

Оксидативный стресс, индуцированный антибактериальными препаратами, и антибиотикорезистентность бактерий

Л.Б.Постникова¹, С.К.Соодаева^{2,3}, И.А.Климанов², Н.И.Кубышева⁴, К.И.Афиногенов⁵, М.В.Глухова³, Л.Ю.Никитина⁶

- 1 – Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Нижегородской области «Городская клиническая больница № 38 Нижегородского района г. Нижнего Новгорода»: 603000, Нижний Новгород, ул. Чернышевского, 22;
- 2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства»: 105077: Москва, ул. 11-я Парковая, 32, корп. 4;
- 3 – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;
- 4 – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации: 420000, Республика Татарстан, Казань, ул. Кремлевская, 18;
- 5 – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства»: 143000, Московская область, г. Одинцово, Красногорское шоссе, 15;
- 6 – Бюджетное учреждение высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»: 628007, Ханты-Мансийск, ул. Мира, 40

Информация об авторах

Постникова Лариса Борисовна – д. м. н., доцент, главный внештатный специалист-пульмонолог Министерства здравоохранения Нижегородской области, консультант-пульмонолог Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Нижегородской области «Городская клиническая больница № 38 Нижегородского района г. Нижнего Новгорода»; тел.: (910) 390-64-37; e-mail: plbreath@mail.ru

Соодаева Светлана Келдибековна – д. м. н., профессор, заведующая лабораторией клинической и экспериментальной биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства», профессор кафедры патологии человека Института профессионального образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (495) 465-52-64; e-mail: soodaeva@mail.ru

Климанов Игорь Александрович – к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории клинической и экспериментальной биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства»; тел.: (495) 465-52-64; e-mail: igorklimanov@yandex.ru

Кубышева Наиля Исхаковна – д. б. н., старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории «Медицинская информатика» Высшей школы информационных технологий и информационных систем Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации; тел.: (910) 796-98-38; e-mail: aibolit70@mail.ru

Афиногенов Кирилл Игоревич – врач-пульмонолог Государственной клиники 123 персонализированной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства»; тел.: (919) 969-19-90; e-mail: afinogenovk@mail.ru

Глухова Мария Вячеславовна – аспирант Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (985) 641-17-63; e-mail: glukhova.88@gmail.com

Никитина Лидия Юрьевна – д. м. н., заведующая кафедрой терапии факультета дополнительного профессионального образования Бюджетного учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»; тел.: (908) 882-86-20; e-mail: lidiya_nikitina@mail.ru

Резюме

В обзоре представлены обобщенные литературные данные по проблеме антибиотикорезистентности бактерий, обусловленной оксидативным стрессом (ОС) под влиянием антибактериальных препаратов (АБП). Среди ранее изученных механизмов ОС бактериальной клетки выделены следующие: образование активных форм и радикалов кислорода и субстратов окисления белков, жирные кислоты, присутствие во внутриклеточной среде молекулярного кислорода и ионов металлов переменной валентности. Изучение роли антиоксидантной системы у бактерий при различных воздействиях, не связанных с прямым действием экзогенных оксидантов, находится в начальной стадии. Потенциальное участие внутриклеточных антиоксидантов бактерий в развитии устойчивости к АБП в настоящее время уже не вызывает сомнений. Понимание связи между ОС и устойчивостью бактерий к АБП может способствовать разработке новых антимикробных препаратов как в направлении усиления их окислительных свойств, так и в области поиска новых мишеней сдерживания антиоксидантной защиты патогенных бактерий. Показано, что на сегодняшний день актуально дальнейшее изучение механизмов антибиотикорезистентности, опосредованной нарушением равновесия оксиданты / антиоксиданты в микробной клетке, однако при этом требуется проведение исследований не только в экспериментальных условиях, но и при использовании клинического материала.

Ключевые слова: оксидативный стресс, антибактериальные препараты, антиоксиданты, бактерии, антибиотикорезистентность.

Для цитирования: Постникова Л.Б., Соодаева С.К., Климанов И.А., Кубышева Н.И., Афиногенов К.И., Глухова М.В., Никитина Л.Ю. Оксидативный стресс, индуцированный антибактериальными препаратами, и антибиотикорезистентность бактерий. *Пульмонология*. 2017; 27 (5): 664–671. DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-5-664-671

Antibiotic-induced oxidative stress and antibiotic resistance

Larisa B. Postnikova¹, Svetlana K. Soodaeva^{2,3}, Igor' A. Klimanov², Nailya I. Kubysheva⁴, Kirill I. Afinogenov⁵, Mariya V. Glukhova³, Lidiya Yu. Nikitina⁶

- 1 – Nizhniy Novgorod Regional City Teaching Hospital No.38: ul. Chernyshevskogo 22, Nizhniy Novgorod, 603000, Russia;
- 2 – Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia: ul. Odinnadsataya Parkovaya 32, build. 4, Moscow, 105077, Russia;

- 3 – I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Healthcare Ministry of Russia: Trubetskaya ul. 8, build. 2, Moscow, 119991, Russia;
 4 – Kazan (Volga region) Federal University, Kazan University the Ministry of education and science of the Russian Federation: Kremlevskaja ul., 18, Kazan', 420000, Tatarstan Republic, Russia;
 5 – Federal State Research and Clinical Center of Physical and Chemical Medicine, Federal Medical and Biological Agency of Russia; Krasnogorskoe shosse 15, Odintsovo of Moscow region, 143003, Russia;
 6 – Khanty-Mansiyskaya State Medical Academy: ul. Mira 40, Khanty-Mansiysk, 628007, Russia

