

УДК 571.27, 595.77, 608

МУХИ-КАЛЛИФОРИДЫ (DIPTERA, CALLIPHORIDAE) В МЕДИЦИНСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

© 2019 г. А. Ю. Яковлев, * А. А. Кругликова, ** С. И. Черныш ***

Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 7/9, С.-Петербург, 199034 Россия
*e-mail: andstop@mail.ru

**e-mail: a.a.kruglikova@yandex.ru (автор, ответственный за переписку)
***e-mail: sichernysh1951@gmail.com

Поступила в редакцию 12.11.2018 г.

После доработки 14.12.2018 г.

Принята к публикации 14.12.2018 г.

Мясные мухи (Diptera, Calliphoridae) уже не одно столетие привлекают биологов и врачей возможностью использования в медицине. Наиболее известный пример – биохирургия, метод лечения инфицированных ран и язв при помощи «хирургических личинок» мух-каллифорид. Многие биологические активные вещества «хирургических личинок» выделены и описаны, некоторые из них в той ли иной форме (монопрепараты, экстракты в гелевой форме и др.) доступны как лекарства, изделия медицинского назначения и средства по уходу за кожей. Так, соединения с противовирусной и противоопухолевой активностью, выделенные из личинок мясных мух, нашли применение в лечении вирусных инфекций. Ферменты экзосекрета и антимикробные пептиды гемолимфы предлагаются в качестве инструментов очистки ран от некротически измененных тканей и бактериальных биопленок. В этом обзоре собраны сведения о мясных мухах как продуценте фармакологически активных веществ и о перспективах их использования в решении актуальных проблем современной медицины, таких как растущая устойчивость возбудителей к антибиотикам, лечение вирусных инфекций и онкологических заболеваний.

Ключевые слова: биотехнология, биохирургия, резистентность к антибиотикам, продуцент, антимикробные пептиды.

DOI: 10.1134/S0367144519020059

Предпосылки для использования мясных мух в биотехнологии

Мясные мухи сем. Calliphoridae распространены во всех зоогеографических областях планеты и насчитывают около 1000 видов (Wolff, Kosmann, 2016), большинство из которых синантропно (Дербенева-Ухова, 1961). Научный и практический интерес к мясным мухам традиционно обусловлен той ролью, которую они в силу своей пищевой специализации играют в жизни и хозяйственной деятельности человека.

Имаго мясных мух потребляют белковую и углеводную пищу. Углеводы служат мухе источником энергии при длительных физических нагрузках, главным образом – при полете. Питаясь нектаром и пыльцой, мясные мухи участвуют в опылении дикорасту-

щих и сельскохозяйственных растений. Белковый субстрат необходим главным образом для размножения, а также для созревания яиц и их откладки.

Характер питания личинок крайне разнообразен (Гапонов, 2003). Большинство каллифорид на личиночной стадии – сапрофаги, развиваются на трупах животных, мясе, рыбе, гниющих растительных остатках и в экскрементах животных (Виноградова, 1991). Вместе с тем, широкое распространение в этом семействе получили различные формы паразитизма. В роли хозяев личинок мясных мух выступают черви, моллюски, насекомые, амфибии, птицы и млекопитающие. Особой формой паразитизма у мух-каллифорид является питание мягкими тканями хозяина, сопровождаемое миазами. Отдельные представители семейства перешли к гематофагии и хищничеству. Такой широкий спектр личиночного питания определяет санитарную роль мясных мух в естественных и антропогенных биоценозах как утилизаторов животной и растительной органики. Мухи развиваются крайне быстро: масса тела питающейся личинки на протяжении суток может возрастать в сотни раз. Активный рост обусловлен калорийностью и быстрым разложением пищевого субстрата. Как следствие, переработка мухами органических остатков происходит с высокой скоростью, что делает перспективным применение мясных мух в агробιοтехнологии для утилизации отходов мясной и рыбной промышленности, а также навоза (Li et al., 2012; Šičková et al., 2015). Биомасса личинок затем используется как кормовая добавка для животных (Sing et al., 2014; Charlton et al., 2015) либо в качестве источника биотопливных масел (Li et al., 2012), а переработанная органика представляет собой ценное минеральное удобрение (Wang et al., 2018).

Питаясь трупами и экскрементами животных, мухи-каллифориды на разных стадиях жизненного цикла контактируют с множеством патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, главным образом бактерий (Junqueira et al., 2017), и этот контакт зачастую является обязательным условием развития мух (Tomberlin et al., 2017). Обсемененность микроорганизмами, с одной стороны, приводит к наличию большого количества распространяемых мясными мухами трансмиссивных заболеваний (Förster et al., 2007), а с другой – обуславливает повышенную устойчивость мух к бактериальным инфекциям, делая данный объект перспективным для биофармакологии.

С точки зрения биотехнолога, мясные мухи благодаря целому ряду их особенностей в полной мере удовлетворяют следующим требованиям, предъявляемым к продуценту фармакологически активных веществ.

1. Простота разведения, допускающая возможность круглогодичного культивирования.
2. Способность к росту на дешевых и доступных пищевых субстратах при высокой плотности.
3. Способность к быстрой наработке целевого продукта.
4. Нетоксичность целевого продукта.
5. Стабильность физиологических параметров продуцента в ходе биотехнологического процесса.

Удачное сочетание экологических и физиологических особенностей (Виноградова, 1984) позволило мясным мухам занять достойное место в современной биотехнологии, включая биомедицину (в качестве инструмента биологического метода лечения ряда заболеваний), биоинформатику (как источник информации для поиска новых биологически активных веществ) и получение естественных фармакологических препаратов.

Мясные мухи в биомедицине

Классический пример применения мясных мух в биомедицине – биохирургия. Биохирургия, или личиночная терапия, представляет собой способ лечения незаживающих инфицированных ран, основанный на внесении в рану так называемых «хирургических личинок» (изделие медицинского назначения K033391, зарегистрировано FDA в 2004 г.). По сути биохирургия представляет собой контролируемый миаз, вызываемый личинками зеленой мясной мухи *Lucilia sericata*, традиционно используемой врачами (Sherman, Cooper, 2018). В современной литературе фигурируют следующие показания для биохирургии: пролежни, травматические повреждения кожи и мягких тканей, послеоперационные раны, раны, инфицированные устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами, ожоги, варикозные язвы, хронические язвы диабетиков, остеомиелит, мастоидит, послеоперационное лечение некоторых онкологических заболеваний (Nigam et al., 2006; Sherman, 1998).

