

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГМ- КСФ – ZP2 В ОТНОШЕНИИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ РАЗНОЙ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Гриценко В.А.¹, Тяпаева Я.В.¹, Добрынина М.А.², Зурочка А.В.²

¹ ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

² ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Цель – провести сравнительный анализ бактерицидной активности синтетического пептида ZP2 (СП ZP2) в отношении музейных штаммов и клинических изолятов *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*.

В работе использованы музейные штаммы *E. coli* (ATCC 25922) и *P. aeruginosa* ATCC 27853, а также 104 клинических изолята энтеробактерий, включая *E. coli* (n = 22) и *K. pneumoniae* (n = 82), и 98 клинических изолятов неферментирующих грамотрицательных бактерий, в том числе *P. aeruginosa* (n = 43) и *A. baumannii* (n = 55), выделенных от больных с различной гинекологической и хирургической патологией. Бактерицидную активность СП ZP2 (конечная концентрация 10 мкг/мл) на микроорганизмы оценивали по разнице оптической плотности (OD) опытной и контрольной бульонных культур после 20 мин контакта взвесей бактерий (5×10^8 КОЕ/мл) с пептидом ZP2 (в контроле – с дистиллированной водой), добавления мясопептонного бульона и инкубации при 37 °С в течение 4 часов. Действие СП ZP2 выражали Индексом бактерицидной активности (ИБА, %).

В экспериментах *in vitro* установлено, что СП ZP2 оказывал выраженное бактерицидное действие как на эталонные штаммы *E. coli* и *P. aeruginosa*, так и большинство (95,5–98,2%) изученных клинических изолятов грамотрицательных бактерий вне зависимости от их видовой принадлежности. С учетом средних значений ИБА анализируемые виды бактерий можно ранжировать в порядке повышения их чувствительности к синтетическому пептиду ZP2 в следующий ряд: *P. aeruginosa* (74,0±2,3%) – *E. coli* (77,6±3,5%) – *K. pneumoniae* (82,8±1,6%) – *A. baumannii* (84,3±1,7%). Кроме того, выявлена существенная внутривидовая вариабельность клинических штаммов грамотрицательных бактерий по их чувствительности к бактерицидному действию СП ZP2.

Синтетический пептид ZP2 способен не только ингибировать рост грамотрицательных бактерий, но и оказывать на них бактерицидное действие, что делает его перспективным кандидатом для разработки на его основе новых эффективных лекарственных препаратов с комбинированными иммунобиологическими свойствами для борьбы с инфекционно-воспалительными заболеваниями,

Адрес для переписки:

Гриценко Виктор Александрович
ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11.
Тел.: 8 (919) 868-12-59.
E-mail: vag59@mail.ru

Address for correspondence:

Kuzmicheva Natalia A.
Orenburg State Medical University
460000, Russian Federation, Orenburg, Park ave., 7.
Phone: 7 (987) 847-52-55.
E-mail: natalie-vip@list.ru

Образец цитирования:

В.А. Гриценко, Я.В. Тяпаева, М.А. Добрынина, А.В. Зурочка «Сравнительный анализ бактерицидных свойств синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 в отношении грамотрицательных бактерий разной таксономической принадлежности» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 2. С. 221–228. doi: 10.46235/1028-7221-1016-CAO
© Гриценко В.А. и соавт., 2021

For citation:

V.A. Gritsenko, Ya.V. Tyapaeva, M.A. Dobrynina, A.V. Zurochka “Comparative analysis of bactericidal properties of synthetic peptides from the active center of GM-CSF – ZP2 against different Gram-negative bacteria”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 2, pp. 221–228.
doi: 10.46235/1028-7221-1016-CAO
DOI: 10.46235/1028-7221-1016-CAO

этиологическими агентами которых являются указанные микроорганизмы, нередко проявляющие резистентность широкому кругу антимикробных препаратов, используемых в клинической практике.

