Существенным аспектом, связанным с регуляторными механизмами модификации активности супероксиддисмутазы, является возможность изменения активности указанного фермента посредством влияния на антиоксидант-респонсивный элемент. Структурные мотивы ARE установлены для многих генов с преимущественной их локализацией в промоторных зонах [5]. Так, показано существование указанной последовательности для супероксиддисмутазы [8]. По данным литературы, пероксид водорода рассматривается в роли активатора ARE [1]. В связи с этим, недостаточность его образования определяет низкую вероятность активации ARE в условиях проведенного эксперимента.

Таким образом, тенденция к снижению активности супероксиддисмутазы в раневом отделяемом на 3 сутки после нанесения механического повреждения кожи может быть связана со следующими аспектами: 1) сниженное количество субстрата реакции; 2) функционирование принципа обратной связи; 3) воздействие на антиоксидант-респонсивный элемент, и обуславливает мнение о необходимости коррекции антиоксидантного статуса в данную стадию течения раневого процесса.

1. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент (Обзор) // Биохимия. – 2006. – Т. 71, № 9. – С. 1183 – 1198.
2. Окислительный стресс. Антиоксиданты и прооксиданты. / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков, И.А. Бондарь, Н.Ф. Круговых, В.А. Труфакин. М.: Фирма «Слово», 2006. – 556с.
3. Платонов А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы / А.Е. Платонов. – М.: Издательство РАМН, 2000. – 52 с.
4. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса ауто-окисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Вопросы медицинской химии. 1998. Т. 45. № 3. С. 263.
5. Ткачев В.О., Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Механизм работы сигнальной системы NRF2/KEAP1/ARE (Обзор) // Биохимия. – 2011. – Т. 76, № 4. – С. 502 – 519.
6. Giri S. Increases in lung prolyl hydroxylase and superoxide dis-mutase activities during bleomycin-induced lung fibrosis in ham-sters / Giri S., Misra H., Chandler D., Chen Z. // Exp. Mol. Pathol. – 1983. – № 39 (3). – P. 317 – 326.
7. Hassan H., Fridovich I. Physiological function of superoxide dis-mutase in glucose-limited chemostat cultures of Escherichia coli // J. Bacteriol. – 1977. – Vol. 130 (2). – P. 805 – 811.
8. Scandalios J. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. // Braz. J. Med. Biol. Res. Mol. Med. Rep. – 2005. – № 38 (7). – P. 995 – 1014.

Чотчаев Р.М.

Антибиотикорезистентность и методы её преодоления

*ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского
(Россия, Симферополь)*

doi: 10.18411/trnio-10-2021-102

Научный руководитель: Вайман Ю.Ю.

Аннотация

Устойчивость к антибиотикам признана одной из самых серьезных проблем современной медицины. Бактериальные инфекции, устойчивые к антибиотикам, представляют собой глобальную проблему общественного здравоохранения, серьезность и масштабы которой в последние несколько десятилетий возрастают. Из-за чрезмерного использования антибиотиков наблюдается значительный рост числа микробов, которые изменяют свои гены, помогая им в развитии устойчивости к различным группам антибиотиков, особенно к антибиотикам широкого спектра действия. Сообщается, что даже антибиотики нового поколения неэффективны против таких микробов, что делает эту проблему серьезной проблемой для исследователей и, следовательно, вызывает потребность в поиске новых методов для решения этой постоянно растущей проблемы.

Сегодня от болезней, вызванных резистентными бактериями, каждый год умирает около 700 тысяч человек. В их случаях антибиотики оказались бессильны против инфекций.

По данным Министерства здравоохранения Российской Федерации, около 16 % россиян на сегодняшний момент имеют антибиотикорезистентность и расценивается, как угроза национальной безопасности, ведь Россия включена в список стран с глобальным риском, поскольку 84 % российских семей принимают противомикробные препараты при первых симптомах ОРВИ и гриппа.

Различают устойчивость микроорганизмов двух типов:

1. первичную, обусловленную отсутствием мишени для лекарственного вещества, непроницаемостью мембраны клетки, ферментативной активностью возбудителя;
2. вторичную - при применении неправильных доз препарата.

Главная причина развития резистентности - неразумное использование противомикробных средств, в том числе:

- применение лекарств без необходимости;
- при приеме лекарств, которое данное заболевание не лечит;
- прием антибиотиков без назначения врача;
- несоблюдение рекомендаций по приему препаратов (недостаточное или чрезмерное их применение).

