

Сипайлова О.Ю., Нестеров Д.В.
Институт биоэлементологии
Оренбургского государственного университета
E-mail: inst_bioelement@mail.ru

АНТИМИКРОБНЫЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПЕПТИДЫ: ФАКТОРЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ

В работе представлен литературный обзор, посвященный наличию в крови животных и человека пептидов, обладающих широким антимикробным спектром действия в отношении грамположительных, грамотрицательных бактерий и грибов, оказывающих влияние на персистентные характеристики микроорганизмов, что делает их привлекательными для создания новых антимикробных препаратов.

Ключевые слова: катионные антимикробные пептиды, тромбодефенсины, бактерии, персистенция, биопленки.

Антимикробные пептиды и белки, синтезируемые организмами различного уровня организации (от губок до человека), являются неотъемлемыми молекулярными компонентами системы врождённого иммунитета организма, без которого невозможно выживание в среде, изобилующей потенциально патогенными микроорганизмами [9].

В настоящее время описано более 900 индивидуальных антимикробных пептидов и белков, принадлежащих к разным гомологическим семействам [10], [37]. Катионные антимикробные пептиды (КАМП), выделяемые из нейтрофилов и тканей эпителиального происхождения – дефенсины, протегрины, кателицидины и т. д., обладают широким спектром действия, оказывая антимикробное, противовирусное, антипротозойное и антигрибковое действия [23], [27]. Установлено, что КАМП стимулируют продукцию цитокинов, миграцию и пролиферацию клеток [35], [38], модулируют гуморальный иммунный ответ и повышают титр антител после вакцинации [22], а сочетание в дефенсинах свойств веществ, ингибирующих неферментативный фибринолиз и обладающих антимикробной активностью может быть использовано при создании препаратов для борьбы с кровотечениями при инфекционной патологии [8].

Относящиеся к дефенсинам антимикробные пептиды, выделенные из тромбоцитов животных и человека, обладают не только выраженной антимикробной, но и иммуномодулирующей и цитолитической активностями, способны влиять на течение фагоцитарного и воспалительных процессов [3], [36]. Обладая антимикробной активностью, эти соединения ха-

рактеризуются относительно низкой токсичностью по отношению к собственным клеткам макроорганизма, что позволяет их рассматривать в будущем в качестве дополнения и замены конвенциональным антибиотикам микробного происхождения [20].

В зарубежной печати всё чаще встречаются источники, указывающие на противоопухолевое действие низкомолекулярных катионных пептидов. Так, на моделях *in vivo* изучен механизм цитотоксического действия дефенсинов за счёт повышения мембранной проницаемости, приводящей в конечном итоге к лизису опухолевой клетки. Отмечено, что литическое действие отдельных КАМП в десятки раз выше для опухолевых клеток, чем для незлокачественных. Установлено потенцирующее действие дефенсинов по отношению к цитотоксическому действию ряда препаратов, в частности доксорубина, против многомедикаментозноустойчивых линий опухолевых клеток [28], [31].

Все вышеуказанные свойства катионных антимикробных пептидов создают предпосылки для создания в будущем на их основе новых препаратов для лечения и профилактики инфекционных заболеваний.

Терапия, основанная на применении КАМП, является привлекательной альтернативой антибиотикотерапии ещё и потому, что имеет ряд преимуществ: действие КАМП направлено на фундаментальные структуры клетки, например, на клеточную стенку, и они могут действовать на мишени внутри клетки, поэтому вероятность появления резистентности микроорганизмов значительно уменьшается [1], [27]. Новая антимикробная терапия также позволит использовать КАМП

совместно с существующими лекарствами, как часть комбинированной терапии, дающей синергический эффект. Аналитиками делается вывод, что в силу относительной дешевизны, отсутствия побочных эффектов и минимальной вероятности формирования резистентности у бактерий к этим препаратам, КАМП в 21 веке займут подавляющий сегмент мирового рынка антимикробных препаратов. В ближайшее время объём производств и продаж КАМП может составить до 1% рынка антибиотиков, а ближайшие 10 лет – до 20–25% [24].

Однако, несмотря на многообразие катионных антимикробных пептидов различного происхождения и обладающих прогнозов, лишь некоторые из них получают синтетическим путём. В настоящее время два производных индолицидина: МВ1-226 и МХ-594АН (Vancouver, British Columbia, Canada) проходят клинические испытания для лечения катетер-ассоциированных инфекций и акне. Компания AM-Pharma Holding сообщила о завершении первой фазы клинических испытаний пептида hLF1-11 с N-конца человеческого лактоферрина, который использовался на модели животных для лечения остеомиелита и других бактериальных инфекций [17]. Пексиганан – синтетический аналог маганина – пептида, полученного от африканской лягушки, используется для лечения диабетических язв стопы [21]. Гистатин – антимикробный пептид, используемый для лечения кандидоза ротовой полости [32]. Хотя исследования АМП животных проводятся уже более 40 лет, видовой состав организмов, которые были изучены в этой области, составляет ничтожную часть от общего числа известных видов.