Известно, что хронические раны характеризуются затяжным воспалительным процессом, ингибированием клеточной пролиферации, неполной перестройкой внеклеточного матрикса и отсутствием эпителизации. Чрезмерная экспрессия компонентов временного внеклеточного матрикса и неэффективная очистка от них раневой поверхности ведет к тому, что хроническая рана практически не заживает (Bucalo et al., 1993). Некротически измененные ткани являются субстратом для развития патогенной микрофлоры, склонной к формированию биопленок. Биопленка представляет собой самоорганизованную популяцию микроорганизмов, погруженных во внеклеточный матрикс из полисахаридов, белков и нуклеиновых кислот (Flemming, Wingender, 2010). Пониженная метаболическая активность клеток-персистеров и дополнительный механический барьер в виде матрикса – два основных механизма устойчивости биопленки к факторам естественного иммунитета и антибиотикам (Marshall, 2007; Thurlow et al., 2011). Опасность заключается в том, что по завершении негативного воздействия осевшие бактерии могут вновь легко перейти из биопленки в планктонное состояние, восстановив тем самым свою численность. Формирование биопленки в ране – еще одно препятствие на пути к ее заживлению (Hurlow et al., 2015).

Для очищения хронических ран традиционная медицина использует следующие методы: хирургическую, механическую и энзиматическую очистки, промывание и другие. К их недостаткам можно отнести продолжительность воздействия, боль, механическое повреждение подлежащих здоровых тканей и ряд других (Schultz et al., 2003). Альтернативный способ очистки – это личиночная терапия, действующая быстро и избирательно (Nigam et al., 2006).

Личиночная терапия характеризуется тремя главными эффектами: очищение раневой поверхности, дезинфекция и ускорение процессов заживления. В процессе очищения раны происходит удаление мертвых тканей и уничтожение патогенных микроорганизмов. Основным эффектором при этом является экзосекрет, который личинки выделяют в окружающую среду при питании (Yan et al., 2018).

Экзосекрет личинок содержит множество пищеварительных ферментов, включая карбоксипептидазы А и В, лейциновые аминопептидазы, коллагеназы, аспартиловые и сериновые протеазы (трипсино- и химотрипсиноподобные), а также металлопротеазы, сохраняющие активность в широком диапазоне рН. Субстратами им служат фибриновые сгустки, фибронектин, коллаген I и III типов и ламинин (Chambers et al., 2003). Протеолитические компоненты экзосекрета влияют на адгезию фибробластов

к фибронектину; в процессе протеолиза фибронектин фрагментируется с образованием небольших биоактивных пептидов, влияющих на пролиферацию и миграцию фибробластов (Horobin et al., 2005).

Другие ферменты, выделяемые личинками, гликозидазы, расщепляют полисахаридные остатки белков временной соединительной ткани, локализованной в хронической ране (Telford et al., 2012). Лишенные полисахаридных остатков белки становятся чувствительными к действию протеиназ экзосекрета (Grenier, Mayrand, 2001) – рана очищается. Кроме того, гликозидазы воздействуют непосредственно на бактерий, компоненты клеточной стенки которых чувствительны к действию этих ферментов (Selsted, Martinez, 1978). Разрушение клеточной стенки ферментами обеспечивает мембранотропным компонентам экзосекрета доступ к цитоплазматической мембране бактерии.

Экзосекрет личинок оказывает противовоспалительное действие, снижая уровень продукции эластаз и пероксида водорода нейтрофилами, а также тормозя процесс трансэндотелиальной миграции посредством влияния на экспрессию ими адгезионных молекул CD11b и CD18 (Van der Plas et al., 2007). Другой естественный иммуномодулятор экзосекрета – белок BLIP (blowfly larval immunosuppressive protein) – ингибирует экспрессию активационного маркера CD25 Т-лимфоцитами (Elkington et al., 2009).

Хирургические личинки эффективно дезинфицируют рану, по всей видимости, заглатывая бактерий и элиминируя их в пищеварительном тракте. Задняя кишка личинок после непродолжительного пребывания в ране практически стерильна, в то время как передняя и средняя сильно заражены грамположительной микрофлорой (Robinson, Norwood, 1934). Аналогичными результатами завершились гораздо более поздние исследования по изучению обсемененности кишки *Lucilia sericata* кишечной палочкой *Escherichia coli* (Mumcuoglu et al., 2001). Предполагается, что бактерии под воздействием лектинов сорбируются на поверхности перитрофической мембраны и обратно в рану не попадают (Peters et al., 1983).

Исследование антибактериальной активности экзосекрета также имеет почти вековую историю. Уже в 1935 г. Симмонс показал, что экзосекрет хирургических личинок подавляет рост нескольких видов пиогенных бактерий, а его составляющие термостабильны. Результаты современных исследований экзосекрета «хирургических личинок» *in vivo* (Daeschlein et al., 2007; Jaklic et al., 2008; Steenvoorde, Jukema, 2004; Thomas et al., 1999) и *in vitro*, включающих экспериментальное воздействие на биопленки (Thomas et al., 1999; Kerridge et al., 2005; Jaklic et al., 2008; Van der Plas et al., 2008; Cazander et al., 2010; Кругликова, Черныш, 2011), раскрывают его антибактериальные свойства в полной мере. Авторы сходятся во мнении, что наибольшей чувствительностью к экзосекрету обладают грамположительные бактерии, в то время как для грамотрицательных бактерий требуются более высокие концентрации препарата. По-видимому, это объясняется набором действующих веществ экзосекрета. Одно из веществ с антиграмположительной активностью – пептид дефензин (люцифензин) с молекулярной массой 4114 Да, обнаруженный помимо экзосекрета в гемолимфе, слюнных железах, жировом теле и кишечнике личинок *Lucilia sericata* (Cerovsky et al., 2010). Другая группа активных компонентов – низкомолекулярные соединения непептидной природы, ингибирующие рост MRSA и некоторых других бактерий (Bexfield et al., 2008). В дальнейшем одно из таких соединений с эмпирической формулой $C_{10}H_{16}N_6O_9$ было запатентовано в качестве антибиотического агента под названием SERATICIN® (Nigam et al., 2010).

