнообразие механизмов действия АМП в вагинальном секрете, их действие приводит к единому результату — деструкции цитоплазматической мембраны микроорганизмов [9]. На этом свойстве АМП основан разработанный нами ранее метод оценки их суммарной активности¹. С помощью данного метода было показано, что при ВВК и БВ имело место значительное снижение антимикробной активности вагинального секрета по сравнению с контрольными группами женщин [10, 11].

На основе представлений о структуре и функции АМП разрабатываются новые противомикробные препараты [12]. Синтетические и рекомбинантные аналоги АМП находятся в стадии фармацевтических исследований, включая клинические испытания I – III фазы. Недавно нами проведена оценка синтетического аналога кателицидина на модели мышинного ВВК и показана его эффективность [13]. Другим подходом к ре-

¹ Арзуманян В.Г., Мальбахова Е.Т., Фошина Е.П. и др. Способ определения совокупной активности антимикробных пептидов как маркера состояния местного иммунитета различных эпителиальных тканей. Патент 2602298, РФ; 2015.

шению этой задачи может быть получение комплекса АМП из естественных источников.

Цель исследования – оценка антимикробной активности комплекса натуральных сывороточных АМП в экспериментах *in vitro* и *in vivo* на мышинной модели дисбиозов влагалища.

Методика

Штаммы микроорганизмов. В работе использовали дрожжи *Candida albicans* № 927 из коллекции НИИВС им. Мечникова, а также бактерии *Escherichia coli* М-17, *Staphylococcus aureus* Wood 46. Микроорганизмы для экспериментов *in vitro* и *in vivo* поддерживали путем периодических пересевов при температуре 28 °С, используя экспоненциально растущие культуры. Дрожжи культивировали на плотной глюкозо-пептон-дрожжевой среде (ГПД); *S. aureus* на агаре ГРМ 10, *E. coli* на агаре Питательном.

Животные. Все работы с лабораторными животными проводили в соответствии с «правилами лабораторной практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Министра здравоохранения РФ № 708н от 23.08.2010 г. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ НИИ Вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова. Эксперименты проводили на самках белых беспородных мышей в возрасте 8 нед массой 18–20 г из питомника «Андреевка» Центрального питомника РАН «Светлые Горы». Животные акклиматизировались к новым условиям содержания в течение 7 сут до начала экспериментов. Группы мышей сформированы из расчета 12 животных в каждой группе. В течение эксперимента состояние мышей регистрировали 1 раз в сутки. Запланированную эвтаназию осуществляли с помощью CO₂ (вторичный способ эвтаназии согласно требованиям Этического Комитета) спустя 5 нед после начала экспериментов. Для получения сывороточной фракции АМП использовали 4 кроликов Шиншилла массой 2 кг, полученных из того же питомника.

Получение препарата сывороточных АМП. Сыворотку от 4 кроликов центрифугировали 5 мин со скоростью 10 000 g и полученный супернатант фильтровали через молекулярный фильтр «Amicon» (Merck, Германия) с диаметром пор 100 кДа на центрифуге в течение 15 мин при 16 000 g. Фильтрат лиофильно высушивали и использовали для приготовления лечебных гелей. Гели, содержащие исследуемый препарат АМП, готовили непосредственно перед введением его мышам. Навеску вещества растворяли в заранее подготовленном 0,7% водном геле агара до 15-кратной

концентрации по отношению к исходному фильтрату (далее именуем эту субстанцию «препарат»).

Модель вульвовагинального дисбиоза. Моделирование ВВК мышей проводили по методу Фиделя [14] в собственной модификации. Для этого предварительную эстрогенизацию животных проводили путем втирания эстрадиола в кожу брюшка, вместо подкожного введения. В ходе эксперимента мышей эстрогенизировали трижды (табл. 1) путем втирания 200 мг трансдермального геля «Эстрогель» (Бельгия), что соответствует примерно 0,125 мкг эстрогена. В случае моделирования вульвовагинального кандидоза мышей заражали путем однократного интравагинального введения 20 мкл суспензии клеток дрожжей *C. albicans* в физиологическом растворе в концентрации 10⁶ КОЕ/мл. Лечение животных препаратами проводили путем 5 кратного ежедневного интравагинального введения гелей, содержащих АМП, в объеме 20 мкл. Препаратом сравнения являлся 2% вагинальный крем «Пимафуцин» (Астеллас, Нидерланды), лечение которым проводили по той же схеме, объем пробы 20 мкл. В вариантах плацебо использовали только 0,7% гели агара. Моделирование БВ проводили аналогично, заражая мышей культурами *E. coli* и *S. aureus* в концентрации 10⁸ клеток/мл. Лечение БВ, вызванного стафилококком, проводили с помощью 2% вагинального крема «Клиндамицин» (Акрихин, Россия), а эшерихиями – 2% кремом «Метронидазол» (Вертекс, Россия).