Ключевые слова: синтетический пептид GM-CSF – ZP2, бактерицидная активность, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*

COMPARATIVE ANALYSIS OF BACTERICIDAL PROPERTIES OF SYNTHETIC PEPTIDES FROM THE ACTIVE CENTER OF GM-CSF – ZP2 AGAINST DIFFERENT GRAM-NEGATIVE BACTERIA

Gritsenko V.A.^a, Tyarapueva Ya.V.^a, Dobrynina M.A.^b, Zurochka A.V.^b

^a Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

^b Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Abstract. Objective of this study was to carry out comparative analysis of bactericidal activity of synthetic peptide ZP2 (SP ZP2) against museum strains and clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. Materials and methods. We used museum strains of *E. coli* (ATCC 25922) and *P. aeruginosa* ATCC 27853, as well as 104 clinical isolates of Enterobacteriaceae, including *E. coli* (n = 22) and *K. pneumoniae* (n = 82), and 98 clinical isolates of non-fermenting Gram-negative bacteria, including *P. aeruginosa* (n = 43) and *A. baumannii* (n = 55), isolated from patients with various gynecological and surgical infections. Bactericidal activity of SP ZP2 (final concentration 10 µg/ml) against the microorganisms was assessed by difference in optical density (OD) for experimental and control broth cultures after 20 min of contact of bacterial suspensions (5×10^8 CFU/ml) with SP ZP2 (in control – with distilled water), adding meat-peptone broth and 4-hour incubation at 37 °C. The effect of SP ZP2 was expressed by the Bactericidal Activity Index (BAI, %). Results. Using the *in vitro* assays, we have found that SP ZP2 had a pronounced bactericidal effect on both the reference strains of *E. coli* and *P. aeruginosa*, and majority (95.5-98.2%) of the studied clinical isolates of Gram-negative bacteria, regardless of their species. With regard of the average BAI values, the tested bacterial species may be ranked by increasing their sensitivity to the synthetic ZP2 peptide as follows: *P. aeruginosa* (74.0±2.3%) – *E. coli* (77.6±3.5%) – *K. pneumoniae* (82.8±1.6%) – *A. baumannii* (84.3±1.7%). In addition, significant intraspecific variability of clinical isolates of Gram-negative bacteria was revealed for their sensitivity to bactericidal effect of SP ZP2. Conclusion. The synthetic ZP2 peptide is able to inhibit growth of Gram-negative bacteria, as well as exerts a bactericidal effect, thus considering it as a promising candidate for development of new effective drugs with combined immunobiological properties for combatting infectious and inflammatory conditions caused by the indicated microorganisms which show common resistance to a wide range of antimicrobial drugs used in clinical practice.

Keywords: synthetic peptide, GM-CSF – ZP2, bactericidal activity, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*

Работа выполнена по теме из Плана НИР ИИФ УрО РАН, № гос. регистрации АААА-А18-118020690020-1, и теме из Плана НИРОФИЦ УрО РАН, № гос. регистрации 116021510075.

Введение

Санация внутренних органов и тканей макроорганизма, инфицированных патогенными и потенциально патогенными бактериями, обеспечивается различными механизмами и факторами антибактериального иммунитета. При инфекционной патологии в элиминацию возбудителей из очага воспаления вовлекаются как естественные (физиологические) процессы (отток мочи, желчи и других биосекретов, слушивание и выведение

эпителиальных клеток с адгезированными на них бактериями и др.), так и реакции макроорганизма, сопряженные с участием гуморальных и клеточных эффекторов врожденного и адаптивного иммунитета (система комплемента, лизоцим, иммуноглобулины, тромбо- и лейкоцеденины, полиморфноядерные лейкоциты, макрофаги и др.) [1, 3, 16]. Кроме того, при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний для эрадикации патогенов используется обширный арсенал противомикробных средств – антибиотиков и химиотерапевтических препаратов с бактерицидным и бактериостатическим действием. Однако применение последних не всегда гарантирует ожидаемую терапевтическую эффективность из-за нарастающей распространенности и цир-

куляции (особенно активной – в стационарах) микроорганизмов, обладающих высокой устойчивостью к широкому спектру антимикробных средств – поли-антибиотикорезистентностью [2, 10, 18, 21].

