

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ — ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ЗАМЕНА ТРАДИЦИОННЫМ АНТИБИОТИКАМ

Х.Г. Мусин

ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия

Резюме. Антимикробные пептиды (АМП) представляют собой гетерогенную группу молекул, участвующих во врожденном и приобретенном иммунном ответе различных организмов, начиная с прокариот и заканчивая млекопитающими, включая человека. Они состоят из 12–50 аминокислотных остатков, обладают разными физико-химическими и биологическими свойствами. Наиболее общим признаком является их способность разрушать клеточную мембрану прокариот, вызывая тем самым гибель клеток. АМП встраиваются в целевые бактериальные клетки и, изменяя свою конформацию, образуют структуры в некоторых случаях напоминающие каналы. Некоторые другие молекулы АМП могут прикрепляться к поверхности бактериальной клетки и образовывать участки повышенной концентрации, при достижении критического числа которых они действуют подобно моющим средствам. Кроме того, будучи заряженными положительно, молекулы таких пептидов, проникая сквозь мембраны паразитарных и бактериальных клеток связываются с полианионными молекулами РНК и ДНК. В число преимуществ АМП входит их высокая метаболическая активность, низкая вероятность возникновения привыкания и побочных эффектов. Кроме того, бактериальным патогенам, ранее не имевшим устойчивости к каким-либо АМП, тяжело выработать стратегию борьбы с ними. В связи с чем, АМП являются наиболее перспективными молекулами-заменителями традиционных антибиотиков. В статье обсуждаются подходы и стратегии терапевтического использования, выработанные за последние годы изучения антимикробных пептидов; описываются наиболее часто встречающиеся механизмы взаимодействия антимикробных пептидов и бактериальной мембраны, физико-химические свойства молекул пептидов; обобщаются результаты исследований по выявлению резистентности некоторых штаммов бактерий к антимикробным пептидам и антибиотикам в целом.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, иммунитет, лекарства нового поколения, дефензины, кателицидины, устойчивость к антибиотикам.

ANTIMICROBIAL PEPTIDES — A POTENTIAL REPLACEMENT FOR TRADITIONAL ANTIBIOTICS

Musin Kh.G.

Bashkir State University, Ufa, Russian Federation

Abstract. Antimicrobial peptides are a heterogeneous group of molecules involved in the innate and acquired immune response of various organisms, ranging from prokaryotes to mammals, including humans. They consist of 12–50 amino acid residues; have different physico-chemical and biological properties. The most common feature is their ability to destroy the prokaryotic cell membrane, which causes cell death. In the action, the molecules of antimicrobial peptides are

Адрес для переписки:

Мусин Халит Галеевич
450076, Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32,
Башкирский государственный университет.
Тел.: 8 961 359-73-89 (моб.).
E-mail: lu2666@yandex.ru

Contacts:

Khalit G. Musin
450076, Russian Federation, Ufa, Zaki Validi str., 32,
Bashkir State University.
Phone: +7 961 359-73-89 (mob.).
E-mail: lu2666@yandex.ru

Библиографическое описание:

Мусин Х.Г. Антимикробные пептиды — потенциальная замена традиционным антибиотикам // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 3. С. 295–308. doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-295-308

Citation:

Musin Kh.G. Antimicrobial peptides — a potential replacement for traditional antibiotics // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 295–308. doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-295-308

embedded in the target bacteriological cells and change their conformation, forming structures in some cases resembling channels. Some other molecules of antimicrobial peptides can cover the surface of a bacteriological cell and form a carpet, when they reach a critical mass they act like detergents. In addition, being positively charged molecules of such peptides, penetrating through the membranes of parasitic and bacteriological cells, bind to polyanionic RNA and DNA molecules. Among the benefits of antimicrobial peptides is their high metabolic activity, low probability of occurrence of addictions and side effects. In addition, bacteriological pathogens that previously did not have resistance to any antimicrobial peptide are difficult to develop a strategy to control them. In this connection, these peptides are the most promising molecules-substitutes for traditional antibiotics. The article discusses the approaches and strategies of therapeutic use, the studies of antimicrobial peptides identified in recent years; The most frequently encountered mechanisms of interaction of antimicrobial peptides and a bacteriological membrane are described, the physicochemical properties of peptide molecules are described; the results of studies on the detection of resistance of some strains of bacteria to antimicrobial peptides and antibiotics in general are summarized.

Key words: antimicrobial peptides, innovative drugs, immunopathology, defensins; cathelicidins; antibiotics resistance.

Введение

Болезнетворные микробы, устойчивые к традиционным антибиотикам, являются серьезной проблемой современного здравоохранения. По некоторым данным, более 70% всех известных болезнетворных бактерий устойчивы как минимум к одному из наиболее часто используемых антибиотиков. Потому существует необходимость внедрения новых препаратов и терапевтических подходов, которые позволят преодолеть устойчивость патогенов. Антимикробные пептиды (АМП) являются наиболее привлекательным решением данной проблемы, поскольку являются продуктами длительной эволюции. Возрастающий интерес к АМП подготовил огромный пласт теоретических знаний для развития фармакологических технологий и приемов для производства новейших антибиотиков. У АМП есть целый ряд свойств, которыми не обладает ни один обычный антибиотик. Они сочетают в себе противомикробную, ангиогенную и противовоспалительную активность с иммуномодулирующим. Однако есть несколько аспектов которые задерживают производство препаратов на основе АМП: дороговизна расходных материалов, недостаточная изученность физико-химических и биологических свойств, нестабильность продукта или его токсичность для собственных клеток организма. Целью данной обзорной статьи является обобщение последних данных о пептидах с антимикробной активностью.

Краткая история открытия АМП

Центральную роль белков во всей биологии осознали к концу первой четверти XX в., и с тех пор ни у кого не вызывает сомнения, что все жизненные процессы протекают с участием этих универсальных «молекул жизни». Первые белки описали еще в XVIII в. — это альбумин (яичный белок), фибрин (один из белков крови)

и глютен (запасающий белок пшеницы). Наряду с возрастающим интересом к белковым молекулам, предпринимались попытки понять из чего состоят подобные сложные вещества. В смесях, получавшихся при гидролизе белков находили отдельные аминокислоты. К 1900 г. их было обнаружено всего 13 [6], все остальное называли пептонами, свойства которых ни исследовать, ни описать не представлялось возможным [1].

В 1900 г. Э. Фишер предположил, что белки являются полимерами аминокислот, соединенных пептидной связью. В доказательство этому он разработал обширную комплексную программу исследования белков. И важное место в ней занимал именно синтез аминокислот и пептидов, то есть их искусственное получение, сохраняющее не только структуру, но и все свойства [27]. Сотрудниками Э. Фишера было получено огромное число аминокислотных последовательностей, свойства и функции которых они пытались описать. Некоторые успешные эксперименты говорили о том, что полученные искусственным путем пептидные последовательности сохраняют биологическую активность и ничем не уступают природным [3]. Вместе с тем, велась работа по изучению роли коротких аминокислотных последовательностей в организме человека и животных, так как пептидам традиционно отводилась роль в эндокринной регуляции [43, 45].

Пептид — это термин, обозначающий молекулу, состоящую из двух и более аминокислот, которые соединены между собой пептидной связью. Пептиды, состоящие из менее чем 10–15 аминокислотных остатков называют олигопептидами, более 10–15 — полипептидами. Белками принято называть последовательности, в составе которых имеется более 50 аминокислотных остатков. Изначально пептиды, выделенные из гемолимфы насекомых, кожных секретов амфибий и фагоцитов млекопитающих, обратили на себя внимание благодаря способности подавлять рост различных микро-

организмов [40]. Механизмы действия антимикробных веществ лейкоцитов было инициировано фагоцитарной теорией иммунитета, выдвинутой в 1883 г. И.И. Мечниковым [49], суть которой заключалась в следующем. В организме существует большое число фагоцитов, захватывающих, изолирующих и уничтожающих чужеродные тела. Это позволяет организму не только устранить угрозу, но и «изучить» чужеродное тело и выработать стратегию борьбы с ним. После очередного введения патогена организм уже знает как бороться с ним и действует по отработанной схеме. Позже Мечников сформулировал концепцию о цитазах — бактерицидных соединениях ферментативной природы. Гипотетические цитазы имели лейкоцитарное происхождение, могли захватывать и переваривать захваченные микроорганизмы. Однако следующие исследования показали, что антимикробные соединения лейкоцитов не обладают ферментативным действием [21].