Author information

Larisa B. Postnikova, Doctor of Medicine, Associate Professor, Nizhniy Novgorod Regional City Teaching Hospital No.38; Chief Pneumologist of Healthcare Ministry of Nizhniy Novgorod region; tel.: 910-390-64-37; e-mail: plbreath@mail.ru

Svetlana K. Soodaeva, Doctor of Medicine, Professor, Head of Laboratory of Clinical and Experimental Biophysics, Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; Professor at Department of Human Pathology, I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: 495-465-52-64; e-mail: soodaeva@mail.ru

Igor' A. Klimanov, Candidate of Medicine, Senior Researcher at Laboratory of Clinical and Experimental Biophysics, Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; tel.: 495-465-52-64; e-mail: igorklimanov@yandex.ru

Nailya I. Kubysheva, Doctor of Biology, Senior Researcher of the Research Laboratory "Health Informatics" of Kazan (Volga region) Federal University, Kazan University The Ministry of education and science of the Russian Federation; tel.: (910) 796-98-38; e-mail: aibolit70@mail.ru

Kirill I. Afinogenov, Pulmonologist, Federal Teaching Hospital No.123, Federal State Research and Clinical Center of Physical and Chemical Medicine, Federal Medical and Biological Agency of Russia; tel.: (919) 969-19-90; e-mail: afinogenov.k@mail.ru

Mariya V. Glukhova, Postgraduate student at Department of Human Pathology, I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (985) 641-17-63; e-mail: glukhova.88@gmail.com

Lidiya Yu. Nikitina, Doctor of Medicine, Head of Department of Therapy, Khanty Mansiysk State Medical Academy; tel.: 908-882-86-20, fax: 3467-32-45-88; e-mail: lidiya_nikitina@mail.ru

Abstract

This is a review of published data on oxidative stress-induced antibiotic resistance of pathogens caused by antimicrobials. Known mechanisms of oxidative stress in a bacterial cell include occurrence of oxygen reactive species, protein oxidation products, fat acids, intracellular molecular oxygen and transition metal ions. Investigations of bacterial antioxidant defense under antibiotic-induced oxidative stress are at an early stage. Understanding the relationship between oxidative stress and bacterial resistance to antibiotics could facilitate development of novel antimicrobials due to both stimulation of oxidation properties of antimicrobials and searching new ways for inhibition of antioxidant defense of pathogens.

Key words: oxidative stress, antibiotics, antioxidant, bacteria, antibiotic resistance.

For citation: Postnikova L.B., Soodaeva S.K., Klimanov I.A., Kubysheva N.I., Afinogenov K.I., Glukhova M.V., Nikitina L.Yu. Antibiotic-induced oxidative stress and antibiotic resistance. *Russian Pulmonology*. 2017; 27 (5): 664–671 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-5-664-671

В начале XX в. жизненно важной проблемой явилось создание лекарственных препаратов, которые могли бы кардинально изменить ситуацию в борьбе с инфекционными заболеваниями. Эти ожидания были воплощены в реальную жизнь благодаря открытию А.Флемингом (1929) первого антибактериального препарата (АБП) пенициллина, что стимулировало новое научное направление в биологии и медицине – создание и изучение эффективности и безопасности АБП [1]. Однако уже через 15 лет после своего открытия А.Флеминг выступил с гипотезой о том, что активная антибактериальная терапия инфекционных заболеваний может привести к снижению чувствительности бактерий к АБП. Сегодня эксперты предупреждают о возможности возвращения к преантibiотической эпохе. Современная база данных

включает > 20 000 генов потенциальной резистентности бактерий почти 400 различных типов.

На современном этапе в клинической практике АБП представляют собой самую многочисленную группу лекарственных средств. В России в настоящее время используется > 30 различных групп анти-микробных средств, а число АБП превышает 200. Несмотря на различия в химической структуре и механизмах действия, все АБП объединены следующими специфическими свойствами:

- мишени воздействия АБП находятся в клетках патогенных микроорганизмов;
- активность АБП не является постоянной, а снижается со временем, что связано с формированием у патогенных бактерий **приобретенной антибиотикорезистентности** [2].

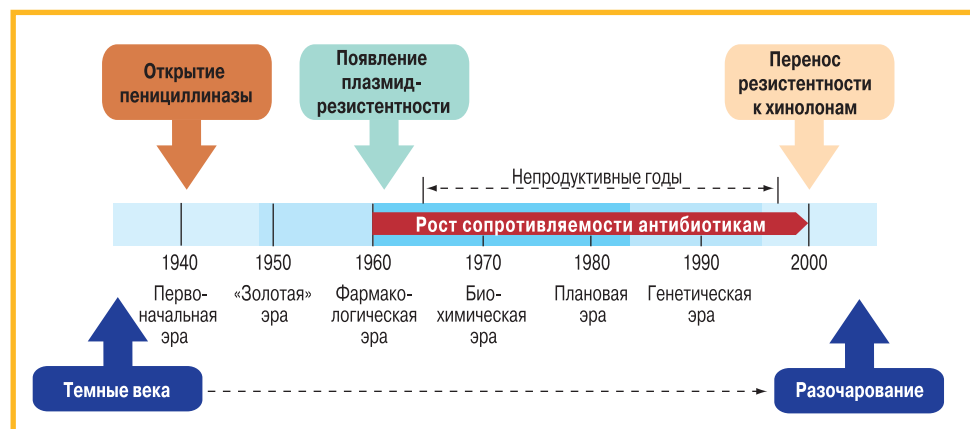


Рис. 1. История открытия антибактериальных препаратов и развития устойчивости к ним [3]
 Figure 1. History of antibiotic discovery and development of anti-bacterial resistance [3]

На рис. 1 отражена последовательность открытия АБП и развития резистентности их основных классов [3].

