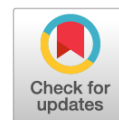


DOI: <https://doi.org/10.36691/RJA15038>

Катионные пептиды как перспективные соединения для терапии бактериальных осложнений при atopическом дерматите: оценка антибактериальной активности

А.А. Галкина¹, Д.К. Болякина¹, А.В. Шатилова¹, А.А. Шатилов¹, М.О. Бабикина¹,
А.К. Голомидова², А.А. Никонова¹, С.М. Андреев¹, Д.А. Кудлай¹, Н.Н. Шершакова¹,
М.Р. Хаитов^{1,3}

¹ Государственный научный центр «Институт иммунологии», Москва, Россия;

² Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии», Москва, Россия;

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Атопический дерматит в ряде случаев имеет тяжёлое хроническое персистирующее течение, что существенно влияет на качество жизни больных и ограничивает их работоспособность вплоть до инвалидизации. Снижение эффективности антибактериальных препаратов на фоне развития к ним резистентности микроорганизмов осложняет терапию атопического дерматита и актуализирует разработку новых противомикробных средств.

Цель исследования — дизайн, синтез и оценка антибактериальной активности катионных пептидов и водного раствора фуллерена C₆₀ для создания на их основе препаратов с биологической активностью, в том числе противовоспалительной, противоаллергической и антибактериальной.

Материалы и методы. Объектами исследования были разработанные линейные и дендримерные катионные пептиды, структуру которых подтверждали масс-спектрометрией (MALDI-TOF). Водный раствор фуллерена C₆₀ получали по уникальной, разработанной ранее запатентованной технологии. Анализ антибактериальной активности проводили методом диффузии в агар с использованием дисков (скрининг), а также методом последовательных разведений, который использовался для определения минимальной бактерицидной концентрации исследуемых соединений.

Результаты. В рамках проведённых исследований разработано и синтезировано 42 катионных пептида, содержащих от 7 до 25 аминокислот с зарядами от +5 до +16, с молекулярной массой, не превышающей 5000 Да. Скрининг методом диффузии в агар с использованием дисков выявил 15 пептидов, показавших активность в отношении штамма *Escherichia coli Dh5a*. Методом подсчёта колоний показано, что пептиды АВ-14, АВ-17 и АВ-18 проявляли бактерицидную активность относительно бактериального штамма *E. coli Dh5a* в концентрациях 0,03, 0,15 и 0,74 ммоль/л соответственно, превышавшую таковую ампициллина (0,74 ммоль/л), который выступал в роли положительного контрольного препарата, в несколько раз. Анализ водного раствора фуллерена C₆₀ не выявил у него наличия антибактериальной активности.

Заключение. Получен ряд катионных пептидов, имеющих в своём составе гидрофобные и положительно заряженные аминокислоты. Наиболее активные пептиды (АВ-14 и АВ-17) имеют протяжённые амфифильные участки с α-спиральной структурой, а их высокая антибактериальная активность обуславливает перспективность дальнейших исследований для разработки на их основе антибактериальных терапевтических средств.

Ключевые слова: катионные антимикробные пептиды; антибактериальные агенты; фуллерен C₆₀; атопический дерматит; бактериальные инфекции.

Как цитировать:

Галкина А.А., Болякина Д.К., Шатилова А.В., Шатилов А.А., Бабикина М.О., Голомидова А.К., Никонова А.А., Андреев С.М., Кудлай Д.А., Шершакова Н.Н., Хаитов М.Р. Катионные пептиды как перспективные соединения для терапии бактериальных осложнений при atopическом дерматите: оценка антибактериальной активности // *Российский аллергологический журнал*. 2023. Т. 20, № 4. С. 387–401. DOI: <https://doi.org/10.36691/RJA15038>

DOI: <https://doi.org/10.36691/RJA15038>

Cationic peptides as promising compounds for the treatment of bacterial complications in atopic dermatitis: Antibacterial activity assessment

Anastasiia A. Galkina¹, Darya K. Bolyakina¹, Anastasia V. Shatilova¹, Artem A. Shatilov¹, Marina O. Babikhina¹, Alla K. Golomidova², Alexandra A. Nikonova¹, Sergey M. Andreev¹, Dmitry A. Kudlay¹, Nadezhda N. Shershakova¹, Musa R. Khaitov^{1, 3}

¹ National Research Center — Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

² Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

³ The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The decrease in the effectiveness of antibiotics against the background of resistance of microorganisms aggravates the therapy of atopic dermatitis complicated by bacterial infection and actualizes the development of new antimicrobial agents.

AIM: To develop, synthesize, and evaluate the antibacterial activity of cationic peptides and an aqueous solution of fullerene C₆₀ to create drugs based on them that will have a spectrum of biological activity, including anti-inflammatory, antiallergic, and antibacterial activities.

MATERIALS AND METHODS: This study analyzed the developed linear and dendrimer cationic peptides, whose structure was confirmed by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry. An aqueous solution of fullerene C₆₀ was obtained using a uniquely developed and patented technology. Antibacterial activity was assessed by diffusion into agar using disks (screening) and serial dilution, which was used to determine the minimum bactericidal concentration of the studied compounds.

RESULTS: Moreover, 42 cationic peptides with various structures were developed and synthesized. The molecular weight of the peptides did not exceed 5,000 Da. They contained 7–25 amino acids with charges from +5 to +16. Screening was carried out through diffusion into agar using disks and revealed 15 peptides that showed activity against *Escherichia coli* Dh5a. Thus, using the method of counting colonies, the peptides AB-14, AB-17, and AB-18 showed bactericidal activity relative to *E. coli* Dh5a in concentrations of 0.03, 0.15, and 0.74 mM, respectively, which exceeded that of ampicillin (0.74 mM) several times. Analysis of an aqueous solution of fullerene C₆₀ did not reveal its antibacterial activity.

CONCLUSIONS: The antibacterial activity of the resulting peptides makes them promising for the development of antibacterial therapeutic agents.

Keywords: antimicrobial cationic peptides; antibacterial agents; fullerene C₆₀; atopic dermatitis; bacterial infections.

To cite this article:

Galkina AA, Bolyakina DK, Shatilova AV, Shatilov AA, Babikhina MO, Golomidova AK, Nikonova AA, Andreev SM, Kudlay DA, Shershakova NN, Khaitov MR. Cationic peptides as promising compounds for the treatment of bacterial complications in atopic dermatitis: Antibacterial activity assessment. *Russian Journal of Allergy*. 2023;20(4):387–401. DOI: <https://doi.org/10.36691/RJA15038>

ОБОСНОВАНИЕ

Атопический дерматит (АтД) — это мультифакторное генетически детерминированное воспалительное заболевание кожи, характеризующееся зудом, хроническим рецидивирующим течением, возрастными особенностями локализации и морфологии очагов поражения [1]. АтД отмечается у лиц всех возрастных групп вне зависимости от страны проживания, а частота встречаемости среди всех кожных заболеваний составляет 20–40%. Распространённость АтД среди взрослого населения составляет 2–8%, среди детей — до 20% [2].

Пациенты с АтД и лица, осуществляющие уход за ними, испытывают снижение качества жизни, в частности изменение повседневной деятельности, нарушение сна, тревогу и депрессию [3]. В настоящее время отмечается также тенденция к развитию тяжёлых, непрерывно рецидивирующих форм АтД, устойчивых к стандартной терапии. Кроме того, распространённость кожных и системных инфекций при АтД значительно выше, чем при других заболеваниях, поскольку пациенты с АтД имеют повышенный риск развития инфекционных осложнений, в том числе бактериемий, герпетической экземы, инфекций кожи и мягких тканей [4, 5]. *Staphylococcus aureus*, бета-гемолитические стрептококки являются наиболее распространёнными микроорганизмами, которые вызывают бактериальные осложнения АтД [6, 7].

Профилактическая терапия АтД основана на методах лечения, направленных на уменьшение воспаления и восстановление кожного барьера, тогда как в отношении локальных и системных инфекций применяют антибактериальные и противовирусные препараты.

С момента открытия пенициллина в 1928 году антибиотики остаются наиболее востребованными препаратами для лечения многих бактериальных инфекций. К сожалению, в настоящее время стало очевидным, что нерегулируемое чрезмерное использование антибиотиков не только способствует развитию резистентности бактерий, но и повышает вероятность их эволюции за счёт увеличения частоты мутаций, рекомбинации и горизонтального переноса генов [8–10]. Потеря эффективности часто используемых антимикробных соединений обуславливает необходимость поиска новых подходов к лечению инфекционных заболеваний, включая модификацию имеющихся лекарственных средств и разработку новых антибактериальных препаратов, к которым у микроорганизмов не будет развиваться резистентность.

Низкая по сравнению с антибиотиками вероятность развития спонтанной резистентности показана для таких соединений, как катионные пептиды. Фармакодинамические исследования свидетельствуют, что это одно из важнейших предполагаемых преимуществ катионных антимикробных пептидов (КАМП). Несмотря на то, что в литературе описаны случаи развития устойчивости к антимикробным пептидам в системах *in vitro* [11], для систем

in vivo это не так характерно [12], что, предположительно, обусловлено множеством различных механизмов, с помощью которых КАМП взаимодействуют с мишенью [13]. Традиционные антибиотики имеют специфические внутриклеточные мишени, КАМП же способны нарушать жизнедеятельность клеток как проникая внутрь, так и взаимодействуя с мембраной. Поскольку большинство антимикробных пептидов являются катионными и обладают литической активностью, низкая способность бактерий к развитию в отношении них резистентности может быть связана с особым способом воздействия КАМП на мембрану бактериальной клетки, а именно посредством электростатических взаимодействий [14, 15]. Следует отметить, что большинство описанных механизмов резистентности связаны с модификациями клеточной стенки, такими как, например, изменение суммарного заряда поверхности клетки [16].