Последующий импульс изучение антимикробных пептидов получило после открытия лизосом. 1949–1951 гг. биохимик, Кристиан Де Дюв [22], изучавший действие инсулина в клетках печени крыс, случайно обнаруживает различие в активности кислых фосфатаз в зависимости от способа выделения. Вначале он подумал, что произошла некая техническая ошибка. Однако последующие эксперименты только подтверждали результат. Тогда Де Дюв предположил, что внутри клеток имеются маленькие частички, облаченные в мембрану, которые разрушаются в ходе эксперимента. Сейчас известно, что лизосомы присутствуют практически во всех клетках, в том числе и в лейкоцитах гранулоцитарного ряда [44]. В 1963 г. американские исследователи Н.И. Зеуа и J.K. Spitznagel выделили из гранул нейтрофилов морской свинки группу полипептидов с молекулярной массой менее 10 kDa, которые проявляли антимикробные свойства [7]. Эти вещества в последующем будут названы дефензинами (англ. «defense» — защита).

Цекропин является первым пептидом с антимикробным действием, выделенным из покоящихся куколок *Hyalophora cecropia* в 1981 г. Хансом Боманом и его коллегами [60]. Цекропины Бомана подавляли рост и развитие широкого спектра микробных организмов, но практически не влияли на небактериальные клетки. Это открытие частично объясняло то, каким именно образом насекомым удается преодолеть инфекции, не имея Т-клеток, В-клеток, которыми обладает система адаптивной иммунной защиты высших животных. Именно Боман впервые доказал причастность АМП к системе врожденного и приобретенного иммунного ответа [60]. Ускоренный рост устойчивости

патогенных микроорганизмов к антибиотикам явился еще одним стимулом для поиска более эффективных противомикробных препаратов. В те же годы доктор Роберт Лерер предположил, что в организмах млекопитающих так же имеются АМП. Спустя четыре года он обнаружил их упакованными в клетках нейтрофилов. В его лаборатории впервые были расшифрованы первичные структуры дефензинов кролика, морской свинки, крысы и человека [30].

В 1986 г. еще одно примечательное открытие было сделано Майклом Заслоффом. Изучая работу генов на больших и прозрачных икринках шпорцевых лягушек (*Xenopus laevis*), он заметил, что раны лягушек, прооперированных в нестерильных условиях, прекрасно заживали даже в грязной воде. Заслофф был убежден, что в слизистой лягушек есть мощный АМП, наподобие цекропинов Бомана или дефензинов Лерера. В течение последующих нескольких месяцев были выделены и описаны магаинины [88]. После этого открытия интерес к АМП внезапно возрос, и к 2001 г. число описанных пептидов с антибактериальным действием достигло отметки 500 последовательностей.

На сегодняшний день известно, что пептидные последовательности состоят из аминокислотных остатков, соединенных между собой пептидными (амидными) связями [57]. Среди множества пептидных последовательностей, особое внимание привлекают катионные пептиды, свойства, структуры, механизмы действия и перспективы использования которых изложены ниже.

Общая характеристика, свойства и структура АМП

Жизнь многоклеточных организмов во все времена протекала в среде обитания множества патогенов. Система врожденного иммунитета животных обеспечивает немедленную защиту организма в ответ на внедрение патогена благодаря большому числу молекулярных факторов, реализующих рекогносцировочные и эффекторные механизмы ее функционирования. Наряду с множеством белковых факторов врожденного иммунитета, таких как компоненты системы комплемента, лизоцим, лактоферрин, цитокины и др., особую роль в защите организма от инфекций играют эндогенные антимикробные пептиды, продуцируемые позвоночными [28] и беспозвоночными [23] животными, растениями [72], грибами и бактериями. В отличие от многих классических антибиотиков, являющихся продуктами вторичного метаболизма, подавляющее большинство АМП синтезируются непосредственно на рибосомах.

Таблица 1. Обзор некоторых антимикробных пептидов растений и животных

Table 1. Review of some antimicrobial peptides of plants and animals

Антимикробный пептид Antimicrobial peptide	Источник Origin	Активность Activity	Литература Reference
Цекропин А Cecropin A	<i>Hyalophora cecropia</i>	Г+, Г-, АВ, АП, ПО G+, G-, AV, AP, AT	[38, 66]
Цекропин Б Cecropine B	<i>Hyalophora cecropia</i>	Г+, Г- G+, G-	[76, 83]
Магаинин 1 Magainin 1	<i>Xenopus laevis</i>	Г+, Г- G+, G-	[48, 88]
Магаинин 2 Magainin 2	<i>Xenopus laevis</i>	Г+, Г-, АВ, АП, ПО, ПГ, АМ, РЗ, способен разрушать сперматозоиды G+, G-, AV, AP, AT, AF, AM, WH, destroys sperm cells	[88, 90]
Пирхорицин Pyrrhoricin	<i>Pyrrhocoris apterus</i>	Г+, Г- G+, G-	[68]
Писцидин Piscidin (Of-Pis1)	<i>Oplegnathus fasciatus</i>	Г+, Г-, ПГ, АП G+, G-, AF, AP	[73]
Тахистатин А2 Tachystatin A2	<i>Limulus polyphemus</i>	Г+, Г-, ПГ G+, G-, AF	[55]
Апидацин Apidacin	<i>Apis mellifera</i>	Г-, МИО G-, IRM	[14, 69]
Овечий кателицидин Cathelicidin SMAP-29	<i>Ovis aries</i>	Г+, Г-, ПГ, ПО, МИО, разрушает некоторые типы клеток млекопитающих G+, G-, AF, AT, IRM, destroys some types of mammalian cells	[46, 71]
Ареницин-3 Arenicin-3	<i>Arenicola marina</i>	Г+, Г-, ПГ G+, G-, AF	[52]
Максимин Maximin H5	<i>Bombina maxima</i>	Г+, АВ G+, AV	[65]
Тионин (Рр-ТН) Thionine (Pp-TH)	<i>Pyricularia pubera</i>	Г+, Г-, ПО, разрушает некоторые типы клеток млекопитающих G+, G-, AT, destroys some types of mammalian cells	[75]
Заячий кателицидин Cathelicidin CAP18	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Г+, Г-, МИО G+, G-, IRM	[41]
Индолицидин Indolicidin	<i>Bos taurus</i>	Г+, Г-, АВ, выраженная токсичность к клеткам млекопитающих, МИО G+, G-, AV, severe toxicity for mammalian cells	[67, 90]
Пептид нейтрофила человека-1 Human neutrophil peptide (HNP-1)	<i>Homo sapiens</i>	Г+, Г-, АВ, АП, ПО, ПГ, АМ, РЗ, МИО, затормаживает активность некоторых энзимов, подавляет токсины патогенов G+, G-, AV, AP, AT, AF, AM, WH, IRM, inhibits the activity of certain enzymes, suppresses toxins of pathogens	[16, 19, 24, 26, 74]
Человеческий кателицидин Human cathelicidin LL37	<i>Homo sapiens</i> <i>Pan troglodytes</i>	Г+, Г-, АВ, АП, ПО, ПГ, АМ, РЗ, МИО, затормаживает активность некоторых энзимов, способен разрушать сперматозоиды, наблюдается слабая токсичность в отношении клеток млекопитающих G+, G-, AV, AP, AT, AF, AM, WH, IRM, inhibits the activity of certain enzymes, destroys sperm cells, a weak toxicity for mammalian cells	[5, 20, 78]

Примечание: Г+ — против грамположительных бактерий, Г- — против грамотрицательных бактерий, АВ — антивирусная, АП — антипаразитарная, ПО — противоопухолевая, ПГ — противогрибковая, АМ — антималярийная, РЗ — ранозаживляющая, МИО — модуляция иммунного ответа.

Note: G+ — against Gram-positive bacteria, G- — against Gram-negative bacteria, AV — antiviral, AP — antiparasitic, AT — antitumor, AF — antifungal, AM — antimalarial, WH — wound healing, IRM — immune response modulation.

Антимикробные пептиды, найденные у микроорганизмов, растений и животных, считаются эволюционно отобранными молекулами врожденного иммунитета [14, 40, 63]. В настоящее время, по структурно-функциональным свойствам описано более 2700 АМП. Разнообразие этих пептидов настолько велико, что их трудно как-либо классифицировать. Самой распространенной является классификация по вторичной структуре изученных белков.