Появление резистентных штаммов обусловлено 2 ключевыми механизмами: генетическими (приобретение новой генетической информации, изменение уровня экспрессии собственных генов, мутации собственной ДНК) [4] и биохимическими (синтез белков, предотвращающих связывание АБП с мишенями бактерий или модификация мишени действия; инактивация АБП, например, их ферментативное разрушение; активное выведение АБП из микробной клетки (эффлюкс); нарушение проницаемости мембраны микробной клетки вследствие изменения структуры пориновых каналов или при их утрате; образование биопленок) [5]. Приобретенная резистентность бактерий закрепляется и передается по наследству следующим поколениям.

Увеличение распространенности штаммов патогенных микроорганизмов, устойчивых к АБП, способствует снижению эффективности терапии инфекционных болезней. Поэтому в современных условиях разработка новых АБП связана с исследованиями адаптационных реакций бактериальной клетки на вызванный ими стресс и направлена на выявление новых внутриклеточных мишеней патогенов. Все большее внимание уделяется изучению условий, модифицирующих действие АБП.

В последнее время в научной литературе активно обсуждается роль оксидативного стресса (ОС) в эрадикации патогенных бактерий, прежде всего ОС, стимулированного бактерицидными АБП [6–8]. Для индукции свободнорадикальных реакций в бактериальной клетке (рис. 2) необходимы и достаточными можно считать следующие условия [9–11]:

- образование активных форм и радикалов кислорода ($O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$ и т. п.);
- наличие субстратов окисления (полиненасыщенные жирные кислоты);
- присутствие во внутриклеточной среде молекулярного кислорода (O_2);
- наличие ионов металлов переменной валентности.

Одним из негативных проявлений ОС является избыточная пероксидация липидов бактериальной клетки, что приводит к снижению текучести мембраны, изменению проницаемости мембраны бактерий для различных субстанций (K^+ , Ca^{2+} и т. д.) и функциональной активности мембранных протеинов, рецепторов, энзимов и ионных каналов. Интенсивное свободнорадикальное окисление полиненасыщенных жирных кислот фосфолипидов биомембран может привести к потере целостности мембран.

Установлено, что под влиянием β -лактамов АБП в бактериальной клетке усиливается окисление гуанина до 8-оксигуанина, молекулы которого встраиваются в ДНК. При избыточном уровне 8-оксигуанина, ДНК-полимераза IV, одной из функций которой является удаление из ДНК нелегитимных нуклеотидов, не успевает восстанавливать структуру ДНК и это приводит к ее двунитчатым разрывам [12].

Под воздействием прооксидантов происходит усиление окислительно-восстановительного потенциала в сторону окислительных реакций, активирующих фактор транскрипции NF- κ B. Ключевым звеном активации NF- κ B является димерный комплекс IKK α/β . Каждая из субъединиц IKK α/β имеет в каталитическом домене несколько остатков цистеина, которые могут выступать в качестве редокс-чувстви-

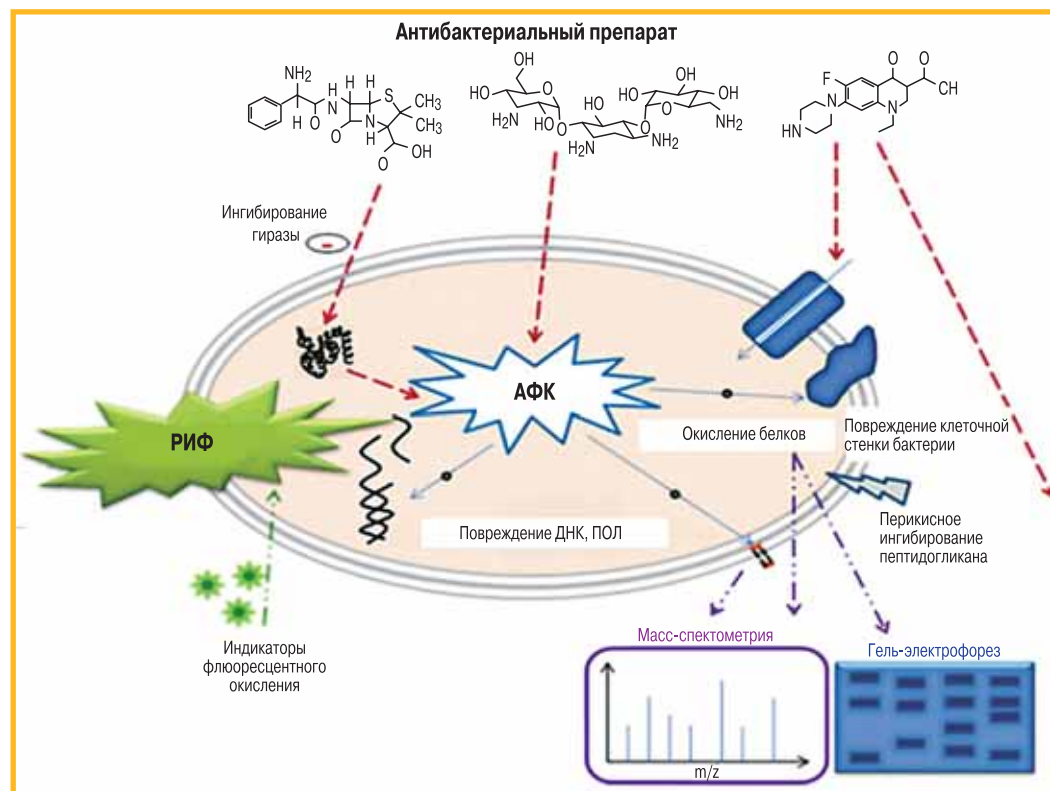


Рис. 2. Схема реализации оксидативного стресса в бактериях под влиянием антибактериальных препаратов [10]
Примечание: АФК – активные формы кислорода; РИФ – реакция иммунофлуоресценции; ПОЛ – перекисное окисление липидов.
Figure 2. Development of antibiotic-induced oxidative stress in bacterial cell [10]