Несмотря на очевидные преимущества, биохирургия имеет ряд серьезных недостатков. Зачастую отторжение вызывает один лишь факт применения живых насекомых, предполагающего длительный контакт с человеком, не говоря уже о возможных неприятных ощущениях в ходе самой процедуры. Не каждый пациент согласится на подобные медицинские манипуляции, хотя опытные врачи и утверждают, что люди, несколько лет страдающие от хронических ран и терпящие все связанные с этим неудобства, обычно соглашаются на любые методы, дающие им надежду на выздоровление.

Технические трудности связаны с получением стерильных насекомых и доставкой их заказчику. Яйца мух традиционно стерилизуют с помощью специальных дезинфектантов, например, гипохлорита натрия (Sherman, My-Tien Tran, 1995; Sherman, Wyle, 1996). Стерильные яйца затем перемещают в контейнеры с небольшим запасом стерильной питательной среды, где из них отрождаются личинки (Sherman, 1998). Разработка для продуцента-некробионта искусственной диеты, исключающей риск развития зоонозов (губчатая энцефалопатия, птичий грипп и др.) – отдельная задача. Неудивительно, что полусинтетические питательные среды постоянно модифицируются, даже на современном этапе развития биохирургии (Wolff, Hansson, 2005).

В ходе терапевтической процедуры личинки дозировано наносятся на поврежденную поверхность, после чего рана изолируется специальной повязкой. На этом этапе возникает еще одна проблема – регулярной замены личинок в ране. Дело в том, что личинки мясных мух довольно быстро развиваются, при этом эффективно выполнять свои функции они могут лишь на стадии активного питания, то есть в течение нескольких дней после отрождения.

Недостатки биохирургии и понимание молекулярных основ этого процесса диктуют необходимость создания принципиально новых препаратов для лечения хронических ран и борьбы с резистентными к антибиотикам бактериальными инфекциями.

Мясные мухи как источник биологической информации

Многие биологически активные вещества, обнаруженные у эукариотических организмов, обладают существенным фармацевтическим потенциалом. Однако использование большинства эукариот, включая насекомых, в качестве постоянных биопродуцентов не представляется возможным, поскольку относительно немногие из них удовлетворяют требованиям биотехнологии. Даже если естественный продуцент доступен для постоянного культивирования, стоимость получаемого вещества может оказаться неприемлемо высокой в связи с длительностью этого процесса и низким уровнем синтеза целевого продукта. Поэтому в большинстве случаев естественный продуцент является не более чем источником информации о какой-либо молекуле, и экстракция целевого вещества из естественного продуцента (его организма, первичной культуры клеток, тканей или органов) осуществляется лишь на начальном этапе. Затем информация о структуре вещества используется для разработки технологии его синтеза химическим или генно-инженерным способом.

Технология химического синтеза традиционно применяется для производства веществ непептидной природы и пептидов размером не более 30 аминокислот. Преимущество технологии заключается в возможности получения препарата в промышленных масштабах, с высокой степенью химической чистоты, необходимой, например, при производстве лекарственных форм для внутривенного введения. Ограничение этой технологии состоит в технической трудности синтеза длинных пептидных цепей, особенно в случае пептидов, имеющих сложную трехмерную организацию. Примером

вещества, изначально обнаруженного у мясных мух и синтезируемого в настоящее время химическим способом, является *аллоферон*. Выделенный из гемолимфы инфицированных личинок синей мясной мухи *Calliphora vicina*, аллоферон продемонстрировал иммунотропную активность в отношении естественных киллеров человека. Избирательно воздействуя на данную популяцию цитотоксических клеток, пептид снижал порог распознавания ими опухолевых клеток и клеток, инфицированных вирусами (Chernysh et al., 2002). Итогом такого распознавания являлась избирательная элиминация клеток-мишеней, позволившая предпринять попытку использования аллоферона для решения проблемы слабораспознаваемых антигенов. Результатом многолетнего международного проекта стали клинические испытания аллоферона и регистрация на его основе принципиально нового противовирусного средства «Аллокина-альфа», которое в настоящее время применяют при лечении таких серьезных патологий как гепатит В, генитальный герпес и ВПЧ-инфекции (Рег. номер Р N002829/01). Оставаясь на сегодняшний день единственным в мире пептидом беспозвоночного животного, применяемым в качестве классического фармакопейного средства, аллоферон демонстрирует принципиальную возможность использования гетерологичных антигенных систем беспозвоночных в медицине. Детальные исследования структуры аллоферона показали его сходство с некоторыми распознающими факторами иммунной системы человека, и последующее целенаправленное изменение аминокислотной последовательности позволило придать молекуле новые свойства, полезные, в частности, для лечения онкологических заболеваний (Плескач и др., 2011; Chernysh, Kozuharova, 2013). Таким образом, аллоферон стал не просто случайной удачной находкой, а открыл перспективное направление разработки новых классов лекарственных препаратов, возможность же синтеза этих препаратов химическим путем определила их доступность для конечного потребителя.

В отличие от химического синтеза, генно-инженерная технология дает возможность получать пептиды любой длины, однако в ряде случаев все равно не позволяет точно воспроизводить пространственную структуру белков (прежде всего это касается протеидов) и обычно отличается сравнительно высокой стоимостью конечного продукта. Рекомбинантных пептидов мясных мух было получено много, однако все они не нашли применения в прикладной медицине, а были использованы главным образом для решения сугубо биологических задач (Kotze et al., 2014; Röppel et al., 2015). Исключением, пожалуй, является гидролитический фермент с *химотрипсиноподобной* активностью, выделенный из экзосекрета личинок зеленой мясной мухи *Lucilia sericata* и предлагаемый к использованию для очистки ран от некротически измененных тканей. По аналогии с химотрипсином химотрипсиноподобный фермент эффективно лизирует фиброзные образования, деполимеризуя белки внеклеточного матрикса соединительной ткани (Röppel et al., 2016), и расщепляет белки адгезии некоторых биоплёнок (Harris et al., 2013). В то же время, устойчивость к действию естественных ингибиторов, локализованных в ране (Telford et al., 2011), выгодно отличает его от химотрипсина. Промышленное получение химотрипсиноподобного фермента из культуры живых насекомых не представлялось возможным, в связи с чем была разработана технология синтеза белка в культуре клеток Sf9 (Britland et al., 2011). На заключительной стадии производства препарата рекомбинантный белок был введен в гелевый носитель на основе поливинилового спирта. Как утверждают исследователи, по эффективности гель не уступает экзосекрету живых «хирургических личинок», вносимых в рану. Это вселяет надежду на разработку нового препарата на основе фармакологически активных веществ мясных мух.