Вторичная структура АМП может быть следующей: α -спиральная (магаинины и цекропины), β -складчатая (дефензины, тионины), линейная (индолицидин, пирхорицин) и β -шпильчатая. α -спираль образуется в результате действия водородных связей внутри молекулы, является правозакрученной. β -складчатость формируется при наличии 2-х или нескольких дисульфидных связей внутри молекулы. β -шпильчатая форма является результатом наличия одной дисульфидной связи. Представляет собой линейную молекулу с одной петлей или циклическую молекулу, если дисульфидная связь образовалась на концах молекулы [57]. В основном, все эти пептиды в свободном растворе не имеют структуры как таковой, а представляют из себя линейный ряд. Свою истинную структуру они принимают лишь при контакте с биологической мембраной. Внутри клеточной мембраны проявляется амфипатичность, в результате которого гидрофобные части молекулы ориентируются к билипидному слою, оставляя гидрофильные части в растворе. Это свойство, зачастую, отвечает за антимикробную активность [34].

Практически все АМП являются катионными молекулами, суммарный заряд которых часто находится в пределах от +2 до +9. Пространственное распределение молекулы основано на принципе разделения составных частей на гидрофобные и гидрофильные участки. По сути они являются амфипатическими молекулами.

В растениях АМП в большом количестве накапливается в семенах. Это обеспечивает защиту покоящихся семян от микробных организмов, которые могут стать причиной инфекционного или грибкового заболевания. Кроме этого, известны АМП, которые накапливаются в корнях или листьях. Многие АМП (тот же пептид Pp-TH), накапливающиеся в семенах и листьях, токсичны для млекопитающих, птиц и рептилий, что предотвращает их поедание. В организме насекомых АМП сосредоточены в гемолимфе [33], у высших животных — в клетках крови: в гранулоцитах и нейтрофилах. Такие АМП как CAP18 и LL37 относятся к одному из наиболее важных классов антимикробных пептидов млекопитаю-

щих — к кателицидинам. Они синтезируются в лейкоцитах, в клетках эпителия и слизистой оболочки. Кроме фагоцитирующих клеток антимикробные пептиды найдены и в железистых структурах. Например, токсины некоторых организмов, такие как ликотоксин, выделенный из паука *Lycosa carolinensis* [84], и пардаксин, выделенный из плавников *Pleuronectes platessa* [10], имеют антибактериальную активность.

АМП имеют широкий спектр действия: антиоксидантное, антигипертензивное, противогрибковое, противовирусное, противоопухолевое (табл. 1). Они также участвуют в модуляции иммунного ответа. Кроме того, имеются АМП, которые не проявляют бактерицидные свойства в условиях *in vitro*. Антибактериальные эффекты таких пептидов обнаруживаются в определенных условиях. Как часто случается, воссозданные в лаборатории условия не в полной мере отвечают тем условиям, в которых обычно работает тот или иной АМП. Возможно, АМП в естественной среде взаимодействует не только с бактериальной мембраной, но и с собственными молекулами организма.

Большинство АМП синтезируются на рибосомах, однако есть и те пептиды, которые синтезируются на различных биологических поверхностях, преимущественно на многообразных мегаферментах. Такие пептиды называются нерибосомными. Нерибосомные полипептиды не требуют наличия мРНК матрицы, часто имеют циклическую форму и содержат в своем составе непротеиногенные аминокислоты. За одну полипептидную последовательность отвечает один или несколько мегаферментов. Гены, отвечающие за эти синтетазы обычно оформлены в один оперон (у бактерий) или в кластеры (у эукариот). Биосинтез нерибосомных пептидов схож по механизму с биосинтезом жирных кислот [61]. Полимиксин Б [89], бацитрацин [25], ванкомицин [37] являются примерами нерибосомных АМП.

Практически все АМП синтезируются в виде молекул-предшественников, содержащих сигнальные последовательности, определяющих их локализацию в клетке. В процессе так называемого молекулярного созревания молекула-предшественник подвергается ограниченному расщеплению, в результате которого образуется биологически активный пептид [29]. Антимикробные пептиды эволюционировали как универсальный и неотъемлемый компонент иммунной системы против инфекций. В свою очередь бактерии и грибы, которые паразитируют на макроорганизмах, также изменили свои геномы, чтобы противостоять иммунной системе. Таким образом, изучение АМП будет давать нам возможность лучше понимать механизмы действия пепти-

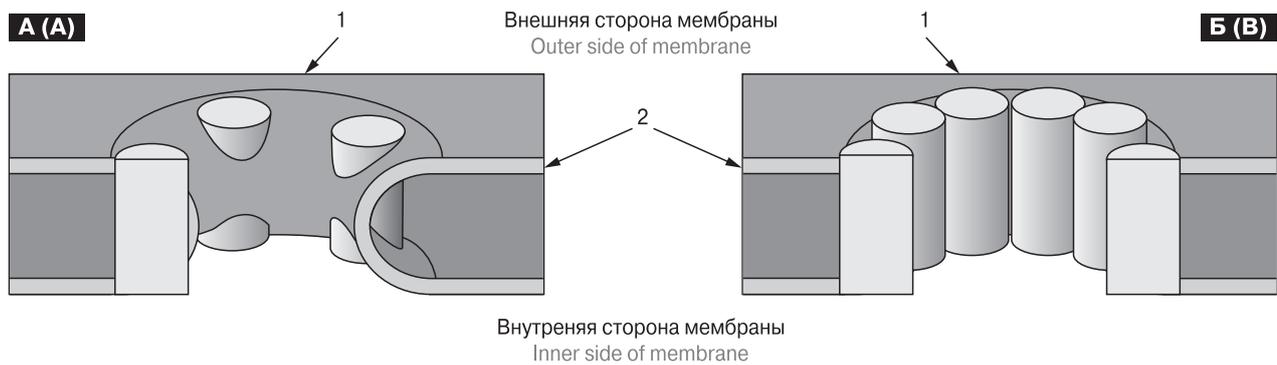


Рисунок 1. Модель тороидального (А) и цилиндрического (Б) типов взаимодействий АМП с клеточной мембраной

Figure 1. Toroidal (A) and cylindrical (B) models of AMP action on cell membrane

1 — молекулы АМП, 2 — липидный бислой.

1 — AMP molecules; 2 — bilipid layer.

дов на бактериальную клетку и, соответственно, разработать синтетические препараты для борьбы с ними.

Механизмы действия АМП

Даже после 30 лет интенсивных исследований АМП нельзя сказать, что найден универсальный принцип их действия. Это происходит не из-за скудности научных исследований, а по причине того, что универсальной модели не существует. Каждая АМП имеет свой уникальный способ взаимодействия с живой системой, причем действие даже одного АМП против различных групп живых организмов может значительно отличаться [8].

Первоначальный контакт между пептидом и целевым организмом является электростатическим, так как большинство бактериальных поверхностей имеют отрицательный заряд или являются гидрофобными. Положительно заряженная пептидная молекула прилипает к отрицательно заряженной мембране бактерий за счет электростатической энергии, и чем выше заряд АМП, тем быстрее протекает этот процесс. Следует сказать, что мембрана прокариот имеет более отрицательный заряд нежели мембрана эукариот, в связи с чем обуславливается первичная избирательность АМП. Амфипатичность, размер и заряд АМП позволяют встроиться на поверхность мембраны с образованием одного из следующих нескольких структур [33] (рис. 1).

Цилиндрическая структура образуется тогда, когда молекулы пептидов плотно примыкают друг к другу и выстилают всю внутреннюю поверхность поры. Тороидальная структура характеризуется тем, что между пептидными молекулами остается небольшая часть, заполненная липидами бислоя. В некоторых исследова-

ниях также выделены полутороидальный тип, который включает свойства и того и другого типа пор. Что именно заставляет АМП образовывать те или иные структуры до конца непонятны [33, 86]. Видимо, здесь играет роль не только физико-химическая, структурная и электростатическая характеристика пептида, но и такие параметры, как плотность билипидного слоя и его состав. В самом деле, многие ученые в последнее время пришли к выводу, что за способность формировать поры отвечают не определенные аминокислотные последовательности, а отдельные аминокислоты. Так, к примеру, даже маленькие последовательности, состоящие из менее чем 15 аминокислотных остатков, обладают выраженным антимикробным действием [80].

Другой тип формирования пептидных пор (рис. 2) называется «ковер» [33, 54]. При ковровом типе пептиды накапливаются на поверхности мембраны, покрывая верхнюю часть, а при достижении критической концентрации начинают действовать как моющие средства, разрушая липидный слой. Еще один механизм действия АМП имеет название «тонущий плот»: пептиды связываются с липидами биологических мембран и погружаются внутрь. В месте проникновения пептида образуется брешь [70]. Некоторые пептиды способны создавать электрический потенциал через липидный бислой, достаточный для образования пор с помощью электропорации [15].