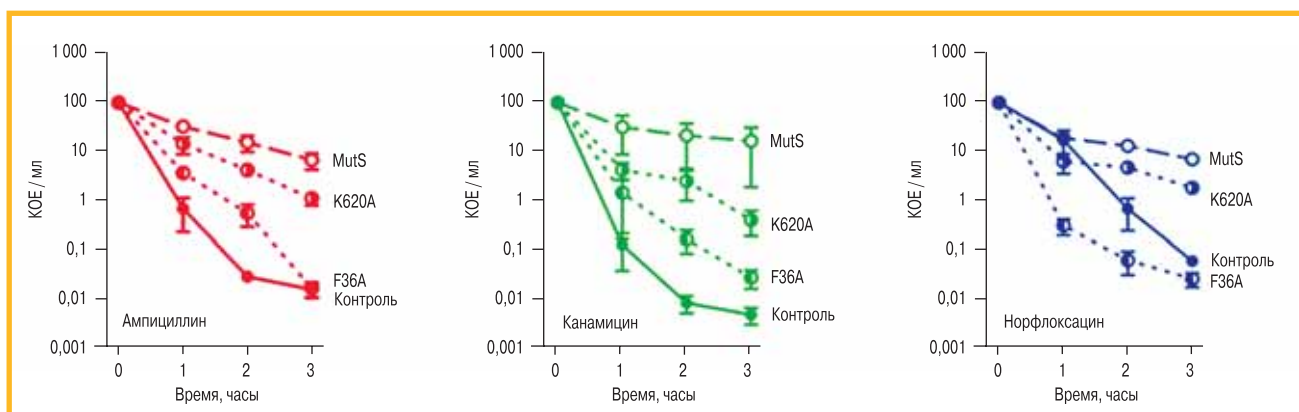


Рис. 3. Влияние оксидативного стресса, индуцированного антибактериальным препаратом, на гибель бактерий [13]
Примечание: при добавлении к культуре бактерий антибактериальных препаратов в сочетании каталазой (K620A) и ферментом репарации ДНК (MutS) зарегистрировано снижение гибели бактерий по сравнению с контролем.

Figure 3. An impact of antibiotic-induced oxidative stress on killing the bacteria [13]

Note. Supplementation of antibiotics (ampicillin, kanamycin, norfloxacin) together with catalase (K620A) and DNA reparation enzyme (MutS) to bacterial cells suppress killing of bacteria compared to control.

тельного триггера, улавливающего изменения редокс-статуса цитозоля и вследствие этого способного обратимо модулировать киназную активность ИКК α/β . Фосфорилирование ИКК α/β осуществляется тирозинкиназами (МАРК-киназами) после их предварительной рецептор-опосредованной активации цитокинами [11]. О вкладе редокс-стресса в механизмы гибели бактерий под воздействием антимикробных препаратов свидетельствуют результаты экспериментов, указывающие на повышение внутриклеточной концентрации пероксида водорода и экспрессии антиоксидантных генов микробных клеток в присутствии АБП.

В отдельных исследованиях также продемонстрировано, что гиперэкспрессия каталазы и фермента

репарации ДНК (MutS) в клетках бактерий (рис. 3), а также предварительное добавление к бактериям антиоксидантов (глутатион, аскорбат) снижают летальность микробных клеток под воздействием различных АБП, что косвенно свидетельствует о роли антиоксидантной системы патогенных микробов в защите против ОС, индуцированного АБП [13].

В работе *О.Н. Октябрьского и соавт.* [14] отмечено, что внутриклеточные тиоловые редокс-системы у бактерий *Escherichia coli* включают системы глутатиона (GSH, глутатионредуктаза, глутаредоксины) и тиоредоксина (тиоредоксины, тиоредоксинредуктаза). Эти редокс-системы обеспечивают поддержание восстановленного состояния SH-групп в различных белках, многие из которых являются важными фер-

Таблица 1
Методы изучения оксидативного стресса, индуцированного антибактериальными препаратами, в бактериях [10]

Table 1
Methods for investigation of antibiotic-induced oxidative stress in bacteria [10]

Методы и стратегии	Микроорганизмы	АБП (другие индукторы ОС)	Результаты
Метод хемилюминисценции	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	Ципрофлоксацин, ампициллин, хлорамфеникол, цефтазидим, пиперациллин, пенициллин, линезолид	Флюоресцентный стимулятор усиливал свечение в бактериях в присутствии АБП, что косвенно отражает активацию ОС и накопление АФК [8, 15–17]
Оценка реакции Фентона	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>	Норфлоксацин, ампициллин, канамицин, хлорамфеникол	Зарегистрировано повышение продукции гидроксильных радикалов в присутствии ионов железа [6, 16, 18, 19]
Определение мутантных штаммов бактерий	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	Ципрофлоксацин ампициллин, хлорамфеникол, цефтазидим, пиперациллин	При добавлении тиомочевины и / или 2,2'-бипиридила к бактериям повышалась их выживаемость, что подтверждает участие АФК в гибели бактерий в контроле [15, 17]
Экспрессия генов	<i>E. coli</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Норфлоксацин, ампициллин, канамицин, хлорамфеникол	В бактериальных клетках обнаружены специфические гены, ответственные за ОС [8, 20]
Метод матрично-активированной лазерной десорбционной ионизационной масс-спектрометрии (MALDI-MS)	<i>Paracoccidioides yeast</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Leishmania donovani</i>	Перекись водорода, ФДТ	Установлено 179 белков и их изоформ, индуцированных ОС [21, 22]
ESI масс-спектрометрия	<i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Helicobacter pylori</i>	Экспозиция внешних АФК, перекись водорода	Выявлены белки и их изоформы, индуцированные ОС [21, 22]
Полимеразная цепная реакция	<i>Paracoccidioides yeast</i> , <i>S. aureus</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>H. pylori</i>	Перекись водорода, ФДТ, экспозиция внешних АФК	Определены фрагменты ДНК бактерий [21, 22–24]

Примечание: ОС – оксидативный стресс; АБП – антибактериальный препарат; АФК – активные формы кислорода; ФДТ – фотодинамическая терапия.