Таблица 1

Схема опытов с мышами по суткам

Сутки эксперимента	Манипуляции
1	Первая эстрогенизация
5	Вторая эстрогенизация
6	Заражение
7	Третья эстрогенизация
12	I высев
13	Первый день лечения + учет результатов высева
14	Второй день лечения
15	Третий день лечения
16	Четвертый день лечения
17	Пятый день лечения
19	II высев
20	Учет результатов второго высева
27	III высев
28	Учет результатов третьего высева

Материал для посева собирали путем трехкратного интравагинального введения животным стерильной одноразовой микробиологической петли диаметром 1 мм, двукратного прокручивания её и суспендирования содержимого петли в 200 мкл стерильного физраствора в пробирке Эппендорф. Из каждой пробирки производили высевы по 10 мкл на чашки Петри с агаризованной средой. Чашки инкубировали 1 сут при 32 °С, после чего учитывали выросшие колонии. Результаты первого высева принимали за 100 процентов и по отношению к ним рассчитывали результаты последующих высевок.

Определение антимикробной активности кроличьих сывороток. Общую активность сывороток определяли, соединяя 300 мкл нативной сыворотки в пробирках типа Эппендорф с 50 мкл суспензии дрожжей *S. albicans* № 927 в концентрации 10¹⁰ КОЕ/мл либо суспензии бактерий в концентрации 10¹² КОЕ/мл. Для определения активности АМП фракции сыворотки фильтровали через молекулярный фильтр «Amicon» (Merck, Германия) с диаметром пор 100 кДа на центрифуге в течение 15 мин при 16 000 g, после чего 300 мкл фильтрата также соединяли с 50 мкл суспензии микроорганизмов. Контрольная пробирка вместо фильтрата содержала 300 мкл физраствора. Пробирки инкубировали 2 ч при 32 градусах на шейкере, затем центрифугировали 5 мин при 10000 об/мин, супернатанты удаляли, а к осадкам добавляли по 300 мкл раствора бромкрезолового пурпурного в фосфатном буфере рН 4,6. После этого пробирки инкубировали еще 45 мин при 32 °С на шейкере и центрифугировали 5 мин при 10 000 g. По 50 мкл супернатантов соединяли с 2,5 мл фосфатного буфера рН 4,6; оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре “Genesys 10S UV-Vis” (США) при длине волны 440 нм; из 3 измерений для каждой пробы вычисляли среднее значение оптической плотности. Расчет активности производили по формуле:

$$A = (OP_{\text{контр.}} - OP_{\text{опыт.}}) * 100 / OP_{\text{контр.}}$$

где $OP_{\text{контр.}}$ – это оптическая плотность смеси из контрольной пробирки; $OP_{\text{опыт.}}$ – это оптическая плотность опытного образца.

Статистический анализ проводили с помощью программы Microsoft Excel. Расчёт коэффициентов Манна–Уитни, свидетельствующих о наличии/отсутствии значимости различий между показателями, проводили с помощью автоматической программы [15].

Результаты и обсуждение

Эксперименты подразделялись на исследования *in vitro* и *in vivo*. Первые представляют собой оценку противомикробной активности фракций кроличьей сыворотки против основных видов условно патогенных ми-

кроорганизмов, сопутствующих вагинальному дисбиозу, *in vivo* – касаются оценки активности фракции сывороточных АМП кролика, используемой для лечения искусственно воспроизведенных дисбиозов влагалища у мышей. Противомикробная активность цельной сыворотки складывается из активности белков комплемента, иммуноглобулинов и АМП. Фильтрация через мембрану с диаметром пор 100 кДа приводит к устранению более высокомолекулярных компонентов, а именно белков комплемента (мол. масса большинства из них выше 100 кДа) и иммуноглобулинов (150–500 кДа).