Эти обстоятельства заставляют вести интенсивный поиск новых высокоактивных антибактериальных препаратов, одним из перспективных направлений которого служит синтез соединений – аналогов эндогенных пептидов макроорганизма, участвующих в его противомикробной защите [15, 22, 23, 25]. Относительно самостоятельным и современным вектором таких исследований является разработка антибактериальных препаратов на основе некоторых цитокинов, в частности интерлейкина-26 (IL-26), интерферона бета (IFN β) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) [9, 17, 19].

Так, недавно международной группой исследователей обнаружено, что интерлейкин-26 (IL-26), преимущественно продуцируемый особым типом Т-хелперных клонов лимфоцитов (Th17), представляющий собой катионный амфипатический белок, может вызывать гибель и подавлять рост *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), некоторых штаммов *Escherichia coli* (O1: K1: H7, O18: K1: H7, O111: B4, O111: K58: H2) и *Klebsiella pneumoniae* (O1: K2), но не *Enterococcus faecalis* и *Candida albicans*, причем эффективная его концентрация в отношении *E. coli* была в 2,5 раза выше, чем в опытах с золотистым стафилококком [19]. В 2017 г. еще одним коллективом исследователей представлены убедительные доказательства наличия у IFN β антимикробной (причем не только противовирусной, но и антибактериальной) активности [2017]. Авторами экспериментально показано, что человеческий и мышинный IFN β способен ингибировать рост и непосредственно убивать стафилококки (*S. aureus* и *S. epidermidis*), но не *E. coli*. В ряде наших работ экспериментально показано, что синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 проявляет антибактериальное действие, ингибируя рост стафилококков, энтеробактерий и псевдомонад [4, 5, 6, 7].

Вместе с тем остается открытым вопрос о бактерицидной активности синтетического пептида ZP2 (СП ZP2) в отношении микроорганизмов, в частности грамотрицательных бактерий разной видовой принадлежности.

Острота этого вопроса, с одной стороны, связана с тем, что данные микроорганизмы, а именно – энтеробактерии (клебсиеллы, эшерихии и др.), псевдомонады и ацинетобактеры, являются приоритетными возбудителями многих неспецифических инфекционно-воспалительных забо-

леваний эндогенной природы, в том числе нозокомиальных инфекций и послеоперационных осложнений при хирургических вмешательствах у больных с гинекологической и гнойно-воспалительной патологией [3], с другой стороны, обусловлена высокой резистентностью (естественной или приобретенной) указанных патогенов к используемым в клинической практике антимикробным препаратам (даже к резервным карбапенемам) [2, 10, 18, 21], что заставило Всемирную организацию здравоохранения (ВОЗ) отнести их в разряд «критических» инфекционных агентов, против которых необходима срочная разработка новых эффективных лекарственных средств [23].

Цель исследования – провести сравнительный анализ бактерицидной активности синтетического пептида ZP2 в отношении музейных штаммов и клинических изолятов *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*.

Материалы и методы

В работе были использованы музейные штаммы *E. coli* (ATCC 25922) и *P. aeruginosa* ATCC 27853, а также 104 клинических изолята энтеробактерий, включая *E. coli* (n = 22) и *K. pneumoniae* (n = 82), и 98 клинических изолятов неферментирующих грамотрицательных бактерий, в том числе *P. aeruginosa* (n = 43) и *A. baumannii* (n = 55), выделенных от больных с различной гинекологической и хирургической патологией. Выделение и видовую идентификацию бактерий проводили общепринятыми методами с использованием официальных биохимических наборов компании «Erba Lachema s.r.o.» (ЕС, Чехия) и на микробиологическом анализаторе VITEK 2 Compact (Biomerieux, Франция) [12].