ментами, сенсорными или регуляторными факторами, прямо или косвенно участвующими в реакциях, блокирующих развитие ОС.

Следовательно, если ОС является одним из механизмов индуцированной АБП клеточной смерти, то патогенные бактерии будут стремиться к реализации ответных реакций, направленных на активацию собственной системы антиоксидантной защиты [9].

Изучение ОС, индуцированного антибактериальными препаратами, в бактериях с определением различных прооксидантов доступными и высокотехнологичными методами является важным шагом в уточнении роли различных звеньев ОС в формировании устойчивости бактерий к АБП.

В табл. 1 суммированы методы и стратегии оценки ОС в бактериальных клетках на фоне влияния различных АБП, использованные в различных исследованиях, а также представлены результаты этих исследований.

Непрерывный мониторинг активных форм кислорода (АФК) в биологических системах – одна из нерешенных проблем в связи с их высокой реакционной способностью и коротким сроком жизни. Более того, изучение кинетических характеристик АФК является крайне сложным из-за множества взаимосвязанных друг с другом окислительно-восстановительных реакций и низких концентраций АФК, динамично меняющихся с течением времени. Часто в лабораторных условиях используются косвенные методы оценки активности ОС – измерение спонтанной и индуцированной хемилюминисценции клеток [25]. Однако методы хемилюминисценции являются неспецифичными и имеют низкую селективность в отношении конкретного вида АФК [15].

Активное использование методов регистрации ОС в бактериях проблематично, что связано с высокой стоимостью и трудоемкостью исследований, а также получением косвенной (например, метод хемилюминисценции, оценка реакции Фентона) и ограниченной информации (определение какого-то одного маркера ОС). Для получения более полной информации о вкладе ОС в гибель бактерий рекомендовано использование комплекса различных методов [26].

Изучение роли антиоксидантной системы у бактерий при различных воздействиях, не связанных с прямым действием экзогенных оксидантов, находится в начальной стадии. Потенциальное участие внутриклеточных антиоксидантов бактерий в развитии устойчивости к АБП в настоящее время уже не вызывает сомнений. Однако число и объем этих исследований недостаточны.

Известно, что обработка бактерий *E. coli* различными АБП приводит к индукции гена *sodA*, кодирующего супероксиддисмутазу, генов *soxS*, регулирующих ответ на действие перекиси водорода,

и повышению уровня внутриклеточного глутатиона, играющего в эукариотических клетках ключевую роль в защите от оксидантов и ксенобиотиков¹.

По результатам исследования Е.В.Лепехиной² показано, что используемые в эксперименте одиночные и двойные мутанты *E. coli* по компонентам тиоловых редокс-систем имеют широкий спектр антиоксидантной активности (экспрессия антиоксидантных генов, активность каталаз, уровень глутатиона) и различную устойчивость к ОС. Кроме того, развитие мутаций по компонентам тиоловых редокс-систем приводило к ингибированию подвижности бактерий и сильно модифицировало их способность к формированию биопленок. По сравнению с планктонными свободно плавающими одиночными *E. coli* биопленки представляют собой микробные сообщества прикрепленных к субстрату и погруженных в экстраклеточный матрикс клеток. Этот жизненный стиль бактерий характеризуется высокой устойчивостью ко всем стрессам, включая действие АБП и дезинфектантов [27]. Роль тиоловых редокс-систем в образовании биопленок в этой работе была продемонстрирована впервые, а полученные результаты представляют большой интерес для понимания механизмов этого процесса и его регуляции при ответе на различные виды стресса. Установлено, что мутации бактерий по компонентам тиоловых редокс-систем в ответ на активацию окислительно-восстановительного потенциала значительно изменяют интенсивность образования биопленок. При комбинированном действии АБП и температурных стрессов (холод, высокие температуры) интенсивность образования биопленок *E. coli* зависела от типа АБП².

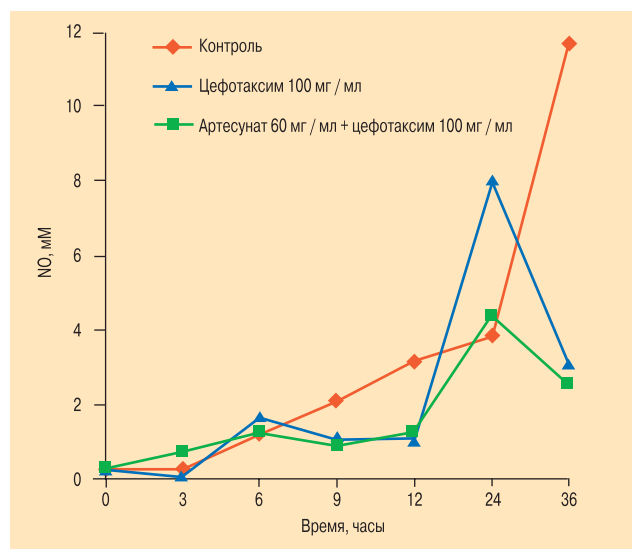


Рис. 4. Генерация оксида азота *Escherichia coli* при добавлении цефотаксима, комбинации цефотаксима + артесуната и в контрольной колонии бактерий [28]

Figure 4. Nitric oxide generation by *E. coli* after supplementation of cefotaxime, cefotaxime + artesunate and by control bacterial colonies [28]

¹ Торхова О.А. Роль антиоксидантных систем в ответе бактерий *Escherichia coli* на действие антибиотиков и ацетамидофенола: Дисс. ... канд. биол. наук. Пермь; 2004.