Из данных **табл. 2** видно, что общая активность кроличьих сывороток по отношению к разным видам микробов (I столбец) варьировала: максимальной чувствительностью к компонентам сывороток обладала культура дрожжевых грибов. Статистический анализ данных показал, что различия между активностью против *S. albicans* и *E. coli* были статистически значимы (**табл. 2**); тогда как между *S. albicans* и *S. aureus*, а также между *S. aureus* и *E. coli* не значимы. При сравнении активности сывороточных АМП по отношению к изученным видам микроорганизмов установлено, что наибольшая чувствительность выявлена у дрожжей *S. albicans*, наименьшая – *S. aureus*. Различия в активности сывороточных АМП по отношению к *S. aureus* и *E. coli* статистически значимы: $0,01 \leq p \leq 0,05$. На **рис. 1** представлено влияние фракции сывороточных АМП кролика на клетки *Candida albicans* № 927: контрольный образец состоит в основном из живых клеток (**рис. 1, А**), тогда как в образце, обработанном препаратом АМП, клетки в основном погибли (**рис. 1, Б**).

Мышиная модель вагинального дисбиоза включала эстрогенизацию животных, однократное заражение, пятикратное интравагинальное лечение в течение 5 сут препаратом сывороточных АМП и трехкратные высевы – 1 до начала лечения и 2 через 1 и 2 нед от начала лечения (**табл. 1**). Результаты этих экспериментов представлены на **рис. 2** и в табл. 3. Очевидно, что наиболее выраженным действием препарат АМП обладает против *S. Albicans* результаты II высева аналогичны таковым в варианте с традиционным для ВВК препаратом – пимафуцином (**рис. 2, А**). Менее выраженный эффект проявлял препарат АМП в отношении *E. coli* – результаты II высева были лучше, чем в варианте плацебо, но хуже, чем после лечения традиционным препаратом «Метронидазол» (**рис. 2, Б**). Следует отметить однако, что различия между вариантами плацебо и лечения препаратом АМП нивелируются к III высеву. Такие выводы подтверждаются данными **табл. 3**, в которой представлены коэффициенты Манна-Уитни, характеризую-

ющие значимость различий между вариантами. Наконец лечение препаратом АМП вагинального дисбиоза, вызванного *S. aureus* не дало никакого эффекта – II высев оказался на уровне варианта плацебо (рис. 2, В, табл. 3). Сравнение результатов *in vitro* (табл. 2, III столбец) и *in vivo* (II высев) показало наличие обратной корреляции высокой силы: коэффициент Пирсона $r = -0,984$. Другими словами, чем выше активность препарата АМП по отношению к микроорганизмам *in vitro*, тем эффективнее лечение *in vivo*.

Различия в величинах активности препарата АМП по отношению к разным видам микроорганизмов связаны, в первую очередь, с различиями в структуре их клеточной стенки и цитоплазматической мембраны [16]. Наиболее яркие различия у представленных здесь микроорганизмов заключаются именно в составе и строении клеточных стенок – это хитин, β -глюканы и маннопротеины эукариот *C. albicans*, пептидогликан грамположительных прокариот *S. aureus* и липополисахариды грамотрицательных прокариот *E. coli*. Есть данные о большем