Знание формы пор очень важно, поскольку в большинстве случаев именно от нее зависит стабильность антимикробного эффекта и длительность его действия. Зная механизм действия того или иного АМП, мы можем прогнозировать его действие и эффективность против определенного заболевания. Возникал вопрос о том, как организм минимизирует неблаго-

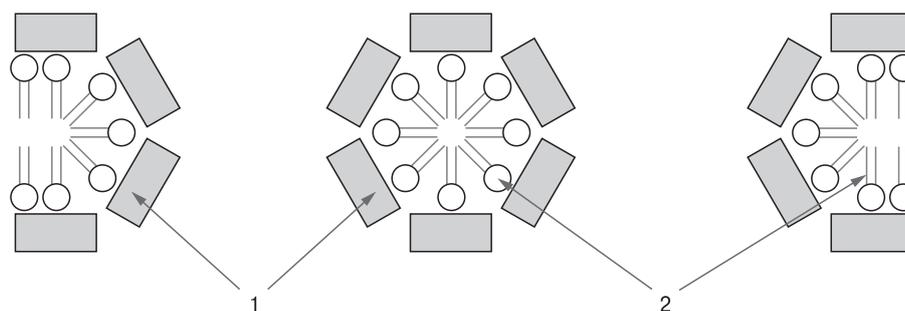


Рисунок 2. Модель коврового типа взаимодействия АМП с клеточной мембраной

Figure 2. Model of carpet-like action of AMP on cell membrane

1 — молекулы АМП, 2 — липидный бислой.

1 — AMP molecules, 2 — bilipid layer.

приятное воздействие катионных пептидов на собственные клетки во время воспаления и фагоцитоза и обеспечивает действие, направленное именно против микроорганизмов. Было выяснено, что такая избирательность обусловлена структурными, а также морфологическими факторами [54, 70]. Стенка клеток микроб-

ных организмов в основном выстроена из кислых фосфолипидов, благодаря чему мембрана приобретает отрицательный заряд. Напротив, мембраны эукариотических клеток состоят из цвиттерионных фосфолипидов. Кроме этого, в фосфолипидном бислое эукариот имеются включения холестерина [33].

Таблица 2. Примеры антимикробных пептидов с иммуномодулирующей активностью

Table 2. Examples of antimicrobial peptides with immunomodulatory activity

Антимикробный пептид Antimicrobial peptid	Локализация экспрессии пептида Localization of peptide expression	Иммуномодулирующий эффект Immunomodulating effect
Человеческий кателицидин LL37 Human cathelicidin LL37	Нейтрофилы, желудочно-кишечный, дыхательный и урогенитальный тракты Neutrophils, gastrointestinal, respiratory and urogenital tracts	Усиливает синтез IgG и активность макрофагов [78], продуцирует противовоспалительный ответ, является хемоаттрактантом для дендритных клеток [20] Enhances the synthesis of IgG and macrophage activity [78], produces an anti-inflammatory response, act as a chemoattractant for dendritic cells [20]
Пептид нейтрофила человека — 1 Human neutrophil peptide (HNP-1)	Нейтрофилы, В-лейкоциты, Т-лейкоциты, скелетная мускулатура, легочный эпителий, желудочно-кишечный тракт Neutrophils, B-leukocytes, T-leukocytes, skeletal musculature, pulmonary epithelium, gastrointestinal tract	Увеличивает активность макрофагов, дезактивирует экзотоксины бактерий, выступает хемоаттрактантом для Т-клеток, моноцитов и тучных клеток, регулирует фактор некроза опухолевых клеток [24] Increases the activity of macrophages, deactivates exotoxins of bacteria, acts as a chemoattractant for T cells, monocytes and mast cells, regulates tumor necrosis factor [24]
Индолицидин Indolicidin	Нейтрофилы, легочный эпителий, В-лейкоциты, Т-лейкоциты Neutrophils, pulmonary epithelium, B-leukocytes, T-leukocytes	Регулирует фактор некроза опухолевых клеток, подавляет пролиферативную активность спленоцитов [67] Regulates tumor necrosis factor, suppresses the proliferative activity of splenocytes [67]
Апидацин Apidacin	Гемолимфа Hemolymph	Продукция молекулы CD80, которая активирует Т-клетки [69] The production of the CD80, which activates T cells [69]

Таким образом, можно говорить о том, что пептиды вызывают гибель бактериальных клеток, образуя непреодолимые дефекты в целевых микробных клеточных мембранах. В связи с этим, пептиды вызывают утечку ионов и метаболитов, что приводит к деполяризации мембраны, остановке трансмембранных связей и синтеза биополимеров, и, в конце концов, к смерти клетки. Описанные механизмы являются основным эффектом действия АМП. Следует отметить, что разрушение клеточной мембраны может быть недостаточным для гибели патогенных микробов. Многие пептиды легко проникают через биологические мембраны. Их антимикробные свойства проявляются уже внутри клетки. Если одни пептиды связываются с отрицательно заряженными молекулами ДНК и РНК [67], другие блокируют активность рибосом [11]. В обоих случаях нарушается синтез белка, и клетка гибнет. К примеру, дефензины, образовав поры в клеточной мембране, проникают внутрь клетки и блокируют систему трансляции нуклеиновых кислот, в связи с чем прекращается синтез белковых молекул [19].

Цитоплазматическая мембрана участвует во многих клеточных процессах. Такие процессы, как селективная проницаемость, поддержание градиента, электронный транспорт, окислительное фосфорилирование, синтез пептидогликанов, хитина и многих других полимеров, происходит непосредственно на цитоплазматической мембране, либо с ее участием. Названные выше клеточные процессы прямо влияют на патогенность бактерий. АМП могут прямо или опосредованно вызывать ингибирование того или иного процесса. Например, доказано [68], что пирхорицин полностью ингибирует активность АТФаз в клетках *E. coli*, чем и вызывает мгновенную гибель бактериальной клетки. Такое мгновенное действие объясняется деполяризацией клеточных мембран, сопровождаемое воздействием пептидов на важные процессы жизнедеятельности клеток, например дыхание.

Существует такое понятие, как молекулярный синергизм, когда отдельно взятые АМП слабо или вовсе не проявляют антимикробные свойства, но при их смешивании противомикробный эффект усиливается в разы. В качестве примера можно привести исследования, проведенные командой Westerhoff H.V. в 1995 г. [81]: 2 пептидные последовательности, magainin 2 и PGLa, выделенные из кожи *Xenopus laevis* действовали вместе в 20 раз сильнее, чем по отдельности. В экспериментах *in vitro* было показано, что комбинация hBD-2 и hBD-4 значительно снижала активность *Pseudomonas aeruginosa* [85]. Так же дефензины человека часто действуют в комплексе, образуя «коктейль» из АМП.

Иммуномодулирующий эффект АМП

АМП могут связываться с мембранными рецепторами клеток и участвовать в иммунном ответе, начиная с воспалительных процессов и заканчивая заживлением ран [53, 56].

Некоторые АМП, такие как пептиды группы кателицидинов и дефензинов, являются аттрактантами для клеток иммунной системы (табл. 2). Они усиливают выработку цитокинов, способствуют высвобождению гистамина из тучных клеток. α -дефензины, а также некоторые β -дефензины человека выступают сигнальной молекулой для моноцитов, Т-клеток и незрелых дендритных клеток. К примеру, продемонстрировано, что дефензины в условиях *in vitro* способны увеличивать адгезию Т-клеток к эпителиоцитам легочного эпителия через индукцию IFN γ , IL-10 и IL-6 [74]. Известно, что α -дефензины, в частности HNP-1, активируют гены синтеза хемокинов СК5В, СК6 и СК7А [26], которые в свою очередь выступают хемоаттрактантами для моноцитов. HNP могут демонстрировать некоторую противоопухолевую активность за счет регулируемого апоптоза опухолевых клеток, а также за счет подавления процессов ангиогенеза [16].

LL37 значительно увеличивает эндоцитотическую активность, регулирует экспрессию генов, которые отвечают за активность Т-хелперов [20]. Есть исследования [85], которые показали, что данный АМП отвечает за образование активных форм кислорода (АФК) в нейтрофилах крови человека во время провоспалительных процессов. Пептид ингибирует апоптотическую активность нейтрофилов путем взаимодействия с P2X7 и рецептором FPRL1, однако активирует вторичный апоптоз. Таким образом, LL37 является модулятором нейтрофилов, индуцируя высвобождение провоспалительных цитокинов TNF α и IL-1 β и активизируя антимикробные свойства [78].

