

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ СИФИЛИСА НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ

Е.И. Сафонова, магистрант

Е.А. Запруднова, канд. биол. наук, доцент

Владимирский государственный университет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых
(Россия, г. Владимир)

DOI:10.24412/2500-1000-2024-1-1-94-97

Аннотация. В статье рассматриваются современные методы диагностики и лечения сифилиса на основе молекулярных механизмов. Отмечено, что ведётся разработка новых и совершенствование существующих методов диагностики сифилисной инфекции. Выявлено, что актуальными и перспективными диагностическими технологиями является мультиплексное ПЦР-тестирование в реальном времени, ИФА-тестирование с исследованием кандидатных белков, использование биочипов. Сделан вывод о том, что основным методом лечения в настоящее время остается лечение препаратами пенициллина.

Ключевые слова: сифилис, молекулярные технологии, лечение, диагностика, вакцинация.

За последние 20 лет в мировом сообществе сифилис приобретает большую значимость из-за неутешительных показателей заболеваемости. В России число зафиксированных случаев инфицирования сифилисной инфекцией начало стремительно увеличиваться после пандемии COVID-19. Статистический анализ показал снижение показателей заболеваемости с 2000 до 2019 года с 239,4 тыс. выявленных пациентов с данной инфекцией до 17,5 тыс. По состоянию на октябрь 2022 года составило 27,8 тыс. Для сравнения в 2021 году выявлено всего 21,1 тыс. случаев. По данным Всемирной Организации Здравоохранения ежегодно регистрируется порядка 12 млн. пациентов с диагностированным сифилисом. Ввиду возможной погрешности методов учета новых случаев, в реальности данные показатели могут отличаться в большую или меньшую сторону [6].

Сифилис представляет собой системное инфекционное заболевание, характеризующееся хроническим течением и постепенным поражением систем органов макроорганизма и нарушением их функций с развитием осложнений или летального исхода. Возбудителем является *Treponema pallidum* семейства Spirochaetaceae. Основными патогенными факторами данного возбудителя являются мембранные белки

Tromp1 и Tromp2, гиалуронидаза, слой фибронектина, фимбрии и полимембранные фагосомы. Заболевание передается половым, контактно-бытовым, профессиональным, трансфузионным или трансплацентарным путем по контактному механизму передачи возбудителя от больного сифилисом человека. Больные, имеющие поздние нозологические формы сифилиса, как правило, мало контагиозны. Проникновение спирохеты через микроповреждения дермы или tunica mucosa полости рта, половых путей либо *intestinum rectum* и адгезия к клеткам эндотелия или соединительнотканной выстилки сосудов предшествует развитию нарушению кровотоков и повреждению структуры сосудов – тромбообразование, эндопериартерииты. Нарушение циркуляции крови ведёт к некротизированию тканей. Диссеминация микроорганизма провоцирует каскад иммунных реакций. Продолжительность инкубационного периода составляет от 8 до 190 дней, после окончания данного периода наступает стадия первичного сифилиса [5].

В зависимости от клинической формы заболевания клиническая симптоматика и проявления variabelны. Проявлениями первичного сифилиса является образование твердого шанкра, лимфаденит и/или лимфангит, вторичного – сыпь, признаки

алопеции и лейкодермы, третичного – сивовит, остеоартрит. Возможно бессимптомное течение при скрытной форме заболевания. По этой причине своевременная специфическая диагностика имеет большое значение для ограничения распространения сифилисной инфекции.

Молекулярная диагностика *in vitro* включает все специфические методы анализа нерегулярных биополимеров – нуклеиновых кислот (НК) и белков.

Традиционными методами диагностики являются прямые (темнопольная микроскопия, заражение экспериментальных животных, молекулярно-биологические методы обнаружения генетического материала возбудителя), непрямые (направлены на определение специфических антител), серологические (трепонемные и нетрепонемные) [5].

