

УДК 615.281:615.33-579.252.55

О. Д. Костов,
А. М. Венгер, канд. біол. наук,
М. Д. Кагляк

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ АНТИБІОТИКІВ І ХІМІОПРЕПАРАТІВ

Одеський національний медичний університет

Вступ

З часів відкриття О. Флемінгом пеніциліну в 1928 р. антибіотики застосовуються для боротьби з бактеріальними інфекціями. За майже 90 років було відкрито безліч антибактеріальних засобів, частина з яких використовується і нині у медичній та ветеринарній практиці. Проте багато антибіотиків припинили використовувати через наявність кращої альтернативи або втрату ефективності через розповсюдження стійкості серед мікрофлори. Виявилося, що бактерії здатні досить швидко адаптуватися та набувати мультирезистентності до хіміопрепаратів. Подібні штами патогенів відповідальні за мільйони смертей щороку. Тривалий час нові антибіотики намагалися отримати здебільшого шляхом модифікації вихідної молекули класу. Після ідентифікації просторової хімічної структури мішеней антибіотиків і вивчення шляхів набуття стійкості прийшло розуміння, які модифікації можуть бути корисними, і з допомогою комп'ютерного моделювання було створено багато сучасних ліків.

Справжній прорив у галузі стався з розвитком біотехнології та методів секвенування ДНК. Цілковите секвенування ДНК мікрофлори ґрунту та порівняльний аналіз виявили десятки нових генних кластерів, що кодувають антибіотики, а рекомбі-

нантні мікроорганізми забезпечили синтез небаченої кількості нових антибактеріальних сполук з раніше відомих і нових класів антибіотиків. Декілька з них вже успішно завершили весь шлях випробувань і зареєстровані як ліки, багато знаходиться на різних етапах випробувань. Разом з тим тривало вивчення класичних антибіотиків, і завдяки досягненням біохімії вдалося глибше зрозуміти багато речей, що здавалися простими на перший погляд.

У цьому огляді пропонується інформація про сучасний стан розуміння механізмів дії антибактеріальних антибіотиків і хіміопрепаратів з добре відомих груп, а також про нові класи антибіотиків і щойно схвалені до застосування препарати, наведено кілька найбільш цікавих експериментальних сполук, що мають добрі шанси увійти в клінічну практику найближчим часом. Перша частина огляду присвячена взаємодії препаратів з первинними молекулярними мішенями мікробної клітини, у другій частині описана сучасна концепція активної відповіді бактеріальної клітини на вплив антибіотика та події, що відбуваються після ураження мішені до загибелі клітини.

Метою даного огляду є інформування про сучасні досягнення в розумінні механізмів впливу антибіотиків на бактерії, а також про створення нових препаратів.

Матеріали та методи дослідження

Виконано аналіз науково-практичної літератури за останні роки, у тому числі інтернет-ресурсів, з подальшим аналізом та систематизацією отриманих результатів.

Опис первинних молекулярних мішеней різних класів антибіотиків

Група антибіотиків, що **гальмують синтез клітинної стінки**, нині складається з 8 підгруп препаратів з різними молекулярними мішенями. Історично вони перші набули широкого практичного застосування і дотепер залишаються найбільш вживаними антибактеріальними агентами через високу активність, широкий спектр дії та характерну для більшості представників малу токсичність. Це пов'язано, насамперед, з відсутністю молекулярних мішеней всередині еукаріотичних клітин. Послідовність синтезу клітинної стінки та місця фармакологічного впливу розглянутих нижче сполук зображені у рис. 1. Усі антибіотики з цієї групи мають бактерицидну дію.

Фосфоміцин. N-Ацетилмурамінова кислота синтезується з N-ацетилглюкозаміну шляхом додавання молочної кислоти, яка походить від фосфоенолпірувату. Фосфоміцин інгібує енолпіруваттрансферазу, ковалентно зв'язуючи цистеїн в активному центрі, блокуючи синтез клітинної стінки на ранній стадії. Антибіотик проникає у

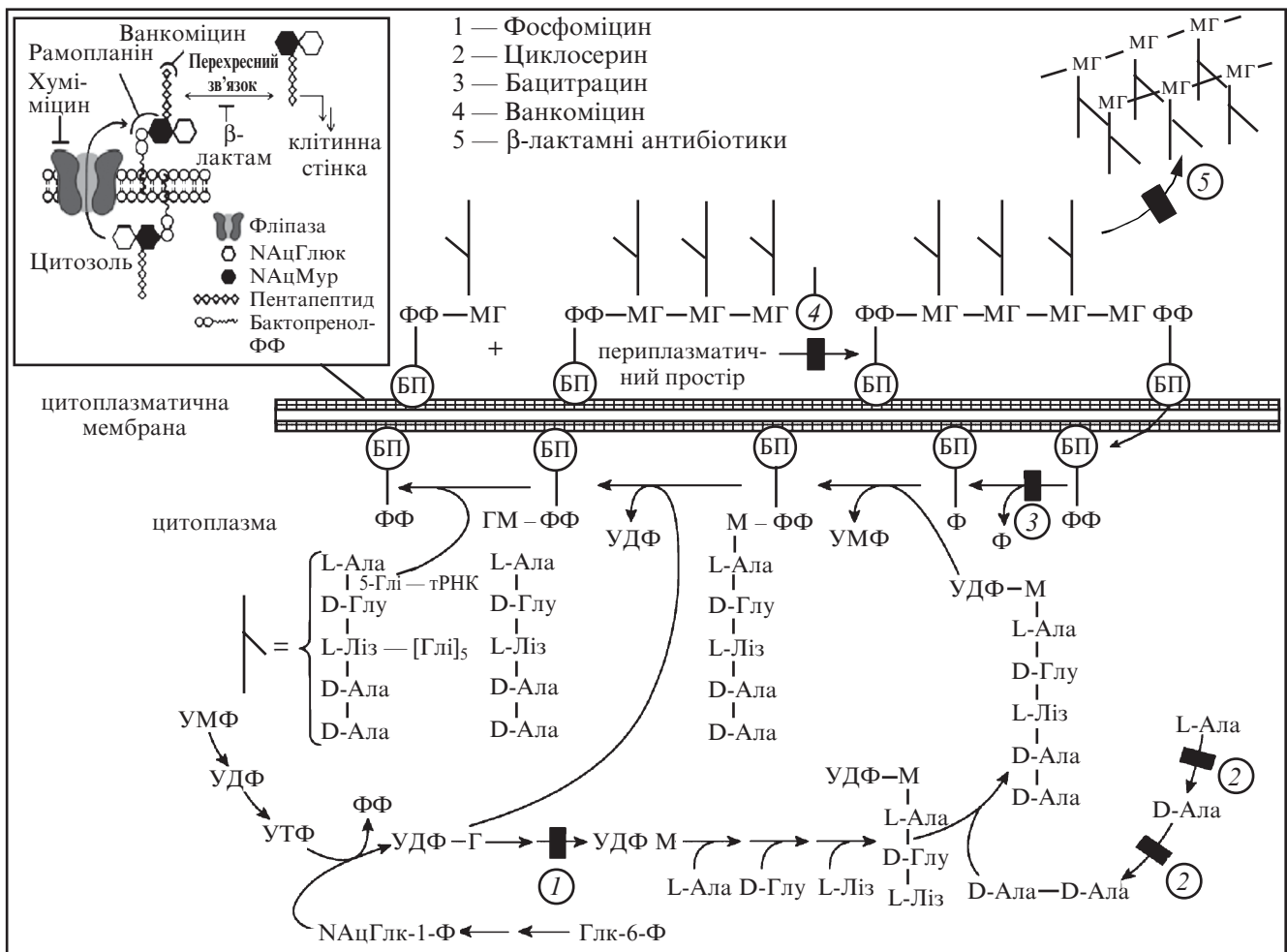


Рис. 1. Біосинтез пептидоглікану клітинної стінки, позначені місця впливу п'яти антибіотиків (прямокутники: 1 — фосфоміцин; 2 — циклосерин; 3 — бацитрацин; 4 — ванкоміцин; 5 — β-лактамні антибіотики). Бактопренол (БП) є ліпідним мембранним носієм, що переносить будівельні блоки через цитоплазматичну мембрану; М, N-ацетилмурамінова кислота; Глк — глюкоза; NAцГлк або Г, N-ацетилглюкозамін. У рамці детальніше показана мембрана і навколишній простір

клітину за допомогою механізмів активного транспорту для α-гліцерофосфату та глюкозо-6-фосфату. Синергічно діє з β-лактаминами, аміноглікозидами та фторхінолонами. Стійкість звичайно пов'язана з порушенням транспорту в клітину [1; 2]. Слід відзначити, що фосфоміцин має досить широкий спектр дії, зокрема впливає на грамнегативні бактерії, у тому числі кишкової групи, при відносно невисокій токсичності, тому іноді може бути застосований у вагітних або при грудному вигодуванні.