Мясные мухи как продуцент фармакологически активных веществ

Использование естественного продуцента в качестве постоянно функционирующей системы синтеза целевого вещества обычно оправдано в случае необходимости получения сложных протеинов или естественных комбинаций веществ. Впоследствии эти вещества экстрагируются из продуцента рутинными биохимическими методами.

Данная технология обеспечивает максимально точное воспроизведение структуры активных компонентов, хотя в ряде случаев и сталкивается со значительными трудностями на пути стандартизации биотехнологического процесса. Преимуществом такого подхода является возможность использования натуральных, широкодоступных питательных сред, так как технология не ставит целью получение стерильного живого организма, а предполагает стерилизацию целевого вещества на заключительном этапе синтеза.

Самый простой вариант состоит в гомогенизации биопродуцента, содержащего целевое вещество и использовании в качестве готового продукта либо непосредственно гомогената, либо гомогената после обработки химическим или термическим способом. Такой подход был применен, в частности, при создании изделия медицинского назначения для обработки незаживающих ран Larveel™, представляющего собой термически обработанный гомогенат личинок мухи *Lucilia sericata* (Mehlhorn, Gestmann, 2011). Технические детали получения готового продукта охраняются в режиме ноу-хау, известно лишь, что в готовом виде Larveel™ – это лиофилизат, предварительно стерилизованный сочетанием методов холодной фильтрации и радиации. В клинических исследованиях препарат показал эффективность при лечении венозных язв: спустя 8 недель после непрерывного применения препарата у 7 пациентов из 9 наблюдались значительные улучшения (Boelke et al., 2015). По данным производителя, Larveel™, не являясь антибиотиком, разрушал бактериальные биопленки и способствовал связыванию бактерий с повязкой, облегчая их удаление из раны. Вместе с тем, в ряде случаев Larveel™ приводил, напротив, к более интенсивной колонизации ран синегнойной палочкой *Pseudomonas aeruginosa* (Boelke et al., 2015), так что данный вопрос требует подробного изучения.

Сходен подход, основанный на сборе и накоплении секреторных выделений личинок мух. Для биохирургии использование экзосекрета – это способ избежать необходимости прямого контакта пациента и «хирургических личинок» при обработке раны. В одной из работ по данной тематике было показано, что гелевое раневое покрытие на основе экзосекрета усиливало миграцию фибробластов и кератиноцитов в модели раны (Smith et al., 2006).

Более сложный вариант технологии предполагает экстракцию из естественного продуцента конкретной группы веществ, вплоть до получения очищенных компонентов. Пример вещества, получаемого из членистоногих – хитозан – производное хитина, используемое, главным образом, в промышленности в качестве сорбента. Процесс получения хитозана из хитина включает процессы депротеинизации и деацетилирования. Из мясных мух хитозан получать проще, чем из ракообразных, традиционно продуцента хитозана. Кроме того хитозан мух на выходе получается более деацетилированным – это положительно влияет на активность и однородность конечного продукта (Hassan et al., 2016a). Недавно было обнаружено, что хитозан мясных мух оказывает антиоксидантное действие (Song et al., 2013) и обладает антибактериальной активностью в отношении целого ряда грамотрицательных и грамположительных бактерий (Hassan et al., 2016b), что делает перспективным его использование в медицине.

Особую группу фармакологически активных компонентов мясных мух представляют эндогенные антибиотики пептидной природы – антимикробные пептиды – ключевые факторы системного и местного гуморального иммунитета (Кокряков, 1999). Антимикробные пептиды мясных мух играют важную роль, как в защите полости тела, так и в регуляции микробного гомеостаза в окружающей среде (Cеровský et al., 2010). Основным местом синтеза антимикробных пептидов у насекомых служит жировое тело (Hoffmann, Reichhart, 2002), которое активно выделяет пептидные антибиотики в гемолимфу при травмировании покровов или в ответ на микробную инвазию (Yakovlev et al., 2017). Особенности жизненной стратегии синантропных мух привели к возникновению целых комплексов антимикробных пептидов, эффективных в отношении возбудителей инфекционных заболеваний человека (Chernysh et al., 2015). Согласно результатам транскриптомного и протеомного анализа комплексы антимикробных пептидов личинок мясных мух включают дефензины, цекропины, диптерицины (глицин-богатые пептиды) и пролин-богатые пептиды; каждое семейство молекул может быть представлено сотнями изоформ (Pöppel et al., 2015; Gordya et al., 2017). Свойства и спектр активности большинства антимикробных пептидов мясных мух также известны (Cеровský et al., 2010; Pöppel et al., 2015; Gordya et al., 2017).

Антимикробные пептиды были впервые описаны у насекомых более 40 лет назад (Pue, Voman, 1977), у каллифорид – десятилетием позже (Dimarcq et al., 1988), и на протяжении всего последующего времени предпринимались попытки разработать на их основе антибактериальный препарат. В основе исследований (а в самых успешных случаях – клинических испытаний) лежал классический подход монотерапии, подразумевающий использование одного конкретного вещества в отношении одного конкретного возбудителя. Результаты не обнадеживают: до сих пор ни один из антимикробных пептидов какого-либо насекомого не был зарегистрирован в качестве лекарственного препарата либо субстанции. И это при том, что именно насекомые являются источником большинства описанных антимикробных пептидов, счет которых идет на тысячи! По-видимому, главная причина неудач состоит в том, что при значительной сложности синтеза антимикробные пептиды не решают главную проблему современной антибиотикотерапии – возникновение резистентности микроорганизмов к лекарственным препаратам: устойчивость к антимикробным пептидам насекомых формируется так же, как и к другим антибиотикам (Dobson et al., 2013).