Бактерицидное действие синтетического пептида ZP2 (СП ZP2) в отношении изучаемых штаммов бактерий осуществляли по методике [1] в следующем порядке: на изотоническом растворе NaCl готовили взвеси суточных агаровых культур бактерий (5×10^8 КОЕ/мл); по 25 мкл взвесей инокулировали в ячейки пластикового 96-луночного стерильного планшета; в опыте – к взвесям добавляли по 25 мкл раствора СП ZP2 на дистиллированной воде (концентрация 20 мкг/мл; т.е. его конечная/действующая концентрация составляла 10 мкг/мл), в контроле – вместо раствора СП ZP2 вносили 25 мкл дистиллированной воды; смеси выдерживали в течение 20 мин при 37 °С, а затем во все ячейки добавляли 200 мкл мясопептонного бульона; планшета помещалась на 4 часа в термостат при 37 °С, после чего с помощью фотометра Multiscan Accent («Thermo Electron», Финляндия) на длине волны $\lambda = 492$ нм замерялась оптическая плотность (OD) бактери-

ТАБЛИЦА 1. ПАРАМЕТРЫ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МУЗЕЙНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ РАЗНОЙ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ К БАКТЕРИЦИДНОМУ ДЕЙСТВИЮ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА ZP2 (КОНЦЕНТРАЦИЯ – 10 мкг/мл)

TABLE 1. SENSITIVITY PARAMETERS OF MUSEUM AND CLINICAL STRAINS OF GRAM-NEGATIVE BACTERIA OF DIFFERENT SPECIES TO THE BACTERICIDAL EFFECT OF SYNTHETIC PEPTIDE ZP2 (CONCENTRATION – 10 µg/ml)

Изученные штаммы бактерий Studied strains of bacteria	Штаммы, чувствительные к синтетическому пептиду ZP2 Strains sensitive to synthetic peptide ZP2			Штаммы, резистентные к синтетическому пептиду ZP2 Strains resistant to synthetic peptide ZP2		
	Доля штаммов, чувствительных к пептиду ZP2 (%) Proportion of strains sensitive to the ZP2 peptide (%)	Диапазон ИБА (min-max, %) IBA range (min-max, %)	Среднее значение ИБА (%) Average IBA (%)	Доля штаммов, индифферентных к пептиду ZP2 (%) Proportion of strains indifferent to the ZP2 peptide (%)	Доля штаммов со стимуляцией (%) Proportion of stimulated strains (%)	Среднее значение ИС (%) Average IS (%)
Тест-штамм <i>E. coli</i> (ATCC 25922) Test strain <i>E. coli</i> (ATCC 25922)		63,4-69,7	65,7±2,0			
Тест-штамм <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853) Test strain <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)		53,8-61,0	56,4±2,3			
Клинические штаммы <i>E. coli</i> Clinical strains <i>E. coli</i> (n = 22)	95,5±4,5	45,8-98,9	77,6±3,5	-	4,5±4,5	55,1±2,9
Клинические штаммы <i>K. pneumoniae</i> Clinical strains <i>K. pneumoniae</i> (n = 82)	97,6±1,7	42,1-99,8	82,8±1,6	1,2±1,2	1,2±1,2	47,8±2,3
Клинические штаммы <i>P. aeruginosa</i> Clinical strains <i>P. aeruginosa</i> (n = 43)	97,7±2,3	24,4-93,4	74,0±2,3 ^{1,2}	2,3±2,3	-	-
Клинические штаммы <i>A. baumannii</i> Clinical strains <i>A. baumannii</i> (n = 55)	98,2±1,8	44,8-98,8	84,3±1,7	1,8±1,8	-	-

Примечание. Достоверные отличия показателей (p < 0,05) в сравнении: 1 – с *K. pneumoniae*; 2 – с *A. baumannii*.

Note. Significant differences in indicators (p < 0.05) in comparison: 1, with *K. pneumoniae*; 2, with *A. baumannii*.

альных культур в ячейках. Каждый вариант опыта и контроля делался в трех повторностях с вычислением средних значений OD.

Для оценки действия СП ZP2 на исследуемые бактерии высчитывали Индекс бактерицидной активности (ИБА, %) по формуле:

$$\text{ИБА} = (\text{OD}_k - \text{OD}_o) / \text{OD}_k \times 100\%,$$

где OD_k и OD_o – оптические плотности контрольной и опытной культур соответственно. Чувствительными считались штаммы при ИБА > 10%.