К таким антимикробным катионным белкам, обладающим бактерицидной деятельностью, относят тромбоцитарные катионные белки [3], [5], [6].

Тромбоцитарные катионные белки или бета-лизины обнаружены в сыворотке крови и тканях многих видов теплокровных – как млекопитающих, так и птиц. Изучено содержание ТКБ в сыворотке крови человека, кролика, крысы, собаки, а также в крови сельскохозяйственных животных, в частности крупного рогатого скота, лошадей, коз, свиней, а также птицы (кур-несушек) [2], [6], [7].

В опытах *in vitro* выявлено, что тромбодефенсина разных видов животных обладают до-

статочно высокой активностью в отношении некоторых видов грамположительных и грамотрицательных бактерий и грибов, однако уровень этой активности различен в зависимости от видовой принадлежности животного. Наибольшую активность тромбодефенсина животных проявляют в отношении грамположительных микроорганизмов, меньше в отношении грамотрицательных бактерий и грибов [13], [14], [15], [17].

Одним из факторов естественной резистентности организма млекопитающих является железосвязывающий белок – лактоферрин, выполняющий ряд важных гомеостатических функций: абсорбция железа в желудочно-кишечном тракте новорожденных и взрослых, регуляция гемопоэза, стимуляция фагоцитоза, активизация системы комплемента [4], [19]. Лактоферрин оказывает антимикробное действие в отношении широкого круга бактерий, грибов, вирусов и простейших [29], [31]. Однако, в настоящее время известно, что микроорганизмы способны подавлять многие факторы естественной резистентности организма хозяина, в том числе и лактоферрин, что обеспечивает длительное переживание инфекционного агента в макроорганизме [12], [16], [25], [26]. Тромбоцитарный катионный белок оказывает ингибирующее действие на антилактоферриновую активность микроорганизмов, что является, несомненно, значимым.

Для защиты от факторов иммунной системы организма хозяина, фагоцитоза, а также от воздействий окружающей среды и действия антибиотиков микроорганизмы способны формировать своеобразные сообщества – биопленки. Биопленки – это непрерывный слой бактериальных клеток, прикрепленных к поверхности и друг к другу и заключенных в биополимерный матрикс. Микроорганизмы, ассоциированные с биопленками, более устойчивы к антибиотикам и дезинфектантам, и имеют большое клиническое значение [11], [30]. Антимикробные пептиды из тромбоцитов сельскохозяйственных животных оказывают модифицирующее влияние на образование биоплёнок микроорганизмами, стимулируя биоплёнкообразование у бактерий и ингибируя изучаемый признак у грибов [18].

Известно, что уменьшение биоплёнкообразования может быть связано с влиянием препаратов на механизмы первоначальной адгезии микроорганизмов к поверхности, блокирование

синтеза или разрушение полимерного матрикса, а также нарушение межклеточного обмена информацией. Исходя из вышперечисленного, уместно предположить, что механизмы активности тромбоденсина против биопленок могут быть связаны с нарушением адгезии грибов к поверхности, за счёт изменения экспрессии детерминант адгезии вследствие адсорбции мембранотропного катионного белка [30].

Обнаруженное действие тромбоденсина на биоплёнки грибов может быть использовано при создании антимикотических препаратов, способных также противостоять формированию биоплёнок.

Все вышеуказанные свойства тромбоденсина сельскохозяйственных животных создают предпосылки для создания в будущем на их основе новых препаратов для лечения и профилактики инфекционных заболеваний.

Таким образом, изложенный материал расширяет представления о биологических свойствах антимикробных белков из тромбоцитов, механизмах их антимикробного действия и роли в защите организма. В результате представленного нами материала, тромбоденсина сельскохозяйственных животных следует рассматривать как высокоактивные биологические регуляторы с бактерицидной функцией.