Негативные результаты заставили исследователей взглянуть на проблему борьбы с бактериальными инфекциями под другим углом. Новый взгляд базировался на ключевом принципе организации всех иммунных систем – их многокомпонентности. Так, в серии пилотных экспериментов было показано, что естественные комбинации эндогенных антибиотиков насекомых обладают свойствами, отличными от свойств каждой из отдельно взятых молекул. Оказалось, что, обладая широким спектром антибактериальной активности, комплексы антимикробных пептидов, продуцируемые личинками мясных мух, не вызывают развития лекарственной устойчивости грамотрицательных бактерий (Chernysh et al., 2015). В серии экспериментов, моделирующих действие субингибирующих концентраций антибиотиков, бактерии *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii* оказались в равной степени чувствительными к комплексу антимикробных пептидов личинки синей мясной мухи *Calliphora vicina* как в начале, так и в конце эксперимента. При этом эффективные концентрации некоторых антибиотиков, используемых в качестве контроля, за это время могли вырасти

более чем на два порядка. Комплекс антимикробных пептидов *C. vicina* получил название FLIP7 (от Fly Larvae Immune Peptides) и стал объектом дальнейших исследований.

На его примере была продемонстрирована другая отличительная особенность антимикробных пептидов – способность элиминировать формируемые бактериями биопленки. Разрушая матрикс и лизируя клетки, антимикробные пептиды действовали на биопленки в концентрациях, сопоставимых с теми, которые эффективны в отношении суспензионных культур (Gordya et al., 2017). Кроме того, FLIP7 вступал в синергическое взаимодействие с антибиотиками бета-лактаминового ряда, аминогликозидами, гликопептидами и цефалоспоридами (Chernysh et al., 2018). Для многих из этих антибиотиков, используемых в монорежиме, биопленка представляла непреодолимое препятствие, когда несмотря на элиминацию подавляющего большинства клеток биопленки препаратом оставались активно метаболизирующие персистеры, способные к ее восстановлению. При использовании этих антибиотиков в сочетании с FLIP7 персистеров не наблюдалось.

На основе FLIP7 было разработано наружное средство – карбополовый гидрогель «Энтомикс»®, показавший высокую эффективность *in vivo* в комплексном лечении стрептостафилодермии и микробной экземы (Корнишева и др., 2016), акне (Корнишева и др., 2018) и на модели инфицированных ран, причиненных укусами собак (Зиновьев и др., 2015; Костяков, 2017).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование мясных мух – яркий пример биологического подхода к решению самых разных прикладных задач, в том числе, медицинской направленности. Простота культивирования, возможность массового разведения, высокая жизнеспособность и устойчивость к различным повреждающим воздействиям, обусловленная отчасти некропрофагией, сделали этих насекомых излюбленным объектом физиологических и экологических исследований (Виноградова, 1984). Исследования физиологии положили начало применению мясных мух как перспективного продуцента фармакологически активных веществ. Их использование в биомедицине сводится к биохирургии, которая, несмотря на высокую эффективность, вызывает неоднозначное отношение специалистов, поэтому сохраняется необходимость разработки «классических» лекарственных препаратов на основе активных компонентов «хирургических личинок».

Один из подходов к разработке такого рода биопрепаратов – использование насекомого только в качестве источника информации о целевом веществе, которое после его точного определения синтезируется в дальнейшем химическим или генно-инженерным способом. Этот подход успешно апробирован при разработке противовирусных и противоопухолевых препаратов на основе иммунотропных пептидов гемолимфы, а также при создании средств очистки ран от некротических тканей на основе ферментов экзосекрета личинок мух. Другой подход предлагает рассматривать насекомое для постоянного синтеза целевых веществ. Подобная стратегия оправдала себя в случае необходимости получения сложных природных комбинаций химических соединений, например, комплексов антимикробных пептидов. Понимание свойств антимикробных пептидных комплексов мясных мух заставило исследователей иначе взглянуть на проблему резистентности микроорганизмов к антибиотикам и разработать новые подходы к ее решению. Синтез всех эффекторных компонентов подобных комбинаций химическим или генно-инженерным способом сделал бы технологию если и осуществимой,

то нерентабельной, в то время как их получение *in vivo* с успехом реализуется на практике.