Выраженная антибактериальная активность линейных КАМП сопряжена с наличием довольно сложной трёхмерной структуры и дисульфидных связей, а также малой доступностью для практического применения. В связи с этим помимо линейных катионных пептидов активно изучаются антимикробные пептидные дендримеры, которые, напротив, ввиду относительной протеолитической стабильности и возможности создания на их основе структур, близких по дизайну к природным лигандам соответствующих мишеней, являются перспективными соединениями.

Дендримеры (от греч. *dendros* — *дерево*, *vetвь*, *meros* — *часть*) — это полимерные молекулы с симметричной древовидной структурой с регулярным разветвлением, обладающие свойствами, совершенно отличными от линейных полимеров. В то время как на основе дендримеров активно разрабатываются наносистемы для доставки лекарств и генов, изучение антимикробных свойств антимикробных пептидных дендримеров находится на начальной стадии и является актуальной задачей. Однако было показано, что пептидные дендримеры активны относительно бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, а также биоплёнок [17].

Идентификация антимикробных пептидов и изучение особенностей их строения привели к разработке нового класса препаратов путём конструирования синтетических молекул на основе известных природных структур. Понимание того, как свойства антимикробных пептидов зависят от аминокислотной последовательности, позволит своевременно реагировать на появление новых, устойчивых к антибиотикам штаммов бактерий за счёт целенаправленной реконструкции последовательностей КАМП [17, 18].

Являясь биологически активными соединениями, КАМП протеолитически неустойчивы. В качестве несущего элемента для КАМП с формированием стабильного гибридного соединения может быть использован фуллерен C₆₀, выполняющий роль транспортёра. Клеточно-проникающая способность фуллерена C₆₀, а также отсутствие иммуногенности и аллергенности являются существенным

преимуществом таких транспортёров. Молекулы фуллера-на обладают структурой замкнутой поверхности с сильно развитой системой π -электронов, придающих ей высокую поляризуемость. Фуллерены способны принимать участие в реакциях присоединения, используя которые можно получить широкий спектр продуктов с разнообразными физико-химическими и биологическими свойствами. Среди известных фуллеренов наиболее изученным соединением является C_{60} , характеризующийся низкой токсичностью, способностью проникать через биологические мембраны и отсутствием иммуногенности [19, 20].

Токсикология фуллера является предметом многих дискуссий, однако в большинстве работ показано, что чистый фуллерен в форме водных дисперсий не обладает токсичностью. Так, водорастворимые производные фуллера не проявляют острой токсичности *in vivo* даже в достаточно высоких дозах [21]. Показано также, что величина LD_{50} для фуллеренола $C_{60}OH_{18}$ при внутрибрюшинном введении мышам равна 1,2 г/кг [22].

Известно, что фуллерен C_{60} проявляет множество видов биологических эффектов, включая противовирусные, противораковые, антиоксидантные и цитопротекторные. Он может также подавлять развитие воспалительных процессов, вызванных оксидативным стрессом, за счёт активации фагоцитарных реакций. Так, введение водного раствора фуллера C_{60} вызывает адгезию и миграцию нейтрофилов и макрофагов в очаг воспаления с последующим обнаружением его в фаголизосомах клеток. При этом блокируется синтез провоспалительных цитокинов — фактора некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF- α), интерлейкинов 6 и 8 (interleukin, IL-6, IL-8), из них IL-8 является ключевым хемоаттрактантом для нейтрофилов [23]. В нейтрофилах процесс кислород-зависимого фагоцитоза сопровождается активной секрецией фермента миелопероксидазы, катализирующей токсическое действие перекиси водорода на различные микроорганизмы. Установлено, что C_{60} в определённой дозе ингибирует активность этого фермента в нейтрофилах [24, 25].

На модели АтД нами показана также противоаллергическая активность водного раствора фуллера. Было установлено, что водный раствор фуллера значительно снижал кожное воспаление, вызванное аллергенным белком овальбумином, и в существенной степени увеличивал экспрессию гена, кодирующего важнейший белок кожного барьера филаггрин. На модели АтД было показано, что обработка водным раствором фуллера улучшает гистологическую картину кожи, способствует снижению уровня специфического иммуноглобулина E (immunoglobulin E, IgE) и Th2-цитокинов (IL-4, IL-5), при этом выработка Th1-цитокинов (IL-12, интерферон гамма) увеличивалась [26]. Важной особенностью молекулы фуллера является и то, что свободные радикалы, находящиеся на её поверхности, способны негативно воздействовать на клетки микроорганизмов, увеличивая проницаемость их

оболочки для воздействия терапевтических молекул, таких как КАМП, и приводя, в конечном итоге, к фатальному нарушению жизнедеятельности.

Таким образом, гибридные соединения на основе фуллера C_{60} и катионных пептидов, слабо подверженных биодеградации, должны, на наш взгляд, обладать спектром биологических активностей, а их создание является крайне перспективным направлением для исследований.

Цель исследования — дизайн, синтез и оценка антибактериальной активности катионных пептидов и водного раствора фуллера C_{60} для создания на их основе препаратов, которые, предположительно, должны обладать спектром биологической активности, в том числе противовоспалительной, противоаллергической и антибактериальной, для терапии бактериальных осложнений при АтД.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Водный раствор фуллера

Водный раствор фуллера был получен диализным методом, как описано ранее [27]. Этот метод обеспечивает высокий выход фуллера C_{60} из кристаллического состояния в раствор, при этом гидродинамический размер частиц, определённый методом динамического светорассеяния, составляет 100–200 нм. В настоящей работе исходная концентрация стерильного раствора фуллера C_{60} составляла 1 мг/мл.

Катионные пептиды

Синтез пептидов проводили твёрдофазным методом, используя автоматический синтезатор пептидов PS3 Peptide Synthesizer (Gyros Protein Technologies Inc., США), по протоколу Fmoc-химии, используя смесь N-гидроксисбензотриазола с диизопропилкарбодиимидом как конденсирующий агент (HOBt/DIC). В синтезе использовали стартовые Fmoc-аминоацил-полимеры, смолу гелевого типа Rink Amide ChemMatrix (IRIS BioTech, Канада). Пептиды очищали методом препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (препаративный хроматограф LC-20 Shimadzu) на колонке с обращённой фазой (C18). Соответствие их рассчитанной молекулярной массе было подтверждено масс-спектрометрией (Microflex™ LT MALDI-TOF, BrukerDaltonics, Германия).

Анализ антибактериальной активности катионных пептидов

Антибактериальную активность водного раствора фуллера, линейных и дендримерных катионных пептидов оценивали *in vitro* с использованием лабораторного неинфекционного (без O-антигена) бактериального штамма *Escherichia coli Dh5 α* (18265017, Thermo Fisher Scientific, США) методами диффузии в агар с использованием дисков и подсчёта колоний. В качестве положительного контроля служил антибиотик ампициллин.

Анализ антибактериальной активности методом диффузии в агар. На чашку Петри высевали бактериальную культуру *E. coli Dh5a* и инкубировали 24 часа при 37°C. Бактериальную культуру для анализа готовили путём инокуляции профлампированной микробиологической петлёй 2–3 изолированных колоний *E. coli Dh5a* в жидкую питательную среду LB (lysogeny broth). Культуру инкубировали 4 часа при 37°C и встряхивали со скоростью 200 об./мин до получения оптической плотности бактериальной культуры при 620 нм 0,3–0,35 опт.ед. Для анализа антибактериальной активности бактериальный инокулят наносили на поверхность агаризованной среды в объёме 500 µl. Далее стерильным пинцетом на инокулированную поверхность агара помещали бумажные диски, пропитанные определённой концентрацией исследуемого пептида. В качестве положительного контроля использовали антибиотик ампициллин (10 µg на диск), в качестве отрицательного контроля — фосфатно-солевой буфер (phosphate-buffered saline, PBS). Чашки инкубировали в течение 16–24 часов при 37°C. Результаты фиксировали путём измерения диаметра зоны лизиса с точностью до миллиметра.

Оценка антибактериальной активности методом подсчёта колоний. Бактериальную суспензию для анализа готовили путём инокуляции изолированных колоний в жидкую питательную среду LB (lysogeny broth). Культуру инкубировали (37°C, 200 об./мин) до получения оптимальной оптической плотности (при 620 нм 0,3–0,35 опт.ед.), после чего разводили в среде LB в соотношении 1:2 и вносили в лунки плоскодонного 96-луночного планшета для культивирования клеток. В течение 15 минут после приготовления суспензии в лунки с инокулятом вносили рабочие разведения исследуемых пептидов или положительного контроля (антибиотик ампициллин) в концентрациях 0,7, 0,14, 0,03 и 0,01 ммоль/л. В качестве отрицательного контроля были приняты лунки с бактериальной культурой в среде LB без антибактериальных агентов. Инокулированный планшет инкубировали 4 часа (37°C, 200 об./мин). По окончании инкубации готовили серию десятикратных разведений испытуемых концентраций, а также отрицательного контроля на среде LB, а затем из автоматической пипетки отдельными каплями объёмом 10 µl наносили разведения на поверхность плотной питательной среды. Чашки Петри с каплями инкубировали в течение 16–24 часов при 37°C. Результаты антимикробной активности оценивали путём подсчёта колоний и расчёта минимальной бактерицидной концентрации, за которую принимали минимальную концентрацию, обеспечивающую гибель 99,9% микроорганизмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проектирование структуры пептидов

На первом этапе исследований нами была создана библиотека катионных пептидов, которые, предположительно, должны обладать высокой противомикробной

активностью и низкой токсичностью. Для разработки панели катионных пептидов мы опирались на базы данных уже имеющихся пептидов, а также на данные литературы по биологической (антибактериальной) активности катионных пептидов. Так, например, для некоторых последовательностей мы взяли фрагменты такого пептида, как LL-37, который обладает показанной противомикробной активностью, однако является, на наш взгляд, весьма длинным [28]. Проанализировав его последовательность, мы попытались выявить наиболее активный фрагмент, который использовали для конструирования собственной пептидной библиотеки.

