

**Сведения об авторах:**

Батурина Мария Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии с курсом ДПО; тел.: (8652)713466; e-mail: nimdark@mail.ru

Бейер Эдуард Владимирович, доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии, заведующий лабораторией фармакологии; тел.: (8652)354881; e-mail: karokris@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3248-6212>

Журбин Сергей Александрович, начальник Центра экспериментального моделирования научно-инновационного объединения; тел.: 89624005614; e-mail: sergei.jurbin@yandex.ru

Филь Арвик Аркадьевна, кандидат биологических наук, доцент, начальник научного отдела; тел.: 89620200359; e-mail: fil-arevik@yandex.ru

© А. Д. Болатчиев, 2020

УДК 615.28

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15137>

ISSN – 2073-8137

## СПЕКТР АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ДЕФЕНЗИНОВ В ОТНОШЕНИИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

А. Д. Болатчиев

Ставропольский государственный медицинский университет,  
Российская Федерация

## THE SPECTRUM OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DEFENSINS AGAINST GRAM-POSITIVE AND GRAM-NEGATIVE BACTERIAL STRAINS ISOLATED FROM HOSPITALIZED PATIENTS

Bolatchiev A. D.

Stavropol State Medical University, Russian Federation

Изучена противомикробная активность антимикробных пептидов из класса дефензинов (HNP-1, hBD-1, hBD-3) в отношении клинических штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Все исследованные дефензины продемонстрировали противомикробный эффект. Наиболее активным в отношении грамположительных штаммов оказался HNP-1. hBD-3 имел наименьшие значения минимальной подавляющей концентрации по сравнению с остальными изученными дефензинами.

*Ключевые слова:* антимикробные пептиды, дефензины, HNP-1, hBD-1, hBD-3

The antimicrobial activity of antimicrobial peptides (defensins HNP-1, hBD-1, hBD-3) against clinical strains of gram-positive and gram-negative bacteria was studied. All studied defensins demonstrated antimicrobial effect. HNP-1 showed the best activity against gram-positive strains. hBD-3 had the lowest values of the minimum inhibitory concentration compared to the rest of the studied defensins.

*Keywords:* antimicrobial peptides, defensins, antibiotic resistance, HNP-1, hBD-1, hBD-3

**Для цитирования:** Болатчиев А. Д. СПЕКТР АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ДЕФЕНЗИНОВ В ОТНОШЕНИИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(4):576-577.

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15137>

**For citation:** Bolatchiev A. D. THE SPECTRUM OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DEFENSINS AGAINST GRAM-POSITIVE AND GRAM-NEGATIVE BACTERIAL STRAINS ISOLATED FROM HOSPITALIZED PATIENTS. *Medical News of North Caucasus*. 2020;15(4):576-577. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15137> (In Russ.)

АМП – антимикробный пептид

МПК – минимальная подавляющая концентрация

EUCAST – Европейский комитет по определению чувствительности к противомикробным препаратам

HNP-1 – человеческий нейтрофильный пептид-1

hBD-1 – человеческий бета-дефензин-1

hBD-3 – человеческий бета-дефензин-3

MRSA – метициллин-резистентный золотистый стафилококк

MSSA – метициллин-чувствительный золотистый стафилококк

**Устойчивый рост резистентности к противомикробным препаратам является глобальной угрозой. Для решения данной проблемы необходимо исследовать соединения, обладающие выраженной антимикробной активностью [1]. В последнее время активно обсуждается возможность использования антимикробных пептидов (АМП) в качестве перспективных кандидатов на роль новых противомикробных лекарственных средств [2]. Целью данной работы было исследование противомикробной активности трех рекомбинантных АМП из класса дефензинов HNP-1, hBD-1 и hBD-3 в отношении грамположительных (*Enterococcus faecalis*; *Staphylococcus aureus* – MSSA, MRSA) и грамотрицательных (*Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*) клинических штаммов.**