Молекулярно-генетическое типирование, направленное на выделение подтипов *T. Pallidum* по анализу структуры генома микроорганизма, находится в стадии развития. Основано на исследовании полиморфных локусов генома микроорганизма. Выделяются методики, основанные на процессе секвенирования, и не связанные с секвенированием (ПЦР-типирование, гибридизация). Субстратом исследования являются отделяемое сифилитических шанкров, цельная кровь больного. Маркерами высокого риска развития скрытых форм и серорезистентного варианта сифлиса являются генотипические варианты 753 Arg/Gln и 753 Gln/Gln, 249 Pro/Pro, а также наличие аллелей Gln/753, Pro/249. При манифестных и врожденной формах заболевания предпочтительными являются прямые методы диагностики [4].

Молекулярно-генетическое исследование позволяет решить ряд не менее важных проблем – установление закономерностей распространения сифлиса, проследить взаимосвязь с особенностями различных групп населения, определить ядро эпидемического очага. В настоящее время ученым сообществом молекулярное типирование оценивается как перспективный с позиций эпидемиологического анализа. Информативен данный метод в изучении патогенеза сифилитической инфекции, при

этом исследуется инвазивность и вирулентность отобранных штаммов трепонем.

Перспективным и одним из основных направлений является разработка и совершенствование мультиплексного подхода к диагностике. Предполагается системный анализ сразу нескольких различных анализов. Относительно новым направлением в комплексной диагностике стала разработка и внедрение биочипов. Первые разработки в данной области начаты в 1990-х годах [1].

Функциональной единицей чипа является спот, содержащий зонды, представленные фрагментами ДНК, РНК, беками или олигосахаридами. Споты объединены в эрреи, которые упорядоченно расположены на пластине. Выделяют несколько видов чипов, специфичных для определенных молекул микроорганизма: тканевые, белковые, клеточные, ДНК-чипы. Принципа работы чипов основан на непосредственном выявлении АТ, конъюгированных с флюоресцентами, к спектру АГ.

В 2016 г. учеными Московского научно-практического центра дерматовенерологии и косметологии и ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора предложен иммуночип с 4 рекомбинантными антигенами Trp17, Trp15, Trp47, TmpA. Разработан с целью выявления факта инфицирования нейросифилисом.

Китайскими учеными предложен свой вариант микрочипов с использованием антигенов rT-pN15-17-47 для выявления IgG и IgM в сыворотке крови. Стоит отметить показательные результаты данных чипов – чувствительность – 99%, специфичность – 100% [2, 3].

Перспективными считаются разработки ИФА-теста на основе кандидатных белков: наружной мембраны (Trp0453, Trp0326, Trp92, Gpd), бактериоферритина TrpF1 (специфичность и чувствительность к первичной, вторичной и скрытой форме составляет 100%), белки-флагеллины FlaB1 [Trp0868], FlaB2 [Trp0792] и FlaB3 [Trp0870] и др. Обнаружение белков-маркеров возможно не только в крови больного, но и в моче – возможном биосубстрате. Объясняется это высокоинвазивными характеристиками трепонемы

сифилиса и большой вероятностью обнаружения патогенных белков в моче [5].

ПЦР-тест является одним из самых востребованных прямых методов в диагностике инфекций, передаваемых половым путём. ПЦР-тестирование развивающаяся методика и доступна не во всех лабораториях. Гены-мишени для данного тестирования: *polA*, *trp47*, *bmp*, ген *16S* рРНК, *trpC* и *trpA*. Обнадеживающие результаты показывает мультиплексное ПЦР-тестирование в реальном времени. Учеными P.Gränge разработан диагностический комплекс CFX96 Real-Time PCR System, «Bio-Rad», позволяющий выявлять *T. Pallidum* (чувствительность – 80%, специфичность – 98,8%), HSV1 и HSV2 и ДНК серовара *L Chl. Trachomatis*. Наиболее рациональным субстратом для исследования является отделяемое язв генитальной области. Рационально применение данного метода для дифференциальной диагностики с коинфекцией [6].