Пока мясные мухи выступают исключительно в качестве продуцентов гомологичных соединений, хотя в перспективе могут быть использованы и для синтеза гетерологичных белков медицинского назначения, тем более что методы получения трансгенных мух (Heinrich et al., 2002) и трансформации клеток насекомых *in vitro* (Белжеларская, 2011) хорошо известны.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 16-14-00048.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белжеларская С. Н. 2011. Бакуловиральные системы экспрессии рекомбинантных белков в клетках насекомых и млекопитающих. Молекулярная биология **45** (1): 142–159.
- Виноградова Е. Б. 1984. Мясная муха *Calliphora vicina* – модельный объект физиологических и экологических исследований. Л.: Наука, 272 с.
- Виноградова Е. Б. 1991. Диапауза мух и ее регуляция. СПб.: Наука, 255 с.
- Гапонов С. П. 2003. Биология размножения и стадия яйца Calliphoridae (Diptera). Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация **2**: 116–122.
- Дербенева-Ухова В. П. 1961. К сравнительной экологии синантропных мух сем. Muscidae и Calliphoridae. Медицинская паразитология и паразитарные болезни **30**: 27–37.
- Зиновьев Е. В., Костяков Д. В., Цветкова А. А., Руссу И. И., Васильева А. Г. 2015. Экспериментальная оценка эффективности ранозаживляющих средств при лечении ран, причиненных укусами собак. Современные проблемы науки и образования **5**: 250–251.
- Кокряков В. Н. 1999. Биология антибиотиков животного происхождения СПб.: Наука, 162 с.
- Корнишева В. Г., Черныш С. И., Нищетенко Д. Ю. 2016. Применение гидрогеля «Энтомикс» с комплексом антимикробных пептидов природного происхождения (FLIP7) при лечении пиодермий и микробной экземы. В кн.: Тезисы X Международного форума дерматовенерологов и косметологов «Перспективы дерматовенерологии и косметологии XXI века – приоритет эффективности и персонализированной медицины». М.: КСТ Интерфорум, с. 88–89.
- Корнишева В. Г., Черныш С. И., Нищетенко Д. Ю. 2018. Применение гидрогеля «Энтомикс» с комплексом антимикробных пептидов природного происхождения (FLIP7) в лечении акне. Дерматология в России **1**: 88–89.
- Костяков Д. В. 2017. Патогенетическое лечение ран, причиненных укусами собак. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. СПб.: Издательство ВМА им. С. М. Кирова, 179 с.
- Кругликова А. А., Черныш С. И. 2011. Антимикробные компоненты экзосекрета хирургических личинок *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera, Calliphoridae). Энтомологическое обозрение **90** (3): 504–513 [Kruglikova A. A., Chernysh S. I. 2011. Antimicrobial compounds from the excretions of surgical maggots, *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera, Calliphoridae). Entomological Review **91** (7): 813–819].
- Плескач В. А., Кожухарова И. В., Алексеенко Л. Л., Плескач Н. М., Аникин В. Б., Черныш С. И. 2011. Регуляция пролиферации и жизнеспособности опухолевых клеток *in vitro* аллофероном-1 и аллостатином-1. Цитология **53** (3): 250–258.
- Bexfield A., Bond A. E., Roberts E. C., Dudley E., Nigam Y., Thomas S., Newton R. P., Ratcliffe N. A. 2008. The antibacterial activity against MRSA strains and other bacteria of a <500Da fraction from maggot excretions/secretions of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). Microbes and Infection **10** (4): 325–333.
- Boelke E., Homey B., Gestmann F., Schrupf H., Hoff N.-P., Mehlhorn H., Buhren B. A., Jansen T., Matuschek C., van Griensven M., Gerber P. 2015. Lyophilized extract of the larva *Lucilia sericata* for the management of chronic wounds: an update. 38th Annual Conference of the Shock-Society on Shock **43**: 69–69.
- Britland S., Smith A., Finter W., Eagland D., Vowden K., Vowden P., Telford G., Brown A., Pritchard D. 2011. Recombinant *Lucilia sericata* chymotrypsin in a topical hydrogel formulation degrades human wound eschar *ex vivo*. Biotechnology Progress **27** (3): 10.1002/btpr.587.
- Bucalo B., Eaglstein W. H., Falanga V. 1993. Inhibition of cell proliferation by chronic wound fluid. Wound Repair and Regeneration **1** (3): 181–186.

- Cazander G., Van de Veerdonk M. C., Vandenbroucke-Grauls C. M. J. E., Schreurs M. W. J., Jukema G. N. 2010. Maggot excretions inhibit biofilm formation on biomaterials. *Clinical Orthopaedics and Related Research* **468** (10): 2789–2796.
- Cerovský V., Zdárek J., Fucík V., Monincová L., Voburka Z., Bém R. 2010. Lucifensin, the long-sought antimicrobial factor of medicinal maggots of the blowfly *Lucilia sericata*. *Cellular and Molecular Life Sciences* **67** (3): 455–66.
- Chambers L., Woodrow S., Brown A. P., Harris P. D., Phillips D., Hall M., Church J. C. T., Pritchard D. I. 2003. Degradation of extracellular matrix components by defined proteinases from the greenbottle larva *Lucilia sericata* used for the clinical debridement of non-healing wounds. *British Journal of Dermatology* **148**: 14–23.
- Charlton A. J., Dickinson M., Wakefield M. E., Fitches E., Kenis M., Han R., Zhu F., Kone N., Grant M., Devic E., Bruggeman G., Prior R., Smith R. 2015. Exploring the chemical safety of fly larvae as a source of protein for animal feed. *Journal of Insects as Food and Feed* **1** (1): 7–16.
- Chernysh S., Gordya N., Suborova T. 2015. Insect antimicrobial peptide complexes prevent resistance development in bacteria. *PLoS One* **10** (7): e0130788.
- Chernysh S., Gordya N., Tulin D., Yakovlev A. 2018. Biofilm infections between *Scylla* and *Charybdis*: interplay of host antimicrobial peptides and antibiotics. *Infection and Drug Resistance* **11**: 501–514.
- Chernysh S., Kim S. I., Bekker G., Pleskach V. A., Filatova N. A., Anikin V. B., Platonov V. G., Bulet P. 2002. Antiviral and antitumor peptides from insects. *PNAS* **99** (20): 12628–12632.
- Chernysh S., Kozuharova I. 2013. Anti-tumor peptide combining patterns of insect and mammalian immunologically relevant proteins. *International Immunopharmacology* **17**: 1090–1093.
- Čičková H., Newton G. L., Lacy R. C., Kozánek M. 2015. The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste Management* **35**: 68–80.
- Daeschlein G., Mumcuoglu K. Y., Assadian O., Hoffmeister B., Kramer A. 2007. In vitro antibacterial activity of *Lucilia sericata* maggot secretions. *Skin Pharmacology and Physiology* **20** (2): 112–115.
- Dimarq J. L., Zachary D., Hoffmann J. A., Hoffmann D., Reichhart J. M. 1988. Insect immunity. Expression of the two major inducible antibacterial peptides, defensin and dipterin, in *Phormia terranova*. *European Journal of Biochemistry* **171**: 17–22.
- Dobson A. J., Purves J., Kamysz W., Rolff J. 2013. Comparing selection on *S. aureus* between antimicrobial peptides and common antibiotics. *PLoS One* **10** (10): e76521.
- Elkington R. A., Humphries M., Commins M., Maugeri N., Tierney T., Mahony T. J. 2009. A *Lucilia cuprina* excretory/secretory protein inhibits the early phase of lymphocyte activation and subsequent proliferation. *Parasite Immunology* **31** (12): 750–765.
- FDA, 2004. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfPMN/pmn.cfm?ID=K033391>
- Flemming H. C., Wingender J. 2010. The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology* **8** (9): 623–633.
- Förster M., Klimpel S., Mehlhorn H., Sievert K., Messler S., Pfeffer K. 2007. Pilot study on synanthropic flies (e. g. *Musca*, *Sarcophaga*, *Calliphora*, *Fannia*, *Lucilia*, *Stomoxys*) as vectors of pathogenic microorganisms. *Parasitology Research* **101** (1): 243–246.
- Gordya N., Yakovlev A., Tulin D., Potolitsina E., Suborova T., Bordo D., Rosano C., Chernysh S. 2017. Natural antimicrobial peptide complexes in the fighting of antibiotic resistant biofilms: *Calliphora vicina* medicinal maggots. *PLoS One* **12** (3): e0173559.
- Grenier D., Mayrand D. 2001. Cleavage of human immunoglobulin G by *Treponema denticola*. *Ecology/Environmental Microbiology* **7**: 1–4.
- Harris L. G., Nigam Y., Sawyer J., Mack D., Pritchard D. I. 2013. *Lucilia sericata* chymotrypsin disrupts protein adhesin-mediated Staphylococcal biofilm formation. *Applied and Environmental Microbiology* **79** (4): 1393–1395.
- Hassan M. I., Taher F. A., Mohamed A. F., Kamel M. R. 2016a. Chitosan nanoparticles prepared from *Lucilia cuprina* maggots as antibacterial agent. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* **46** (3): 519–526.
- Hassan M., Mohamed A., Taher F., Reda M. 2016b. Antimicrobial activities of chitosan nanoparticles prepared from *Lucilia cuprina* maggots (Diptera : Calliphoridae). *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* **46** (3): 563–570.
- Heinrich J. C., Li X., Henry R. A., Haack N., Stringfellow L., Heath A. C., Scott M. J. 2002. Germ-line transformation of the Australian sheep blowfly *Lucilia cuprina*. *Insect Molecular Biology* **11**: 1–10.
- Hoffmann J. A., Reichhart J.-M. 2002. *Drosophila* innate immunity: an evolutionary perspective. *Nature Immunology* **3** (2): 121–126.
- Horobin A. J., Shakesheff K. M., Pritchard D. I. 2005. Maggots and wound healing: An investigation of the effects of secretions from *Lucilia sericata* larvae upon the migration of human dermal fibroblasts over a fibronectin-coated surface. *Wound Repair and Regeneration* **13** (4): 422–433.
- Hurlow J., Couch K., Laforet K., Bolton L., Metcalf D., Bowler P. 2015. Clinical biofilms: A challenging frontier in wound care. *Advances in Wound Care (New Rochelle)* **4** (5): 295–301.