2 ноября 2020 года было опубликовано исследование ученых Гарвардского университета, которое показало, что на увеличение резистентности к антибиотикам одного региона значительно влияет уровень их потребления в тех, которые наиболее всего с этим регионом взаимодействуют, отмечается «спилловер-эффект» (когда люди активно перемещаются среди регионов). Так же при изучении сведений о потреблении и распространенности устойчивости к антибиотикам в американских штатах и европейских странах выявлено, что чем дольше две страны взаимодействуют, тем меньше между ними разница в уровне резистентности. Заключение предоставленных исследований.

— Не имеет значение сокращения потребления антибиотиков с целью снизить уровень резистентности, не учитывая ситуацию в соседних регионах.

— Более эффективно принимать меры на уровне более крупных регионов, чем на уровне стран.

Всемирная организация здравоохранения заявила, что если эту проблему так и оставить не решенной, то мы можем вступить в «постантибиотическую эру», когда ранее поддающиеся лечению инфекции снова станут смертельными.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, липид II, гликопептидный антибиотик, тейксобактин, лантибиотики.

Abstract

Antibiotic resistance is recognized as one of the most serious problems in modern medicine. Antibiotic-resistant bacterial infections are a global public health problem, the severity and magnitude of which has increased over the past few decades. Due to the overuse of antibiotics, there has been a significant increase in the number of microbes that change their genes, helping them to develop resistance to various groups of antibiotics, especially to broad-spectrum antibiotics. Even new-generation antibiotics are reported to be ineffective against such microbes, making this a serious problem for researchers and therefore necessitating the search for new methods to address this ever-growing problem.

Today, about 700,000 people die each year from diseases caused by resistant bacteria. In their cases, antibiotics proved to be powerless against infections. According to the Ministry of Health of the Russian Federation, about 16% of Russians currently have antibiotic resistance and are regarded as a threat to national security, because Russia is included in the list of countries with global risk, since 84% of Russian families take antimicrobial drugs at the first symptoms of SARS and influenza.

There are two types of resistance of microorganisms:

- 1) primary, conditioned caused by the absence of a target for a drug substance, impermeability of the cell membrane, enzymatic activity of the pathogen;
- 2) secondary - when using the wrong doses of the drug.

The main reason for the development of resistance is the unreasonable use of antimicrobial agents, including:

- using drugs unnecessarily;
- when taking medications that do not cure the disease;
- taking antibiotics without a doctor's prescription;
- non-compliance with recommendations for taking medications (insufficient or excessive use of them).

On November 2, 2020, a study by Harvard University scientists was published, which showed that the increase in antibiotic resistance in one region is significantly influenced by the level of their consumption in those that interact most with this region, the "spillover effect" is noted (when people actively move among regions). Also, when studying the data on the consumption and prevalence of antibiotic resistance in the US states and European countries, it was found that the longer the two countries interact, the smaller the difference in the level of resistance between them. Conclusion of the provided studies:

- It is not important to reduce the consumption of antibiotics in order to reduce the level of resistance, regardless of the situation in the neighboring regions.
- It is more effective to take action at the level of larger regions than at the country level.

The World Health Organization has said that if this problem is left unresolved, then we may enter a "post-antibiotic era", when previously treatable infections will again become fatal.

Keywords: Antibiotic resistance, lipid II, glycopeptide antibiotic, teixobactin, lantibiotics.

Липид II — компонент, который присутствует только в плазмалемме бактерий. Он участвует в биосинтезе бактериальной стенки, и его основная функция в том, что он перемещает дисахарид-пептидогликан на свободный конец цепи, который заканчивается N-ацетилглюкозамином, то есть участвует в сборке пептидогликана. Так как липид-II принято считать наиболее подходящей в использовании молекулой, его очень удобно применять в качестве основной мишени, однако, как оказалось, к таким антибиотикам может возникнуть толерантность.

Например, ванкомицин — это один из первых гликопептидных антибиотиков, выделенных из почвенной бактерии *Amiclotopsis orientalis*, способных действовать на липид-II и препятствовать биосинтезу клеточной стенки. Структурная жесткость ванкомицина обеспечивается сшиванием ядра гептапептида (Leu-Tyr-Asn-Hpg-Hpg-Tyr-Dhpg) [9].

Препарат имеет в составе дисахаридную цепь глюкозы и ванкозамина, что крайне важно для димеризации антибиотика этого класса. Его активно используют в практической медицине. Применение ванкомицина длительное время помогало бороться с энтерококками, но в настоящий момент бактерии научились вырабатывать к ванкомицину резистентность.

Появление устойчивых к ванкомицину бактерий вызвало необходимость разработки гликопептидных антибиотиков второго поколения. Были разработаны три новых гликопептидных антибиотика — дальбаванцин, телаванцин и оритаванцин [7]. Эти антибиотики были получены путем добавления гидрофобной части к дисахаридной части ванкомицина. Эта структурная модификация делает эти антибиотики активными против устойчивых к ванкомицину бактерий.