Далее для конструирования других пептидов мы взяли за основу другой линейный α-спиральный пептид — KKLRLKIAFK, описанный в литературе, который, в свою очередь, является модификацией последовательности MARNKPLGKKLRLAAAFK, выделенной из *Pyrobaculum aerophilum* [29]. Данный пептид наряду с невысокой токсичностью отличался относительно короткой последовательностью и широким спектром описанной активности. Так, показана его активность против 15 штаммов таких патогенов, как *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, и главное — против такого важного патогена, как *Pseudomonas aeruginosa*.

Основой для ещё одного ряда пептидов стали пептиды из панели SAAP, обладающие повышенной антимикробной активностью относительно LL-37 [30]. Так, например, пептид SAAP-148 проявлял активность относительно биоплёнок, которые являются огромнейшей проблемой стационаров и других медицинских учреждений. Важно отметить, что SAAP-148 был активен в физиологических условиях и эффективен относительно устойчивых к метициллину *S. aureus* и обладающей в том числе множественной устойчивостью *A. baumannii*.

В процессе дизайна катионных пептидов мы использовали также элементы чередования гидрофильных и гидрофобных аминокислот. Такие фрагменты в гидрофобной среде (липидные мембраны клеток) приобретают конформацию амфифильной спирали благодаря участию водородных связей, стимулируя транслокацию пептида через мембрану. Селективная активность КАМП в отношении клеток млекопитающих и бактерий основана на различии в их структуре, фосфолипиды бактериальных мембран несут более отрицательный заряд. Ввиду этого КАМП имеет большее сродство к поверхности клетки, а его амфифильность облегчает проникновение внутрь бактерии или дестабилизацию бактериальной мембраны. Разработка структуры антибактериальных катионных пептидов основана на построении оптимального баланса между положительно заряженными и гидрофобными аминокислотами с учётом базы данных по антимикробным пептидам [31–33] и введении разветвлённых цепей (дендримеризация). Наличие в молекуле катионных пептидов нескольких идентичных цепей, несущих позитивный

заряд, способствует кооперативным взаимодействиям пептида с мембраной клетки.

Таким образом, с целью поиска уникальной пептидной последовательности с достаточной антибактериальной активностью и умеренной цитотоксичностью нами была создана библиотека из 42 катионных пептидов, которые содержали от 7 до 25 аминокислот с зарядами от +5 до +16. Молекулярная масса пептидов составляла не более 5000 Да.

Спроектированные пептидные последовательности далее были синтезированы и проанализированы на наличие противомикробной активности.

Скрининг катионных пептидов в отношении штамма *E. coli Dh5α* на наличие антибактериальной активности

Методом диффузии в агар с использованием дисков было показано, что водный раствор фуллерена не обладает антибактериальной активностью, однако 15 из 42 синтезированных пептидов показали активность в отношении штамма *E. coli Dh5α*. После анализа структурных характеристик активных пептидов были отобраны 6 наиболее перспективных, на наш взгляд, последовательностей. Антибактериальная активность отобранных катионных пептидов представлена в виде процента зоны лизиса относительно контрольного препарата (антибиотик ампициллин); табл. 1.

Таким образом, процент зоны лизиса (относительно зоны лизиса при нанесении ампициллина) катионных пептидов с шифрами АВ-11, АВ-14, АВ-15, АВ-16, АВ-17, АВ-18 составил 15, 50, 45, 10, 40 и 48 соответственно. Для всех указанных пептидов была изучена способность проявлять бактерицидную активность в отношении указанного бактериального штамма.

Анализ бактерицидной активности катионных пептидов

С помощью метода подсчёта колоний было показано, что все 6 отобранных пептидов продемонстрировали различную степень бактерицидной активности в отношении штамма *E. coli Dh5α*. Сводные данные, содержащие информацию о минимальных бактерицидных концентрациях указанных пептидов, представлены в табл. 2.

Наибольший интерес для дальнейших исследований представляют, на наш взгляд, пептиды с шифрами АВ-14, АВ-17 и АВ-18. На рис. 1 представлены данные относительно бактерицидной активности пептида АВ-18. Видно, что бактерицидная активность ампициллина, где наблюдалось полное отсутствие роста бактериальной культуры *E. coli Dh5α*, проявлялась в концентрации 0,74 ммоль/л. Что касается катионного пептида АВ-18, то он проявлял бактерицидную активность в отношении выбранного штамма уже в концентрации 0,15 ммоль/л. Таким образом, минимальная бактерицидная концентрация для АВ-18 превосходила таковую положительного контроля в 5

Таблица 1. Антибактериальная активность катионных пептидов, определённая методом диффузии в агар с использованием дисков

Table 1. Antibacterial activity of cationic peptides determined by agar diffusion method

№	Шифр	М, г/моль	Заряд, pH 7	Зона лизиса, %
1	АВ-11	2633	+10	15
2	АВ-14	2638	+8	50
3	АВ-15	2773	+10	45
4	АВ-16	2669	+16	10
5	АВ-17	2079	+8	40
6	АВ-18	2506	+11	48

Таблица 2. Катионные пептиды, обладающие антибактериальной активностью в отношении *E. coli Dh5α*

№	Шифр	Минимальная бактерицидная концентрация, ммоль/л
1	АВ-11	0,74
2	АВ-14	0,03
3	АВ-15	0,74
4	АВ-16	0,74
5	АВ-17	0,74
6	АВ-18	0,15

раз. Следует отметить, что ингибирование роста бактериального штамма, разведённого в 10 раз, наблюдалось уже под действием 0,03 ммоль/л АВ-18, при этом антибиотик подавлял рост разведённой в 100 раз бактериальной культуры только в концентрации 0,15 ммоль/л.

Минимальная бактерицидная концентрация для АВ-17 составляла 0,74 ммоль/л, что сопоставимо с активностью антибиотика. При этом на рис. 2 видно, что подавление активности роста бактериальной культуры под действием АВ-17 в концентрации 0,15 ммоль/л происходит при разведении *E. coli Dh5α* в 10 раз, а при обработке ампицилином в той же концентрации — только при разведении культуры в 100 раз. Таким образом, антибактериальная активность пептида АВ-17 в целом была выше таковой у положительного контроля.

В рамках проведённых исследований бактерицидной активности разработанных нами катионных пептидов большой интерес представляет пептид АВ-14, который продемонстрировал высокую бактерицидную активность в отношении *E. coli Dh5α* (рис. 3). Катионный пептид АВ-14 проявлял бактерицидную активность в отношении выбранного штамма уже в концентрации 0,03 ммоль/л. Таким образом, минимальная бактерицидная концентрация для АВ-14 превосходила таковую положительного контроля в 25 раз с сохранением указанной разницы даже при больших разведениях бактериальной культуры (1:10 000 и 1:100 000). Интересно отметить, что заряд данного пептида составлял