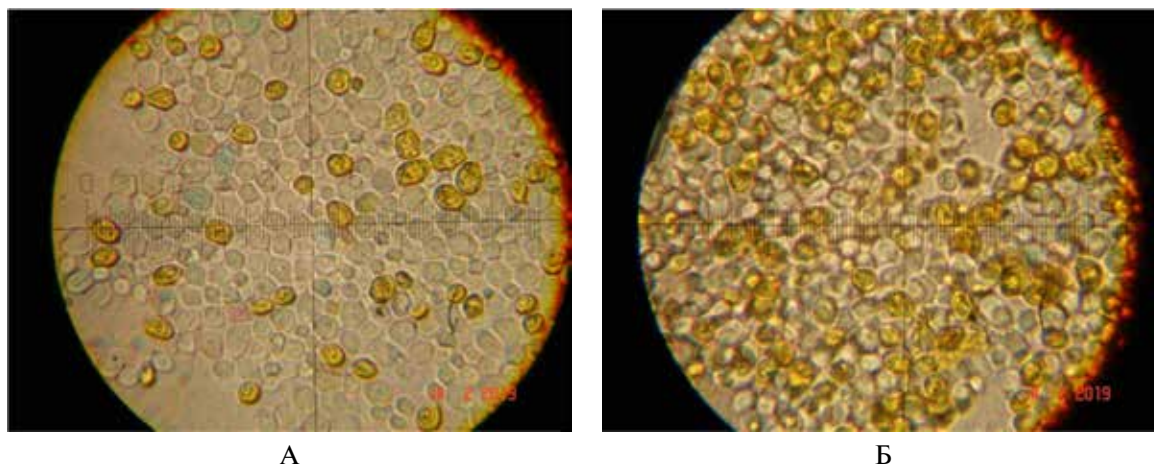


Рис. 1. Клетки *Candida albicans* до (А) и после (Б) обработки фракцией сывороточных АМП. Белые клетки – живые, желтые – мертвые. Увеличение микроскопа $\times 1750$; 1 деление на линейке = 1 мкм; окрашивание бромкрезоловым пурпурным.

Таблица 2

Оценка антимикробной активности фракций кроличьей сыворотки по отношению разным видам микроорганизмов в опытах *in vitro*.

Род, вид и номер штамма использованных микроорганизмов	Общая антимикробная активность сыворотки, % (ср. знач. \pm ср. откл.)	Активность фракции сывороточных антимикробных пептидов, % (ср. знач. \pm ср. откл.)
<i>Candida albicans</i> № 927	84,0 \pm 0,8	32,9 \pm 2,0*
<i>Escherichia coli</i> М-17	61,8 \pm 3,9	23,3 \pm 2,1*
<i>Staphylococcus aureus</i> Wood 46	68,0 \pm 7,9	14,4 \pm 3,3

Примечание. * – статистически значимые различия между *Candida albicans* и *Escherichia coli*. $p < 0,01$

Таблица 3

Оценка значимости различий данных в антимикробной активности препарата фракции антимикробных пептидов из кроличьей сыворотки по отношению разным видам микроорганизмов в опытах *in vivo* на мышинной модели вагинального дисбиоза

Этиологический инфекционный агент	Значимость различий между средним числом колоний в вагинальных высевах в различных вариантах экспериментов			
	2-й высев		3-й высев	
	Плацебо/АМП	Плацебо/традиционный препарат	Плацебо/АМП	Плацебо/традиционный препарат
<i>Candida albicans</i> № 927	0,01 < p < 0,05	0,01 < p < 0,05	p \geq 0,05	p \geq 0,05
<i>Escherichia coli</i> М-17	0,01 < p < 0,05	p \leq 0,01	p \geq 0,05	p \geq 0,05
<i>Staphylococcus aureus</i> Wood 46	p \geq 0,05	p \leq 0,01	p \geq 0,05	p \geq 0,05