По мнению специалистов, другой более рациональной заменой ванкомицина может стать тейксобактин — это новый антибиотик, который был разработан учеными благодаря методу — iChip, результат которого сводится к тому, что получается воспроизвести рост микроорганизмов, живущих в своей естественной среде обитания — почве. [3]

Тейксобактин представляет собой макроциклический депсипептид, состоящий из 4D-аминокислот - метилфенилаланина и эндурацидидина [2]. Он состоит из одиннадцати аминокислотных цепей, которые связаны примерно десятью пептидными связями. Последние четыре связи образуют квадратную форму.

Механизм действия тейксобактина заключается в том, что он вмешивается в синтез клеточной стенки, благодаря способности связываться как с липидом II – предшественником пептидогликана, так и с липидом III – предшественником тейхоевой кислоты. Важным моментом является то, что он атакует клеточную стенку, не нацеливаясь на белки. Таким образом его рассматривают как ингибитора синтеза пептидогликана, практически не влияющего на белки, ДНК и РНК [10].

На моделях мышей он показал мощную активность против нескольких устойчивых штаммов бактерий, таких как *Streptococcus pneumoniae* и *Mycobacterium tuberculosis*. Было также обнаружено, что он активен в отношении устойчивых к метициллину инфекций *S. aureus*.

Оказалось, что он действует против некоторых устойчивых к лекарственным препаратам штаммов бактерий, например, метициллинрезистентных золотистых стафилококков (MRSA) и ванкомицин-резистентных энтерококков (VRE). Тейксобактин также может бороться с *Clostridium difficile*, *M. tuberculosis* и его возможно использовать для лечения туберкулеза [3].

Тейксобактин также оказался активным в отношении нескольких инфекций и находится в стадии доклинической разработки. Исследователи из Центра изучения антимикробных препаратов Северо-Восточного университета Индии сообщили, что мыши, которым вводили тейксобактин, выжили и не проявляли никаких признаков отравления даже после смертельных доз *S. pneumoniae* или метициллинрезистентных золотистых стафилококков. Это побудило ученых продвинуть этот препарат дальше до доклинических испытаний [2].

Лангибиотики — это большое семейство пептидных антибиотиков, которые вызывают двойной эффект: избирательно захватывают липид-II и ингибируют рост клеточной стенки и/или разрушают плазматическую мембрану, используя липид-II в качестве мишени.

Скрининг препаратов как правило, выявляет представителей класса лангибиотиков, обладающих мощной антибактериальной активностью, однако до сих пор ни один из них не применяется в практике из-за плохой фармакокинетики.

Показано, что основным структурным звеном липида-II, распознаваемого лангибиотиками, является пирогосфат, и само распознавание происходит на внеклеточной поверхности мембраны. Несколько лангибиотиков и антимикробных пептидов, включая мерсацидин, рамаплантин, катанозин, плектазин и другие, также связываются с пирогосфатом, хотя области их взаимодействия отличаются друг от друга и охватывают один или оба остатка сахара пептидогликановой части. Несмотря на то, что было потрачено много усилий для рационализации структурно-активных взаимосвязей лангибиотиков, молекулярные аспекты их действия все еще неясны [3].

Одними из перспективных соединений, на сегодняшний день, являются низин-подобные липопептиды, ведущие активную борьбу с грамположительными бактериями. Низин — наиболее широко изученный антимикробный пептид лангибиотик. Продуцируемый некоторыми штаммами *Lactococcus lactis*, он имеет длину 34 аминокислоты и имеет положительный заряд (+4). Низин продуцируется в неактивной форме предшественника, содержащего аминокислоту (N) - концевой лидерный пептид, который расщепляется во время секреции низина из клетки. Низин соединяет пирогосфатный фрагмент липида-II и создает поры в мембране бактерии, приводя к лизису и смерти клеток [4]. Из-за того, что лангибиотик имеет плохую устойчивость *in vivo* и по фармакокинетическим признакам не годен для системного введения, ученые преобразовали

низин и свойства разработанных низин-подобных липопептидов сейчас активно исследуют в лабораториях.

Еще одним многообещающим антибиотиком является мерсацидин – лантибиотик, который показал значительные результаты в лечении метициллинрезистентных золотистых стафилококков, кроме того, в опытах на мышах *in vivo* он показал свою активность почти в 10 раз превышающую активность ванкомицина, в отношении золотистого стафилококка и энтерококков.