Лактоферрицин, как известно, является частью приобретенного пассивного иммунитета, передаваясь в первые же дни жизни человека от матери к ребенку. Лактоферрицин образуется в желудке в процессе пепсин-опосредованной трансформации лактоферрина [77]. Лактоферрицин подавляет избыточный воспалительный процесс, регулируя уровень выработки АФК. При избыточном производстве активного кислорода, при котором собственные защитные антиоксидантные механизмы клетки не могут справиться с окислительным потенциалом, может произойти некроз ткани [31]. Избыток АФК участвует в развитии немалого числа заболеваний, таких как рак, ревматоидный артрит, болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона [4].

Устойчивость патогенов к антимикробным пептидам

Микробные патогены заселяют разнообразные ткани и органы, где непременно сталкиваются с защитой макроорганизма. Чтобы выжить, в процессе эволюции у таких микроорганизмов постепенно выработались механизмы устойчивости к АМП. Было бы нереалистичным ожидание, будто бы любой АМП может уничтожить любую бактерию. Однако необходимо отметить, что сопротивляемость к АМП довольно редкое явление. Интересно, что бактерии, устойчивые к АМП, имеют большую устойчивость и к стандартным антибиотикам [47].

Молекулярные основы устойчивости к АМП пока не ясны. Тем не менее, имеются некоторые наблюдения, которые могут дать представление о возможных причинах. В некоторый момент времени АМП взаимодействует с клеточной поверхностью целевого патогена. Таким образом, можно предположить, что устойчивые к АМП микроорганизмы имеют слабый отрицательный заряд мембраны, недостаточный для взаимодействия [13]. Такие особенности присущи некоторым представителям рода *Staphylococcus*, клеточные мембраны которых пронизаны положительно заряженными аминокислотными группами связанными молекулами тейхоевой кислоты, которые понижают отрицательный заряд клеточной стенки [51]. Многие бактериальные и грибковые патогены образуют вокруг себя капсулу [18]. Гликокаликс, из которого состоит большинство подобных капсул, имеет отрицательный заряд. Следовательно, разумно предположить, что гликокаликс препятствует нормальному взаимодействию АМП с клеточной мембраной. Многие бактерии также выделяют протеолитические ферменты, которые, разлагая пептиды, обретают резистентность [82].

Pseudomonas aeruginosa инфицируя ткани нарушает их нормальную физиологию, что приводит к дисфункции ионообменных процессов и соответственно увеличению локального уровня ионов, к нарушению фагоцитарной способности близлежащих тканей, к нарушениям функций переноса ионов Na^+ . Такие трансформации тканей могут вызвать сепсис. Образованная *P. aeruginosa* микросреда подавляет активность АМП и традиционных антибиотиков [32]. Вероятно, ионы, которые присутствуют в среде, мешают нормальному связыванию АМП с бактериальной мембраной. Еще одним механизмом резистентности к АМП является мгновенный индуцированный ответ. Как было недавно показано, некоторые виды бактерий [87] содержат в своем геноме ген синтеза регулона PhoP/PhoQ. Данный регулон

мгновенно модифицирует белки, фосфолипиды и липополисахариды бактериального организма, что снижает губительный эффект АМП.

В заключении можно сказать, что подобно макроорганизмам, которые формируют иммунитет по отношению к тем или иным патогенам, микроорганизмы развивают механизмы защиты от АМП. Однако образование штамма, обладающего устойчивостью к АМП, из штамма, не обладающего таковой, явление крайне редкое.

Синтетические антимикробные пептиды

Перед тем как разрешить использование пептидов в качестве замены стандартным антибиотикам, необходимо полностью исследовать свойства, действие и распад АМП. С этой целью путем систематического изменения уже существующих природных пептидов, замены пептидных последовательностей, с образованием α -спиральных структур были созданы синтетические пептиды. Большинство новых антимикробных соединений было выведено методами комбинаторной химии. Полученные АМП должны быть менее токсичными для животных и растений, иметь ярко выраженную антимикробную активность и быть устойчивыми к пищеварительным ферментам. Модифицируя природные АМП можно повысить антибактериальную активность, и уменьшить токсичность собственным клеткам макроорганизма. Bessalle R. et al. синтезировали ряд пептидов [9] различной длины и гидрофобности, названных моделинами, и обнаружили, что пептидные последовательности длиной 16–17 аминокислотных остатков, богатые триптофаном и фенилаланином, обладали высокой бактерицидной активностью. При замене триптофана или фенилаланина на лейцин бактерицидные свойства резко снижались. Все эти пептиды, как и предполагалось, не имели определенной структуры в воде, однако в гидрофобной среде быстро приобретали α -спиральную структуру.

Корме этого Lim H.S. et al. [42] в белке гранулизине заменили аспарагиновую кислоту на аргинин, а метионин на цистеин. Как показали исследования, вновь синтезированный пептид имел более выраженные антимикробные свойства. Так же при определенных модификациях можно увеличить специфичность, стабильность и снизить токсичность АМП к собственным клеткам. Так, было показано, что при модификации индолицидина, снизилась токсичность его коротких аналогов в отношении эритроцитов крови человека, однако противоопухолевая

активность индолицидина была утрачена [1]. С помощью химических модификаций можно расширить спектр действия АМП. К примеру, грамицидин, полученный из бактериальных клеток, имеет слабую токсичность к грамположительным и грамотрицательным бактериям, тогда как его модифицированный аналог убивает большинство подобных бактерий, к тому же токсичность к клеткам млекопитающих значительно снижена [79].

Имеются данные, что синтезированный *de novo* пептид с последовательностью GILKTIKSIASKVANTVQKLKRKAKNAVA имел противомикробную активность, подавляя рост грамположительных (*S. aureus*) и грамотрицательных бактерий (*E. coli*). Эти пептиды обладали низкой цитотоксичностью к клеткам макроорганизмов [62]. Четыре гибридных АМП, созданных на основе индолицидина и ранеликсина подавляли рост *Streptococcus pneumoniae*. При этом было доказано, что эти пептиды не токсичны по отношению к эритроцитам человека, клеткам печени и легких [36]. Синтетический пептид WALK11 обладает не только антимикробной, но и иммуномодулирующей активностью [64]. Эти и несколько других исследований подтверждают, что *de novo* синтезированные пептиды могут стать перспективными молекулами, заменяющими стандартные антибиотики.

Кроме всего прочего, синтез АМП обременен дороговизной расходных материалов. Более приемлемым решением подобной задачи является компьютерное моделирование. Например, программа DBAASP v2 предоставляет пользователям подробную информацию касательно пептидной последовательности, позволяет модифицировать аминокислотные последовательности и изучить структуру синтезируемого пептида [59]. Подобного рода программы помогают прогнозировать возможные полезные свойства АМП и сокращают расходы уже на стадии проектирования исследований.

Терапевтический потенциал АМП

Для любого антимикробного препарата имеются требования селективности, при которых губительный эффект должен быть направлен именно на патогенные клетки. АМП обладают существенными преимуществами в качестве антибиотиков, которые были обсуждены выше. Кроме этих эффектов, АМП способны нейтрализовать токсины, которые непременно образуются после гибели патогенных клеток [35, 58]. Недавние исследования намного расширили наше понимание механизмов действия АМП, определили новые пути использования противoinфекционных

агентов или стратегии лечения. Наиболее очевидный терапевтический потенциал АМП связан с созданием узкоспециализированных препаратов, ориентированных на определенные микробные субструктуры, на отключение основных механизмов адаптивной сопротивляемости патогенов и факторов вирулентности, характерных для инфекций.

Любой чужеродный микроорганизм, оказавшись в кровеносной системе, начинает адсорбировать различные белки из плазмы крови, которые могут перестроить бактериальную мембрану таким образом, что ее начинают узнавать фагоцитарные клетки. Иммунная система млекопитающих является сложной сетью эффекторных молекул, которые способны распознавать и ликвидировать микробные клетки. При разработке лекарств на основе АМП необходимо учитывать взаимодействие со всеми этими молекулами. Чтобы облегчить задачу и усилить направленность АМП предлагают заключить их в различные капсулы, например в липосомы и мицеллы. Такие наноносители внешне заряжены положительно и будут взаимодействовать только с отрицательно заряженными бактериальными мембранами по принципу электростатического сродства [102]. Кроме того, АМП, заключенные в липидные оболочки защищены от разрушительных действий протеолитических ферментов ЖКТ. Мицеллы и некоторые другие капсулы для пептидов могут взаимодействовать с минералами. Например, в одном исследовании описываются мицеллы с антимикробным агентом, которые способны прикрепляться к зубной эмали и длительное время подавлять рост *Streptococcus mutans* [17]. Жевательная резинка также может выступать в качестве носителя АМП, которые могут ингибировать рост оральных микроорганизмов, вызывающих кариес [50]. Таким образом, заключение АМП в нанокапсулы повышает эффективность АМП, его биодоступность и период действия.