Циклосерин. Перші три амінокислоти пентапептиду додаються послідовно, однак четвертий та п'ятий D-аланіни до-

даються у вигляді дипептиду (об'єднуються ферментом D-аланіл-D-аланін лігазою). Перед тим аланілізомераза перетворює L-аланін на D-аланін. Обидві реакції блокуються циклосерином, бо він є структурним аналогом D-аланіну. Активний проти багатьох мікробів, циклосерин має істотну нейротоксичність і тому застосовується переважно як препарат резерву при туберкульозі [1; 2].

Бацитрацин, рамопланін. Ліпідний переносник, відповідальний за переміщення через плазматичну мембрану «будівельних блоків» для синтезу пептидоглікану — ліпід II, або бактопренол, набуває додаткової фосфатної групи після приєднан-

ня свого «вантажу» до полісахаридного ланцюга (транsgлікозилювання) та має бути регерований шляхом дефосфорилювання (див. рис. 1). Цей процес блокується бацитрацином [1]. Рамопланін запобігає участі бактопренолдисахариду в транsgлікозилюванні [3]. Таким чином, обидва антибіотики порушують обіг бактопренолу. Рамопланін — антибіотик, активний проти *Cl. difficile*. Бацитрацин активний проти грам-позитивних бактерій, застосовується зовнішньо в комбінаціях (нефротоксичний при системному застосуванні).

Глікопептиди — ванкоміцин, тейкопланін. Зв'язуючись з кінцевими D-аланінами мура-

мілпентапептиду, з'єданого з бактопренолом, ці антибіотики блокують трансглікозилювання — нарощення полісахаридного ланцюга. Вони є великими полярними сполуками і тому не проникають через зовнішню мембрану грамнегативних бактерій, отже, впливають тільки на грампозитивну мікрофлору. Стійкість до ванкомицину може розвинути через заміну термінального D-аланіну на D-лактат, що порушує зв'язування з мішенню, або потовщення клітинної стінки з аномальним збільшенням вмісту D-аланіну, який приєднує увесь ванкомицин, значно збільшуючи МК [1; 2]. Цікавими є й інші похідні глікопептидів, а саме ліпоглікопептиди — телавансин, далбавансин, оритавансин. Ці сполуки блокують синтез клітинної стінки тим самим шляхом, але два з них (телавансин та оритавансин) мають подвійний механізм дії. Вони порушують проникність плазматичної мембрани бактерій, спричиняють вихід калію та втрату мембранного потенціалу бактерії. Враховуючи, що синтез АТФ завдяки трансмембранному електрохімічному градієнту оборотний, клітинні запаси АТФ швидко виснажуються, призводячи до швидкої загибелі бактерії [1; 2; 4].

Хуміміцин А — нещодавно відкритий антибіотик природного походження, блокує фліпазу, яка забезпечує транслокацію бактопренолу через мембрану (див. рис. 1). Хоча його самостійний вплив недостатній, продемонстрована синергічна бактерицидна дія з β-лактамами. Наразі плануються клінічні випробування [3].

Тейксобактин — відкритий у 2015 р. антибіотик з численними механізмами дії, активний проти грампозитивних бактерій. Він блокує синтез пептидоглікану, зв'язуючи одночасно як бактопренолдифосфат (аналогічно бацитрацину), так і мурамілбактопренолдифосфат (як глікопептиди). Синтез тейхоевих кислот також блокується

шляхом зв'язування та блокування їх попередника ліпиду III. Численні клітинні мішені роблять розвиток стійкості майже неможливим [5]. Не проникає через зовнішню мембрану грамнегативних мікробів.

β-Лактамні антибіотики (пеніциліни, цефалоспорини, карбапенеми, монобактами). Останній етап біосинтезу клітинної стінки — транспептидазна реакція, в якій формуються перехресні «зшивки» між полісахаридними ланцюгами. У цій реакції формується зв'язок між пентагліцином одного ланцюга (діамінопімеліновою кислотою у грамнегативних бактерій) та передостаннім D-аланіном іншого ланцюга, відщеплюючи термінальний D-аланін. Формування перехресних «зшивок» між ланцюгами полісахаридів надає міцності пептидоглікану. Завдяки структурній схожості на термінальний D-аланін β-лактами блокують транспептидазну реакцію, ковалентно зв'язуючись з активними центрами ферментів — різних пеніцилін-зв'язувальних білків (від 4 до 7 різних типів білків на клітину) [2]. Для появи літичного ефекту необхідна одночасна дія аутолізинів (гідролаз пептидоглікану). β-Лактами вбивають тільки клітини, що активно ростуть, які синтезують клітинну стінку (для росту і поділу також необхідна активність аутолізинів). Детальніше механізми загибелі бактерій розглянуті у другій частині. *Спрощено, це — аутоліз клітини, спричинений невдалими спробами усунути ушкодження від впливу антибіотика, а не простий осмотичний розрив, як було прийнято вважати раніше.* Стійкість до цієї групи антибіотиків може бути опосередкована синтезом різноманітних β-лактамаз, карбапенемаз, зміною будови пеніцилін-зв'язувальних білків (метицилін-резистентні). Грамнегативні бактерії додатково можуть мати насоси, що експортують антибіотики назовні (за зовнішню мембрану),

або порушення проникності зовнішньої мембрани. Останнє звичайно діє лише за наявності β-лактамаз, оскільки повільна дифузія все ж відбувається, але тоді навіть малоактивні β-лактамази встигають знешкодити антибіотик [1; 2].

Найбільш великою та різноманітною є група антибіотиків, що **блокують синтез білка**. Багато з них вже давно відомі й досі залишаються універсальними та одними з найпопулярніших, оскільки мають широкий спектр антибактеріальної дії, діють на внутрішньоклітинних патогенів, доступні у виробництві та досить зручні у застосуванні. Все ж формування резистентності до класичних препаратів, токсичність та інші побічні реакції стимулювали дослідників вести невпинний пошук нових представників цієї групи та створення кращих похідних вже існуючих. Для кращого розуміння нижче наведеної інформації на рис. 2 зображено у деталях процес синтезу білка на рибосомі з місцями впливу антибіотиків.

Тетрацикліни взаємодіють з 30S-субодиницею рибосоми, фізично блокуючи А-сайт — місце зв'язування нової аміноацил-tРНК. Трансляція мРНК припиняється, що спричиняє бактеріостатичний ефект (див. рис. 2). Тетрацикліни мають широкий спектр активності, добре проникають в еукаріотичні клітини, тому ефективні проти внутрішньоклітинних патогенів, але це також зумовлює більшість проявів їх токсичності через блокування роботи мітохондріальних рибосом. Всередину чутливих бактерій тетрацикліни проникають як за допомогою пасивної дифузії, так і активним транспортом, тобто активно накопичуються там, тому зазвичай їх вміст у мітохондріях еукаріотів все ж значно менший. Стійкість до них частіше зумовлена ефлюксними насосами (транспортують назовні антибіотики), порушенням проникності, фермен-