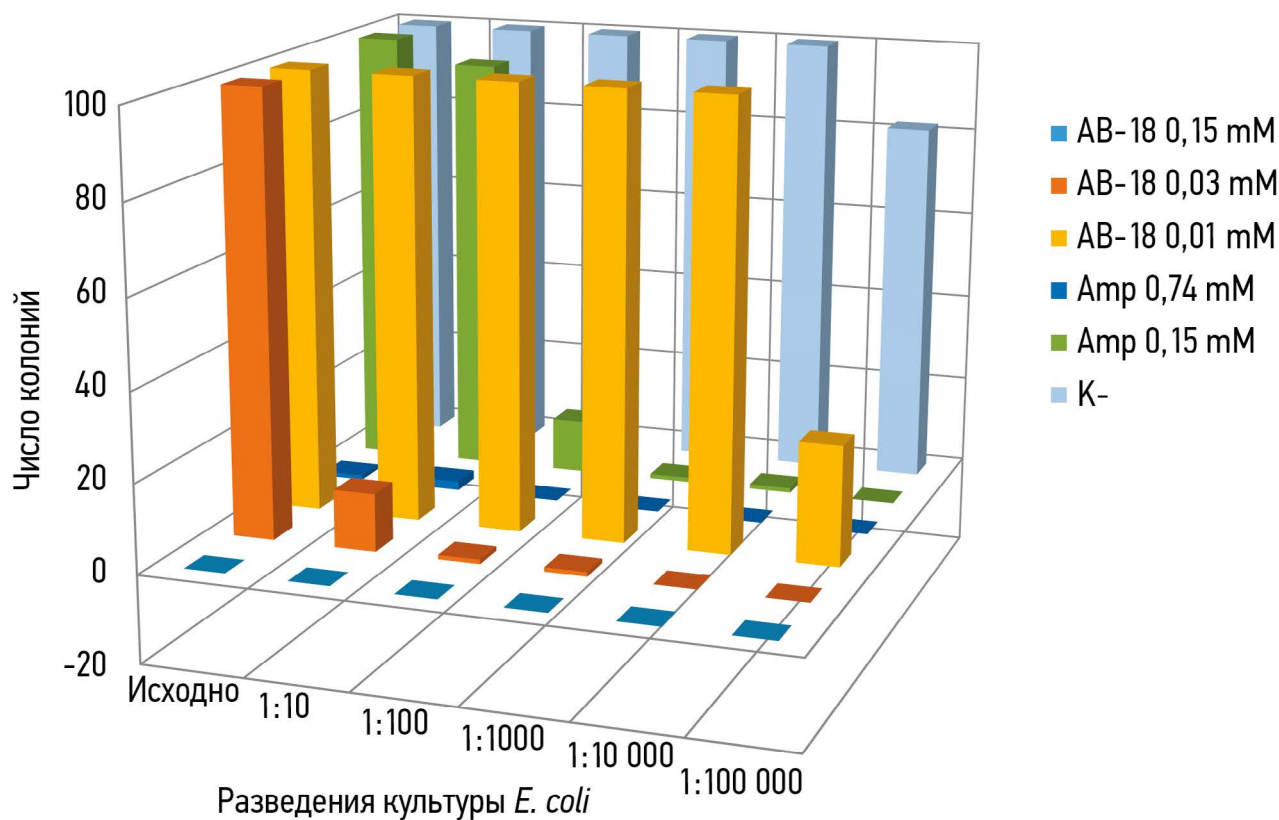


Рис. 1. Интенсивность роста колоний *E. coli Dh5a* под воздействием пептида AB-18.
Fig. 1. Growth intensity of *E. coli Dh5a* colonies under the influence of AB-18.

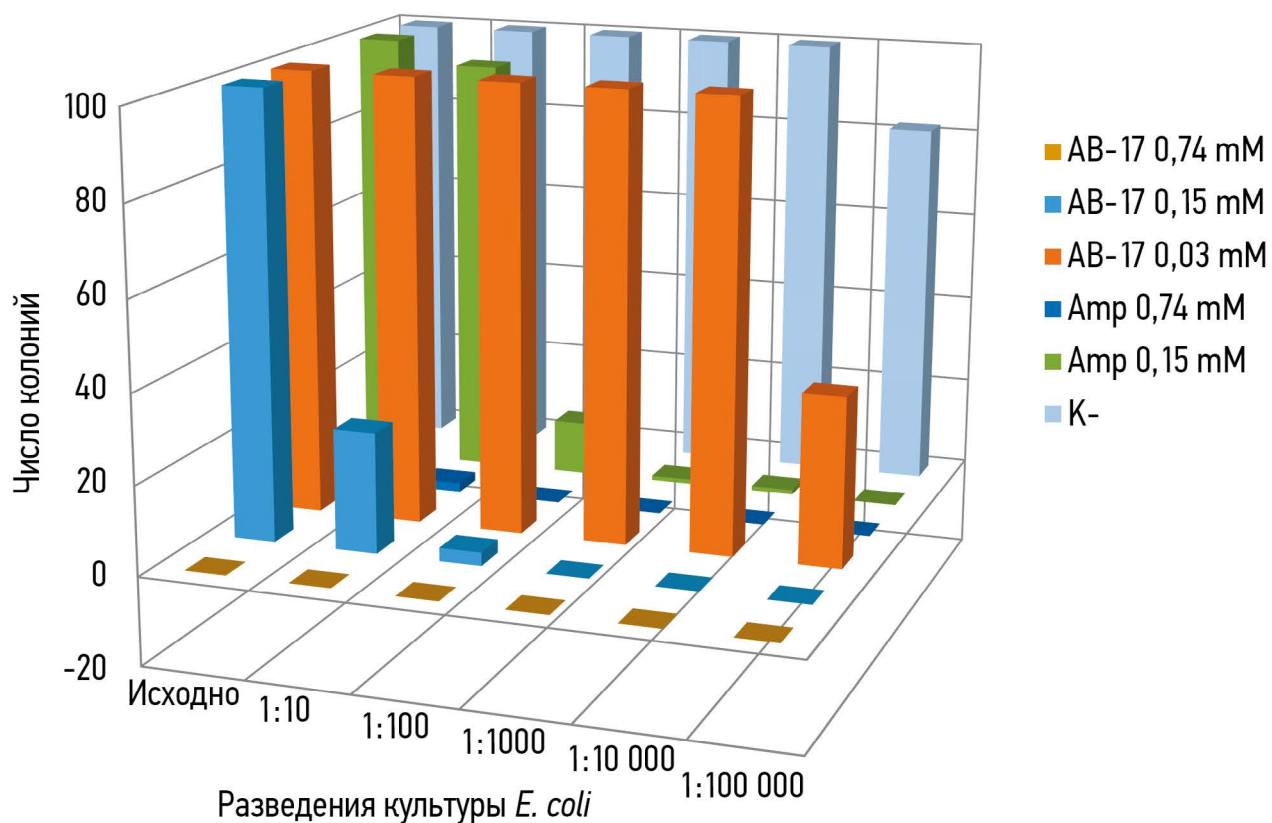


Рис. 2. Интенсивность роста колоний *E. coli Dh5a* под воздействием пептида AB-17.
Fig. 2. Growth intensity of *E. coli Dh5a* colonies under the influence of AB-17.

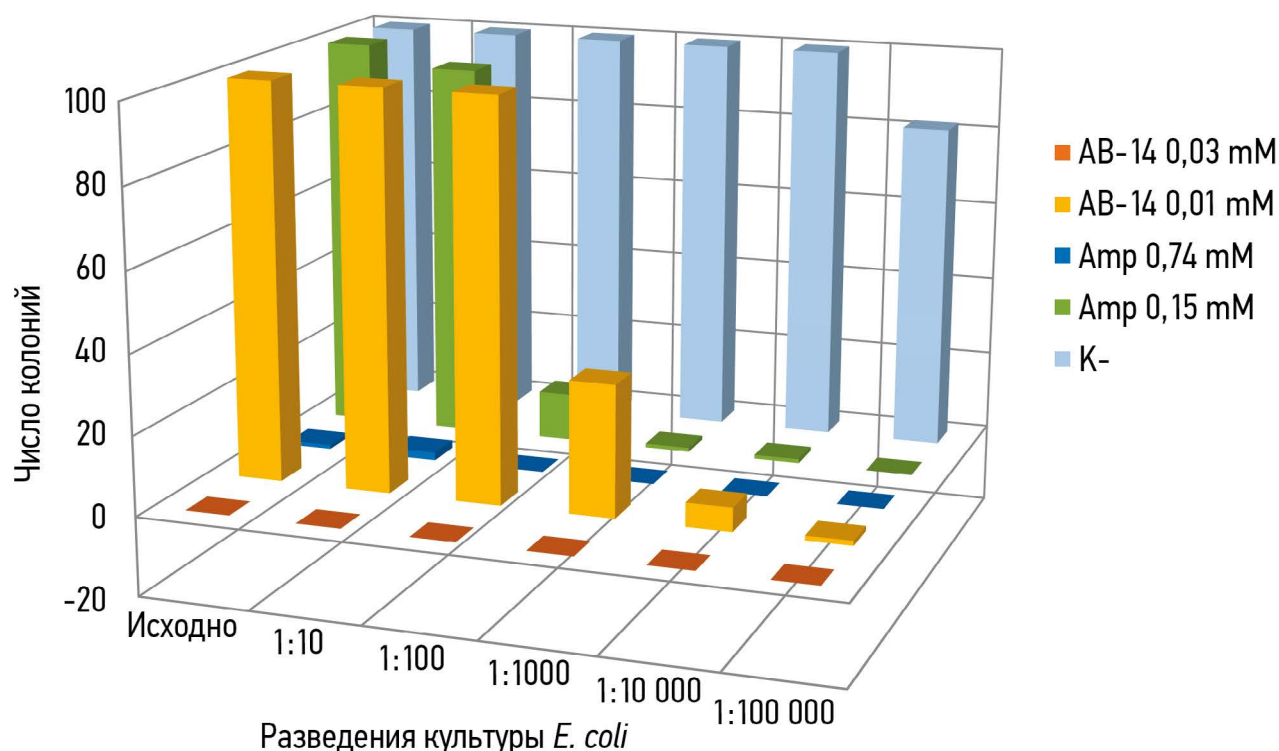


Рис. 3. Интенсивность роста колоний *E. coli Dh5a* под воздействием пептида АВ-14.

Fig. 3. Growth intensity of *E. coli Dh5a* colonies under the influence of AB-14.

+8, в то время как заряд представленных выше менее активных пептидов был либо таким же, либо выше. Данное наблюдение свидетельствует об отсутствии корреляции заряда пептида с его антибактериальной активностью.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

В рамках проведённого исследования нами был получен спектр пептидных соединений, обладающих антибактериальной активностью. Активные катионные пептиды имели положительный заряд от +8 до +16 и молекулярную массу 2–2,7 кДа, что указывает на их относительно небольшой размер. Чёткой корреляции между величиной заряда и активностью выявлено не было, однако было показано, что активность трёх разработанных пептидов была либо сопоставима с антибиотиком ампициллином, либо превышала последний по бактерицидности. Так, например, самым активным катионным пептидом был АВ-14, минимальная бактерицидная концентрация которого была в 25 раз меньше таковой ампициллина.