Заключение

Болезнетворные микробы, устойчивые к традиционным антибиотикам, являются актуальной проблемой современного здравоохранения. АМП выступают привлекательной альтернативой традиционным антибиотикам.

Исследования в этой области выявляют все более новые, перспективные АМП, которые можно будет использовать в качестве лекарственных препаратов. По сравнению с традиционными антибиотиками, АМП обладают высокой селективностью, мощным бактерицидным действием и низкой токсичностью к клеткам макроорганизма.

Еще не до конца изучены механизмы действия АМП и устойчивости микроорганизмов к ним. С точки зрения науки, АМП содержит в себе еще много тайн, которые так или иначе будут раскрыты в будущем. Исторически промышленный выпуск пептидов был ограничен особенностями технологий их производства,

сопутствующими высокими расходами и вопросами контроля качества продукта. Эти ограничения сохраняются и по сей день. Тем не менее, развивающаяся наука и всеобщий прогресс и дальше будут стимулировать разработку и поиск новых, эффективных АМП и путей их синтеза.

Список литературы/References

1. Абрамов В.Я. Два великих француза: благодетель человечества Луи Пастер и апостол образования Жан Масэ. СПб.: М. Городецкий, 1897. [Abramov V.Ya. Dva velikih francuza: blagodetel' chelovechestva Lui Paster i apostol obrazovaniya Zhan Maseh [Two great Frenchmen: the benefactor of humanity Louis Pasteur and the apostle of education Jean Mase]. *St. Petersburg: M. Gorodetskii, 1897.*]
2. Артамонов А.Ю., Шанин С.Н., Орлов Д.С., Шамова О.В., Колодкин Н.И., Рыбакина Е.Г. Иммуномодулирующая активность антимикробных пептидов индолицидина и его структурных аналогов // Медицинская иммунология. 2009. Т. 11 (1). С. 101–104. [Artamonov A.Y., Shanin S.N., Orlov D.S., Shamova O.V., Kolodkin N.I., Rybakina E.G. Immunomodulatory activity of antimicrobial peptide indolicidin and its structural analogues. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2009, vol. 11 (1), pp. 101–104. doi: 10.15789/1563-0625-2009-1-101-104. (In Russ.)*]
3. Abderhalden E., Fodor A. Synthese von hochmolekularen polypeptiden aus glykokoll und l-leucin. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 1916, vol. 49, iss. 1.*
4. Actor J.K., Hwang S.-A., Kruzel M.L. Lactoferrin as a natural immune modulator. *Curr. Pharm. Des., 2009, vol. 15 (17), pp. 1956–1973.*
5. Alalwani S.M., Sierigk J., Herr Ch., Pinkenburg O., Gallo R., Vogelmeier C., Bals R. The antimicrobial peptide LL-37 modulates the inflammatory and host defense response of human neutrophils. *Eur. J. Immunol., 2010, vol. 40 (4), pp. 1118–1126. doi: 10.1002/eji.200939275*
6. Anfinsen C.B., Edsall J.T., Richards F.M. Advances in protein chemistry. NY: Academic Press, 1972, pp. 99–103.
7. Bagiolini M., de Duve C., Masson P.L., Heremans J.F. Association of lactoferrin with specific granules in rabbit heterophil leukocytes. *J. Exp. Med., 1970, vol. 131, no. 3, pp. 559–570.*
8. Bennett W.F., Hong C.K., Wang Y., Tieleman D.P. Antimicrobial peptide simulations and the influence of force field on the free energy for pore formation in lipid bilayers. *J. Chem. Theory Comput., 2016, vol. 12 (9), pp. 4524–4533. doi: 10.1021/acs.jctc.6b00265*
9. Bessalle R., Gorea A., Shalit I., Metzger J.W., Dass C., Desiderio D.M. Structure-function studies of amphiphilic antibacterial peptides. *J. Med. Chem., 1993, vol. 36, pp. 1203–1209.*
10. Bloch-Shilderman E., Jiang H., Lazarovici P. Pardaxin, an ionophore neurotoxin, induces PC12 cell death: activation of stress kinases and production of reactive oxygen species. *J. Nat. Toxins, 2002, vol. 11, pp. 71–85.*
11. Brannan A.M., Whelan W.A., Cole E., Booth V. Differential scanning calorimetry of whole *Escherichia coli* treated with the antimicrobial peptide MSI-78 indicate a multi-hit mechanism with ribosomes as a novel target. *Peer J., 2015. doi: 10.7717/peerj.1516*
12. Carmona-Ribeiro A.M. Interactions between bilayer vesicles, biomolecules, and interfaces. Handbook of surfaces and interfaces of materials; ed. Nalwa H.S. Academic Press; Burlington, VT, USA: 2001, pp. 129–165.
13. Cashman K.A., Bayer A.S., Yeaman M.R. Diversity and susceptibility to antibiotics and cationic peptides among *Enterococcus faecalis* or *Enterococcus faecium* isolates of diverse clinical or geographic origin. *98th General Meeting for the American Society for Microbiology, 1998, pp. 17–21.*
14. Casteels P., Ampe C., Jacobs F., Vaecq M., Tempst P. Apidaecins: antibacterial peptides from honeybees. *EMBO J., 1989, vol. 8 (8), pp. 2387–2391.*
15. Chan D.I., Prenner E.J., Vogel H.J. Tryptophan- and arginine-rich antimicrobial peptides: structures and mechanisms of action. *Biochim. Biophys. Acta, 2006, vol. 1758 (9), pp. 1184–1202.*
16. Chavakis T., Cines D.B., Rhee J.S. Regulation of neovascularization by human neutrophil peptides (alphadefensins): a link between inflammation and angiogenesis. *FASEB J., 2004, vol. 18 (11), pp. 1306–1308.*
17. Chen F., Jia Z., Rice K.C., Reinhardt R.A., Bayles K.W., Wang D. The development of dentotropic micelles with biodegradable tooth-binding moieties. *Pharm. Res., 2013, vol. 30 (11), pp. 2808–2817.*
18. Costerton I. Bacterial glycocalyx in nature and disease. *Ann. Rev. Microbiol., 1981, vol. 35, pp. 299–324.*
19. Dabirian S., Taslimi Y., Zahedifard F., Gholami E., Doustdari F., Motamedirad M., Khatami S., Azadmanesh K., Nylen S., Rafati S. Human neutrophil peptide-1 (HNP-1): a new anti-leishmanial drug candidate. *PLoS Negl. Trop. Dis., 2013, vol. 7 (10), p. 2491. doi: 10.1371/journal.pntd.0002491*
20. Davidson D.J., Currie A.J., Reid G.S., Bowdish D.M., MacDonald K.L., Ma R.C., Hancock R.E., Speert D.P. The cationic antimicrobial peptide LL-37 modulates dendritic cell differentiation and dendritic cell-induced T cell polarization. *J. Immunol., 2004, vol. 172 (2), pp. 1146–1156.*
21. De Duve C. From cytochromes to lysosomes. *Fed. Proc. 1964, vol. 23, pp. 1045–1049.*
22. De Duve C. The lysosome turns fifty. *Nat. Cell Biol., 2005, vol. 7, no. 9, pp. 847–849. doi: 10.1038/ncb0905-847*
23. Dhople V., Krukemeyer A., Ramamoorthy A. The human beta-defensin-3, an antibacterial peptide with multiple biological functions. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Biomembranes, 2006, vol. 1758 (9), pp. 1499–1512. doi: 10.1016/j.bbame.2006.07.007*
24. Droin N., Hendra J.B., Ducroix P., Solary E. Human defensins as cancer biomarkers and antitumor molecules. *J. Proteomics, 2009, vol. 72 (6), pp. 918–927. doi: 10.1016/j.jprot.2009.01.002*
25. Economou N.J., Cocklin S., Loll P.J. High-resolution crystal structure reveals molecular details of target recognition by bacitracin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2013, vol. 110, pp. 14207–14212. doi: 10.1073/pnas.1308268110*