Рутинная и мультиплексная ПЦР адекватны для дополнительного скрининга сифилиса, вложенная ПЦР для подтверждения диагноза.

Петлевая изотермическая амплификация (LAMP) отличается простотой проведения процедуры и эффективностью гомотермической амплификации. Однако, пока данный метод не получил должного внимания в силу его новизны и необходимости дополнительных лабораторных и клинических испытаний.

Лечение больных сифилисом основано на антибиотикотерапии с преимуществен-

ным применением пенициллина и его длительнодействующих форм. На момент проведения исследования не найдено достоверных данных об имеющихся инновационных препаратах для лечения сифилиса. Проводятся исследования по изучению патогенеза сифилитического инфекционного процесса.

В целях разработки вакцины против *Treponema Pallidum* проведены исследования Molini и соавт. В-клеточных эпитопов вариантов белков TrpC и TrpD. Считается, что именно на открытые для воздействия последовательности нуклеиновых кислот данных белков направленно действуют гуморальные реакции, что даёт основание для дальнейшего рассмотрения этого явления в качестве мишени для будущих вакцин. Хи и соавт. проведено исследование по определению роли липопротеина TP0136 наружной мембраны спирохеты в патогенезе тромбообразования. Houston и соавт. доказали роль антимикробных пептидов, синтезируемых бледной трепонемой, в модуляции иммунных реакций организма хозяина. Сообщается о роли метилирования гена *mba* в развитии инфекции, а также установлено ингибирующее влияние белка YTHDF1 на индуцированное патогеном воспаление в моноцитарной клеточной линии THP-1 [1].

Таким образом, разработка новых методов диагностики и лечения сифилиса на основе молекулярных механизмов имеет перспективы развития и однозначно требуют дополнительных исследований для повышения чувствительности и специфичности.

Библиографический список

1. Luo Y., Xie Y., Xiao Y. Laboratory diagnostic tools for syphilis: current status and future prospects //Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2021. – Т. 10.
2. Stamm L.V. Hope for new antibiotics for syphilis treatment. Ebiomedicine. 2021 Apr; 66:103320. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103320. Epub 2021 Apr 1.
3. Zhou P. Et al. Syphilis infection: clinical, epidemiology, basic science, and behavioral research //Frontiers in Immunology. – 2023. – Т. 14.
4. Zhou C. Et al. PCR detection for syphilis diagnosis: Status and prospects // Journal of clinical laboratory analysis. – 2019. – Т. 33. – № 5.
5. Поткаев Н.Н. И др. Лабораторная диагностика сифилиса. Современные подходы и перспективы. Часть I. Эпидемиология. Прямые методы диагностики // *Klinicheskaya Dermatologia I Venerologia*. – 2021. – Т. 20 – № 6.
6. Шпилевая М.В. Современные методы исследования резистентности *T. Pallidum* к антибактериальным препаратам (обзор литературы) // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2023. – Т. 68. – № 2.

7. Шпилевая М.В. Сравнение иммуночипов для диагностики сифилиса, выполненных по технологии сополимеризационной иммобилизации и методом бесконтактной печати // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65. – № 1. – С. 16-23.

DEVELOPMENT OF METHODS FOR THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF SYPHILIS BASED ON MOLECULAR MECHANISMS

E.I. Safonova, *Graduate Student*

E.A. Zaprudnova, *Candidate of Biological Sciences, Associate Professor*

Vladimir State University named after A.G. and N.G. Stoletov

(Russia, Vladimir)

***Abstract.** The article discusses modern methods of diagnosis and treatment of syphilis based on molecular mechanisms. It is noted that new and improved existing diagnostic methods for syphilis infection are being developed. It has been revealed that multiplex PCR testing in real time, ELISA testing with the study of candidate proteins, and the use of biochips are relevant and promising diagnostic technologies. It is concluded that the main method of treatment currently remains treatment with penicillin drugs.*

***Keywords:** syphilis, molecular technologies, treatment, diagnosis, vaccination.*