

Е.Г. Веремеенко

**АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
АНТИБИОТИКОВ ФЕНАЗИНОВОГО РЯДА
В ОТНОШЕНИИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА CANDIDA**

**ANALYSIS OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE PHENAZINE ANTIBIOTICS
AGAINST REPRESENTATIVES OF THE GENUS CANDIDA**

Проведено исследование влияния феназиновых антибиотиков на культуры *Candida albicans* и *Candida dubliniensis*. Установлено, что антибиотики данной группы в концентрации 30 мг/л вызывают ингибирование роста *C. albicans*, а в концентрации 49 мг/л полностью подавляют развитие данного микроорганизма. Для *C. dubliniensis* аналогичным эффектом обладают концентрации 120 мг/л и 147 мг/л, соответственно.

Ключевые слова: феназиновые антибиотики, молочница, *Candida*.

The effect of phenazine antibiotics on the cultures of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* was studied. It has been established that antibiotics of this group at a concentration of 30 mg/l cause inhibition of growth of *C. albicans*, and in the concentration of 49 mg/l completely suppress the growth of this microorganism. For *C. dubliniensis*, the concentrations of 120 mg/l and 147 mg/l, respectively, have a similar result.

Keywords: phenazine antibiotics, thrush, *Candida*.

Соавторы: П.Г. Пигуль, Е.В. Леончик, Н.П. Максимова.

БГУ, Минск, Беларусь.

Кандидозы представляет собой хроническую грибковую инфекцию, возникающую, в основном, у людей со сниженным иммунитетом. От кандидоза страдают слизистые оболочки рта, бронхи, пищеварительный канал, кожа, половые органы [1]. Возбудителями данного заболевания являются условно-патогенные дрожжеподобные грибы рода *Candida* из семейства *Cryptococcaceae* [1; 2]. Молочница является наиболее распространенным заболеванием, вызываемым *Candida albicans* [3; 4].

Традиционно, молочница считается «женским» заболеванием. Однако страдать от него могут и мужчины. Длительная или частая антибиотикотерапия, применение антибактериальных препаратов без дополнительного назначения пробиотиков являются причинами развития дисбактериоза кишечника. Поскольку именно кишечник служит одним из основных резервуаром грибов *Candida*, нарушение функционирования его приводит к распространению кандид в другие органы [4].

Еще одним представителем данного рода, который может проявлять патогенные свойства при снижении иммунитета, является *Candida dubliniensis*. Представители данного вида относительно недавно были выделены из ротовой полости больных СПИДом [5].

На сегодняшний день основными препаратами, используемыми для лечения кандидозов, в том числе, вызываемых *C. dubliniensis* и *Candida albicans*, являются флуконазол, итраконазол, кетоконазол и амфотерицин. В основе механизма действия препаратов данной группы лежит фунгистатическая активность [6]. Вместе с тем, при лечении заболеваний данными препаратами возникают ряд побочных эффектов (тошнота, рвота, головная боль, головокружения, аллергические реакции, нарушение цикла сна, быстрая утомляемость). При применении флуконазола, также могут возникнуть нарушения функции печени и почек, агранулоцитоз, тромбоцитопения и лейкопения [7; 8].

Феназиновые антибиотики представляют собой большую группу гетероциклических азотсодержащих соединений, обладающих широким спектром антибиотической активности [9]. Благодаря разнообразию заместителей, связанных с ароматическим ядром, которое составляет основу феназиновых антибиотиков всех классов, данные соединения обладают широким спектром биологической активности [10]. Широкий спектр антимикробной активности и антибиотические свойства феназинов объясняется механизмом их действия (генерация активных форм кислорода, подавление активности ацил-КоА-синтетазы и топоизомераз) [11–13]. Таким образом, возникновение резистентности к феназиновым антибиотикам требует множественных изменений в функционировании сразу нескольких ключевых систем клеток. Это дает возможность предполагать, что развитие устойчивости к препаратам на их основе потребует длительного времени.