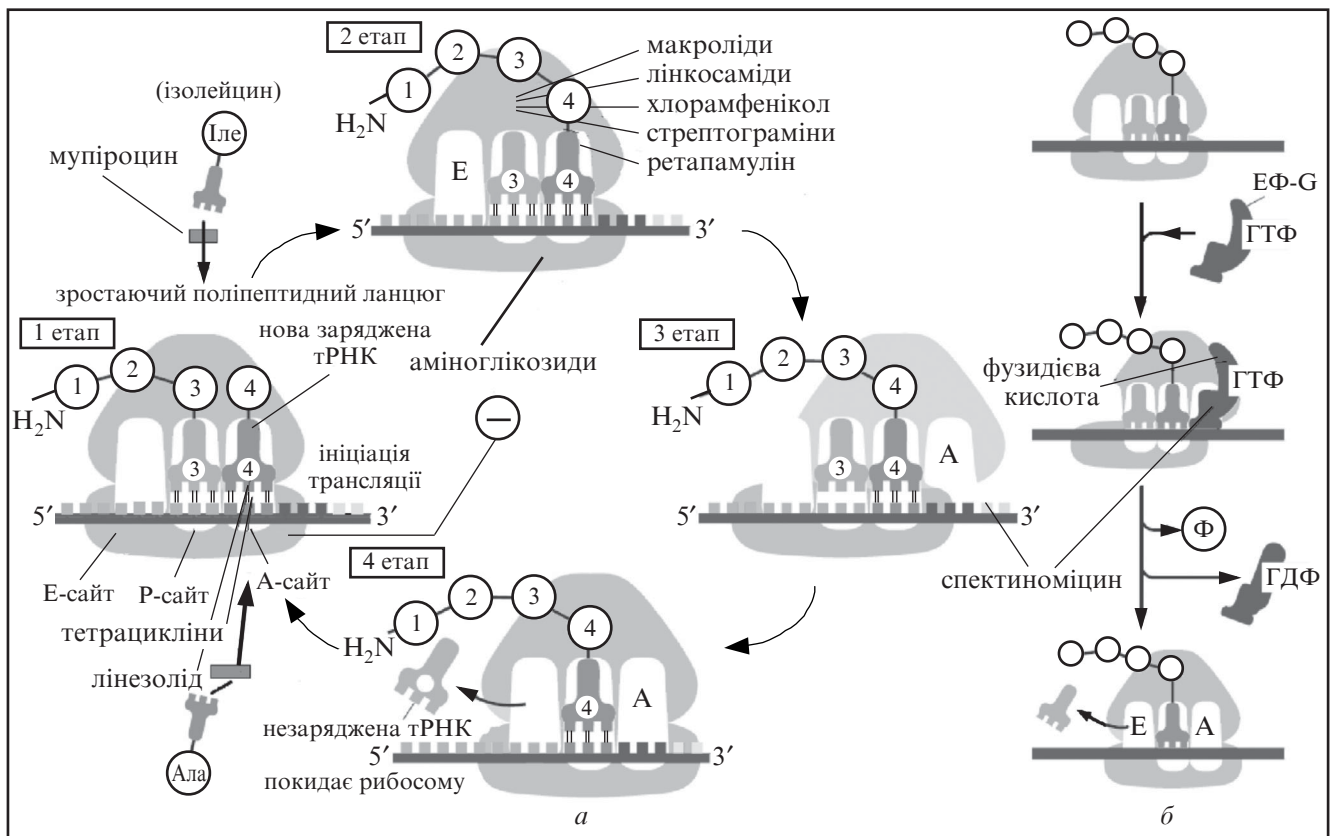


Рис. 2. Етапи трансляції білків на рибосомі [8] і місця впливу антибіотиків [2]; на першому етапі аміноацил-тРНК приєднується до вільного А-сайту на рибосомі; на другому етапі формується новий пептидний зв'язок — транспептидазна реакція; на третьому етапі велика субодиниця зміщується щодо малої субодиниці і двох тРНК; на четвертому етапі мала субодиниця зміщує мРНК на 3 нуклеотиди, тРНК займають Р- та Е-сайти в обох субодиницях, незаряджена тРНК покидає Е сайт. Процес повторюється (а). Участь фактора елонгації G у процесі транслокації (б)

тативною інактивацією, та синтезом захисних білків, що «прикривають» місця зв'язування тетрациклінів з рибосоною. Незважаючи на те, що тетрацикліни застосовуються вже багато десятиків років і здебільшого мають бактеріостатичну дію, доксициклін та нові півсинтетичні похідні з розширеним спектром дії (міноциклін та тигециклін) повернули інтерес медиків і науковців до цього класу та знов набувають популярності [1; 2].

Спектиноміцин. Цей антибіотик зворотно зв'язується з 16S рРНК малої субодиниці рибосоми в зоні, яка відповідальна за рух при транслокації (3 етап). Жорстка молекула блокує стиснення і попереджає рух малої частки рибосоми. Має бактеріостатичну дію [2].

Лінкозаміди (лінкоміцин, кліндаміцин). Взаємодіють з

23S рРНК 50S субодиниці рибосоми та фізично блокують вихідний канал для поліпептиду, що росте, а також порушують зв'язок тРНК на А- і Р-сайтах рибосоми (див. рис. 2). Чинять бактеріостатичний вплив. Стійкість до них звичайно викликана мутаціями структури рибосоми, або метилуванням 23S рРНК, або ферментативною інактивацією антибіотика. Не проникають через зовнішню мембрану грамнегативних бактерій [1; 2].

Стрептограміни. Складаються з суміші стрептограміну А та В, перший зв'язується з 50S-субодиницею та, подібно до лінкозамідів, ушкоджує А- і Р-сайти рибосоми, запобігає другому етапу — формуванню пептидного зв'язку. Може зв'язуватися тільки з вільними рибосомами, але спричиняє конформаційні зміни рибосоми, що поси-

лює спорідненість до стрептограміну В. Він приєднується до сусіднього місця на рибосомі й також блокує формування пептидного зв'язку, вивільнює недобудований поліпептидний ланцюг з рибосом, зупиняючи розпочатий синтез білка на полірибосомах. Разом два компоненти чинять синергічний бактеріцидний вплив. Стійкість розвивається через метилування 23S рРНК, ферментативну інактивацію або відкачування з клітини [1; 2].

Макроліди та азаліди. Є одними з найбільш уживаних антибіотиків. Широкий спектр антибактеріальної дії, активність проти низки внутрішньоклітинних бактерій, відносно невисока токсичність, зручність дозування та застосування роблять їх вельми популярними. Взаємодіють з 23S рРНК 50S-субодиниці та фізично блокують

вхід у канал для поліпептиду, що росте, спричиняючи переважно бактеріостатичний ефект (зворотна взаємодія). Синтез білка може бути блокований тільки на етапі синтезу перших амінокислот поліпептиду, що спричиняє дисоціацію пептидил-тРНК з рибосоми [1; 2].

Цікаво, що азитроміцин має додаткове місце взаємодії з рибосою, обидва біля вихідного тунелю. Спершу азитроміцин взаємодіє з 4-м та 5-м доменами 23S рРНК, а потім індуковані зміни призводять до значно сильнішого зв'язування другої молекули з 2-м доменом 23S рРНК та 2 рибосомними білками та надійного блоку, тому за високих концентрацій він має бактерицидну дію [6]. Стійкість до макролідів найчастіше зумовлена метилуванням аденіну 23S рРНК, з яким взаємодіють макроліди (це також надає перехресну стійкість до лінкозамідів та стрептограмінів — місця зв'язування перекриваються), або їх гідролізом, або відкачуванням з клітини/порушенням проникності. Модифікація структури макролідів привела до синтезу **кетолідів** (телітроміцин) з аналогічним механізмом дії, але розширеним спектром дії та активністю проти частки стійких до макролідів бактерій [7].

На цьому хіміки не зупинилися, тож їх активність привела до синтезу нового класу антибіотиків — **макролонів**, отриманих додаванням до азитроміцину через гнучкий ланцюжок хінолонової групи [7]. Макролони продемонстрували чудову, вищу за макроліди та фторхінолони, активність *in vitro* та у гризунів, у тому числі проти стійких до макролідів і фторхінолонів бактерій, прийнятну токсичність на клітинних моделях, за фармакокінетикою нагадують азитроміцин. Триває подальше вивчення їх властивостей та уточнення механізму дії. Сьогодні доведено пригнічення синтезу білка та відсутність аналогічної фторхінолонам дії [7].

Хлорамфенікол (левоміцетин). Зворотно приєднується до 23S рРНК великої субодиниці рибосоми та пригнічує пептидилтрансферазну реакцію (другий етап) синтезу білка, що спричиняє бактеріостатичний ефект. Має надзвичайно широкий спектр дії, включаючи внутрішньоклітинні бактерії. Стійкість може бути зумовлена зниженням проникності для антибіотика (зрідка) або ацетилюванням хлорамфеніколу (часто), що приводить до інактивації. Висока токсичність опосередкована впливом на мітохондріальний синтез білка [1; 2].

Аміноглікозиди (стрептоміцин, гентаміцин, канаміцин, амікацин тощо) нині широко використовуються завдяки своїм унікальним властивостям: бактерицидна дія, протитуберкульозна активність, вельми широкий спектр, доступність. У цієї групи досить складний механізм дії, тому він має бути розглянутий з початку — проникнення у клітину. Аміноглікозиди несуть позитивний заряд, тож спершу вони адсорбуються на поліаніонах клітинної стінки бактерій, далі шляхом пасивної дифузії проникають до плазматичної мембрани (у грамнегативних бактерій через пори зовнішньої мембрани). На заключному етапі відбувається активний транспорт аміноглікозидів до клітини, залежний від рівня мембранного потенціалу клітини (потенціал-залежний) [2]. Це пояснює значно нижчу активність в анаеробних умовах та кислих рН — вони знижують мембранний заряд і захват антибіотика.

Порушення клітинної стінки, спричинені β-лактамами і глікопептидами, підвищують швидкість дифузії аміноглікозидів до плазматичної мембрани й зумовлюють синергічну дію такої комбінації. У клітині аміноглікозиди зв'язуються з 16S рРНК та L12 білком малої субодиниці рибосоми поряд з А-сайтом. Це зв'язування змінює конформацію рибосоми та-

ким чином, що порушує правильність розпізнавання в парі кодон-антикодон і дозволяє невірне спарювання. Синтезовані з помилками білки відіграють ключову роль у подальшому розвитку подій. Деякі з цих білків стають транспортерами в мембрані та відповідають за швидке активне накопичення аміноглікозидів з навколишнього середовища. Тепер за високої концентрації у клітині аміноглікозиди блокують пептидилтрансферазну реакцію (другий етап) на рибосомі та приєднання великої субодиниці до ініціаторного комплексу малої субодиниці з мРНК. Це викликає повне необоротне припинення синтезу білка. Ситуація обтяжується неконтрольованим захопленням малих катіонних молекул з навколишнього середовища, ймовірно через ті ж самі дефектні транспортери, що розсіює мембранний потенціал та призводить до спустошення запасів АТФ.