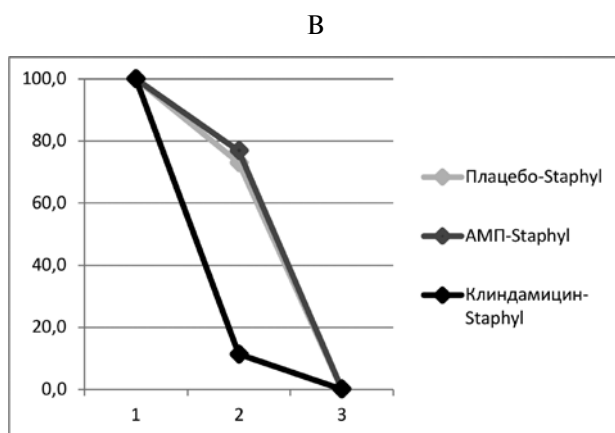
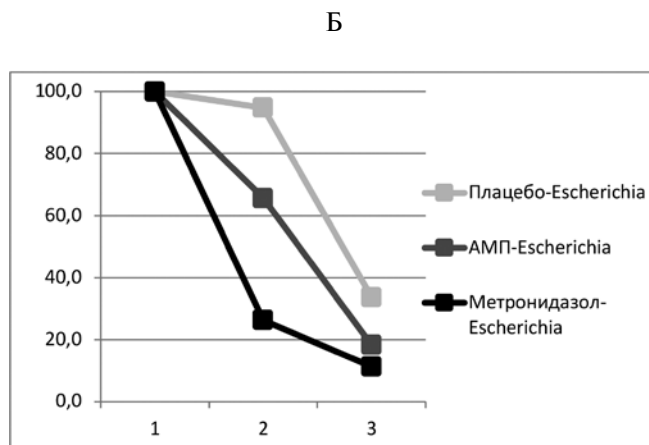
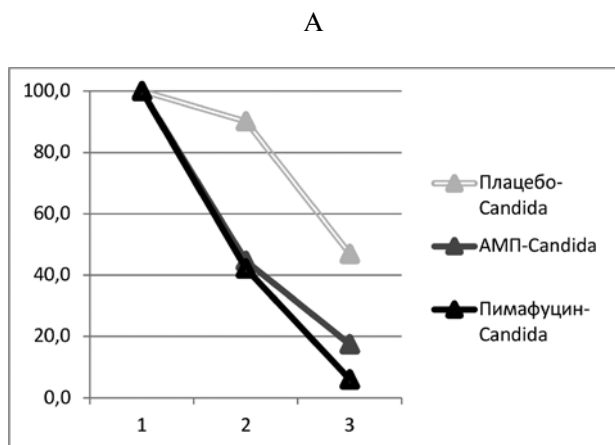


Рис. 2. Высеваемость условно-патогенных микроорганизмов из вла­галища мышей в процессе лечения традиционными препаратами и фрак­цией сывороточных АМП.

Абсцисса — 1, 2 и 3 высевы; по оси ординат – среднее число колоний в процентах от исходного (т.е. от среднего числа колоний в первом высеве); А – результаты по опытам с заражением мышей клетками *S. albicans* и лечением: светлая кривая – без заражения (плацебо); серая кривая – заражение *S. albicans* с последующим лечением сывороточными АМП; черная кривая – заражение *S. albicans* с последующим лечением пимафуцином; Б – результаты по опытам с заражением мышей клетками *E. coli* и лечением: светлая кривая – без заражения (плацебо); серая кривая – заражение *E. coli* с последующим лечением сывороточными АМП; черная кривая – заражение *E. coli* с последующим лечением метронидазолом; В – результаты по опытам с заражением мышей клетками *S. aureus* и лечением: светлая кривая – без заражения (плацебо); серая кривая – заражение *S. aureus* с последующим лечением сывороточными АМП; черная кривая – заражение *S. aureus* с последующим лечением клиндамицином.

сродстве некоторых АМП к конкретным полисахаридам и хитину, однако, они касаются пока только АМП, выделенных от насекомых или синтезированных [16]. Кроме того, разные классы микроорганизмов обладают различными механизмами устойчивости к АМП. Например, есть данные о защите клеток стафилококков с помощью адгезина, выделяемого на поверхности клеток этими микроорганизмами [17]. Адгезин как положительно заряженный полимер может формировать отталкивающий барьер против положительно заряженных АМП. Несмотря на наличие различных механизмов устойчивости микроорганизмов к АМП, они не так многообразны и эффективны, как по отношению к антибиотикам, поскольку липидный бислой микробной мембраны не обеспечивает значительной устойчивости против заряженных молекул АМП. Данные, полученные в настоящем исследовании, подтверждают наличие специфичности АМП против разных видов микроорганизмов. Какие именно АМП обеспечивают эту специфичность, покажут дальнейшие исследования, однако, количественные данные, касающиеся устойчивости разных

классов микроорганизмов к сывороточным АМП получены впервые в данном исследовании.

Заключение

Предложена и доказана впервые возможность использования комплекса сывороточных АМП в качестве лекарственного препарата в лечении дисбиозов влагалища.