Отличную активность в клинических испытаниях в отношении *C. Difficile* показал рамопланил, что дает возможность использовать его в качестве альтернативы для лечения инфекций, вызванных устойчивыми к ванкомицину видами. Рамопланин не подходит для внутривенного введения, так как лактоновая связь, удерживающая кольцо вместе, быстро гидролизует в кровотоке. Тем не менее, успешный полный синтез рамопланина в настоящее время проложил путь для вариантов, которые имеют амид-связанную кольцевую систему, которая значительно более стабильна и может иметь будущее в качестве внутривенного терапевтического средства.

Микробиспорицин – лантибиотик, воздействующий как на грамположительные, так и на некоторые грамотрицательные бактерии, блокируя биосинтез их пептидогликана и вызывая накопление его предшественника в клетке.

Оритаванцин – это антибиотик, который широко используется в США, главным его преимуществом является длительный период полувыведения.

В настоящий момент в стадии испытаний находятся антибиотики, новой мишенью которых является ундекапренилфосфат – важный цитоплазматический фермент, необходимый для синтеза пептидогликана клеточной стенки бактерий, который катализирует образование предшественников липида II. Сейчас изучают несколько ингибиторов ундекапренилфосфатсинтазы — они могут хорошо работать на грамположительных бактериях.

Сущность вышеизложенного сводится к тому, что в будущем некоторые лантибиотики смогут активно использоваться в практической медицине в виде препаратов, к которым не развивается резистентность бактерий, но в настоящее время лантибиотики находятся в стадии клинических испытаний и борьбы с плохой фармакокинетикой.

Заключение

Проведя анализ проблемы антибиотикорезистентности, мы можем сделать вывод о том, что антибиотикорезистентность является глобальной проблемой и тема разработки новых методов по ее преодолению довольно актуальна. Во многих странах уже сейчас действуют государственные программы по борьбе с антибиотикорезистентностью. Однако проанализировать механизмы передачи, хранения и реализации устойчивости к антибиотикам и способы борьбы с антибиотикорезистентностью, можно с уверенностью сказать, что на современном этапе развития медицины, фармакологии, биотехнологии и микробиологии человечество способно справиться с этой проблемой.

1. Antibacterial peptide protocols. in: Methods in Molecular Biology, Vol. 78, 1997. Ed. Shafer W., Totowa, N.J.:Humana Press Inc., 1997. 259 p.
2. Benincasa M., Scocchi M., Podda E., Skerlavaj B., Dolzani L., Gennaro R. Antimicrobial activity of Bac7 fragments against drug-resistant clinical isolates. Peptides, 2004, Vol. 25, Iss. 12, pp. 2055-2061.
3. Chan Y., Gallo R. PR-39, a syndecan-inducing antimicrobial peptide, binds and affects p130(Cas). J. Biol. Chem., 1998, Vol. 273, pp. 28978-28985.
4. Harvig S.S.L., Panyutich E.A., Shevchenko A.A., Aleshina G.V., Shamova O.V.,
5. Korneva E.A., Lehrer R.I. Protegrins: leukocyte antimicrobial peptides that combine features of corticostatic defensins and tachyplesins. FEBS Letters, 1993, Vol. 327, Iss. 2, pp. 231-236. Vol. 67, no. 8, pp. 4106-4111.
6. Mansour S.C., Pena O.M., Hancock R.E. Host defense peptides: front-line immunomodulators. Trends Immunol., 2014, Vol. 35, Iss. 9, pp. 443-450. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1990. Т. 59, № 4. С. 391-393.

7. Mardirossian M., Grzela R., Giglione C., Meinel T., Gennaro R., Mergaert P., Scocchi M. The host antimicrobial peptide Bac7 1-35 binds to bacterial ribosomal proteins and inhibits protein synthesis. *Chem. Biol.*, 2014, Vol. 21, Iss. 12, pp. 1639-1647.
8. Ostorhazi E., Holub M.C., Rozgonyi F., Harmos F., Cassone M., Wade J.D., Otvos L.Jr. Broad-spectrum antimicrobial efficacy of peptide A3-APO in mouse models of multidrug-resistant wound and lung infections cannot be explained by in vitro activity against the pathogens involved. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2011, Vol. 3, Iss. 5, pp. 480-484.
9. Otvos L. Jr. Antibacterial peptides isolated from insects. *J. Pept. Sci.*, 2000, Vol. 6, Iss. 10, pp. 497-511.
10. Scocchi M., Tossi A., Gennaro R. Proline-rich antimicrobial peptides: converging to a non-lytic mechanism of action. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2011, Vol. 68, Iss.13, pp. 2317-2330.
11. Brogden K.A., Zhao C., Nguen T., Turner J., Kokryakov V.N., Lehrer R.I. Purification and properties of proline-rich antimicrobial peptides from sheep and goat leukocytes. *Infection and Immunity*, 1999.