Отже, аміноглікозидам притаманний потужний бактерицидний вплив та багатогодинний постантибіотичний ефект, що дозволило нині рекомендувати для більшості клінічних ситуацій його застосування 1 раз на добу. Перевагою такого режиму є істотне зменшення ото- та нефротоксичності. Очевидно, що для заключного етапу дії аміноглікозидів необхідна продукція неправильно зчитаних білків, тому *інші антибіотики-інгібітори синтезу білка діють антагоністично разом з аміноглікозидами*. Антибіотики, які порушують проникність плазматичної мембрани, змінюють мембранний потенціал, що унеможливорює транспорт аміноглікозидів у клітину, отже, такі комбінації також антагоністичні. Токсична дія залежить від ушкодження мітохондрій чутливих клітин, у тому числі за рахунок вільних радикалів, з можливою індукцією апоптозу (пояснення в другій частині огляду). Стійкість до аміноглікозидів звичайно зумовлена фер-

ментативною модифікацією молекули антибіотика, також можливе зменшення проникності (мутації транспортерів) або мутації рибосомального білка, що порушує зв'язування. Можливе метилування 16S рРНК [1; 2].

Лінезолід (клас оксазоліди-нони). Синтетичний антибіотик з бактеріостатичною дією, зв'язується з 23S рРНК великої субодиниці по центру А-сайту та фізично блокує приєднання нової тРНК (аланіл-тРНК), зупиняючи трансляцію. Він був розроблений для лікування метицилінрезистентних *S. aureus*, однак виявився активним проти різних грамположитивних мікробів — стрептококів, ентерококів, анаеробів, коринебактерій, нокардій, лістерій та мікобактерій. Не існує інших антибіотиків з подібним механізмом дії. Сьогодні похідний від лінезоліду **тедизолід** (має кращу фармакокінетику і більш активний) завершує останні стадії клінічних випробувань. Стійкість до оксазолідинонів зумовлена виключно мутаціями в місці зв'язування або метилуванням рРНК [1].

Ретапамулін, представник нового класу плевромутилінів, блокує пептидилтрансферазну реакцію, зв'язуючись з великою субодиницею у ділянці А-сайту (нині існує лише для топічного застосування). Виявляє бактеріостатичну активність проти стафілококів, стрептококів, пропіонібактерій та ін. Застосовується для лікування інфекцій шкіри та підшкірних тканин. Перехресна стійкість до ретапамуліну трапляється дуже рідко. Інші антибіотики цього класу застосовуються вже тривалий час у ветеринарній медицині [2].

Фузидієва кислота утворює стабільний комплекс з фактором елонгації G, який забезпечує енергією процес транслокації. При цьому відбувається гідроліз ГТФ, а потім ГДФ повинна дисоціювати і звільнити місце для наступної молекули ГТФ, що супроводжується від'єднанням ЕФ-G від рибосоми (див. рис. 2). Фузидієва кисло-

та перешкоджає дисоціації ГДФ, виводячи з обігу фактор елонгації разом з заблокованою рибосоною. Грамнегативні, та навіть еукаріотичні, клітини чутливі до дії, але завдяки поганій проникності фузидієва кислота впливає тільки на грамполозитивну мікрофлору, застосовується місцево. Стійкість опосередкована мутаціями ЕФ-G [2].

Мупіроцин. Хвостова частина молекули нагадує ізoleyцин та є конкурентним антагоністом ізoleyцил-тРНК-синтетази. Відповідний фермент людини не реагує з мупіроцином. Нестабільний всередині організму, цей антибіотик довів свою виняткову ефективність у боротьбі зі шкірними інфекціями та назальним носійством стафілокока. Стійкість передається плазмідною, що кодує інший фермент для синтезу — ізoleyцил-тРНК [2].

Антибіотики, що порушують проникність цитоплазматичної мембрани є універсальними й досить давно уживаними. Раніше відносно висока токсичність стримувала розробку препаратів з подібним механізмом дії. Однак останніми роками було створено кілька вдалих препаратів, що спричинило прорив у боротьбі з багатьма полірезистентними патогенами.

Поліміксини та колістини. Працюють як катіонні детергенти, активні проти грамнегативних бактерій. Спочатку адсорбуючись на ліпополісахаридах, вони проникають всередину та, ймовірно, атакують фосфатні групи мембранних фосфоліпідів. Це порушує цілісність мембрани, призводить до витікання цитоплазми, втрати мембранного потенціалу і швидкої загибелі клітини. Через погану вибірковість дії мають високу токсичність при внутрішньому застосуванні [1].

Даптоміцин демонструє кальцій-залежне проникнення до плазматичної мембрани грамполозитивних бактерій, адсорбуючись на аніонних фосфоліпідах (як фосфатидилгліцерол).

До вбудовування, або вже в мембрані, молекули даптоміцину утворюють кластери, які призводять до викривлення та напруження в плазматичній мембрані. Це спричинює витікання калію, магнію, АТФ назовні та деполяризацію мембрани внаслідок вільного руху іонів через утворені пори. Враховуючи, що вбудована в бактеріальну мембрану АТФ-синтетаза, яка продукує АТФ з використанням трансмембранного електрохімічного протонного градієнта, каталізує зворотну реакцію, вона споживає АТФ, намагаючись відновити мембранний потенціал, який одразу розсіюється. Тож за умов порушення проникності мембрани для іонів клітина швидко виснажує запаси АТФ та гине. Грамнегативні бактерії нечутливі через брак проникнення через зовнішню мембрану. Причини відсутності ураження еукаріотичних клітин нез'ясовані [1; 2]. Нині цей антибіотик є доброю альтернативою при лікуванні захворювань, спричинених полірезистентними грамполозитивними збудниками.

Ліпоглікопептиди (телавансин, оритовансин). Поєднують блокування синтезу пептидоглікану з порушенням проникності плазматичної мембрани. Продемонстровано, що оритовансин активний проти ванкомицин-резистентних бактерій, тому що має додаткові місця зв'язування з ліпідом II — бактопренолліпрофосфатдисахаридом, попередником пептидоглікану (див. рис. 1) та блокує не лише трансглікозилювання, а й деякі пеніцилін-зв'язувальні білки [1; 2]. На прикладі оритовансину було продемонстровано важливість урахування механічних сил дистанційної взаємодії пари антибіотик-рецептор. Показана участь віддалених функціональних груп антибіотика у формуванні дистанційних водневих та іонних зв'язків з рецептором, що сприяє руху молекули до рецептора через клітинну стінку [4].

Також показано, що димеризація оритовансину збільшує цю рушійну силу, зумовлює міцну взаємодію з поверхнею бактеріальної клітини та спричиняє деформацію шару пептидоглікану на шляху антибіотика. Оритовансин немов «проламує» собі шлях до мішені в мембрані через клітинну стінку та робить це набагато краще за аналогічні сполуки завдяки більшій силі притягання та димеризації. Потенційно подібний ефект може бути використаний для забезпечення проникнення інших препаратів до бактерій [9]. Та на останок гідрофобні фрагменти оритовансину занурюються у мембрану, спричиняючи рух іонів і за достатньої концентрації розсіюють мембранний потенціал аналогічно даптоміцину, що призводить до швидкого бактерицидного ефекту протягом 2 год. Дуже перспективний новітній антибіотик, уже допущений до клінічного застосування, достатньо однієї ін'єкції для лікування деяких інфекцій шкіри та м'яких тканин, але поки що важкодоступний через високу ціну оригінального препарату.

Антибіотики, що впливають на синтез нуклеїнових кислот, також знаходяться у досить широкому вжитку у зв'язку з низкою цінних властивостей: досить непоганий спектр дії (включаючи збудників туберкульозу), відносно невисока токсичність, оригінальний механізм дії, який зумовлює відсутність перехресної резистентності з іншими групами антибіотиків тощо.

Ансаміцини (рифампіцин та ін.). Мають бактерицидну дію за рахунок блокування роботи ДНК-залежної РНК-полімерази, зв'язуються з її β -субодиницею та перекривають канал виходу для синтезованої мРНК, зупиняючи транскрипцію після синтезу 2–3 нуклеотидів. За ініціації транскрипції комплекс фермент — ДНК зовсім нестабільний та дисоціює після впливу рифампіцину. В еукаріотичній клітині відповідний фер-

мент не взаємодіє з антибіотиком. Також є дані про існування двох форм антибіотика, одна з них — це радикал, що, знаходячись біля ДНК у складі ініціаторного комплексу, може розривати ланцюг ДНК, проте це ушкодження може бути усунене системами SOS-репарації. На грамнегативні бактерії чинять бактериостатичний ефект, залежний від гіршого проникнення в клітину. Стійкість розвивається внаслідок мутацій РНК-полімерази [1; 2; 10].

Фідаксоміцин. Є антибіотиком нового класу вузького спектра дії, застосовується проти *Cl. difficile*. Блокує роботу ДНК-залежної РНК-полімерази на етапі до розплітання ланцюгів ДНК, приєднується до сигма-субодиниці ферменту. Фідаксоміцин ефективніший та безпечніший за ванкоміцин при псевдомембранозному коліті, практично не впливає на нормальну мікрофлору кишечника. Стійкість розвивається внаслідок мутацій РНК-полімерази, відмінних від спричинених рифампіцином [1].