Обсуждение основного результата исследования

КАМП считаются перспективным кандидатом на роль ведущих антибактериальных препаратов, однако они имеют некоторые ограничения для широкого применения в клинической практике. Пептиды данной группы обычно

нестабильны и легко подвергаются ферментативному расщеплению как *in vitro*, так и *in vivo*, в то время как некоторые из них обладают токсичностью и гемолитической активностью. Кроме того, имеются определённые сложности синтеза катионных пептидов [34]. Таким образом, поиск и конструирование новых эффективных КАМП является весьма трудоёмкой задачей.

Информация, представленная в современных базах данных, позволяет прогнозировать свойства и создавать пептидные последовательности разнообразного дизайна [35]. Известные подходы к выявлению потенциально полезных КАМП, такие как структурная модификация известных природных пептидов, компьютерный скрининг, позволяют значительно сократить время и стоимость разработки новых антибактериальных пептидных структур [36–40].

В большинстве случаев за антибактериальную активность КАМП природного происхождения отвечают лишь несколько аминокислот. Однако количество природных пептидов, вероятно, исчисляется миллионами [41], что требует новых подходов для облегчения обнаружения и разработки новых соединений. В частности, всё более важную роль в исследованиях КАМП играют вычислительные методы, при этом традиционные методы машинного обучения считаются эффективными для распознавания ранее неизвестных пептидов. Вероятнее всего, на основе результатов наших исследований, анализируя структуры активных пептидов АВ-14, АВ-17 и АВ-18, мы можем предположить, что наиболее оптимальными структурами,

обладающими антибактериальными свойствами, будут являться амфифильные альфа-спиральные пептиды.

Широко используемой стратегией для повышения устойчивости КАМП к расщеплению протеазами является замещение остатков L-аминокислот на D-аминокислоты. Данный метод стал возможным, поскольку протеазы человека и микроорганизмов распознают исключительно L-аминокислоты, игнорируя неприродные D-формы. Следовательно, в некоторых случаях подобное замещение может увеличить период действия КАМП, чего может быть достаточно для достижения минимальных ингибирующих концентраций. Так, J. Lu с соавт. [36] синтезировали пептиды, сконструированные на основе Рер05 посредством изменения конфигурации аминокислот последовательности, что привело к повышению активности, увеличению периода действия и снижению токсичности полученных молекул. Важно отметить, что с целью изменения величины заряда и гидрофобности аминокислоты могут быть заменены на другие без изменения конфигурации, и данный подход остаётся не менее популярным и успешным в исследовательской практике.

Укорачивание пептидной последовательности — часто используемый метод, направленный на улучшение биологической активности соединения, и способный исключить из цепи фрагменты, которые могут действовать как потенциальный антиген. В то же время удаление важного участка аминокислотной последовательности, напротив, может снижать антимикробную активность. На примере мощного катионного пептида буфорина 2, состоящего из 21 аминокислоты, С.В. Park и соавт. [42] показали, что удаление четырёх аминокислотных остатков (TRSS) с N-конца способно увеличить антибактериальную активность пептида, в то время как удаление четырёх аминокислотных остатков (LLRK) с C-конца приводило к полной потере противомикробных свойств.

Ещё одним подходом в рамках разработки пептидных конструкций является терминальное ацетилирование и амидирование пептидов, которое может способствовать увеличению спиральности пептида, предотвращая ферментативную деградацию и повышая структурную стабильность и антимикробную активность. В публикации D. Li и соавт. [43] описано, что сконструированный путём ацетилирования по N-концу аналог L163 показал более высокую устойчивость к деградации трипсином. В другом исследовании C-концевое амидирование аналогов пептида эскулентина 2 способствовало увеличению их противомикробной активности и повышению селективности [44].

Помимо упомянутых выше методов, исследуются и применяются на практике и другие структурные модификации. Сшивание боковых цепей пептида одним или несколькими внешними связывающими мостиками с целью стабилизации спирали и циклизация пептидных последовательностей также увеличивают антимикробную активность и посредством сокрытия протеолитических мишеней повышают устойчивость к протеазам. Успешное

использование данного подхода описывается на примере пептидов — производных магайнина 2, α -спирального природного КАМП, обнаруженного в коже африканской шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*. Антимикробная активность магайнина 2 сильно зависит от его амфипатичности и спиральной структуры, однако большая молекулярная масса и меньшая химическая стабильность внутри и вне клеточной среды препятствуют его потенциальному применению [45]. Другой эффективный метод разработки пептидов заключается в разветвлении пептидных цепей с получением дендримерных пептидных конструкций, что приводит к повышению взаимодействия с мембраной клетки за счёт кооперативных эффектов. Так, например, структуры пептидов АВ-17 и АВ-18 схожи по аминокислотному составу, однако введение разветвления по N-концу последовательности пептида АВ-18 (Arg-Arg) приводит к повышению антибактериальной активности в 5 раз.

Таким образом, для проведения данного исследования мы создавали дизайн катионных пептидов, ориентируясь на содержание гидрофобных и положительно заряженных аминокислот, стремясь получить амфифильные структуры, близкие к α -спиральным. Получение целого спектра активных пептидов даёт нам основание полагать, что выбор критериев для конструирования пептидных соединений был верным.

Природные КАМП участвуют в поддержании здорового микробиома кожи посредством модуляции состава микробиоты, её пролиферации и гибели. Вырабатываемые в эпидермисе, главным образом в кератиноцитах, КАМП не только проявляют антибактериальную активность, но и оказывают иммуномодулирующее действие [46]. Было показано, что нарушение выработки или активности КАМП вносит значительный вклад в повышенную восприимчивость пациентов с АтД к кожным инфекциям, вызываемым грибами, бактериями и вирусами, и таким образом воспринимаются как важный фактор в патофизиологии АтД [47].

Ключевыми аспектами патогенеза АтД являются длительно персистирующее воспаление и нарушение функции эпидермального барьера. Известно, что у пациентов с АтД отмечается снижение разнообразия микробиома кожи за счёт преобладания в микробиоме *Staphylococcus* spp., преимущественно *S. aureus* и *S. epidermidis*, особенно при обострении заболевания [48–52]. *S. aureus* играет важную роль в патогенезе АтД, являясь фактором обострения и развития осложнений. Нарушение барьерной функции кожи зачастую приводит к колонизации *S. aureus* при АтД. Известно также, что пациенты с псориазом, у которых также нарушен кожный барьер, гораздо более устойчивы к кожным инфекциям [53]. В настоящее время считается, что цитокиновая среда у пациентов с атопией также играет значительную роль в снижении экспрессии антимикробных пептидов. P.Y. Ong и соавт. [54] первыми выявили дефицит катионных пептидов LL-37 и HBD-2 в коже пациентов с острым и хроническим АтД, чего не наблюдалось при псориазических поражениях. Известно, что для АтД характерен Th2-направленный цитокиновый

паттерн с высоким уровнем IgE и эозинофилией, а также сверхэкспрессией IL-4, IL-10 и IL-13. Высокие уровни IL-4 и IL-13 ингибируют HBD-2 и HBD-3 [55]. IL-4 и IL-13 действуют непосредственно на кератиноциты, подавляя экспрессию HBD-3 и LL-37 посредством активации STAT-6, который ингибирует систему TNF- α /NF- κ B. В то же время β -дефензины и LL-37 рекрутируют лейкоциты, что и приводит к выработке IL-4, IL-13 и IL-31 — основных интерлейкинов, участвующих в развитии АтД, создавая таким образом идеальную воспалительную среду для патогенеза заболевания [56]. Поскольку LL-37, HBD-2 и HBD-3 обладают антистафилококковой активностью, это наблюдаемое снижение уровня экспрессии антимикробных пептидов считается важной предпосылкой стафилококковой колонизации и инфекций у атопических субъектов.

При АтД показана также важная роль грибковой инфекции, особенно *Malassezia* spp. и *Candida* spp. Антигены *Malassezia* spp. активируют кератиноциты, клетки Лангерганса, дендритные клетки, естественные киллеры и фибробласты, стимулируют выработку специфических IgE через T-клеточно-опосредованную стимуляцию В-клеток [57–60]. Таким образом, роль грибов *Malassezia* spp. и *Candida* spp., а также *S. aureus* в патогенезе АтД очень важна: с одной стороны, они усугубляют тяжесть заболевания, приводя к вторичному инфицированию, с другой — являются важнейшим сенсибилизирующим агентом, что доказано присутствием аллергенспецифических IgE к их антигенам.

Очевидно, что АтД приводит как к значительной потере качества жизни, так и необходимости пожизненного лечения, препараты для которого могут иметь побочные эффекты. Наружная терапия топическими кортикостероидами и топическими ингибиторами кальциневрина эффективна для уменьшения признаков воспаления кожи и зуда, однако не оказывает значимого клинического эффекта в отношении вторичной инфекции, что, возможно, объясняет высокий риск рецидивов заболевания и тенденцию к хроническому течению. В таких случаях назначают комбинированные наружные препараты, оказывающие терапевтическое действие в отношении микробной флоры, которые, к сожалению, не всегда эффективны в связи с возможностью формирования резистентности. Следует отметить, что в последние годы исследования в данной области были сосредоточены на изучении КАМП не только как альтернативы противомикробным препаратам, но и в качестве фармацевтических средств иммуномодулирующего действия [61].

Таким образом, применение катионных пептидов для терапии бактериальных осложнений при АтД является

перспективным направлением исследований, которые станут важным этапом в создании новых препаратов для наружной терапии, в том числе АтД.