Материалы и методы

Для культивирования *C. albicans* ATCC19231 и *C. dubliniensis* ATCC50–1 использовали питательный бульон (ПБ) и среду Сабуро. Культивирование проводили при температуре 37 °С.

Выделение феназиновых антибиотиков из культуральной жидкости проводили по методике,

описанной в работе [14]. Наличие феназинов определяли спектрофотометрически при длине волны 369 нм. Концентрацию пигмента определяли по калибровочной кривой (рис. 1).

Для определения антимикробной активности ночную культуру *Candida* разливали в стерильные пробирки, содержащие по 1 мл среды Сабуро, куда вносили различные концентрации феназиновых антибиотиков. В качестве контроля использовали пробы без антибиотиков. После инкубации в течение 16 ч при температуре 37 °С проводили определение плотности бактериальной культуры при А600. Обработку полученных результатов проводили с помощью программы Excel.

Спектрофотометрический анализ проводили с использованием спектрофотометра Cary 50 scan (Varian, Australia).

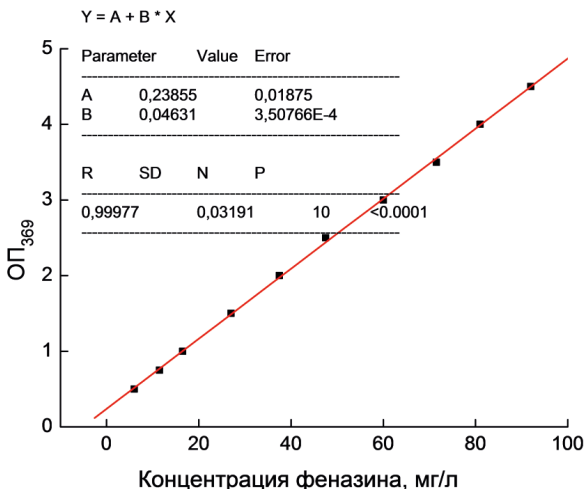


Рис. 1
Калибровочная кривая, отражающая зависимость оптической плотности раствора (ОП₃₆₉) от концентрации феназина [14]

Погрешность измерения рассчитывалась по формуле:

$$m = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

где m – стандартная ошибка среднего, n – число измерений, S – среднее квадратическое отношение, вычисляется по формуле:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x - M)^2}{n - 1}}$$

где x – результаты измерений, M – среднее арифметическое измерений, n – число измерений.

Результаты и обсуждение

В данной работе проводилась оценка чувствительности представителей рода *Candida* к различным концентрациям феназиновых антибиотиков. Полученные в ходе исследований данные представлены на рис. 2 и 3.

Из данных, представленных на рисунках видно, что исследуемые микроорганизмы проявляют чувствительность к действию феназиновых антибиотиков. Однако, полное подавление роста культуры *C. albicans* наблюдалось при значительно более низких концентрациях феназинов (49 мг/л) по сравнению с *C. dubliniensis*. *C. dubliniensis* демонстрируют более высокий уровень устойчивости к феназинам. Но рост микроорганизмов и этого вида полностью подавляется при концентрации антибиотика в 147 мг/л. Вместе с тем, выраженное снижение оптической плотности культуры *C. dubliniensis*, соответствующее ее выживаемости наблюдается уже при концентрации феназинов в 120 мг/л. Следует подчеркнуть, кандидозы, вызванные представителями вида *C. dubliniensis*, и в настоящее время лечатся гораздо сложнее с помощью современных традиционных антибиотиков. Полученные результаты указывают на то, что феназиновые антибиотики могут быть потенциально использованы для разработки на их основе лекарственных препаратов для терапии кандидозов, в случае, если имеющиеся на сегодняшний день антибиотические препараты утратят свою эффективность.