26. Falco A., Brocal I., Pérez L., Coll J.M., Estepa A., Tafalla C. In vivo modulation of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immune response by the human alpha defensin 1, HNP1. *Fish Shellfish Immunol.*, 2008, vol. 24, pp. 102–112.
27. Fischer E. Untersuchungen über Aminosäuren, polypeptide und proteine (1899–1906). *Verlag: Berlin Julius Springer, 1906.*
28. Fischer G. Peptidyl-prolyl cis/trans isomerases and their effectors. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1993, vol. 33, pp. 1415–1436.
29. Ganz T. Biosynthesis of defensins and other antimicrobial peptides. *Ciba Found Symp.*, 1994, vol. 186, pp. 62–71.
30. Ganz T., Lehrer R.I. Antimicrobial peptides of leukocytes. *Curr. Opin. Hematol.*, 1997, vol. 4 (1), pp. 53–61.
31. Gutteridge J.M. Review Hydroxyl radicals, iron, oxidative stress, and neurodegeneration. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1994, vol. 738, pp. 201–213.
32. Hachem R.Y., Chemaly R.F., Ahmar C.A., Jiang Y., Boktour M.R., Rjaili G.A., Bodey G.P., Raad I.I. Colistin is effective in treatment of infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in cancer patients. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, vol. 51 (6), pp. 1905–1911. doi: 10.1128/AAC.01015-06
33. Hancock R.E.W., Rozek A. Role of membranes in the activities of antimicrobial cationic peptides. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2002 vol. 206 (2), pp. 143–149. doi: 10.1111/j.1574-6968.2002.tb11000.x
34. Hancock R.E.W., Sahl H.-G. Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nat. Biotechnol.*, 2006, vol. 24, pp. 1551–1557. doi: 10.1038/nbt1267
35. Harris M., Mora-Montes H.M., Gow N.A., Coote P.J. Loss of mannosylphosphate from *Candida albicans* cell wall proteins results in enhanced resistance to the inhibitory effect of a cationic antimicrobial peptide via reduced peptide binding to the cell surface. *Microbiology*, 2009, vol. 155, pp. 1058–1070.
36. Hassan M.J., Cheng F.L., Mohd Y.M.Y., Rukumani D.V., Vannajan S.L., Sharifuddin M.Z., Diyana M.I., Shamala D.S. Antimicrobial activity of novel synthetic peptides derived from indolicidin and ranalexin against *Streptococcus pneumoniae*. *PLoS One*, 2015, vol. 10 (6).
37. Hofmann C.M., Anderson J.M., Marchant R.E. Targeted delivery of vancomycin to *Staphylococcus epidermidis* biofilms using a fibrinogen-derived peptide. *J. Biomed. Mater. Res. A.*, 2012, vol. 100, pp. 2517–2525.
38. Holak T.A., Engström A., Kraulis P.J., Lindeberg G., Bennich H., Jones T.A., Gronenborn A.M., Clore G.M. The solution conformation of the antibacterial peptide cecropin A: a nuclear magnetic resonance and dynamical simulated annealing study. *Biochemistry*, 1988, vol. 27 (20), pp. 7620–7629.
39. Kirienko N.V., Ausubel F.M., Ruvkun G. Mitophagy confers resistance to siderophore-mediated killing by *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2015, vol. 112 (6), pp. 1821–1826. doi: 10.1073/pnas.1424954112
40. Kreil G. Antimicrobial peptides from amphibian skin: an overview. *Ciba Found Symp.*, 1994, vol. 186, pp. 77–90.
41. Larrick J.W., Hirata M., Shimomoura Y., Yoshida M., Zheng H., Zhong J., Wright S.C. Antimicrobial activity of rabbit CAP18-derived peptides. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1993, vol. 37 (12), pp. 2534–2539.
42. Lim H.S., Chun S.M., Soung M.G., Kim J., Kim S.J. Antimicrobial efficacy of granulysin-derived synthetic peptides in acne vulgaris. *Int. J. Dermatol.*, 2015, vol. 54 (7), pp. 853–862. doi: 10.1111/ijd.12756
43. Louvet J.-P., Mitchell H.S., Ross G.T. Effects of human chorionic gonadotropin, human interstitial cell stimulating hormone and human follicle-stimulating hormone on ovarian weights in estrogen-primed hypophysectomized immature female rats. *Endocrinology*, 1975, vol. 96 (5), pp. 1179–1186. doi: 10.1210/endo-96-5-1179
44. Lüllmann-Rauch R. History and morphology of the lysosome. In: *Lysosomes. P. Saftig. Springer US, 2005, pp. 1–16.*
45. MacLennan A.H. The role of the hormone relaxin in human reproduction and pelvic girdle relaxation. *Scand. J. Rheumatol.*, 1991, suppl. 88, pp. 7–15.
46. Mahoney M.M., Lee A.Y., Brezinski-Caliguri D.J., Huttner K.M. Molecular analysis of the sheep cathelin family reveals a novel antimicrobial peptide. *FEBS Letters*, 1995, vol. 377 (3), pp. 519–522.
47. Mantovani H.C., Russell J.B. Nisin resistance of *Streptococcus bovis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, vol. 67, pp. 808–813.
48. Matsuzaki K., Harada M., Handa T., Funakoshi S., Fujii N., Yajima H., Miyajima K. Magainin 1-induced leakage of entrapped calcein out of negatively-charged lipid vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, 1989, vol. 981 (1), pp. 130–134.
49. Metchnikoff E. Sur la lutte des cellules de l'organisme contre l'invasion des microbes. *Ann. Inst. Pasteur*, 1887, vol. 1, p. 321.
50. Na D.H., Faraj J., Capan Y., Leung K.P., DeLuca P.P. Chewing gum of antimicrobial decapeptide (KSL) as a sustained antiplaque agent: preformulation study. *J. Control Release*, 2005, vol. 107, pp. 122–130. doi: 10.1016/j.jconrel.2005.05.027
51. Nahaie M.R., Goodfellow M., Minnikin D.E., Hajek V. Polar lipid and isoprenoid quinone composition in the classification of *Staphylococcus*. *J. Gen. Microbiol.*, 1984, vol. 130, pp. 2427–2437.
52. Neve S., Raventós D. NZ17074: an arenicin-3 variant found by HTS screening of yeast libraries. In: *Novozymes A/S. Copenhagen: Adenium Biotech, 2012.*
53. Niyonsaba F., Nagaoka I., Ogawa H., Okumura K. Multifunctional antimicrobial proteins and peptides: natural activators of immune systems. *Curr. Pharm. Des.*, 2009, vol. 15 (21), pp. 2393–2413.
54. Oren Z., Shai Y. Mode of action of linear amphipathic alpha-helical antimicrobial peptides. *Biopolymers*, 1998, vol. 47, pp. 451–463. doi: 10.1002/(SICI)1097-0282(1998)47:6<451::AID-BIP4>3.0.CO;2-F
55. Osaki T., Omotezako M., Nagayama R., Hirata M., Iwanaga S., Kasahara J., Hattori J., Ito I., Sugiyama H., Kawabata S. Horseshoe crab hemocyte-derived antimicrobial polypeptides, tachystatins, with sequence similarity to spider neurotoxins. *J. Biol. Chem.*, 1999, vol. 274 (37), pp. 26172–26178.
56. Otvos L. Jr. Immunomodulatory effects of anti-microbial peptides. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*, 2016, vol. 19, pp. 1–21. doi: 10.1556/030.63.2016.005
57. Pauling L. The nature of the chemical bond. 3rd ed. *Cornell University Press, 1960.*
58. Peschel A., Sahl H.G. The co-evolution of host cationic antimicrobial peptides and microbial resistance. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2006, vol. 4, pp. 529–536.
59. Pirtskhalava M., Gabrielian A., Cruz P., Griggs H.L., Squires B., Hurt D.E., Grigolava M., Chubinidze M., Gogoladze G., Vishnepolsky B., Alekseyev V., Rosenthal A., Tartakovsky M. DBAASP v.2: an enhanced database of structure and antimicrobial/cytotoxic activity of natural and synthetic peptides. *Nucl. Acids Res.*, 2016, vol. 44 (13). doi: 10.1093/nar/gkw243