15.10.2013

Список литературы:

1. Апчел, А.В. Изучение антимикробной активности пептидов в отношении антибиотикорезистентных микроорганизмов: тез. науч. практ. конф. / А.В. Апчел, О.В. Попова, А.В. Румянцева – С. – Петербург, 2008. – С. 15-16.
2. Бритвина, Е.И. Факторы естественного иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях: бета-лизины и лизоцим в секретах и тканях организма человека / Е.И. Бритвина. – Омск, 1976. – В.4. – С. 92-93.
3. Бухарин, О.В. Природа и биологическая роль тромбоцитарного катионного белка / О.В. Бухарин, К.Г. Сулейманов // Успехи современной биологии. – 1997. – №3. – С. 10 – 15.
4. Бухарин, О. В. Персистенция патогенных бактерий / О. В. Бухарин. Екатеринбург: УрО РАН. – 1999. – 370 с.
5. Бухарин, О.В. Роль тромбоцитарного катионного белка (ТКБ) – бета-лизины в противомикробной защите / О.В. Бухарин, К.Г. Сулейманов // Ж. микроб., эпидем. и иммунологии. – 1997. – №1. – С. 3-7.
6. Бухарин, О.В. Антимикробный белок тромбоцитов / О.В. Бухарин, В.А. Черешнев, К.Г. Сулейманов. – Екатеринбург, 2000 г. – 200 с.
7. Жуков, А.П. Сравнительная оценка антимикробной активности ТКБ разных видов животных / А.П. Жуков, О.Л. Карташова, М.В. Сычёва, Е.В. Лукашова (Шейда) // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современное состояние и перспективы развития патологии, морфологии и онкологии животных». Новочеркасск: Изд-во «ЦВВР». – 2008. – С. 170 – 172.
8. Кокряков, В.Н. Вопросы мед. химии. – 1990. – Т. 36. – №6. – С.13-16.
9. Кокряков, В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения / В.Н. Кокряков. СПб.: Наука. – 1999. – 162 с.
10. Кокряков, В.Н. Очерки о врождённом иммунитете / В.Н. Кокряков. – СПб.: Наука, 2006. – 261 с.
11. Лакин, Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин // М.: Высшая школа, 1990. – 288 с.
12. Новый метод определения антилактоферриновой активности микроорганизмов / И. В. Вальшева, А. В. Вальшев, О. Л. Карташова и др. // Журн. микробиол. – 2003. – №4. – С. 64-67.
13. Сычёва, М.В. Антимикробная активность тромбоцитарного катионного белка собак / М.В. Сычёва, Е.В. Шейда, А.П. Жуков, О.Л. Карташова // Сборник научных работ Всероссийской конференции с международным участием «Актуальные вопросы медицинской науки». 22 апреля 2009 г. Ярославль: Тезисы докладов. – Ярославль: Изд-во ООО «ЯрМедиаГруп», 2009. – С. 77.
14. Сычёва, М.В. Антимикробная активность тромбоденсина разных видов животных / М.В. Сычёва, Е.В. Шейда, А.П. Жуков, О.Л. Карташова // Известия ОГАУ. – 2009. – №4 (24). – С. 177-179.
15. Сычёва, М.В. Антибактериальный спектр тромбоденсина некоторых видов животных / М.В. Сычёва, Е.В. Шейда, А.П. Жуков, О.Л. Карташова // Аграрный вестник Урала. – 2010. – №7(73). – С. 50-51.
16. Сычёва, М.В. Влияние тромбоденсина некоторых видов животных на антилактоферриновую активность микроорганизмов / М.В. Сычёва, Е.В. Шейда, О.Л. Карташова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана. – Казань, 2010. – С.256-259.
17. Сычева М.В. Антимикробные свойства тромбоденсина крупного рогатого скота / М.В. Сычева, Е.В. Шейда, О.Л. Карташова // Вестник мясного скотоводства. – 2011 – №64, Т. 1. – С. 43-49.
18. Сычева М.В. Влияние антимикробных пептидов из тромбоцитов сельскохозяйственных животных на способность микроорганизмов к образованию биопленок / М.В. Сычева, Е.В. Шейда, О.Л. Карташова, И.В. Вальшева // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2011. – №1. – С. 130-132.
19. Brock, J. Lactoferrin: a multifunctional immunoregulatory protein? // J. Brock // Immunol. Today. – 1995. – №16(9). – P.417-419.
20. Bulet, P. Antimicrobial peptides from invertebrates to vertebrates / P. Bulet, R. Stocklin, L. Menin // Immunol. Rev. – 2004. – Vol. 198. – P. 169-184.
21. Crystallization of Antimicrobial Pores in Membranes: Magainin and Protegrin / L. Yang, T. Weiss, R. Lehrer, H. Huang // Biophys. J. – 2000, Vol. 79. №4. – P. 2002-2009.
22. Effects of chicken intestinal antimicrobial peptides on humoral immunity of chickens and antibody titres after vaccination with infectious bursal disease virus vaccine in chicken / Yurong Y., Yibao J., Ruiping S. et al. // Z. Arch. Anim. Nutr. – 2006. – No. 60 (5). – P. 427-435.
23. Gennaro, R. Structural features and biological activities of the cathelicidin-derived antimicrobial peptides / R. Gennaro, M. Zanetti // Biopolymers. – 2000. – Vol.55. – P. 31-49.
24. Hancock, R.E.W. / Cationic peptides: a new source of antibiotics / R.E.W. Hancock, R. Lehrer // Trends Biotechnol. – 1998. – Vol. 16. – P. 82-88.
25. Human lactoferrin and peptides derived from its N terminus are highly effective against infections with antibiotic-resistant bacteria / P.H. Nibbering, E. Ravensbergen, M. M. Welling, et al. // Infect. Immun. – 2001. – No. 69. – P. 1469-1476.