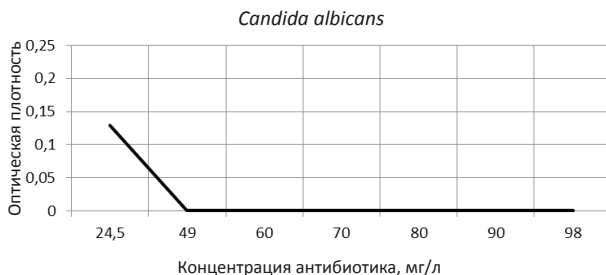


Рис. 2.
Влияние различных концентраций феназинов на рост *C. albicans*

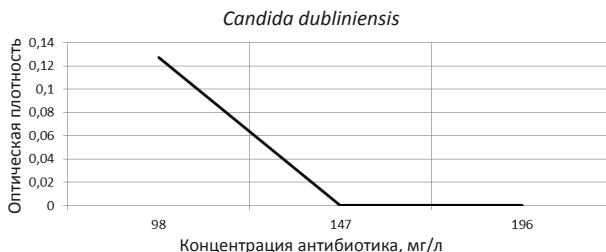


Рис. 3.
Влияние различных концентраций феназинов на рост *C. dubliniensis*

Литература

1. Шахмейстер И. Я., Бурова С. А., Буслаева Г. Н. Для тех, кто лечит грибковые заболевания // Здоровье. 1999. № 6. Прилож. С. 16–26.
2. Сахарук Н. А. Кандидоз полости рта // Вестн. ВГМУ. 2007. Т. 6, № 1. С. 1–9.
3. *Candida albicans*: характеристика грибка, анализы, симптомы, лечение // Экспертный инфопроект. URL: [http://izppp.ru/vozbuditeli/candida-albicans/](http://izppp.ru/vozбудiteli/candida-albicans/) (дата обращения: 05.02.2018).
4. Молочница: причины, симптомы, диагностика и лечение. URL: <http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/zabolevanija/molochnica/> (дата обращения: 08.02.2018).
5. *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen / J. Gutiérrez [et al] // J. Basic Microbiol. 2002. P. 207–227.

6. Шемяков М.А. Кандидоз слизистых оболочек пищеварительного тракта // Проблемы медицинской микологии. 2000. Т. 2, № 2. С. 6–10.
7. Веселов А.В. Введение пациентов с кандидозом: обзор новых рекомендаций IDSA // Клини. микробиол. анти-микроб. химиотер. 2004. Т. 6, № 2. С. 168–185.
8. Кетоконазол // Кетоконазол – инструкция по применению. URL: <http://zdorovi.net/preparaty/ketokonazol.html> (дата обращения: 05.02.2018).
9. Hassan H.M., Fridovich I. Mechanism of antibiotic action of Pyocyanine // J. Bacteriol. 1980. Vol. 141, № 1. P. 156–163.
10. Laursen J.B., Nielsen J. Phenazine natural products: biosynthesis, synthetic analogues and biological activity // Chem. Rev. 2004. Vol. 104. P. 1663–1685.
11. Oxidative stress in *Lactococcus lactis* / A. Miyoshi [et al.] // Gen. Mol. Res. 2003. Vol. 2, № 4. P. 348–359.
12. Kyoung-Ja Kim. Phenazine 1-carboxylic acid resistance in phenazine 1-carboxylic acid producing *Bacillus sp.* B-6 // J. Biochem. Mol. Biol. 2000. Vol. 33, № 4. P. 332–336.
13. Novel angular benzophenazines: dual topoisomerase I and topoisomerase II inhibitors as potential anticancer agents / V.N.L. Burgess [et al.] // J. Med. Chem. 2002. Vol. 45, № 3. P. 721–739.
14. Levitch, M.E. Regulation of aromatic amino acid biosynthesis in phenazine-producing strains *J. Bacteriol.* 1970. Vol. 103, № 1. P. 16–19.