- Jaklic D., Lapanje A., Zupancic K., Smrke D., Gunde-Cimerman N. 2008. Selective antimicrobial activity of maggots against pathogenic bacteria. *Journal of Medical Microbiology* **57** (5): 617–625.
- Junqueira A. C. M., Ratan A., Acerbi E., Drautz-Moses D. I., Premkrishnan B. N. V., Costea P. I., Linz B., Purbojati R. W., Paulo D. F., Gaultier N. E., Subramanian P., Hasan N. A., Colwell R. R., Bork P., Azeredo-Espin A. M. L., Bryant D. A., Schuster S. C. 2017. The microbiomes of blowflies and houseflies as bacterial transmission reservoirs. *Scientific Reports* **7**: Article ID: 16324.
- Kerridge A., Lappin-Scott H., Stevens J. R. 2005. Antibacterial properties of larval secretions of the blowfly, *Lucilia sericata*. *Medical and Veterinary Entomology* **19** (3): 333–337.
- Kotze A. C., Bagnall N. H., Ruffell A. P., Pearson R. 2014. Cloning, recombinant expression and inhibitor profiles of dihydrofolate reductase from the Australian sheep blow fly, *Lucilia cuprina*. *Medical and Veterinary Entomology* **28** (3): 297–306.
- Li Z., Yang D., Huang M., Hu X., Shen J., Zhimin Z., Chen J. 2012. *Chrysomya megacephala* (Fabricius) larvae: A new biodiesel resource. *Applied Energy* **94**: 349–354.
- Marshall T. G. 2007. Bacterial capnine blocks transcription of human antimicrobial peptides. *Nature Precedings* doi:10.1038/npre.2007.164.1.
- Mehlhorn H., Gestmann F. 2011. Extracts from fly maggots and fly pupae as a “wound healer”. In: H. Mehlhorn (ed.). *Nature Helps... How Plants and Other Organisms Contribute to Solve Health Problems*. Vol. 1. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, pp. 325–348.
- Mumcuoglu K. Y., Miller J., Mumcuoglu M., Friger M., Tarshis M. 2001. Destruction of bacteria in the digestive tract of the maggot of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology* **38** (2): 161–166.
- Nigam Y., Bexfield A., Thomas S., Ratcliffe N. A. 2006. Maggot therapy: The science and implication for CAM Part I – History and bacterial resistance. *eCAM* **3** (2): 223–227.
- Nigam Y., Dudley E., Bexfield A., Bond A. E., Evans J., James J. 2010. The physiology of wound healing by the medicinal maggot, *Lucilia sericata*. *Advances in Insect Physiology* **39**: 39–81.
- Peters W., Kolb H., Kolb-Bachofen V. 1983. Evidence for a sugar receptor (lectin) in the peritrophic membrane of the blowfly larva, *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera). *Journal of Insect Physiology* **29**: 275–280.
- Pöppel A. K., Kahl M., Baumann A., Wiesner J., Gökçen A., Beckert A., Preissner K. T., Vilcinskas A., Franta Z. 2016. A Jonah-like chymotrypsin from the therapeutic maggot *Lucilia sericata* plays a role in wound debridement and coagulation. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* **70**: 138–47.
- Pöppel A. K., Vogel H., Wiesner J., Vilcinskas A. 2015. Antimicrobial peptides expressed in medicinal maggots of the blow fly *Lucilia sericata* show combinatorial activity against bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **59** (5): 2508–2514.
- Pye A. E., Boman H. G. 1977. Insect immunity. III. Purification and partial characterization of immune protein P5 from hemolymph of *Hyalophora cecropia* pupae. *Infection and Immunity* **17**: 408–414.
- Robinson W., Norwood V. H. 1934. Destruction of pyogenic bacteria in the alimentary tract of surgical maggots implanted in infected wounds. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* **19** (6): 581–586.
- Schultz G. S., Sibbald R. G., Falanga V., Ayello E. A., Dowsett C., Harding K. 2003. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. *Wound Repair and Regeneration* **11**: 1–28.
- Selsted M. E., Martinez R. J. 1978. Lysozyme: primary bactericidin in human plasma serum active against *Bacillus subtilis*. *Infection and Immunity* **20**: 782–791.
- Sherman R. A. 1998. Maggot debridement in modern medicine. *Infections in Medicine* **15** (9): 651–656.
- Sherman R., Cooper E. L. 2018. Biotherapy: Medicinal Maggots and Invertebrate Immunology from the Clinician’s Perspective. In book: *Advances in Comparative Immunology*. Switzerland: Springer International Publishing AG, pp. 991–995.
- Sherman R. A., My-Tien Tran J. M. 1995. A simple, sterile food source for rearing the larvae of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Medical and Veterinary Entomology* **9** (4): 393–398.
- Sherman R. A., Wyle F. A. 1996. Low-cost, low-maintenance rearing of maggots in hospitals, clinics, and schools. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **54** (1): 38–41.
- Simmons S. W. 1935. The bactericidal properties of excretions of the maggot of *Lucilia sericata*. *Bulletin of Entomological Research* **26**: 559–563.
- Sing K.-W., Kamarudin M. S., Wilson J., Sofian-Azirun M. 2014. Evaluation of blowfly (*Chrysomya megacephala*) maggot meal as an effective, sustainable replacement for fishmeal in the diet of farmed juvenile red tilapia (*Oreochromis* sp.). *Pakistan Veterinary Journal* **34**: 288–292.
- Smith A. G., Powis R. A., Pritchard D. I., Britland S. T. 2006. Greenbottle (*Lucilia sericata*) larval secretions delivered from a prototype hydrogel wound dressing accelerate the closure of model wounds. *Biotechnology Progress* **22**: 1690–1696.
- Song H., Su C., Cui W., Zhu B., Liu L., Chen Z., Zhao L. 2013. Folic acid-chitosan conjugated nanoparticles for improving tumor-targeted drug delivery. *BioMed Research International* **2013**: 723158.