Литература

1. Мальбахова Е.Т., Арзуманян В.Г. Современный взгляд на проблему диагностики и лечения вульвовагинального кандидоза. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2015; 2: 111-5.
2. Ghiasi M., Fazaeli H., Kalhor N., Sheykh-Hasan M., Tabatabaei-Qomi R. Assessing the prevalence of bacterial vaginosis among infertile women of Qom city. *Iran. J. Microbiol.* 2014; 6(6): 404–8.
3. Арзуманян В.Г., Мальбахова Е.Т., Комиссарова Л.М. Антимикробные пептиды как факторы местного иммунитета при вульвовагинальном кандидозе. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2008; 4: 46-9.
4. Valore E.V., Park C., Igtrei S.L., Ganz T. Antimicrobial components of vaginal fluid. *J. Obstet. Gynecol.* 2002; 187: 561-8.

5. Valore E.V., Wiley D.J., Ganz T. Reversible deficiency of antimicrobial polypeptides in bacterial vaginosis. *Infection and Immunity*. 2006; 74(10): 5693-702.
6. Mildner M., Stichenwirth M., Abtin A., Tschachler E. Psoriasis (S100A7) is a major Escherichia coli-cidal factor of the female genital tract. *Mucosal Immunology*. 2010; 3(6): 602-9.
7. Beghini J., Giraldo P.C., Linhares I.M., Ledger W.J., Witkin S.S. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Concentration in Vaginal Fluid: Relation to Bacterial Vaginosis and Vulvovaginal Candidiasis. *Reprod Sci*. 2015; 22(8): 964-8.
8. Koczera P., Martin L., Marx G., Schuerholz T. The Ribonuclease A Superfamily in Humans: Canonical RNases as the Buttress of Innate Immunity. *Int. J. Mol. Sci*. 2016; 17(8): 1278.
9. Shai Y. Mode of action of membrane active antimicrobial peptides. *Biopolymers*. 2002; 66: 236-48.
10. Арзуманян В.Г., Мальбахова Е.Т., Комиссарова Л.М., Сердюк О.А., Касабулатов Н.М. Местный противогрибковый иммунитет при вульвовагинальном кандидозе у беременных. *Акушерство и гинекология*. 2008; 6: 23-6.
11. Карапетян Т.Э., Арзуманян В.Г., Мальбахова Е.Т., Комиссарова Л.М., Сердюк О.А., Румянцева Л.В. Бактериальный вагиноз и местная антимикробная активность у беременных. *Акушерство и гинекология*. 2010; 1: 57-9.
12. Bals R. Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respiratory Research*. 2000; 1: 141-50.
13. Тренин А.С., Арзуманян В.Г., Жмак М.Н., Шелухина И.В., Макарова Я.В., Иванов И.А. и др. Синтез и изучение антимикробной активности нового лекарственного средства на основе аналога кателицидина — полипептида SE-33. *Биоорганическая химия*. 2019; 45(2): 1-13.
14. Fidel P. L. Jr., Sobel J. D. Murine models of Candida vaginal infections. In: Zak O., Sande M., eds. *Experimental models in antimicrobial chemotherapy*. 2nd ed. London, United Kingdom: Academic Press Ltd.; 1999: 741-48.
15. Математические методы обработки данных (он-лайн расчёт) (источник: <https://www.psychol-ok.ru/lib/statistics.html>)
16. Bahar A.A., Ren D. Antimicrobial Peptides. *Pharmaceuticals*. 2013; 6: 1543-75.
17. Vuong C., Voyich J.M., Fischer E.R., Braughton K.R., Whitney A.R., DeLeo F.R., et al. Polysaccharide intercellular adhesion (pia) protects Staphylococcus epidermidis against major components of the human innate immune system. *Cell Microbiol*. 2004; 6: 269-75.
2. Ghiasi M., Fazaeli H., Kalhor N., Sheykh-Hasan M., Tabatabaei-Qomi R. Assessing the prevalence of bacterial vaginosis among infertile women of Qom city. *Iran. J. Microbiol*. 2014; 6(6): 404-8.
3. Arzumanyan V.G., Malbakhova Ye.T., Komissarova L.M. Antimicrobial peptides as local immunity factors in vulvovaginal candidiasis. *Epidemiologia I infeksionnye bolezni*. 2008; 4: 46-9. (in Russian)