Если оптическая плотность опытной культуры превышала оптическую плотность контрольной культуры ($\text{OD}_o > \text{OD}_k$), то рассчитывался Индекс стимуляции (ИС, %) по формуле:

$$\text{ИС} = \text{OD}_o / \text{OD}_k \times 100\%,$$

где OD_k и OD_o – оптические плотности контрольной и опытной культур соответственно. Стимулирующий эффект СП ZP2 регистрировали при ИС > 10%.

Если значения ИБА и ИС не превышали 10%, то штаммы бактерий относили к группе устойчивых культур, но индифферентно реагирующих на пептид ZP2.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики. Вычисляли среднюю арифметическую и ее ошибку ($M \pm m$) с применением пакета прикладных программ Microsoft Excel 2007 и Statistica for Windows 10.0; межгрупповые отличия считали достоверными при $p < 0,05$ [11].

Результаты и обсуждение

В экспериментах *in vitro* установлено, что синтетический пептид ZP2 (СП ZP2) в конечной концентрации 10 мкг/мл проявляет выраженное бактерицидное действие в отношении грамотрицательных бактерий разной таксономической принадлежности (табл. 1).

На это, в первую очередь, указывали показатели чувствительности к СП ZP2 эталонных штаммов *E. coli* (АТСС 25922) и *P. aeruginosa* (АТСС 27853), средние значения ИБА которых составили $65,7 \pm 2,0$ и $56,4 \pm 2,3\%$ соответственно. Кроме того, СП ZP2 оказывал бактерицидное действие на значительную долю (95,5-98,2%) изученных клинических изолятов бактерий вне зависимости от их видовой принадлежности.

Вместе с тем следует отметить, что клинические штаммы микроорганизмов характеризовались внутривидовым разнообразием по своей чувствительности к бактерицидному действию СП ZP2, о чем свидетельствовали широкие диапазоны варьирования Индексов бактерицидной активности (ИБА, %) СП ZP2 во всех выборках изученных изолятов бактерий.

Так, значения ИБА клинических штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae* колебались в диапазонах 45,8-98,9 и 42,1-99,8% соответственно, а клинических изолятов *P. aeruginosa* и *A. baumannii* – 24,4-93,4 и 44,8-98,8% соответственно.

Вместе с тем, при проведении сравнительного анализа средних значений ИБА клинических штаммов грамотрицательных бактерий разной видовой принадлежности установлено, что более высокую чувствительность к бактерицидному действию СП ZP2 проявляли изоляты *K. pneumoniae* и *A. baumannii* (ИБА – $82,8 \pm 1,6$ и $84,3 \pm 1,7\%$ соответственно), а менее высокую – штаммы *E. coli* и *P. aeruginosa* (ИБА – $77,6 \pm 3,5$ и $74,0 \pm 2,3\%$ соответственно), хотя достоверные межгрупповые отличия по этому показателю регистрировались только в выборке псевдомонад при их сравнении с клебсиеллами и ацинетобактерами.

Таким образом, по средним значениям ИБА СП ZP2 изученные грамотрицательные бактерии можно ранжировать в порядке повышения их чувствительности к данному пептиду в следующий ряд: *P. aeruginosa* – *E. coli* – *K. pneumoniae* – *A. baumannii*.

Помимо этого, следует подчеркнуть, что среди изученных клинических изолятов энтеробактерий, псевдомонад и ацинетобактеров имелась очень незначительная доля (1,8-4,5%) штаммов, отличающихся резистентностью к бактерицидному действию СП ZP2, а стимуляция бактериального роста после контакта с СП ZP2 наблюдалась только у энтеробактерий – по 1 штамму среди клебсиелл и эшерихий, уровень которой составил $47,8 \pm 2,3$ и $55,1 \pm 2,9\%$ от контроля. Выявленный феномен стимуляции роста бактерий при действии СП ZP2 требует специального изучения, хотя, вероятно, он встречается не часто.

Заключение и выводы

Представленные экспериментальные данные по сравнительному анализу бактерицидного действия синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на грамотрицательные микроорганизмы разной видовой принадлежности интересны как в теоретическом, так и практическом отношении.