60. Pütsep K., Faye I. Hans G. Boman (1924–2008): pioneer in peptide-mediated innate immune defence. *Scand. J. Immunol.*, 2009, vol. 70 (3), pp. 317–326. doi: 10.1111/j.1365-3083.2009.02293.x
61. Roongsawang N., Washio K., Morikawa M. Diversity of nonribosomal peptide synthetases involved in the biosynthesis of lipopeptide biosurfactants. *Int. J. Mol. Sci.*, 2011, vol. 12 (1), pp. 141–172. doi: 10.3390/ijms12010141
62. Sánchez-Vásquez L., Silva-Sánchez J., Jiménez-Vargas J.M., Rodríguez-Romero A., Muñoz-Garay C., Rodríguez M.C., Gurrrola G.B., Possani L.D. Enhanced antimicrobial activity of novel synthetic peptides derived from vejovine and hadrurin. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013, vol. 1830 (6), pp. 3427–3436. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.01.028
63. Schneider D. Plant immune responses. *Stanford University Department of Microbiology and Immunology*, 2005. 11 p.
64. Shim D.W., Heo K.H., Kim Y.K., Sim E.J., Kang T.B., Choi J.W., Sim D.W., Cheong S.H., Lee S.H., Bang J.K., Won H.S., Lee K.H. Anti-inflammatory action of an antimicrobial model peptide that suppresses the TRIF-dependent signaling pathway via inhibition of Toll-like receptor 4 Endocytosis in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *PLoS One*, 2015, vol. 10 (5). doi: 10.1371/journal.pone.0126871
65. Storici P., Zanetti M. A novel cDNA sequence encoding a pig leukocyte antimicrobial peptide with a cathelin-like pro-sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, vol. 196 (3), pp. 1363–1368.
66. Strominger J.L. Animal antimicrobial peptides: ancient players in innate immunity. *J. Immunol.*, 2009, vol. 182 (11), pp. 6633–6637. doi: 10.4049/jimmunol.0990038
67. Subbalakshmi C., Sitaram N. Mechanism of antimicrobial action of indolicidin. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1998, vol. 160, pp. 91–96.
68. Taniguchi M., Ochiai A., Kondo H., Fukuda S., Ishiyama Y., Saitoh E., Kato T., Tanaka T. Pyrrolic acid, a proline-rich antimicrobial peptide derived from insect, inhibits the translation process in the cell-free *Escherichia coli* protein synthesis system. *J. Biosci. Bioeng.*, 2016, vol. 121 (5), pp. 591–598. doi: 10.1016/j.jbiosc.2015.09.002
69. Tavano R., Segal, D., Gobbo M., Papini E. The honeybee antimicrobial peptide apidaecin differentially immunomodulates human macrophages, monocytes and dendritic cells. *J. Innate Immun.*, 2011, vol. 3, pp. 614–622.
70. Toke O. Antimicrobial peptides: new candidates in the fight against bacterial infections. *Curr. Trends Pept. Sci.*, 2005, vol. 80 (6), pp. 717–735. doi: 10.1002/bip.20286
71. Tomasinsig L., Zanetti M. The cathelicidins — structure, function and evolution. *Curr. Protein Pept. Sci.*, 2005, vol. 6 (1), pp. 23–34.
72. Tonk M., Vilcinskas A., Rahnamaeian M. Insect antimicrobial peptides: potential tools for the prevention of skin cancer. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2016, vol. 100, pp. 7397–7405. doi: 10.1007/s00253-016-7718-y
73. Umasuthan N., Mothishri M.S., Thulasitha W.S., Nam B.H., Lee J. Molecular, genomic, and expression delineation of a piscidin from rock bream (*Oplegnathus fasciatus*) with evidence for the potent antimicrobial activities of Of-Pisl peptide. *Fish Shellfish Immunol.*, 2016, vol. 48, pp. 154–168. doi: 10.1016/j.fsi.2015.11.005
74. Van Wetering S., Tjabringa S., Hiemstra P.S. Interaction between neutrophil-derived antimicrobial peptides and airway epithelial cells. *J. Leuk. Biol.*, 2005, vol. 77, pp. 444–450. doi: 10.1182/ajh110.584.8835
75. Vernon L.P., Evett G.E., Zeikus R.D., Gray W.R. A toxic thionin from *Pyricularia pubera*: purification, properties, and amino acid sequence. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1985, vol. 238, pp. 18–29.
76. Wachinger M., Kleinschmidt A., Winder D., Pechmann N., Ludvigsen A., Neumann M., Holle R., Salmons B., Erfle V., Brack-Werner R. Antimicrobial peptides melittin and cecropin inhibit replication of human immunodeficiency virus 1 by suppressing viral gene expression. *J. Gen. Virol.*, 1998, vol. 79 (Pt 4), pp. 731–771. doi: 10.1099/0022-1317-79-4-731
77. Wakabayashi H., Takase M., Tomita M. Lactoferricin derived from milk protein lactoferrin. *Curr. Pharm. Des.*, 2003, vol. 9 (16), pp. 1277–1287. doi: 10.2174/1381612033454829
78. Wan M., van der Does A.M., Tang X., Lindbom L., Agerberth B., Haeggström J.Z. Antimicrobial peptide LL-37 promotes bacterial phagocytosis by human macrophages. *J. Leukoc. Biol.*, 2014, vol. 95 (6), pp. 971–981. doi: 10.1189/jlb.0513304
79. Wang F., Qin L., Pace C.J., Wong P., Malonis R., Gao J. Solubilized gramicidin A as potential systemic antibiotics. *Chembiochem.*, 2012, vol. 13 (1), pp. 51–55. doi: 10.1002/cbic.201100671
80. Wang Y., Chen J., Zheng X., Yang X., Ma P., Cai Y., Zhang B., Chen Y. Design of novel analogues of short antimicrobial peptide anoplins with improved antimicrobial activity. *J. Pept. Sci.*, 2014, vol. 20 (12), pp. 945–951. doi: 10.1002/psc.2705
81. Westerhoff H.V., Zasloff M., Rosner J.L., Hendler R.W., De Waal A., Vaz Gomes A., Jongsma P.M., Riethorst A., Juretic D. Functional synergism of the magainins PGLa and magainin-2 in *Escherichia coli*, tumor cells and liposomes. *Eur. J. Biochem.*, 1995, vol. 228, pp. 257–264.
82. Whitelock J.M., Murdoch A.D., Iozzo R.V., Underwood P.A. The degradation of human endothelial cell-derived perlecan and release of bound basic fibroblast growth factor by stromelysin, collagenase, plasmin, and heparanases. *J. Biol. Chem.*, 1996, vol. 271 (17), pp. 10079–10086. doi:10.1074/jbc.271.17.10079
83. Xu D., Yang W., Hu Y., Luo Z., Li J., Hou Y., Liu Y., Cai K. Surface functionalization of titanium substrates with cecropin B to improve their cytocompatibility and reduce inflammation responses. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2013, vol. 110, pp. 225–260. doi: 10.1016/j.colsurfb.2013.04.050
84. Yan L., Adams M.E. Lycotoxins, antimicrobial peptides from venom of the wolf spider *Lycosa carolinensis*. *J. Biol. Chem.*, 1998, vol. 273, pp. 2059–2066.
85. Yanagi S., Ashitani J., Imai K. Significance of human bdefensins in the epithelial lining fluid of patients with chronic lower respiratory tract infections. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2007, vol. 13, pp. 63–69.
86. Yang L., Harroun T.A., Weiss T.M., Ding L., Huang H.W. Barrel-stave model or toroidal model? A case study on melittin pores. *Biophys. J.*, vol. 81, pp. 1475–1485.
87. Yeaman M.R., Yount N.Y. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacol. Rev.*, 2003, vol. 55, pp. 27–55.
88. Zasloff M. Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 84 (15), pp. 5449–5453. doi: 10.1073/pnas.84.15.5449

89. Zavascki A.P., Goldani L.Z., Li J., Nation R.L. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2007, vol. 60, pp. 1206–1215. doi: 10.1093/jac/dkm357
90. Zhao H., Mattila J.P., Holopainen J.M., Kinnunen P.K. Comparison of the membrane association of two antimicrobial peptides, magainin 2 and indolicidin. *Biophys. J.*, 2001, vol. 81 (5), pp. 2979–2991. doi: 10.1016/S0006-3495(01)75938-3

Автор:

Мусин Х.Г., аспирант кафедры биохимии и биотехнологии биологического факультета Башкирского государственного университета, г. Уфа, Россия.

Поступила в редакцию 25.10.2017
Отправлена на доработку 18.04.2018
Принята к печати 13.06.2018

Author:

Musin Kh.G., PhD Student, Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Biology, Bashkir State University, Ufa, Russian Federation.

Received 25.10.2017
Revision received 18.04.2018
Accepted 13.06.2018