5-Нітроімідазоли (метронідазол та ін.). Ці ліки мають бути відновленими в бактеріальній клітині для того, щоб набути ефективності. Спочатку метронідазол дифундує до клітини. За відсутності метронідазолу фермент піруватфередоксин-оксидоредуктаза здійснює окиснювальне декарбоксілювання пірувату та генерує АТФ. Якщо метронідазол присутній, нітрогрупа захоплює електрони, призначені для протона, та утворює вільний нітрозорадикал, який атакує та ушкоджує ДНК, спричиняючи бактерицидний ефект. Відновлення метронідазолу прискорює дифузю препарату всередину клітини. Ці процеси відбуваються винятково в анаеробних (зрідка мікроаерофільних) умовах, тому аероби стійкі до цього класу антибіотиків. Стійкість трапляється рідко та залежить від зниження активності відповідних оксидоредуктаз [2].

Фторхінолони є одними з найбільш вживаних в терапії препаратів з надзвичайно широким спектром активності, включно з внутрішньоклітинними збудниками та мікобактеріями. Активність фторхінолонів залежить від взаємодії з ДНК-гіразою — ферментом, що спіралізує ДНК, та топоізомеразою IV, яка розплітає ланцюги ДНК і допомагає роз'єднанню заплутаних ланцюгів після реплікації. Прийнято вважати перший фермент основною мішенню в грамнегативних бактеріях, а другий — у грампозитивних. Ці ферменти складаються з 4 субодиниць, по 2 α та β , які в процесі роботи розрізають обидва ланцюги ДНК, при цьому кожна субодиниця прикріплюється до кінця розсіченого ланцюга ДНК, далі виконується обертання і наприкінці ланцюги зшиваються. Фторхінолони зв'язуються з α -субодиницями та стабілізують проміжний стан до об'єднання ланцюгів.

Результатом такого впливу насамкінець є дволанцюговий розрив ДНК і блокування ферментів реплікації та транскрипції. Зрозуміло, що це викликає негайний бактериостатичний ефект і за відсутності успішної репарації веде до фрагментації ДНК із загибеллю клітини. Проте індукція SOS-репарації дозволяє відновити ДНК, тому більш складні механізми стоять за бактерицидним впливом фторхінолонів. Найважливішим шляхом загибелі бактерій за дії ранніх фторхінолонів вважають ушкодження ДНК гідроксильними радикалами, що пояснюється у другій частині огляду. Стійкість до фторхінолонів може спричинитися мутаціями структури ДНК-гіраз і топоізомераз, їх захистом від антибіотика шляхом синтезу білків, які прикривають зони зв'язування, або інактивацією антибіотика ферментом фторхінолон ацетилтрансферазою [1; 2; 10].

Важливо зазначити, що переважна більшість тяжких ток-

сичних ефектів антибіотиків зумовлені індивідуальною генетичною сприйнятливістю через подібність структури мітохондріальних аналогів до бактеріальних мішеней антибіотиків, проте тривале застосування небезпечних у цьому плані антибіотиків призведе до гарантованих токсичних ефектів. Це також означає, що після тяжких токсичних ефектів антибіотики даного класу повинні бути довічно заборонені у даної людини [2].

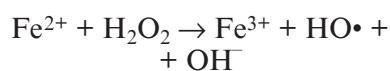
Механізми загибелі бактеріальної клітини після впливу антибіотиків

Раніше загибель бактеріальної клітини після ураження антибіотиком його первинної молекулярної мішені вважалася пасивним процесом, який не потребує уваги. Однак нині очевидно, що це зовсім не так. Бактеріальні клітини активно реагують на ушкодження, намагаються виправити його. Якщо протягом певного часу це не вдається, то звичайно вмикаються внутрішні процеси самоліквідації, інколи робота відновних механізмів парадоксально спричиняє летальне ушкодження. У разі успіху бактерія відновлює життєдіяльність або зупиняє метаболічну активність у намаганні пережити термін впливу антибіотика — явище толерантності. Тобто у більшості випадків загибель бактерії є активним, чітко регульованим процесом.

У першому революційному за наслідками дослідженні М. Kohanski et al. показали, що три класи бактерицидних антибіотиків з різними первинними мішенями — β -лактамі, аміноглікозиди та фторхінолони — спричиняють надмірне утворення гідроксильних радикалів, що у підсумку робить значний внесок у загибель бактерій [11]. Вони так описали складний механізм розвитку цих подій: ушкодження клітинної стінки, або накопичення невірно згорнутих білків, або розриви в ДНК сти-

мулюють активацію процесів репарації, які потребують багато енергії. Отже, спостерігається активація циклу трикарбонових кислот (ЦТК), збільшується генерація NADH, який утилізується в електронно-транспортному ланцюгу мембрани з великою швидкістю. Також показана активація генів, відповідальних за синтез компонентів електронно-транспортного ланцюга.

При роботі кінцевого комплексу — цитохромоксидази, що переносить одразу 4 електрони на молекулу кисню, інколи вивільнюється супероксида-ніон-радикал O_2^- та перекис водню H_2O_2 . Активація транспорту електронів у мембрані призводить до стрімкого збільшення кількості O_2^- та H_2O_2 , які окиснюють залізо-сіркові кластери (комплекси Fe — цистеїн у складі перших комплексів електронно-транспортного ланцюга). Залізо вивільнюється з окиснених кластерів та каталізує перетворення H_2O_2 в гідроксильні радикали в реакції Фентона:



та низку інших ланцюгових реакцій радикального окиснення. Гідроксильні радикали спричиняють розриви в ДНК, окиснення мембранних ліпідів і білків.

Бактерії запускають SOS-відповідь у намаганні відновити ушкодження ДНК. Доведено, що блокування SOS-відповіді посилює загибель бактерій унаслідок дії вільних радикалів, імовірно, останні також беруть участь у лізису клітин після впливу β -лактамів. Блокування дії гідроксильних радикалів як шляхом впливу антиоксидантів, так і зв'язування вільного заліза хелаторами різко зменшує рівень загибелі бактерій унаслідок дії трьох вищезазначених класів антибіотиків. Той самий ефект досягається при сповільненні роботи ЦТК, блокуванні електронно-транспорт-

ного ланцюга, анаеробних умовах. Це не означає повної відсутності дії зазначених антибіотиків в анаеробних умовах, при дефіциті заліза або за присутності антиоксидантів, оскільки є й інші механізми загибелі, але час, необхідний для знищення бактерій, відчутно зростає, як і відсоток бактерій, що вижили. Отже це безперечно важлива частина загального механізму дії антибіотиків.

Також було показано необхідність транскрипції/трансляції для підвищення рівня гідроксильних радикалів, тобто доведена активна реакція бактерії після обробки антибіотиками. Застосування блокувальних синтетичних білків/транскрипції не тільки не спричиняло підвищення рівня вільних радикалів, а й блокувало це явище при дії вищезгаданих трьох класів антибіотиків [11]. З'явилися окремі дані про стимулювання захоплення заліза із зовнішніх джерел після впливу фторхінолонів. Це, очевидно, посилює їх бактерицидну дію за умов високого вмісту заліза в навколишньому середовищі [12].

Деякі автори намагалися заперечити суттєве значення вільнорадикального окиснення в механізмі бактерицидної дії [13]. Однак вони використовували тривало занадто високі дози антибіотиків на рівні пікової концентрації після прийому, що не є коректним, — враховуючи, що вільнорадикальний механізм не є єдиним, високий вміст антибіотика призводить до значних ушкоджень мішені, які бактерія не в змозі усунути. Також рівень загибелі вимірювався через добу, тимчасом як збільшення/зменшення загибелі бактерій в культурах в інших дослідженнях звичайно вимірювалося протягом кількох годин. Також були застереження до специфічності індикатора вмісту гідроксильних радикалів, тобто однаковий рівень загибелі бактерій незалежно від кількості гідроксильних радикалів був спричинений тривалою дією

занадто високих концентрацій антибіотиків і недостатньою специфічністю індикатора радикалів.

Подальші численні дослідження підтвердили вірність і важливе значення усіх відкритих М. Kohanski et al. фактів [14]. Інші дослідники показали також підвищення рівня вільних радикалів у цитоплазмі клітин людини після впливу β -лактамінів, фторхінолонів і аміноглікозидів через вплив на транспорт електронів у мітохондріях, проте пояснення механізмів впливу досить нечітко та суперечливе, клінічне значення невідоме. Необхідні подальші дослідження для з'ясування цього питання. Також необхідно встановити ступінь впливу вмісту позаклітинного заліза та різних антиоксидантів на бактерицидну активність антибіотиків у організмі, взаємодію з імунною системою, яка також використовує активні форми кисню для знищення патогенів, та можливості обмеження токсичності з допомогою різних антиоксидантів.

Часто після загибелі бактерії відбувається аутоліз клітини, що пов'язано з активацією присутніх у клітинній стінці гідролаз пептидоглікану. Аутоліз бактеріальної клітини може бути індукований також при деполаризації плазматичної мембрани або активації так званих **холінів** [15; 18] — мембранних білків, які забезпечують активацію гідролаз. Загибель може відбутися також унаслідок активації систем токсин-антитоксин [10; 15; 16]. Ці процеси потребують детального опису і роз'яснення, потім буде продемонстрована їхня роль після впливу антибіотиків.