² Лепехина Е.В. Роль тиоловых редокс-систем при действии экстремальных температур и антибиотиков у *Escherichia coli*: Дисс. ... канд. биол. наук. М.; 2014.

Таблица 2
Механизмы антиоксидантного ответа бактериальной клетки на оксидативный стресс под влиянием антибактериальных препаратов [10]
Table 2
Mechanisms of bacterial antioxidant response to antibiotic-induced oxidative stress [10]

Антиоксидант	Микроорганизм	Антибактериальный препарат	Механизмы антиоксидантной защиты бактерий
Антиоксидантные ферменты	<i>Salmonella enterica</i>	Канамицин	Усиление секреции каталазы, пероксиредоксина, супероксиддисмутазы [6, 18]
Редокс-системы	<i>E. coli</i>	Норфлоксацин, ампициллин, канамицин	Активация редокс-системы через усиление продукции глутатиона в бактериальной клетке [13, 27, 28]
Полиамины	<i>E. coli</i>	Ампициллин, левофлоксацин	Снижение уровня гидроксильных радикалов, экспрессии антиоксидантных генов, уменьшение степени фрагментации ДНК, образование биопленок ³ [19, 29]

В других работах продемонстрирована уникальная протективная способность молекул оксида азота (NO) в отношении выживаемости *S. aureus*, *E. coli* и *Bacillus anthracis*. Растворимая ОС под влиянием АБП приводило к повышению секреции бактериальной NO-синтазы (bNOS), продукции каталазы и ингибированию реакции Фентона. Высказано мнение о том, что при разработке новых поколений АБП bNOS может выступать в качестве потенциальной терапевтической мишени для снижения жизнеспособности бактерий [28]. На рис. 4. представлены данные сравнительной оценки внутриклеточной продукции NO *E. coli* в присутствии АБП и без такового [28]. Отчетливо видно, что при добавлении к колонии *E. coli* цефотаксима значительно снижается генерация NO по сравнению с контрольной культурой бактерий.

В качестве других неспецифических адаптогенов, принимающих участие в процессе борьбы с прооксидантами АБП, рассматриваются полиамины [29]. Биогенные полиамины (путресцин, спермидин, кадаверин) оказывают влияние на устойчивость бактериальных клеток благодаря их антиоксидантным свойствам и способности ингибировать проницаемость пориновых каналов клеточной стенки³.

Установлено, что при воздействии полиаминов снижаются концентрация гидроксильных радикалов, уровень экспрессии антиоксидантных генов и степень фрагментации ДНК, повышается плотность бактериальной мембраны; полиамины также принимают участие в образовании биопленок бактерий.

В табл. 2 отражены некоторые механизмы антиоксидантной защиты бактерий в ответ на ОС АБП.

Заключение

В настоящем обзоре представлены обобщенные данные участия ОС, активируемого под влиянием антибактериальной терапии, в эрадикации бактерий и механизмах развития антибиотикорезистентности вследствие реализации антиоксидантной защиты микробной клетки. Понимание связи между ОС и устойчивостью бактерий к АБП может способствовать разработке новых антимикробных препаратов

как в направлении усиления их окислительных свойств, так и в области поиска новых мишеней сдерживания активности антиоксидантной системы патогенных бактерий.

Показано, что на сегодняшний день актуально дальнейшее изучение механизмов антибиотикорезистентности, опосредованной нарушением равновесия оксиданты / антиоксиданты в микробной клетке, однако при этом требуется проведение исследований не только в экспериментальных условиях, но и при использовании клинического материала.

Конфликт интересов

Конфликт интересов авторами не заявлен.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Литература

- Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *Br. J. Exp. Pathol.* 1929; 10: 226–236.
- Walsh C. Where will new antibiotics come from? *Nat. Rev. Microbiol.* 2003; 1 (1): 65–70. DOI: 10.1038/nrmicro727.
- Davies J., Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2010; 74 (3): 417–433. DOI: 10.1128/MMBR.00016-10.
- Wright G.D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007; 5 (3): 175–186. DOI: 10.1038/nrmicro1614.
- Alekshun M.N., Levy S.B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell.* 2007; 128 (6): 1037–1050. DOI: 10.1016/j.cell.2007.03.004.
- Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B. et al. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell.* 2007; 130 (5): 797–810. DOI: 10.1016/j.cell.2007.06.049.
- Kohanski M.A., Dwyer D.J., Wierzbowski J. et al. Mistranslation of membrane proteins and two-component system activation trigger aminoglycoside-mediated oxidative stress and cell death. *Cell.* 2008; 135 (4): 679–690. DOI: 10.1016/j.cell.2008.09.038.
- Yeom J., Imlay J.A., Park W. Iron homeostasis affects antibiotic-mediated cell death in *Pseudomonas* species. *J. Biol. Chem.* 2010; 285 (29): 22689–22695. DOI: 10.1074/jbc.M110.127456.
- Dwyer D.J., Kohanski M.A., Collins J.J. Role of reactive oxygen species in antibiotic action and resistance. *Curr.*

³ Ахова А.В. Роль полиаминов в адаптации *Escherichia coli* к сублетальному действию антибиотиков: Дисс. ... канд. биол. наук. Пермь; 2011.