Ограничения исследования

Для применения КАМП в клинической практике необходимо повышать их протеолитическую устойчивость. На следующем этапе исследований мы планируем создать комплексные соединения на основе активных катионных пептидов и фуллерена C60, который будет выполнять роль биологически активной платформы, защищающей пептиды от протеолиза. Важным аспектом создания комплексов будет обязательное сохранение биологической активности каждого из компонентов, поскольку структуры и свойства пептидных молекул и молекулы фуллерена C60 могут меняться при комплексообразовании.

В данном исследовании не изучали эффективность КАМП при АтД, однако экспериментальные данные, свидетельствующие об их антибактериальной эффективности, позволяют обосновать перспективу их применения в терапии бактериальных осложнений при АтД.

Ранее авторами на модели АтД была показана противоаллергическая активность водного раствора фуллерена, целесообразно проведение подобных исследований и в отношении КАМП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка новых препаратов для терапии бактериальных осложнений, в том числе аллергического воспаления, является актуальной задачей в сегодняшней ситуации снижения эффективности имеющихся антибиотиков. Перспективным направлением в данной области исследований является создание антибактериальных препаратов на основе катионных пептидов. В рамках проведённых исследований нами были разработаны и синтезированы три активных антибактериальных катионных пептида — АВ-14, АВ-17 и АВ-18, которые проявили выраженную бактерицидную активность и имеют высокий потенциал практического применения. На основе этих пептидов мы планируем разрабатывать комплексные соединения, протеолитическая устойчивость которых будет достигаться путём использования фуллерена C60. Данные соединения должны будут обладать рядом биологических активностей, в том числе противовоспалительной, противоаллергической и антибактериальной. По нашему мнению, эти комплексные соединения станут перспективными для терапии воспалительных заболеваний кожи, в том числе АтД, осложнённых бактериальной инфекцией.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование и публикация статьи осуществлены при поддержке Федерального медико-биологического агентства (субсидия на выполнение государственного задания «Фуллерен-21»).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с проведённым исследованием и публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: А.А. Галкина — постановка методики, лабораторные исследования, написание текста статьи; Д.К. Болякина, А.В. Шатилова, А.А. Шатилов, М.О. Бабихина, А.А. Никонова — лабораторные исследования; А.К. Голомидова — постановка методики; Д.А. Кудлай — консультация по исследованию, Н.Н. Шершакова — постановка методики, концепция исследования, написание текста статьи, научное руководство; С.М. Андреев — постановка методики, концепция исследования, научное руководство; М.Р. Хаитов — концепция исследования, научное руководство.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клинические рекомендации «Атопический дерматит». Российское общество дерматовенерологов и косметологов, Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов, Союз педиатров России, 2020. 81 с.
2. Wollenberg A., Bzarbarot S., Bieber T., et al. Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: Part I // *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018. Vol. 32, N 5. P. 657–682. doi: 10.1111/jdv.14891
3. Capozza K., Gadd H., Kelley K., et al. Insights from caregivers on the impact of pediatric atopic dermatitis on families: "I'm tired, overwhelmed, and feel like i'm failing as a mother" // *Dermatitis*. 2020. Vol. 31, N 3. P. 223–227. doi: 10.1097/DER.0000000000000582
4. Ong P.Y., Leung D.Y. Bacterial and viral infections in atopic dermatitis: A comprehensive review // *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016. Vol. 51, N 3. P. 329–337. doi: 10.1007/s12016-016-8548-5
5. Wang V., Keefer M., Ong P.Y. Antibiotic choice and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* rate in children hospitalized for atopic dermatitis // *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2019. Vol. 122, N 3. P. 314–317. doi: 10.1016/j.anai.2018.12.001
6. Sugarman J.L., Hersh A.L., Okamura T., et al. A retrospective review of streptococcal infections in pediatric atopic dermatitis // *Pediatr Dermatol*. 2011. Vol. 28, N 3. P. 230–234. doi: 10.1111/j.1525-1470.2010.01377.x
7. Altunbulakli C., Reiger M., Neumann A.U., et al. Relations between epidermal barrier dysregulation and *Staphylococcus* species-dominated microbiome dysbiosis in patients with atopic dermatitis // *J Allergy Clin Immunol*. 2018. Vol. 142, N 5. P. 1643–1647. doi: 10.1016/j.jaci.2018.07.005
8. Baker S. Infectious disease. A return to the pre-antimicrobial era? // *Science*. 2015. Vol. 347, N 6226. P. 1064–1066. doi: 10.1126/science.aaa2868

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This work was supported by the Federal Medical-Biological Agency (the subsidy for the state task "Fullerene-21").

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. A.A. Galkina — carried out the experiment, summarized its results and wrote this manuscript; D.K. Bolyakina, A.V. Shatilova, A.A. Shatilov, M.O. Babikhina, A.A. Nikonova — laboratory research; A.K. Golomidova — method setting; D.A. Kudlay — consultation; N.N. Shershakova — method setting, research concept, oversaw the project and wrote this manuscript; S.M. Andreev — method setting, research concept, oversaw the project; M.R. Khaïtov — research concept, oversaw the project.

9. Rodríguez-Rojas A., Moreno-Morales J., Mason A.J., Rolff J. Cationic antimicrobial peptides do not change recombination frequency in *Escherichia coli* // *Biol Lett*. 2018. Vol. 14, N 3. P. 20180006. doi: 10.1098/rsbl.2018.0006
10. Prestinaci F., Pezzotti P., Pantosti A. Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon // *Pathog Glob Health*. 2015. Vol. 109, N 7. P. 309–318. doi: 10.1179/2047773215Y.0000000030
11. Makarova O., Johnston P., Rodríguez-Rojas A., et al. Genomics of experimental adaptation of *Staphylococcus aureus* to a natural combination of insect antimicrobial peptides // *Sci Rep*. 2018. Vol. 8, N 1. P. 15359. doi: 10.1038/s41598-018-33593-7
12. El Shazely B., Yu G., Johnston P.R., Rolff J. Resistance evolution against antimicrobial peptides in *Staphylococcus aureus* alters pharmacodynamics beyond the MIC // *Front Microbiol*. 2020. N 11. P. 103. doi: 10.3389/fmicb.2020.00103
13. Yu G., Baeder D.Y., Regoes R.R., Rolff J. Predicting drug resistance evolution: Insights from antimicrobial peptides and antibiotics // *Proc Biol Sci*. 2018. Vol. 285, N 1874. P. 20172687. doi: 10.1098/rspb.2017.2687
14. Hollmann A., Martinez M., Maturana P., et al. Antimicrobial peptides: Interaction with model and biological membranes and synergism with chemical antibiotics // *Front Chem*. 2018. N 6. P. 204. doi: 10.3389/fchem.2018.00204
15. Pfalzgraff A., Brandenburg K., Weindl G. Antimicrobial peptides and their therapeutic potential for bacterial skin infections and wounds // *Front Pharmacol*. 2018. N 9. P. 281. doi: 10.3389/fphar.2018.00281
16. Joo H.S., Fu C.I., Otto M. Bacterial strategies of resistance to antimicrobial peptides // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2016. Vol. 371, N 1695. P. 20150292. doi: 10.1098/rstb.2015.0292
17. Falanga A., Del Genio V., Galdiero S. Peptides and dendrimers: How to combat viral and bacterial infections // *Pharmaceutics*. 2021. Vol. 13, N 1. P. 101. doi: 10.3390/pharmaceutics13010101