У клітинній стінці всіх бактерій присутні гідролази муреїну (аутолізини), які забезпечують обіг муреїну, ріст та поділ клітини, беруть участь у формуванні джгутиків, пілей, споротворенні та інших процесах. У загальному контролі за активністю аутолізинів у грампози-

тивних бактерій ключову роль відіграють кон'юговані з D-аланіном тейхоеві кислоти. Завдяки роботі електронно-транспортного ланцюга мембрани бактерій на протязі товщини клітинної стінки утворюється градієнт іонів водню. Це можливо завдяки тому, що тейхоеві кислоти гальмують вільну дифузію іонів, тому у внутрішніх шарах муреїну концентрація протонів вища, ніж у зовнішніх. D-Аланілтейхоеві кислоти зв'язують протони і в такому вигляді інгібують активність гідролаз, тому внутрішні шари пептидоглікану мають велику щільність і тримають осмотичний тиск зсередини. У зовнішніх шарах концентрація протонів падає та зростає активність гідролаз, що розріджує пептидоглікан і, зрештою, зумовлює його розщеплення та реутилізацію [18]. Звідси зрозуміло, що деполаризація мембрани усуває протонний градієнт у клітинній стінці та призводить до аутолізу (рис. 3).

Регуляція активності аутолізинів у грамнегативних бактерій наразі залишається незрозумілою, але також залежить від заряду мембрани та концентрації протонів у клітинній стінці. Показано, що аутоліз значною мірою блокується в кислому середовищі. Ще один механізм лізису бактерій при втраті мембранного заряду зумовлюється дією систем холін-антихолін [15; 18]. Це мембранні гомологічні білки, активація холінів призводить до лізису клітини, а антихолін зв'язується з холіном та протидіє цьому процесу.

Уперше такі білки були описані в бактеріофагів. При розмноженні фага в цитоплазмі накопичуються гідролази муреїну, а в мембрані комплекси холін-антихолін. Коли енергетичні ресурси клітини виснажуються, мембранний заряд падає, це спричинює транслокацію цитоплазматичного хвоста антихоліну назовні (він містить кілька катіонних амінокислот, тому надійно тримається доки є негатив-

ний заряд з цитоплазматичного боку). Антихолін дисоціює від холіну, потім холін олігомеризується і через такі ділянки починається витікання цитоплазматичного вмісту — від іонів до білків, у тому числі і гідролаз. Останні спричиняють швидкий лізис клітини та вивільнення фагів.

Згодом практично в усіх бактерій були відкриті два висококонсервативних оперона *cid* та *lrg*, які кодують відповідно CidA — холін та LrgA-антихолін (принцип роботи зображений на рис. 3). Імовірно, це відбулося внаслідок мутацій, що призвели до нездатності фагів до репродукції, а їхні гени залишилися у хромосомах і перейшли під контроль хазяїна. Більш того, доведена цілковита аналогічність цієї пари генів Bcl-2 сімейства еукаріот, що контролюють апоптоз. Можна навіть замінити бактеріальні протеїни еукаріотичними аналогами, і все працює без жодних змін. Так було доведено наявність програмованої загибелі клітини (ПЗК) у прокариот та її принципіву аналогію із ПЗК у еукаріот. Згодом було встановлено аналогію еукаріотичного p53 та прокариотичного LexA, що координує SOS-відповідь на ушкодження у бактерій. Так, LexA зупиняє поділ та ріст клітини, одночасно активує репараційні процеси (головним чином через запуск синтезу RecA) й утворення ендонуклеаз і протеаз. Доведена наявність каспазної активності у RecA.

Якщо ушкодження не вдається усунути протягом певного часу або ушкодження настільки значні, що ціна репарації перевищує вартість створення нової клітини, відбувається фрагментація ДНК, протеоліз цитоплазматичних білків і зморщення клітини, аналогічно до апоптозу в еукаріот. У свою чергу, загибель клітини від дії CidA/LrgA механізму нагадує програмований некроз у еукаріот. Результати цих досліджень дозволили припустити похо-

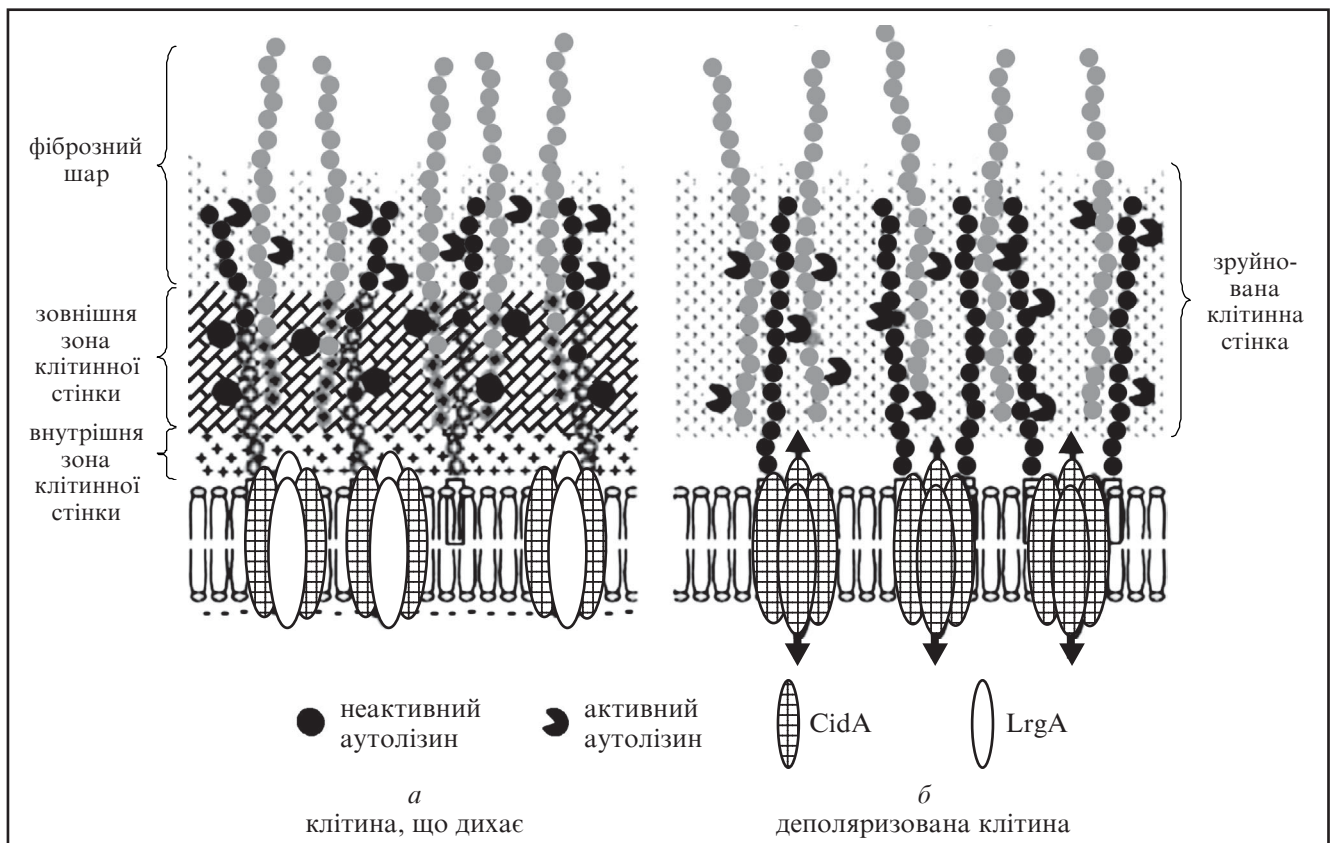


Рис. 3. Зображена регуляція активності гідролаз пептидоглікану (аутолізинів) за допомогою тейхоевих кислот та протонного градієнта (а, б). Показана робота системи холінантихолін CidA/LrgA [15]. За допомогою криоелектронної мікроскопії було встановлено розшарування клітинної стінки грампозитивних бактерій на внутрішню зону, що є пухкою та містить ліпотейхоеві кислоти — функціональний аналог периплазматичного простору грамнегативних бактерій; зовнішню зону, що є щільною та тримає осмотичний тиск, з низькою активністю аутолізинів; та фіброзний шар, що містить частково розщеплений пептидоглікан унаслідок активації аутолізинів, його фрагменти реутилізуються клітиною. Щільна зовнішня зона гальмує дифузію протонів накопичених від роботи електронно-транспортного ланцюга мембрани та створює градієнт. D-Аланілтейхоеві кислоти зв'язують аутолізини та запобігають їхньої активності за присутності протонів. За низького вмісту іонів водню відбувається депротонізація D-аланіну тейхоевих кислот, і вони вивільнюють аутолізини. Тому втрата трансмембранного градієнта протонів призводить до швидкого лізису клітини. Інактивація антихоліну викликає олігомеризацію холіну, що створює канали для вільного руху водню і спричиняє лізис

дження механізмів ПЗК тваринних клітин шляхом перенесення відповідних генів з мітохондрій (та пояснити центральну роль мітохондрій в розвитку внутрішнього шляху апоптозу), а у рослин шляхом перенесення генів з хлоропластів [17]. Сенс існування ПЗК стає зрозумілим після усвідомлення, що популяції бактерій поводять себе як багатоклітинні спільноти, а не сукупність одиничних клітин. У стресових умовах (наприклад, за дефіциту поживних речовин зниження мембранного потенціалу до критичного рівня призводить до інактивації антихо-

ліну, спричиняє лізис більшості клітин, що забезпечує ресурсами інші клітини) ПЗК покращує виживання популяції, необхідна з метою формування біоплівки (для звільнення ДНК з метою прикріплення до поверхні та формування каркасу плівки), для виділення деяких токсинів (наприклад стрептококового пневмолізину), трансформації, спороутворення [18].