- Opin. Microbiol.* 2009; 12 (5): 482–489. DOI: 10.1016/j.mib.2009.06.018.
10. Marrakchi M., Liu X., Andreescu S. Oxidative stress and antibiotic resistance in bacterial pathogens: state of the art, methodologies, and future trends. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2014; 806: 483–498. DOI: 10.1007/978-3-319-06068-2_23.
 11. Хурцилава О. Г., Плужников Н. Н., Накатис Я. А. (ред.). Оксидативный стресс и воспаление: патогенетическое партнерство. СПб: Издательство СЗГМУ им. И.И.Мечникова; 2012.
 12. Foti J., Devadoss B., Winkler J.A. et al. Oxidation of the guanine nucleotide pool underlies cell death by bactericidal antibiotics. *Science.* 2012; 336 (6079): 315–319. DOI: 10.1126/science.1219192.
 13. Dwyer D.J., Belenky P.A., Yang J.H. et al. Antibiotics induce redox-related physiological alterations as part of their lethality. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014; 111 (20): 2100–2109. DOI: 10.1073/pnas.1401876111.
 14. Октябрьский О.Н., Музыка Н.Г., Ушаков В.Ю., Смирнова Г.В. Роль тиоловых редокс-систем в отклике бактерий *Escherichia coli* на пероксидный стресс. *Микробиология.* 2007; 76: 1–7.
 15. Murphy M.P., Holmgren A., Larsson N.G. et al. Unraveling the biological roles of reactive oxygen species. *Cell Metab.* 2011; 13 (4): 361–366. DOI: 10.1016/j.cmet.2011.03.010.
 16. Albesa I., Becerra M.C., Battán P.C., Páez P.L. Oxidative stress involved in the antibacterial action of different antibiotics. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004; 317 (2): 605–609. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.03.085.
 17. Grant S.S., Kaufmann B.B., Chand N.S. et al. Eradication of bacterial persisters with antibiotic-generated hydroxyl radicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 109 (30): 12147–12152. DOI: 10.1073/pnas.1203735109.
 18. Goswami M., Mangoli S.H., Jawali N. Involvement of reactive oxygen species in the action of ciprofloxacin against *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50 (3): 949–954. DOI: 10.1128/AAC.50.3.949-954.2006.
 19. Нестерова Л.Ю., Ахова А.В., Шумков М.С., Ткаченко А.Г. ДНК-протекторное действие полиаминов как фактор резистентности *Escherichia coli* к левофлоксацину. *Вестник Пермского университета* (сер. Биология). 2016; 1: 54–59.
 20. Dwyer D.J., Kohanski M.A., Hayete B., Collins J.J. Gyrase inhibitors induce an oxidative damage cellular death pathway in *Escherichia coli*. *Mol. Syst. Biol.* 2007; 3 (1): 91. DOI: 10.1038/msb4100135.
 21. de Arruda Grossklau D., Bailão A.M., Vieira Rezende T.C. et al. Response to oxidative stress in *Paracoccidioides* yeast cells as determined by proteomic analysis. *Microbes Infect.* 2013; 15 (5): 347–364. DOI: 10.1016/j.micinf.2012.12.002.
 22. Dosselli R., Millionsi R., Puricelli L. et al. Molecular targets of antimicrobial photodynamic therapy identified by a proteomic approach. *J. Proteomics.* 2012; 77: 329–343. DOI: 10.1016/j.jpro.2012.09.007.
 23. Huang C.H., Chiou S.H. Proteomic analysis of upregulated proteins in *Helicobacter pylori* under oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *Kaohsiung J. Med. Sci.* 2011; 27 (12): 544–553. DOI: 10.1016/j.kjms.2011.06.019.
 24. Deng X., Weerapana E., Ulanovskaya O. et al. Proteome-wide quantification and characterization of oxidation-sensitive cysteines in pathogenic bacteria. *Cell Host Microbe.* 2013; 13 (3): 358–370. DOI: 10.1016/j.chom.2013.02.004.
 25. Kalyanaraman B., Darley-Usmar V., Davies K.J. et al. Measuring reactive oxygen and nitrogen species with fluorescent probes: challenges and limitations. *Free Radic. Biol. Med.* 2012; 52 (1): 1–6. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.030.
 26. Van Acker H., Gielis J., Acke M. et al. The Role of reactive oxygen species in antibiotic-induced cell death in *Burkholderia cepacia* complex bacteria. *PLoS One.* 2016; 11 (7): e0159837. DOI: 10.1371/journal.pone.0159837.
 27. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка – «Город микробов» или аналог многоклеточного организма. *Микробиология.* 2007; 76: 149–163.
 28. Holden J.K., Li H., Jing Q. et al. Structural and biological studies on bacterial nitric oxide synthase inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013; 110 (45): 18127–18131. DOI: 10.1073/pnas.1314080110.
 29. Liu J.H., Wang W., Wu H. et al. Polyamines function in stress tolerance: from synthesis to regulation. *Front. Plant. Sci.* 2015; 6: 827. DOI: 10.3389/fpls.2015.00827.