18. Hoskin D.W., Ramamoorthy A. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides // *Biochim Biophys Acta*. 2008. Vol. 1778, N 2. P. 357–375. doi: 10.1016/j.bbame.2007.11.008
19. Веснина Л.Э., Мамонтова Т.В., Микитюк М.В., и др. Влияние фуллерена C60 на функциональную активность фагоцитарных клеток // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2011. Т. 74, № 6. С. 26–29. doi: 10.30906/0869-2092-2011-74-6-26-29
20. Andreev I., Petrukhina A., Garmanova A., et al. Penetration of fullerene C60 derivatives through biological membranes // *Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostructures*. 2008. Vol. 16, N 2. P. 89–102. doi: 10.1080/15363830701885831
21. Shershakova N.N., Andreev S.M., Tomchuk A.A., et al. Wound healing activity of aqueous dispersion of fullerene C60 produced by "green technology" // *Nanomedicine*. 2022. N 47. P. 102619. doi: 10.1016/j.nano.2022.102619
22. Zhai H.J., Zhao Y.F., Li W.L., et al. Observation of an all-boron fullerene // *Nat Chem*. 2014. Vol. 6, N 8. P. 727–731. doi: 10.1038/nchem.1999
23. Михеев И.В. Анализ водных дисперсий немодифицированных фуллеренов: Автореф. дис. ... канд. хим. наук: 02.00.02. Место защиты: Моск. гос. ун-т им. М.В. Ломоносова. Москва, 2018. 20 с.
24. Bunz H., Plankenhorn S., Klein R. Effect of buckminsterfullerenes on cells of the innate and adaptive immune system: An in vitro study with human peripheral blood mononuclear cells // *Int J Nanomedicine*. 2012. N 7. P. 4571–4580. doi: 10.2147/IJN.S33773
25. Kim C.H. Immune regulation by microbiome metabolites // *Immunology*. 2018. Vol. 154, N 2. P. 220–229. doi: 10.1111/imm.12930
26. Shershakova N., Baraboshkina E., Andreev S., et al. Anti-inflammatory effect of fullerene C60 in a mice model of atopic dermatitis // *J Nanobiotechnol*. 2016. Vol. 14, N 1. P. 1483–1493. doi: 10.1186/s12951-016-0159-z
27. Andreev S., Purgina D., Bashkatova E., et al. Study of fullerene aqueous dispersion prepared by novel dialysis method. Simple way to fullerene aqueous solution // *Fullerenes Nanotubes Carbon Nanostructur*. 2015. Vol. 23, N 9. P. 792–800. doi: 10.1080/1536383X.2014.998758
28. Gunasekera S., Muhammad T., Strömstedt A.A., et al. Alanine and lysine scans of the LL-37-derived peptide fragment KR-12 reveal key residues for antimicrobial activity // *Chembiochem*. 2018. Vol. 19, N 9. P. 931–939. doi: 10.1002/cbic.201700599
29. Cândido E.S., Cardoso M.H., Chan L.Y., et al. Short cationic peptide derived from archaea with dual antibacterial properties and anti-infective potential // *ACS Infect Dis*. 2019. Vol. 5, N 7. P. 1081–1086. doi: 10.1021/acscinfecdis.9b00073
30. De Breij A., Riool M., Cordfunke R.A., et al. The antimicrobial peptide SAAP-148 combats drug-resistant bacteria and biofilms // *Sci Transl Med*. 2018. Vol. 10, N 423. P. eaan4044. doi: 10.1126/scitranslmed.aan4044
31. Stein T., Vater J., Kruff V., et al. The multiple carrier model of nonribosomal peptide biosynthesis at modular multienzymatic templates // *J Biol Chem*. 1996. Vol. 271, N 26. P. 15428–15435. doi: 10.1074/jbc.271.26.15428
32. Huang Y., Huang J., Chen Y. Alpha-helical cationic antimicrobial peptides: Relationships of structure and function // *Protein Cell*. 2010. Vol. 1, N 2. P. 143–152. doi: 10.1007/s13238-010-0004-3
33. Mahlapuu M., Håkansson J., Ringstad L., Björn C. Antimicrobial peptides: An emerging category of therapeutic agents // *Front Cell Infect Microbiol*. 2016. Vol. 27, N 6. P. 194. doi: 10.3389/fcimb.2016.00194
34. Dias A.P., da Silva Santos S., da Silva J.V., et al. Dendrimers in the context of nanomedicine // *Int J Pharm*. 2020. N 573. P. 118814. doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.118814
35. Brahmachary M., Krishnan S.P., Koh J.L., et al. ANTIMIC: A database of antimicrobial sequences // *Nucleic Acids Res*. 2004. N 32. P. D586–589. doi: 10.1093/nar/gkh032
36. Lu J., Xu H., Xia J., et al. D- and unnatural amino acid substituted antimicrobial peptides with improved proteolytic resistance and their proteolytic degradation characteristics // *Front Microbiol*. 2020. N 11. P. 563030. doi: 10.3389/fmicb.2020.563030
37. Jia F., Wang J., Peng J., et al. D-amino acid substitution enhances the stability of antimicrobial peptide polybia-CP // *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2017. Vol. 49, N 10. P. 916–925. doi: 10.1093/abbs/gmx091
38. Moiola M., Memeo M.G., Quadrelli P. Stapled peptides—a useful improvement for peptide-based drugs // *Molecules*. 2019 Vol. 24, N 20. P. 3654. doi: 10.3390/molecules24203654
39. Migoń D., Neubauer D., Kamysz W. Hydrocarbon stapled antimicrobial peptides // *Protein J*. 2018. Vol. 37, N 1. P. 2–12. doi: 10.1007/s10930-018-9755-0
40. Verdine G.L., Hilinski G.J. Stapled peptides for intracellular drug targets // *Methods Enzymol*. 2012. N 503. P. 3–33. doi: 10.1016/B978-0-12-396962-0.00001-X
41. Gan B.H., Gaynord J., Rowe S.M., et al. The multifaceted nature of antimicrobial peptides: Current synthetic chemistry approaches and future directions // *Chem Soc Rev*. 2021. Vol. 50, N 13. P. 7820–7880. doi: 10.1039/d0cs00729c
42. Park C.B., Yi K.S., Matsuzaki K., et al. Structure-activity analysis of buforin II, a histone H2A-derived antimicrobial peptide: The proline hinge is responsible for the cell-penetrating ability of buforin II // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000. Vol. 97, N 15. P. 8245–8250. doi: 10.1073/pnas.150518097
43. Li D., Yang Y., Li R., et al. N-terminal acetylation of antimicrobial peptide L163 improves its stability against protease degradation // *J Pept Sci*. 2021. Vol. 27, N 9. P. e3337. doi: 10.1002/psc.3337
44. Vineeth Kumar T., Asha R., George S. Identification and functional characterisation of Esculentin-2 HYba peptides and their C-terminally amidated analogs from the skin secretion of an endemic frog // *Nat Prod Res*. 2021. Vol. 35, N 8. P. 1262–1266. doi: 10.1080/14786419.2019.1644636
45. Hirano M., Saito C., Yokoo H., et al. Development of antimicrobial stapled peptides based on magainin 2 sequence // *Molecules*. 2021. Vol. 26, N 2. P. 444. doi: 10.3390/molecules26020444
46. Nguyen H.L., Trujillo-Paez J.V., Umehara Y., et al. Role of antimicrobial peptides in skin barrier repair in individuals with atopic dermatitis // *Int J Mol Sci*. 2020. Vol. 21, N 20. P. 7607. doi: 10.3390/ijms21207607
47. Sroka-Tomaszewska J., Trzeciak M. Molecular mechanisms of atopic dermatitis pathogenesis // *Int J Mol Sci*. 2021. Vol. 22, N 8. P. 4130. doi: 10.3390/ijms22084130
48. Leung D.I. *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis // Reitano S., Luger T.A., Steinhoff M., eds. *Textbook of atopic dermatitis*. London: Informa Healthcare, 2008. P. 59–68.
49. Lin Y.T., Wang C.T., Chiang B.L. Role of bacterial pathogens in atopic dermatitis // *Clin Rev Allergy Immunol*. 2007. Vol. 33, N 3. P. 167–177. doi: 10.1007/s12016-007-0044-5
50. Byrd A.L., Deming C., Cassidy S.K., et al. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strain diversity underlying pediatric atopic dermatitis // *Sci Transl Med*. 2017. Vol. 9, N 397. P. eaal4651. doi: 10.1126/scitranslmed.aal4651

51. Chng K.R., Tay A.S., Li C., et al. Whole metagenome profiling reveals skin microbiome-dependent susceptibility to atopic dermatitis flare // *Nat Microbiol.* 2016. Vol. 1, N 9. P. 16106. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.106
52. Hanski I., von Hertzen L., Fyhrquist N., et al. Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012. Vol. 109, N 21. P. 8334–8339. doi: 10.1073/pnas.1205624109
53. Grice K., Sattar H., Baker H., Sharratt M. The relationship of transepidermal water loss to skin temperature in psoriasis and eczema // *J Invest Dermatol.* 1975. Vol. 64, N 5. P. 313–315. doi: 10.1111/1523-1747.ep12512258
54. Ong P.Y., Ohtake T., Brandt C., et al. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis // *N Engl J Med.* 2002. Vol. 347, N 15. P. 1151–1160. doi: 10.1056/NEJMoa021481
55. Gupta R., Gupta N. Quorum sensing, bioluminescence and chemotaxis // Gupta R., Gupta N., eds. *Fundamentals of bacterial physiology and metabolism.* Springer: Singapore, 2021. P. 633–652.
56. Kanda N., Hau C., Tada Y., et al. Decreased serum LL-37 and vitamin D3 levels in atopic dermatitis: Relationship between IL-31 and oncostatin M // *Allergy.* 2012. Vol. 67, N 6. P. 804–812. doi: 10.1111/j.1398-9995.2012.02824.x
57. Glatz M., Bosshard P.P., Hoetzenecker W., Schmid-Grendelmeier P. The role of *Malassezia* spp. in atopic dermatitis // *J Clin Med.* 2015. Vol. 4, N 6. P. 1217–1228. doi: 10.3390/jcm4061217
58. Roesner L.M., Werfel T. Autoimmunity (or Not) in atopic dermatitis // *Front Immunol.* 2019. N 10. P. 2128. doi: 10.3389/fimmu.2019.02128
59. Badloe F.M., de Vriese S., Coolens K., et al. IgE autoantibodies and autoreactive T cells and their role in children and adults with atopic dermatitis // *Clin Transl Allergy.* 2020. N 10. P. 34. doi: 10.1186/s13601-020-00338-7
60. Pellefigues C. IgE autoreactivity in atopic dermatitis: Paving the road for autoimmune diseases? // *Antibodies (Basel).* 2020. Vol. 9, N 3. P. 47. doi: 10.3390/antib9030047.38
61. Machado M., Silva S., Costa E.M. Are antimicrobial peptides a 21st-century solution for atopic dermatitis? // *Int J Mol Sci.* 2023. Vol. 24, N 17. P. 13460. doi: 10.3390/ijms241713460