Системи **токсин-антитоксин** — це пари послідовно розташованих генів, які звичайно кодують стабільний токсин і нестабільний антитоксин, що розпадається в бактеріальній клітині

значно швидше за токсин, бо є субстратом протеаз. Присутність антитоксину блокує дію токсину. Якщо виробництво білка або транскрипція порушуються, то антитоксин руйнується і токсин починає діяти. Вперше такі системи були описані в плазмідах, вони викликають залежність від присутності плазміди. Якщо при поділі клітини випадково плазміда втрачається, така клітина гине внаслідок дії токсину. Втім, згодом було встановлено наявність систем токсин-антитоксин в усіх секвенованих геномах бактерій.

Більше того, часто бактерії мають кілька десятків таких пар. Одними з найпоширеніших є системи *mazEF* та *HipVA*, які добре вивчені та мають вагоме значення. Система *mazEF* кодує стабільний токсин *mazF* — рибонуклеазу, специфічну до АСА ділянки, й антитоксин *mazE*, що блокує дію токсину, але є субстратом протеази *ClpAP*. Якщо синтез антитоксину переривається, то *mazF* руйнує всі мРНК, які мають АСА-фрагмент. Система *HipVA* кодує токсин *HipA*, що блокує глутаміл-тРНК синтетазу, спричиняючи зупинку синтезу білка й антитоксин *HipV* [16; 19].

Вважалося, що призначенням цих систем залежності була стабілізація в клітині плазмід і певних ділянок бактеріальної хромосоми. Пізніше було доведено, що протягом певного часу дія токсину оборотна і життєдіяльність клітини може бути відновлена за умови поновлення синтезу антитоксину. У подальшому була продемонстрована вірогідність стохастичної (випадкової) активації систем токсин-антитоксин у частині клітин бактеріальної популяції, що призводила до стазису (оборотної зупинки метаболізму) таких клітин. Згодом синтез антитоксину відновлювався і бактерії починали розмножуватися [19].

Вірогідність активації токсину прямо залежить від кількості таких пар у геномі. Наявність неактивних клітин у популяції бактерій дозволяє їм вижити при раптовому погіршенні умов існування, у тому числі при впливі антибіотиків. Численні дослідження пар токсин-антитоксин довели їх значення для персистенції бактерій під дією антибіотиків та інших несприятливих факторів (так, деякі *M. tuberculosis* мають 65 пар), формування біоплівки, підтримання стабільності острівців патогенності [18]. При активації SOS-відповіді токсин *mazF* уповільнює розвиток клітинної смерті внаслідок активації ПЗК,

надаючи більше часу на репарацію, а також скеровуючи всі наявні енергетичні ресурси на відновлення шляхом руйнації більшості клітинних мРНК. Транскрипти необхідних для репарації генів та мРНК антитоксину *mazE* не містять АСА-ділянок й активно транлюються.

Активація *HipA* при застосуванні антибіотиків відповідає за персистенцію бактерій. Однак тривала дія токсинів сама може спричинити загибель клітини. На можливість загибелі також впливають присутність *quorum sensing* (відчуття достатньої кількості) факторів. Насамкінець процес регулюється так, що, наприклад, після впливу антибіотика 90 % бактерій гинуть, а 10 % стають персистентами, а після закінчення впливу антибіотика споживають рештки загиблих бактерій для відновлення життєдіяльності [18]. При цьому персистенти зберігають загальну чутливість до антибіотика. Після поновлення розмноження повторна обробка антибіотиком відтворює таку ж картину — 90 % загиблих, 10 % персистентів. Ці ж *quorum sensing* фактори спричиняють активацію систем токсин-антитоксин та підсумковий аутоліз частини клітин при формуванні біоплівок [18].

Доцільно розглянути в цілому механізми загибелі бактерій під впливом різних груп антибіотиків. *Інгібітори синтезу клітинної стінки* звичайно викликають лізис чутливих клітин, залежний від активації аутолізинів. Первинні uszkodження клітинної стінки спричиняють активацію процесів репарації, що у підсумку підвищує генерацію гідроксильних радикалів та uszkodження ДНК [10]. Неможливість усунути uszkodження призводить до активації аутолізинів переважно внаслідок активації холін-подібного білка *CidA*. *Антибіотики, що підвищують проникність плазматичної мембрани* спричиняють її деполаризацію. Це призводить до зниження вмісту протонів у зоні

клітинної стінки і наслідкової активації гідролаз муреїну зі швидким лізисом клітини. Головним наслідком дії *фторхінолонів* є дволанцюгові розриви в ДНК. Це призводить до індукції репарації та генерації гідроксильних радикалів, обтяжуючи uszkodження ДНК [10].

Також uszkodження ДНК може спричинити блокування експресії антитоксину в модулях залежності (найчастіше в парі *mazEF*) та загибель клітини. *Аміноглікозиди* діють, переважно спричиняючи деполаризацію мембрани внаслідок включення невірної трансльованих білків-переносників та підвищуючи генерацію гідроксильних радикалів з uszkodженням ДНК. Цілковита блокада синтезу білка при достатньому накопиченні в цитоплазмі може спричинити активацію токсинів *mazF* [10].

Рифаміцини надійно блокують синтез РНК, що призводить до припинення продукції антитоксину, швидкої активації токсинів *mazF* та загибелі клітини. *Антибіотики, що блокують синтез білка*, також можуть спричинити загибель чутливих клітин шляхом активації токсину, подібно до рифаміцинів, але зі значно меншою ефективністю, це пояснює бактерицидну дію макролідів та хлорамфеніколу щодо деяких збудників. З вищенаведених даних очевидно, що найефективнішими проти персистентів будуть антибіотики, що порушують мембранний потенціал (підвищення проникності мембрани або блокують роботу електронно-транспортного ланцюга), тому що це веде до швидкого аутолізу навіть за повної відсутності метаболічної активності.

Перспективи розвитку досліджень

та практичного застосування

Подальші дослідження організації та регуляції механізмів програмованої загибелі прокариот пояснять особливості поведінки бактеріальних спільнот і

нададуть нові потенційні мішені для фармакологічного впливу. У цьому напрямку вже є перші досягнення. Так, з грудного молока виділено комплекс α -лактальбуміну та олеїнової кислоти — HAMLET. Показано, що він спричиняє програмовану смерть у *S. pneumoniae* та *Haemophilus influenzae* протягом однієї години [17]. В. Р. Conlon et al. доповідають про винахід нового антибіотика з експериментальною назвою ADEP 4, який активує неспецифічну протеазу ClpP, що руйнує більше 400 клітинних білків, спричиняючи швидку загибель бактерій [20]. При самостійному застосуванні спостерігалася швидка селекція стійких мутантів. Утім, комбіноване застосування з рифампіцином призвело до руйнації біоплівки і швидкої загибелі персистуючих *Staphylococcus aureus* без утворення стійких штамів.

Висновки

Детальні знання про механізм дії антибіотиків від первинної мішені до загибелі клітини необхідні для створення стратегії протидії утворенню резистентних і персистуючих бактерій, розуміння наслідків комбінованого застосування антибіотиків та пошуку синергічних комбінацій, розробки методів знищення персистуючих бактерій, боротьби з біоплівками та токсиноутворенням тощо. Прогрес у дослідженні взаємодії антибіотиків та їх первинних мішеней призвів до вдалих модифікацій природних сполук, інформація щодо механізмів розвитку стійкості також сприяє синтезу більш ефективних препаратів і дозволяє передбачати можливість перехресної резистентності до антибіотиків. З'явилося розуміння того, що загибель бактеріальної клітини не є пасивною від накопичення ушкоджень, але навпаки, є активним тонко регульованим процесом, що нагадує більш детально вивчені механізми апоптозу і програмованого

некрозу в еукаріот. Це дозволяє по-новому поглянути на поведінку бактерій у спільнотах, вплив антибіотиків на популяції бактерій, зрозуміти причини невдач в ерадикації мікробів унаслідок феномена персистенції. Детальне вивчення летальних подій у клітинах бактерій дозволяє краще зрозуміти наслідки комбінованого застосування антибіотиків і механізми та наслідки впливу інших факторів (заліза, антиоксидантів) на бактерицидну активність. Нарешті, розуміння сенсу активної загибелі бактерій дає змогу розпочати боротьбу з позитивними для виживання мікробної спільноти наслідками — формуванням біоплівок, вивільненням токсинів тощо. Отже, постає необхідність розробки методів маніпуляції програмованою загибеллю бактерій в інтересах людини. Викриття білків і генів, задіяних у процесах загибелі прокариот, надає велику кількість перспективних мішеней для нових класів антибіотиків, і цей напрям сьогодні активно досліджується. Незабаром наші нові знання й успіхи повинні втілитись у кардинальне поліпшення ефективності лікування бактеріальних інфекцій.