Поступила 21.03.17

References

1. Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *Br. J. Exp. Pathol.* 1929; 10: 226–236.
2. Walsh C. Where will new antibiotics come from? *Nat. Rev. Microbiol.* 2003; 1 (1): 65–70. DOI: 10.1038/nrmicro727.
3. Davies J., Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2010; 74 (3): 417–433. DOI: 10.1128/MMBR.00016-10.
4. Wright G.D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007; 5 (3): 175–186. DOI: 10.1038/nrmicro1614.
5. Alekshun M.N., Levy S.B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell.* 2007; 128 (6): 1037–1050. DOI: 10.1016/j.cell.2007.03.004.
6. Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B. et al. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell.* 2007; 130 (5): 797–810. DOI: 10.1016/j.cell.2007.06.049.
7. Kohanski M.A., Dwyer D.J., Wierzbowski J. et al. Mistranslation of membrane proteins and two-component system activation trigger aminoglycoside-mediated oxidative stress and cell death. *Cell.* 2008; 135 (4): 679–690. DOI: 10.1016/j.cell.2008.09.038.
8. Yeom J., Imlay J.A., Park W. Iron homeostasis affects antibiotic-mediated cell death in *Pseudomonas* species. *J. Biol. Chem.* 2010; 285 (29): 22689–22695. DOI: 10.1074/jbc.M110.127456.
9. Dwyer D.J., Kohanski M.A., Collins J.J. Role of reactive oxygen species in antibiotic action and resistance. *Curr. Opin. Microbiol.* 2009; 12 (5): 482–489. DOI: 10.1016/j.mib.2009.06.018.
10. Marrakchi M., Liu X., Andreescu S. Oxidative stress and antibiotic resistance in bacterial pathogens: state of the art, methodologies, and future trends. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2014; 806: 483–498. DOI: 10.1007/978-3-319-06068-2_23.
11. Khurtsilava O. G., Pluzhnikov N. N., Nakatis Ya. A. (eds.). Oxidative stress and inflammation: pathogenic partnership. Saint-Petersburg: Izdatel'stvo SZGMU im. I.I.Mechnikova; 2012 (in Russian).
12. Foti J., Devadoss B., Winkler J.A. et al. Oxidation of the guanine nucleotide pool underlies cell death by bactericidal antibiotics. *Science.* 2012; 336 (6079): 315–319. DOI: 10.1126/science.1219192.
13. Dwyer D.J., Belenky P.A., Yang J.H. et al. Antibiotics induce redox-related physiological alterations as part of

- their lethality. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014; 111 (20): 2100–2109. DOI: 10.1073/pnas.1401876111.
14. Oktyabr'skiy O.N., Muzyka N.G., Ushakov V.Yu., Smirnova G.V. A role of thiol redox systems for *Escherichia coli* response to peroxide-induced oxidative stress. *Mikrobiologiya*. 2007; 76: 1–7 (in Russian).
 15. Murphy M.P., Holmgren A., Larsson N.G. et al. Unraveling the biological roles of reactive oxygen species. *Cell Metab*. 2011; 13 (4): 361–366. DOI: 10.1016/j.cmet.2011.03.010.
 16. Albesa I., Becerra M.C., Battán P.C., Páez P.L. Oxidative stress involved in the antibacterial action of different antibiotics. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2004; 317 (2): 605–609. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.03.085.
 17. Grant S.S., Kaufmann B.B., Chand N.S. et al. Eradication of bacterial persisters with antibiotic-generated hydroxyl radicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012; 109 (30): 12147–12152. DOI: 10.1073/pnas.1203735109.
 18. Goswami M., Mangoli S.H., Jawali N. Involvement of reactive oxygen species in the action of ciprofl oxacin against *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2006; 50 (3): 949–954. DOI: 10.1128/AAC.50.3.949-954.2006.
 19. Nesterova L.Yu., Akhova A.V., Shumkov M.S., Tkachenko A.G. DNA-protecting properties of polyamines as a-factor of *Escherichia coli* resistance to levofloxacin. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya biologiya*. 2016; 1: 54–59 (in Russian).
 20. Dwyer D.J., Kohanski M.A., Hayete B., Collins J.J. Gyrase inhibitors induce an oxidative damage cellular death pathway in *Escherichia coli*. *Mol. Syst. Biol*. 2007; 3 (1): 91. DOI: 10.1038/msb4100135.
 21. de Arruda Grossklaus D., Bailão A.M., Vieira Rezende T.C. et al. Response to oxidative stress in *Paracoccidioides* yeast cells as determined by proteomic analysis. *Microbes Infect*. 2013; 15 (5): 347–364. DOI: 10.1016/j.micinf.2012. 12.002.
 22. Dosselli R., Millioni R., Puricelli L. et al. Molecular targets of antimicrobial photodynamic therapy identified by a proteomic approach. *J. Proteomics*. 2012; 77: 329–343. DOI: 10.1016/j.jprot.2012.09.007.
 23. Huang C.H., Chiou S.H. Proteomic analysis of upregulated proteins in *Helicobacter pylori* under oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *Kaohsiung J. Med. Sci*. 2011; 27 (12): 544–553. DOI: 10.1016/j.kjms.2011.06.019.
 24. Deng X., Weerapana E., Ulanovskaya O. et al. Proteome-wide quantification and characterization of oxidation-sensitive cysteines in pathogenic bacteria. *Cell Host Microbe*. 2013; 13 (3): 358–370. DOI: 10.1016/j.chom.2013.02.004.
 25. Kalyanaraman B., Darley-Usmar V., Davies K.J. et al. Measuring reactive oxygen and nitrogen species with fluorescent probes: challenges and limitations. *Free Radic. Biol. Med*. 2012; 52 (1): 1–6. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed. 2011.09.030.
 26. Van Acker H., Gielis J., Acke M. et al. The Role of reactive oxygen species in antibiotic-induced cell death in *Burkholderia cepacia* complex bacteria. *PLoS One*. 2016; 11 (7): e0159837. DOI: 10.1371/journal.pone.0159837.
 27. Nikolaev Yu.A., Plakunov V.K. Biofilm as a «microbial town» or an equivalent of a multicellular organism. *Mikrobiologiya*. 2007; 76: 149–163 (in Russian).
 28. Holden J.K., Li H., Jing Q. et al. Structural and biological studies on bacterial nitric oxide synthase inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013; 110 (45): 18127–18131. DOI: 10.1073/pnas.1314080110.
 29. Liu J.H., Wang W., Wu H. et al. Polyamines function in stress tolerance: from synthesis to regulation. *Front. Plant. Sci*. 2015; 6: 827. DOI: 10.3389/fpls.2015.00827.

Received March 21, 2017