- Steen Voorde P., Jukema G. N. 2004. The antimicrobial activity of maggots: *in-vivo* results. *Journal of Tissue Viability* **14** (3): 97–101.
- Telford G., Brown A. P., Kind A., English J. S. C., Pritchard D. I. 2011. Maggot chymotrypsin I from *Lucilia sericata* is resistant to endogenous wound protease inhibitors. *British Association of Dermatologists* **164**: 192–196.
- Telford G., Brown A. P., Rich A., English J. S. C., Pritchard D. I. 2012. Wound debridement potential of glycosidases of the wound-healing maggot, *Lucilia sericata*. *Medical and Veterinary Entomology* **26** (3): 291–299.
- Thomas S., Andrews A., Hay P., Bourgoise S. 1999. The antimicrobial activity of maggot secretions: results of a preliminary study. *Journal of Tissue Viability* **9**: 127–132.
- Thurlow L. R., Hanke M. L., Fritz T., Angle A., Aldrich A., Williams S. H., Engebretsen I. L., Bayles K. W., Horswill A. R., Kielian T. 2011. *Staphylococcus aureus* biofilms prevent macrophage phagocytosis and attenuate inflammation *in vivo*. *The Journal of Immunology* **186** (11): 6585–6596.
- Tomberlin J. K., Crippen T. L., Tarone A. M., Chaudhury M. F. B., Singh B., Cammack J. A., Meisel R. P. 2017. A review of bacterial interactions with blow flies (Diptera: Calliphoridae) of medical, veterinary, and forensic importance. *Annals of the Entomological Society of America* **110** (1): 19–36.
- Van der Plas M. J. A., Jukema G. N., Wai S.-W., Dogterom-Ballering H. C. M., Lagendijk E. L., van Gulpen C., van Dissel J. T., Bloemberg G. V., Nibbering P. H. 2008. Maggot excretions or secretions are differentially effective against biofilms of *S. aureus* and *P. aeruginosa*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **61** (1): 117–122.
- Van der Plas M. J. A., van der Does A. M., Baldry M., Dogterom-Ballering H. C. M., van Gulpen C., van Dissel J. T., Nibbering P. H., Jukema G. N. 2007. Maggot excretions/secretions inhibit multiple neutrophil pro-inflammatory response. *Microbes and Infection* **9**: 507–514.
- Wang X., Wang W., Gao Q., Wang X., Lei C., Zhu F. 2018. *Chrysomya megacephala* larvae feeding favourably influences manure microbiome, heavy metal stability and greenhouse gas emissions. *Microbial Biotechnology* **11** (3): 498–509.
- Wolff H., Hansson C. 2005. Rearing larvae of *Lucilia sericata* for chronic ulcer treatment – an improved method. *Acta Dermato-Venereologica* **85**: 126–131.
- Wolff M., Kosmann C. 2016. Families Calliphoridae and Mesembrinellidae. *Zootaxa* **4122** (1): 856.
- Yakovlev A. Y., Nesin A. P., Simonenko N. P., Gordya N. A., Tulin D. V., Kruglikova A. A., Chernysh S. I. 2017. Fat body and hemocyte contribution to the antimicrobial peptide synthesis in *Calliphora vicina* R.-D. (Diptera: Calliphoridae) larvae. *In Vitro Cellular & Developmental Biology* **53** (1): 33–42.
- Yan L., Chu J., Li M., Wang X., Zong J., Zhang X., Song M., Wang S. 2018. Pharmacological properties of the medical maggot: a novel therapy overview. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*: Article ID: 4934890.

BLOWFLIES (DIPTERA, CALLIPHORIDAE) IN THE MEDICAL BIOTECHNOLOGY

A. Ya. Yakovlev, A. A. Kruglikova, S. I. Chernysh

Key words: biotechnology, biosurgery, antibiotic resistance, producer, antimicrobial peptides.

SUMMARY

Blow flies (Diptera, Calliphoridae) and their medical applications attracted the attention of biologists and doctors for more than a century. The most well-known is the use of «surgical maggots» in the treatment of infected wounds and ulcers. Another direction of the development is the employment of Calliphoridae flies as producers of pharmacologically active substances. Compounds with antiviral and antitumor activity were isolated from the maggots and have found application in the treatment of viral infections. The maggots' enzymes and antimicrobial peptides are another group of drug candidates that have received much attention. This review summarizes information on the Calliphoridae flies as a source of new drugs and the prospects for their use in solving the urgent problems of modern medicine such as the growing resistance of pathogens to antibiotics, the treatment of viral infections and oncological diseases.