Во-первых, они подтверждают тезис о наличии у цитокинов (возможно, не у всех) бивалентной иммунобиологической активности, сочетающей в себе иммуномодулирующую (регуляторную) и антимикробную направленность. Вполне возможно, что в ближайшее время к ГМ-КСФ, IL-26, IFN β и некоторым хемокинам (киноцидинам) присоединятся и другие цитокины с функциональной бивалентностью и, в первую очередь, те из них, в молекулярной структуре ко-

торых имеются α -спиральные пептидные участки с катионными и амфипатическими свойствами. Причем антимикробные эффекты таких цитокинов могут быть обусловлены не только (или не столько) цельной молекулой иммуномедиатора, но и отдельными ее пептидными компонентами, образующимися при ферментативной деградации цитокина, как, например, это происходит при расщеплении под действием сериновых протеаз кателицидина с выделением антимикробного пептида из 37 аминокислотных остатков (LL-37) [17]. По крайней мере, о таком сценарии говорят данные по изучению антибактериальной активности $IFN\beta$, которую связывают с отдельными частями его молекулярной структуры (особенно пептидной спиралью 4), которые характеризовались катионными и амфипатическими свойствами, аналогичными α -спиральным известным катионным антимикробным пептидам, поскольку *de novo* синтезированный пептид указанной спирали 4 обладал антибактериальным эффектом, тождественным действию такого антимикробного пептида, как LL-37 [17]. Авторы относят $IFN\beta$ (на наш взгляд, в значительной степени условно) к семейству α - и β -киноцидинов, многие из которых, действительно являясь хемокинами (СХС- и СС-типов) с присущей им иммуностимулирующей активностью, формируют большую группу тромбоцитарных белков, параллельно выполняющих микробицидную функцию [14, 20, 25].

Словом, некоторые (или многие) цитокины, кроме своей регуляторной (иммуномодулирующей) функции, способны оказывать прямое антибактериальное действие на различные патогены в условиях *in vitro* и *in vivo*.

Во-вторых, эти результаты демонстрируют возможность использования синтетического пептида ZP в качестве основы для создания новых высокоэффективных антимикробных лекарственных средств, в которых так нуждается клиническая медицина, ежедневно сталкивающаяся с проблемой устойчивости возбудителей к применяемым препаратам. Важно отметить, что синтетический пептид ZP способен не только ингибировать рост грамотрицательных бактерий [5, 6], но и оказывать на них прямое бактерицидное действие.

Учитывая, что синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора — ZP2, кроме антибактериальной активности, обладает иммуномодулирующими и репарационными эффектами, созданное на его основе косметическое средство «АЦЕГРАМ» [8] может быть рекомендовано для местного лечения гнойно-некротических процессов (например при синдроме диабетической стопы), а также для профилактики послеоперационных инфекционных осложнений в хирургии и гинекологии, нередко инициируемых энтеробактериями, псевдомонадами и ацинетобактериями.

Список литературы / References

1. Бухарин О.В., Брудастов Ю.А., Гриценко В.А., Дерябин Д.Г. Роль способности бактерий к инактивации факторов естественной противомикробной резистентности в их устойчивости к бактерицидному действию крови (сыворотки крови) // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1996. № 2. С. 174-176. [Bukharin O.V., Brudastov Yu.A., Gritsenko V.A., Deryabin D.G. The role of the ability of bacteria to inactivate factors of natural anti-infectious resistance in their resistance to the bactericidal action of blood (blood serum). *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 1996, no. 2, pp. 174-176. (In Russ.)]
2. Горбич Ю.Л., Карпов И.А. Значение адекватной эмпирической терапии при нозокомиальных инфекциях, вызванных *Acinetobacter baumannii* // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2012. Т. 14, № 1. С. 67-73. [Gorbich Yu.L., Karpov I.A. The importance of adequate empiric therapy for nosocomial infections caused by *Acinetobacter baumannii*. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2012, Vol. 14, no. 1, pp. 67-73. (In Russ.)]
3. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств в патогенезе эндогенных инфекций // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2009. № 4. С. 66-71. [Gritsenko V.A., Ivanov Yu.B. The role of persistent properties in the pathogenesis of endogenous infections. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2009. n. 4, pp. 66-71. (In Russ.)]
4. Добрынина М.А., Зурочка В.А., Зурочка А.В., Гриценко В.А. Сравнительный анализ влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора — ZP2 на рост музейных культур бактерий родов *Staphylococcus* и *Escherichia in vitro* // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2015. № 2, С. 1-10. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>. [Dobrynina M.A., Zurochka V.A., Zurochka A.V., Gritsenko V.A. Comparative analysis of the effect of a synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor — ZP2 on the growth of museum cultures of bacteria of the genera *Staphylococcus* and *Escherichia in vitro*. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2015, no. 2, pp. 1-10. [Electronic