Ключові слова: антибіотики, механізми дії, механізми загибелі клітин, резистентність, вільні кисневі радикали, системи холін-антихолін та токсин-антитоксин.

ЛІТЕРАТУРА

- Bertram Katzung, Anthony Trevor. Basic and Clinical Pharmacology 13 Ed. 2014; 767-824.
- Finch RG, Greenwood D, Norrby SR, Whitley RJ. Antibiotic and Chemotherapy 9 Ed. 2010; 10-33.
- John Chu, Xavier Vila-Farres, et al. Discovery of MRSA active antibiotics using primary sequence from the human microbiome. Nature Chemical Biology 2016; 12: 1004–1006. doi:10.1038/nchembio.2207.
- Munch D, Engels I, Muller A, et al. Structural Variations of the Cell Wall Precursor Lipid II and Their Influence on Binding and Activity of the Lipoglycopeptide Antibiotic Oritavancin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2015; 59(2): 772-781. doi:10.1128/AAC.02663-14.
- Ling LL, Schneider T, et al. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. Nature. 2015; 517: 455–459. doi:10.1038/nature14098.
- Jelic D, Antolovic R. From Erythromycin to Azithromycin and New Potential Ribosome-Binding Antimicrobials. Gualerzi CO, ed. Antibiotics. 2016; 5(3): 29. doi:10.3390/antibiotics5030029.
- Cipic Paljetak H, Verbanac D, Padovan J, et al. Macrolones Are a Novel Class of Macrolide Antibiotics Active against Key Resistant Respiratory Pathogens In Vitro and In Vivo. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2016; 60(9): 5337-5348. doi:10.1128/AAC.00524-16.
- Alberts B, et al. Molecular Biology of the Cell 6 Ed. 2015; 343-344.
- Ndieyira JW, Bailey J, Patil SB, et al. Surface mediated cooperative interactions of drugs enhance mechanical forces for antibiotic action. Scientific Reports. 2017; 7: 41206. doi:10.1038/srep41206.
- Kohanski MA, Dwyer DJ, Collins JJ. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. Nature reviews Microbiology. 2010;8(6):423-435. doi:10.1038/nrmicro2333.
- Kohanski MA, et al. A Common Mechanism of Cellular Death Induced by Bactericidal Antibiotics. Cell. 2007; 130(5): 797-810. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.06.049.
- Ferrandiz M-J, de la Campa AG. The Fluoroquinolone Levofloxacin Triggers the Transcriptional Activation of Iron Transport Genes That Contribute to Cell Death in Streptococcus pneumoniae. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2014; 58 (1): 247-257. doi:10.1128/AAC.01706-13.
- Iris Keren et al. Killing by Bactericidal Antibiotics Does Not Depend on Reactive Oxygen Species. Science. 2013;339:1213. doi: 10.1126/science.1232688.
- Mi H, Wang D, Xue Y, et al. Dimethyl Sulfoxide Protects Escherichia coli from Rapid Antimicrobial-Mediated Killing. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2016; 60(8): 5054-5058. doi:10.1128/AAC.03003-15.
- Rice KC, Bayles KW. Molecular Control of Bacterial Death and Lysis. Microbiology and molecular biology reviews. 2008; 72 (1): 85-109. doi:10.1128/MMBR.00030-07.
- Boaz Sat, Ronen Hazan, et al. Programmed Cell Death in Escherichia coli: Some Antibiotics Can Trigger mazEF Lethality J. Bacteriol. 2001; 183(6): 2041-2045. doi: 10.1128/JB.183.6.2041-2045. 2001.

17. Bayles K. W. Bacterial Programmed Cell Death: Making Sense of a Paradox. *Nature reviews Microbiology*. 2014;12(1):63-69. doi:10. 1038/nrmi-cro3136.

18. Allocati N, Masulli M, Di Ilio C, De Laurenzi V. Die for the community: an overview of programmed cell death in bacteria. *Cell Death and Disease* 2015;

6(1): e1609. doi:10. 1038/cddis. 2014. 570.

19. Wen Y, Behiels E, Devreese B. Toxin-antitoxin systems: their role in persistence, biofilm formation and pathogenicity. *Pathog Dis* 2014; 70(3): 240-249. doi: 10.1111/2049-632X.12145.

20. Conlon B, Nakayasu E, Fleck L, et al. Killing persister cells and eradicat-

ing a biofilm infection by activating the ClpP protease. *Nature*. 2013; 503(7476): 365-370. doi:10. 1038/nature12790.

Надійшла до редакції 12.10.2017

*Рецензент д-р мед. наук,
проф. Р. С. Вастьянов,
дата рецензії 13.10.2017*

УДК 615.281:615.33-579.252.55

О. Д. Костов, А. М. Венгер, М. Д. Кагльак

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ АНТИБІОТИКІВ І ХІМІОПРЕПАРАТІВ

Розуміння молекулярних механізмів дії антибіотиків на мікробну клітину має вирішальне значення для ефективного лікування бактеріальних інфекцій, пошуку засобів подолання стійкості до препаратів та розробки нових антибіотиків. В огляді наводиться докладна інформація щодо первинних молекулярних мішеней різних класів антибіотиків, застосовуваних сьогодні в клініці, та деяких експериментальних речовин, що є вельми перспективними щодо клінічного застосування. Також розглянуті механізми загибелі мікробної клітини як активні керовані процеси, що розпочинаються з ураження антибіотиком первинної мішені та включають участь вільних кисневих радикалів, бактеріальних аутолізинів, систем холін-антихолін і токсин-антитоксин. В огляді продемонстрована наявність програмованої загибелі клітин у прокариот, призначення цього феномена та наслідки для практичної антибактеріальної терапії.

Ключові слова: антибіотики, механізми дії, механізми загибелі клітин, резистентність, вільні кисневі радикали, системи холін-антихолін та токсин-антитоксин.

UDC 615.281:615.33-579.252.55

O. D. Kostov, A. M. Venger, M. D. Kaglyak

MOLECULAR MECHANISMS OF ACTION OF ANTIBACTERIAL ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPEUTIC DRUGS

Understanding of molecular mechanisms of action of antibiotics on microbial cell has crucial importance for effective treatment of bacterial infections, search for means of drug resistance removing and development of the new antibiotics. This review contains detailed information about primary molecular targets of different classes of antibiotics, currently used in practice and some most promising experimental drugs very close for clinical application. Information about mechanisms of bacterial cell death is presented as actively directed process starting after the damage of primary antibiotic target and involving free oxygen radicals, bacterial autolysins, cholin-anticholin and toxin-antitoxin systems. Presence of phenomenon of programmed cell death in prokaryotes is shown and its role and consequences for antibacterial therapy in medical practice are elucidated.

Key words: antibiotics, mechanism of action, mechanisms of cell death, resistance, free oxygen radicals, cholin-anticholin and toxin-antitoxin systems.

УДК 616.853-053.2-085.213

М. П. Первак

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ЕПІЛЕПТИЧНОГО СИНДРОМУ ЗА УМОВ МОДУЛЯЦІЇ АКТИВНОСТІ ТИРОЗИНКІНАЗИ

Одеський медичний національний університет, Одеса, Україна

На хронічну епілепсію страждає від 1 до 4 % населення [4; 6]. Першочерговим в лікуванні хворих на епілепсію є призначення антиепілептичних препаратів, але незважаючи на наявність більше ніж 20 медикаментів, рекомендованих до застосування в клінічній практиці, третина хворих на епілепсію не демонструє позитивних терапевтичних наслідків, продовжує страждати на неконтрольовану епілепсію, тобто фармакологіч-

но резистентну форму захворювання [16]. Слід зазначити, що хворі на резистентну епілепсію далеко не в усіх випадках (близько 10,0 %) мають показання до застосування хірургічних засобів лікування, тобто при прогресуючій формі захворювання вони є умовно приреченими хворими.

Подальше удосконалення методів лікування епілепсії пов'язане із розширенням арсеналу фармакологічних засобів за рахунок препаратів, які впливають на ключові патогенетичні

ланки формування епілепсії, а також їх комбіноване застосування із нефармакологічними методами зниження збудливості епілептизованих нейронів — електричними подразненнями (ЕП) структур антиепілептичної системи мозку, застосуванням транскраніальних електричних та імпульсних магнітних подразнень, ЕП блукаючого нерва, використанням препаратів на тлі утримання пацієнтів на кетогенній дієті. Механізм дії сучасних протисудомних препаратів у переважній біль-

© М. П. Первак, 2017