**Материал и методы.** Бактериальные штаммы были изолированы у госпитализированных пациентов в 2019 году. Идентификация микроорганизмов проводилась в соответствии с рекомендациями EUCAST. Для изучения противомикробной активности дефензинов использовался стандартный метод серийных разведений [3], с помощью которого были определены минимальные подавляющие концентрации (МПК, мкг/мл) HNP-1, hBD-1, hBD-3 (рекомбинантные пептиды, Cloud-Clone Corp., США) в отношении *E. faecalis*, MSSA, MRSA, *E. coli* и *P. aeruginosa*. Чистые культуры бактерий культивировали на твердой питательной среде (маннитол-солевой агар, БиоМедиа, Россия) в течение 18–24 часов, 37 °С. Из свежей утренней культуры готовили суспензию на физиологическом растворе, который соответствовал стандарту мутности 0,5 по МакФарланду, то есть полученная суспензия имела приблизительную концентрацию соответствующего микроорганизма  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл. Затем 0,1 мл полученной суспензии растворяли в 9,9 мл 2,1 % бульона Мюллера – Хинтона (SIFIN Institut für Immunpräparate und Nährmedien GmbH, Германия) и в итоге получали раствор – инокулюм, содержащий примерно  $5 \times 10^5$  КОЕ/мл, что соответствует стандартному протоколу EUCAST. Затем по 100 мкл инокулюма вносили в лунки стерильного 96-луночного планшета с U-образным дном (Медполимер, Россия). После этого в лунки вносили серийные двукратные разведения АМП (100 мкл). Для большей точности эксперимента проводили тройной контроль – по три лунки в каждом планшете, содержащие: 1) контроль-1 – только 2,1 % бульон Мюллера – Хинтона (200 мкл, без бактерий и без АМП); 2) контроль-2 – только инокулюм (200 мкл, без АМП); 3) контроль-3 – АМП в максимальной концентрации без инокулюма (200 мкл). АМП растворяли в 2,1 % бульоне Мюллера – Хинтона. Во всех экспериментах АМП имели диапазон концентраций от 0 до 32 мкг/мл. Эксперименты с каждым из микроорганизмов повторяли не менее трех раз. После добавления инокулюма и АМП планшеты с закрытыми крышками (для предотвращения высыхания) инкубировали в термостате при 37 °С. Через 18–20 часов наличие или отсутствие роста оценивали

визуально. За МПК бралось то значение концентрации АМП, при котором визуально полностью отсутствовал рост микроорганизмов.

**Результаты и обсуждение.** Было показано, что все исследованные АМП из класса дефензинов обладают противомикробной активностью в отношении изученных микроорганизмов. МПК дефензинов в отношении *E. faecalis* имели следующие значения: HNP-1 – 1 мкг/мл, hBD-1 – 8 мкг/мл, hBD-3 – 1 мкг/мл. МПК изученных АМП для MSSA и MRSA были одинаковы друг с другом: HNP-1 – 1 мкг/мл, hBD-1 – 0,5 мкг/мл, hBD-3 – 0,5 мкг/мл. В отношении грамотрицательных палочек были получены следующие результаты: МПК для *E. coli* HNP-1 – 16 мкг/мл, hBD-1 – 4 мкг/мл, hBD-3 – 0,5 мкг/мл; для *P. aeruginosa* HNP-1 – 4 мкг/мл, hBD-1 – 16 мкг/мл, hBD-3 – 2 мкг/мл. Таким образом, HNP-1 был в большей степени эффективен против грамположительной флоры, а наиболее эффективным АМП оказался hBD-3, имевший наименьшие значения МПК в отношении всех исследованных клинических изолятов. Полученные результаты в целом согласуются с литературными данными. В большинстве публикаций продемонстрирована активность дефензинов в отношении стандартных бактериальных штаммов [2], однако необходимость анализа активности АМП против клинических изолятов представляет наибольший интерес в связи с высоким распространением антибиотикорезистентности. В настоящее время внедрение АМП в клиническую практику осложняется их быстрой деградацией пептидазами, что ограничивает продолжительность действия [2]. Различные стратегии направлены на защиту дефензинов от ферментов. К примеру, инкапсулирование HNP-1 и hBD-1 в кремнийорганические наноконтейнеры позволяет успешно применять данные АМП для лечения экспериментальных инфицированных ран [3]. Кроме того, АМП могут быть использованы не только в качестве самостоятельных противомикробных агентов, но и в комбинации с уже используемыми в клинической практике противомикробными химиопрепаратами для преодоления резистентности к последним [4]. На основании полученных результатов наиболее перспективным кандидатом на роль нового противомикробного препарата является АМП из класса бета-дефензинов – hBD-3.

**Заключение.** АМП из класса дефензинов, в частности hBD-3, имеют высокий уровень противомикробной активности в отношении клинических штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых антибактериальных препаратов на основе АМП. Для дальнейших исследований наибольший интерес представляет hBD-3.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-315-00081.

**Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.**

#### Литература/References

1. Prestinaci F., Pezzotti P., Pantosti A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*. 2015;109(7):309-318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>
2. Pachón-Ibáñez M. E., Smani Y., Pachón J., Sánchez-Céspedes J. Perspectives for clinical use of engineered human host defense antimicrobial peptides. *FEMS Microbiology Reviews*. 2017;41(3):323-342. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux012>
3. Bolatchiev A., Baturin V., Bazikov I., Maltsev A., Kunitsina E. Effect of antimicrobial peptides HNP-1 and

hBD-1 on *Staphylococcus aureus* strains in vitro and in vivo. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. 2020;34(1):102-108. <https://doi.org/10.1111/fcp.12499>

4. Zharkova M. S., Orlov D. S., Golubeva O. Y., Chakchir O. B., Eliseev I. E. [et al.]. Application of antimicrobial peptides of the innate immune system in combination with conventional antibiotics—a novel way to combat antibiotic resistance? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2019;9(APR):128. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00128>

#### Сведения об авторе

Болатчиев Альберт Добаевич, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры клинической фармакологии с курсом ДПО; тел.: 89288205551; e-mail: bolatalbert@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-2391-9135>