resource] (In Russ.)). Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>.

5. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Гриценко В.А. Оценка влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на рост и биопленкообразование клинических изолятов энтеробактерий *in vitro* // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2018. № 4. С. 1-17. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2018-4/Articles/MAD-2018-4.pdf>. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P., Gritsenko V.A. Evaluation of the effect of a synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor – ZP2 on the growth and biofilm formation of clinical isolates of enterobacteria *in vitro*. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2018, no. 4, pp. 1-17. [Electronic resource] (In Russ.)] Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2018-4/Articles/MAD-2018-4.pdf>.

6. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Мругова Т.М., Гриценко В.А. Антибактериальная активность косметического средства «Ацеграм» в отношении грамотрицательных бактерий // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2017. № 4. С. 1-13. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2017-4/Articles/VAG-2017-4.pdf>. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P., Mrugova T.M., Gri-tsenko V.A. Antibacterial activity of the “Acegram” cosmetic product against gram-negative bacteria. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2017, no. 4, pp. 1-13. [Electronic resource] (In Russ.)] Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2017-4/Articles/VAG-2017-4.pdf>.

7. Зурочка А.В., Гриценко В.А., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б. Влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на кинетику развития популяций грамположительных кокков и энтеробактерий в культуре // Российский иммунологический журнал, 2015. Т. 9 (18), № 2-2. С. 30-35. [Zurochka A.V., Gritsenko V.A., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B. The effect of the synthetic peptide of the active center of GM-CSF – ZP2 on the kinetics of the development of populations of gram-positive cocci and enterobacteria in culture. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 2-2, pp. 30-35. (In Russ.)]

8. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукардт В.В., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для создания косметических средств нового поколения с комбинированными эффектами – АЦЕГРАМ-ГЕЛЬ и АЦЕГРАМ-СПРЕЙ // Российский иммунологический журнал, 2016. Т. 10 (19), № 3. С. 269-272. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukardt V.V., Gritsenko V.A. Synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as a basis for the creation of new generation cosmetics with combined effects – ACEGRAM-GEL and ACEGRAM-SPRAY. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2016, Vol. 10 (19), no. 3, pp. 269-272. (In Russ.)]

9. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукардт В.В., Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Черешнев В.А. Феномен наличия уникальной комбинации иммунобиологических свойств у синтетического аналога активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2016. Т. 2. 30 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf>. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Gritsenko V.A., Tyapaeva Ya.V., Chereshev V.A. The phenomenon of the presence of a unique combination of immunobiological properties of the synthetic analogue of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2016, Vol. 2, 30 p. [Electronic resource] (In Russ.)] Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf>.

10. Иванов Д.В., Крапивина И.В., Галева Е.В. Нозокомиальные инфекции: эпидемиология, патогенез, этиология, антибактериальная терапия и профилактика // Антибиотики и химиотерапия, 2005. Т. 50, № 12. С. 19-28. [Ivanov D.V., Krapivina I.V., Galeva E.V. Nosocomial infections: epidemiology, pathogenesis, etiology, antibiotic therapy and prevention. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2005, Vol. 50, no. 12, pp. 19-28. (In Russ.)]

11. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с. [Lakin G.F. Biometrics]. Moscow: Vysshaya shkola, 1990. 352 p.