4. Valore E.V., Park C., Igreti S.L., Ganz T. Antimicrobial components of vaginal fluid. *J. Obstet. Gynecol.* 2002; 187: 561-8.
5. Valore E.V., Wiley D.J., Ganz T. Reversible deficiency of antimicrobial polypeptides in bacterial vaginosis. *Infection and Immunity*. 2006; 74(10): 5693-702.
6. Mildner M., Stichenwirth M., Abtin A., Tschachler E. Psoriasis (S100A7) is a major Escherichia coli-cidal factor of the female genital tract. *Mucosal Immunology*. 2010; 3(6): 602-9.
7. Beghini J., Giraldo P.C., Linhares I.M., Ledger W.J., Witkin S.S. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Concentration in Vaginal Fluid: Relation to Bacterial Vaginosis and Vulvovaginal Candidiasis. *Reprod Sci*. 2015; 22(8): 964-8.
8. Koczera P., Martin L., Marx G., Schuerholz T. The Ribonuclease A Superfamily in Humans: Canonical RNases as the Buttress of Innate Immunity. *Int. J. Mol. Sci*. 2016; 17(8): 1278. doi: 10.3390/ijms17081278
9. Shai Y. Mode of action of membrane active antimicrobial peptides. *Biopolymers*. 2002; 66: 236-48.
10. Arzumanyan V.G., Malbakhova Ye.T., Komissarova L.M., Serdyuk O.A., Kasabulatov N.M. Local antifungal immunity in pregnant women with vulvovaginal candidiasis. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2008; 6: 23-6. (in Russian)
11. Karapetyan T.E., Arzumanyan V.G., Komissarova L.M., Malbakhova Ye.T., Serdyuk O.A., Romyantseva L.V. Bacterial vaginosis and local antimicrobial activity in pregnant women. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2010; 1: 57-9 (in Russian)
12. Bals R. Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respiratory Research*. 2000; 1: 141-50.
13. Trenin A.S., Arzumanyan V.G., Zshmak M.N., Shelukhina I.V., Makarova Y.V., Ivanov I.A. et al. Synthesis and study of antimicrobial activity of new drug based on the analogue of cathelicidine — SE-33. *Biorganicheskaya khimiya*. 2019; 45(2): 1-13. (in Russian)
14. Fidel P. L. Jr., Sobel J. D. Murine models of Candida vaginal infections. In: Zak O., Sande M., eds. *Experimental models in antimicrobial chemotherapy*. 2nd ed. London, United Kingdom: Academic Press Ltd.; 1999: 741-48.
15. Mathematic methods of data processing (on-line calculation) (from: <https://www.psychol-ok.ru/lib/statistics.html>)
16. Bahar A.A., Ren D. Antimicrobial Peptides. *Pharmaceuticals*. 2013; 6: 1543-75.
17. Vuong C., Voyich J.M., Fischer E.R., Braughton K.R., Whitney A.R., DeLeo F.R., et al. Polysaccharide intercellular adhesion (pia) protects Staphylococcus epidermidis against major components of the human innate immune system. *Cell Microbiol*. 2004; 6: 269-75.

References

1. Malbakhova Ye.T., Arzumanyan V.G. Current concept of the diagnostics and treatment of vulvovaginal candidosis. *Vestnik dermatologii I venerologii*. 2015; 2: 111-5. (in Russian)

Сведения об авторах:

Арзуманян Вера Георгиевна, доктор биол. наук, проф., зав. лаб. физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», e-mail: veraar@mail.ru;

Иксанова Асия Мунировна, лаборант-исследователь лаб. физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»; студент магистратуры каф. микробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, e-mail: asya7700@mail.ru;

Артемова Тамара Алексеевна, вед. технолог лаб. физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», e-mail: tamar1946@mail.ru;

Бутовченко Любовь Михайловна, вед. инженер лаб. физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;

Мальбахова Екатерина Тимуровна, канд. мед. наук, врач акушер-гинеколог, репродуктолог, клиника репродукции и генетики NGC, e-mail: bakhova@mail.ru