26. Jenssen, H. Modelling of anti-HSV activity of lactoferricin analogues using amino acid descriptors / H. Jenssen, T.J. Gutteberg, T. Lejon // *J. Pept. Sci.* – 2005. – Vol. 11. – P. 97-103.
27. Jenssen, H. Peptide antimicrobial agents / H. Jenssen, P. Hamill, R.E.W. Hancock // *Clinical Microbiology Reviews.* – 2006. – Vol. 19, No 3. – P. 491-511.
28. Johnstone, S.A. In vitro characterization of the anticancer activity of membrane-active cationic peptides / S.A. Johnstone // *Anticancer drug des.* – 2000. – Vol. 15. – P. – 151.
29. Levay, P.F. Lactoferrin: a general review / P.F. Levay, M. Viljoen // *Haematologica.* – 1995. – №80 (3). – P. 252-267.
30. Lyte, M. Stimulation of *Staphylococcus epidermidis* growth and biofilm formation by catecholamine inotropes / M. Lyte, P.P.E. Freestone, C.P. Neal // *Lancet.* – 2003. – Vol. 361. – P. 130-135.
31. Mc Keown, S.T. The cytotoxic effect of human peptid-1 (HNPI) and lacto-ferrin on oral squamous cell carcinoma (OSCC) in vitro / S.T. Mc Keown // *Oral oncol.* – 2006. – Vol. 42 (7). – P. 685.
32. Kavanagh, K. Histatins: antimicrobial peptides with therapeutic potential / K. Kavanagh, S. Dowd // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2004. – No. 56. – P. 285–289.
33. Persister Cells and the Mechanism of Multidrug Tolerance in *Escherichia coli* / I. Keren, D. Shah, A. Spoering et.al. // *Specialized J. Bacteriol.* – 2004. – Vol. 186. – P. 8172-8180.
34. Platelet Microbicidal Activity Is an Important Defense Factor against Viridans Streptococcal Endocarditis / J. Dankert, J. Krijgsveld, J. van der Werff et al. // *The Journal of Infectious Diseases.* – 2001. – Vol. 184, No 1. – P. 597–605.
35. Primate b-defensins – Structure, Function and Evolution / S. Crovella, N. Antcheva, I. Zelezetsky et al. // *Current Protein and Peptide Science.* – 2005. – Vol. 6. – P. 7-21.
36. Structure-activity study of antibacterial peptide fallaxin / S.L. Nielsen, N. Fridomf-Moller, B.B. Kragelund, P.R. Hansen // *Protein Sci.* – 2007. – No. 16 (9). – P. 1969-76.
37. Synthetic analogues of antimicrobial peptides from venom / A.A. Vasilevskii, S.A. Kozlov, M.N. Zhmak et al. // *Bioorg Khim.* – 2007. – No. 33 (4). – P. 405-412.
38. Yamasaki, K., Gallo R.L., Antimicrobial peptides in human skin disease. *Eur. J. Dermatol.* – 2008. – No. 18(1). – P. 11-21.

Сведения об авторах:

Сипайлова Ольга Юрьевна, научный сотрудник экспериментально-биологической клиники (вивария) Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук
Нестеров Дмитрий Васильевич, научный сотрудник института биоэлементологии Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: inst_bioelement@mail.ru

UDC 576.8

Sipaylova O.Yu., Nesterov D.V.

Orenburg state university, e-mail: inst_bioelement@mail.ru

ANTIMICROBIAL LOW MOLECULAR WEIGHT PEPTIDES – FACTORS OF NONSPECIFIC PROTECTION ANIMAL ORGANISM

This paper presents a literature review on the presence in the blood of animals and humans peptides with broad antimicrobial spectrum of activity against gram-positive, gram-negative bacteria and fungi that influence the persistence characteristics of microorganisms, making them attractive for the creation of new antimicrobial agents.

Key words: cationic antimicrobic peptides, trombodefensins, beef cattle, bacteria, persistence, biological film-formation.