12. МР 02.032-08. Идентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антибиотикам с применением автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact. Методические рекомендации. М., 2008. [MR 02.032-08. Identification of microorganisms and determination of their sensitivity to antibiotics using an automatic microbiological analyzer VITEK 2 Compact. Guidelines. Moscow, 2008.]

13. Мругова Т.М., Качалова И.В. Особенности таксономической структуры и резистентности к антибиотикам микрофлоры, изолированной от больных в многопрофильном хирургическом стационаре // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2016. № 2. 12 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/MTM-2016-2.pdf>. [Mrugova T.M., Kachalova I.V. Features of the taxonomic structure and antibiotic resistance of microflora isolated from patients in a

multidisciplinary surgical hospital. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2016, no. 2, 12 p. [Electronic resource] (In Russ.)] Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/MTM-2016-2.pdf>

14. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 2. Тромбоциты как участники иммунных реакций // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 1. С. 9-20. [Serebryanaya N.B., Shanin S.N., Fomicheva E.E., Yakutseni P.P. Platelets as activators and regulators of inflammatory and immune responses. Part 2. Platelets as participants in immune reactions. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 9-20. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-9-20.

15. Brogden K.A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2005, no. 3. pp. 238-250.

16. Finlay B.B., Hancock R.E.W. Can innate immunity be enhanced to treat microbial infections? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004, no. 2, pp. 497-504.

17. Kaplan A., Lee M.W., Wolf A.J., Limon J., Becker C.A., Ding M., Murali R., Lee E.Y., Liu G.Y., Wong G.C.L., Underhill D.M. Direct Antimicrobial Activity of IFN- β . *J. Immunol.*, 2017, no. 198., pp. 4036-4045.

18. Leopold S.J., van Leth F., Tarekegn H., Schults C. Antimicrobial drug resistance among clinically relevant bacterial isolates in Sub-Saharan Africa: A Systematic Review. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2014, Vol. 69, no. 9, pp. 2337-2353.

19. Meller S., Domizio J.D., Voo K.S. Th17 cells promote microbial killing and innate immune sensing of DNA via interleukin 26. *Nat. Immunol.*, 2015, Vol. 16, no. 9. pp. 970-979.

20. Schmidt N.W., Mishra A., Lai G.H., Davis M., Sanders L.K., Tran D., Garcia A., Tai K.P., McCray Jr. P.B., Ouellette A.J., Selsted M.E., Wong G.C.L. Criterion for amino acid composition of defensins and antimicrobial peptides based on geometry of membrane destabilization. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, Vol. 133, pp. 6720-6727.

21. Spellberg B., Guidos R., Gilbert D. The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the infectious diseases society of America. *Clin. Infect. Dis.*, 2008, Vol. 46, pp. 155-164.

22. Vasilchenko A.S., Vasilchenko A.V., Pashkova T.M., Smirnova M.P., Kolodkin N.I., Manukhov I.V., Zavilgelsky G.B., Sizova E.A., Kartashova O.L., Simbirtsev A.S., Rogozhin E.A., Duskaev G.K., Sycheva M.V. Antimicrobial activity of the indolicidinderived novel synthetic peptide In-58. *J. Pept. Sci.*, 2017, Vol. 23, pp. 855-863.

23. Walsh C. Where will new antibiotics come from? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2003, Vol. 1, no. 1. pp. 65-70.

24. WHO: First ever list of antibiotic-resistant "priority pathogens". GENEVA, 2017. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed>.

25. Yount N.Y., Yeaman M.R. Emerging themes and therapeutic prospects for anti-infective peptides. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2012, Vol. 52, pp. 337-360.

Авторы:

Гриценко В.А. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Тяпаева Я.В. — заочный аспирант ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Добрынина М.А. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Зурочка А.В. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Gritsenko V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Main Research Associate, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Tyapayeva Ya.V., Postgraduate Student, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Dobrynina M.A., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Inflammation Immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Zurochka A.V., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Inflammation Immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Поступила 20.05.2021
Принята к печати 17.06.2021

Received 20.05.2021
Accepted 17.06.2021