REFERENCES

1. Clinical guidelines "Atopic dermatitis". Russian Society of Dermatovenerologists and Cosmetologists, Russian Association of Allergists and Clinical Immunologists, Union of Pediatricians of Russia; 2020. 81 p. (In Russ).
2. Wollenberg A, Bsarbarot S, Bieber T, et al. Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: Part I. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018;32(5):657–682. doi: 10.1111/jdv.14891
3. Capozza K, Gadd H, Kelley K, et al. Insights from caregivers on the impact of pediatric atopic dermatitis on families: "I'm tired, overwhelmed, and feel like i'm failing as a mother". *Dermatitis.* 2020;31(3):223–227. doi: 10.1097/DER.0000000000000582
4. Ong PY, Leung DY. Bacterial and viral infections in atopic dermatitis: A comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2016;51(3):329–337. doi: 10.1007/s12016-016-8548-5
5. Wang V, Keefer M, Ong PY. Antibiotic choice and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* rate in children hospitalized for atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2019;122(3):314–317. doi: 10.1016/j.anai.2018.12.001
6. Sugarman JL, Hersh AL, Okamura T, et al. A retrospective review of streptococcal infections in pediatric atopic dermatitis. *Pediatr Dermatol.* 2011;28(3):230–234. doi: 10.1111/j.1525-1470.2010.01377.x
7. Altunbulakli C, Reiger M, Neumann AU, et al. Relations between epidermal barrier dysregulation and *Staphylococcus* species-dominated microbiome dysbiosis in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;142(5):1643–1647. doi: 10.1016/j.jaci.2018.07.005
8. Baker S. Infectious disease. A return to the pre-antimicrobial era? *Science.* 2015;347(6226):1064–1066. doi: 10.1126/science.aaa2868
9. Rodríguez-Rojas A, Moreno-Morales J, Mason AJ, Rolff J. Cationic antimicrobial peptides do not change recombination frequency in *Escherichia coli*. *Biol Lett.* 2018;14(3):20180006. doi: 10.1098/rsbl.2018.0006
10. Prestinaci F, Pezzotti P, Pantosti A. Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. *Pathog Glob Health.* 2015;109(7):309–318. doi: 10.1179/2047773215Y.0000000030
11. Makarova O, Johnston P, Rodriguez-Rojas A, et al. Genomics of experimental adaptation of *Staphylococcus aureus* to a natural combination of insect antimicrobial peptides. *Sci Rep.* 2018;8(1):15359. doi: 10.1038/s41598-018-33593-7
12. El Shazely B, Yu G, Johnston PR, Rolff J. Resistance evolution against antimicrobial peptides in *Staphylococcus aureus* alters pharmacodynamics beyond the MIC. *Front Microbiol.* 2020;(11):103. doi: 10.3389/fmicb.2020.00103
13. Yu G, Baeder DY, Regoes RR, Rolff J. Predicting drug resistance evolution: Insights from antimicrobial peptides and antibiotics. *Proc Biol Sci.* 2018;285(1874):20172687. doi: 10.1098/rspb.2017.2687
14. Hollmann A, Martinez M, Maturana P, et al. Antimicrobial peptides: Interaction with model and biological membranes and synergism with chemical antibiotics. *Front Chem.* 2018;(6):204. doi: 10.3389/fchem.2018.00204
15. Pfalzgraff A, Brandenburg K, Weindl G. Antimicrobial peptides and their therapeutic potential for bacterial skin infections and wounds. *Front Pharmacol.* 2018;(9):281. doi: 10.3389/fphar.2018.00281
16. Joo HS, Fu CI, Otto M. Bacterial strategies of resistance to antimicrobial peptides. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2016;371(1695):20150292. doi: 10.1098/rstb.2015.0292
17. Falanga A, Del Genio V, Galdiero S. Peptides and dendrimers: How to combat viral and bacterial infections. *Pharmaceutics.* 2021;13(1):101. doi: 10.3390/pharmaceutics13010101
18. Hoskin DW, Ramamoorthy A. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1778(2):357–375. doi: 10.1016/j.bbame.2007.11.008
19. Vesnina LE, Mamontova TV, Mikityuk MV, et al. Influence of C60 fullerene on the functional activity of phagocytic cells. *Exp Clin Pharmacol.* 2011;74(6):26–29. (In Russ). doi: 10.30906/0869-2092-2011-74-6-26-29
20. Andreev I, Petrukhina A, Garmanova A, et al. Penetration of fullerene C60 derivatives through biological membranes. *Fullerenes Nanotubes Carbon Nanostructures.* 2008;(16):89–102. doi: 10.1080/15363830701885831
21. Shershakova NN, Andreev SM, Tomchuk AA, et al. Wound healing activity of aqueous dispersion of fullerene C60 produced

- by "green technology". *Nanomedicine*. 2022;(47):102619. doi: 10.1016/j.nano.2022.102619
22. Zhai HJ, Zhao YF, Li WL, et al. Observation of an all-boron fullerene. *Nat Chem*. 2014;6(8):727–731. doi: 10.1038/nchem.1999
23. Mikheev IV. Analiz vodnih dispersii nemoifecirovannih fullerenov: 02.00.02, Lomonosov Moscow State University [dissertation abstract]. Moscow; 2018. 20 p. (In Russ).
24. Bunz H, Plankenhorn S, Klein R. Effect of buckminsterfullerenes on cells of the innate and adaptive immune system: An in vitro study with human peripheral blood mononuclear cells. *Int J Nanomedicine*. 2012;(7):4571–4580. doi: 10.2147/IJN.S33773
25. Kim CH. Immune regulation by microbiome metabolites. *Immunology*. 2018;154(2):220–229. doi: 10.1111/imm.12930
26. Shershakova N, Baraboshkina E, Andreev S, et al. Anti-inflammatory effect of fullerene C60 in a mice model of atopic dermatitis. *J Nanobiotechnol*. 2016;14(1):1483–1493. doi: 10.1186/s12951-016-0159-z
27. Andreev S, Purgina D, Bashkatova E, et al. Study of fullerene aqueous dispersion prepared by novel dialysis method. Simple way to fullerene aqueous solution. *Fullerenes Nanotubes Carbon Nanostructures*. 2015;23(9):792–800. doi: 10.1080/1536383X.2014.998758
28. Gunasekera S, Muhammad T, Strömstedt AA, et al. Alanine and lysine scans of the LL-37-derived peptide fragment KR-12 reveal key residues for antimicrobial activity. *Chembiochem*. 2018;19(9):931–939. doi: 10.1002/cbic.201700599
29. Cândido ES, Cardoso MH, Chan LY, et al. Short cationic peptide derived from archaea with dual antibacterial properties and anti-infective potential. *ACS Infect Dis*. 2019;5(7):1081–1086. doi: 10.1021/acscinfecdis.9b00073
30. De Breij A, Riool M, Cordfunke RA, et al. The antimicrobial peptide SAAP-148 combats drug-resistant bacteria and biofilms. *Sci Transl Med*. 2018;10(423):eaan4044. doi: 10.1126/scitranslmed.aan4044
31. Stein T, Vater J, Kruff V, et al. The multiple carrier model of nonribosomal peptide biosynthesis at modular multienzymatic templates. *J Biol Chem*. 1996;271(26):15428–15435. doi: 10.1074/jbc.271.26.15428
32. Huang Y, Huang J, Chen Y. Alpha-helical cationic antimicrobial peptides: Relationships of structure and function. *Protein Cell*. 2010;1(2):143–152. doi: 10.1007/s13238-010-0004-3
33. Mahlapuu M, Håkansson J, Ringstad L, Björn C. Antimicrobial peptides: An emerging category of therapeutic agents. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016;(6):194. doi: 10.3389/fcimb.2016.00194
34. Dias AP, da Silva Santos S, da Silva JV, et al. Dendrimers in the context of nanomedicine. *Int J Pharm*. 2020;(573):118814. doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.118814
35. Brahmachary M, Krishnan SP, Koh JL, et al. ANTIMIC: A database of antimicrobial sequences. *Nucleic Acids Res*. 2004;(32):586–589. doi: 10.1093/nar/gkh032
36. Lu J, Xu H, Xia J, et al. D- and unnatural amino acid substituted antimicrobial peptides with improved proteolytic resistance and their proteolytic degradation characteristics. *Front Microbiol*. 2020;(11):563030. doi: 10.3389/fmicb.2020.563030
37. Jia F, Wang J, Peng J, et al. D-amino acid substitution enhances the stability of antimicrobial peptide polybia-CP. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2017;49(10):916–925. doi: 10.1093/abbs/gmx091
38. Moiola M, Memeo MG, Quadrelli P. Stapled peptides—a useful improvement for peptide-based drugs. *Molecules*. 2019;24(20):3654. doi: 10.3390/molecules24203654
39. Migoń D, Neubauer D, Kamysz W. Hydrocarbon stapled antimicrobial peptides. *Protein J*. 2018;37(1):2–12. doi: 10.1007/s10930-018-9755-0
40. Verdine GL, Hilinski GJ. Stapled peptides for intracellular drug targets. *Methods Enzymol*. 2012;(503):3–33. doi: 10.1016/B978-0-12-396962-0.00001-X
41. Gan BH, Gaynord J, Rowe SM, et al. The multifaceted nature of antimicrobial peptides: Current synthetic chemistry approaches and future directions. *Chem Soc Rev*. 2021;50(13):7820–7880. doi: 10.1039/d0cs00729c
42. Park CB, Yi KS, Matsuzaki K, et al. Structure-activity analysis of buforin II, a histone H2A-derived antimicrobial peptide: The proline hinge is responsible for the cell-penetrating ability of buforin II. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97(15):8245–8250. doi: 10.1073/pnas.150518097
43. Li D, Yang Y, Li R, et al. N-terminal acetylation of antimicrobial peptide L163 improves its stability against protease degradation. *J Pept Sci*. 2021;27(9):e3337. doi: 10.1002/psc.3337
44. Kumar VT, Asha R, George S. Identification and functional characterisation of Esculentin-2 Hyba peptides and their C-terminally amidated analogs from the skin secretion of an endemic frog. *Nat Prod Res*. 2021;35(8):1262–1266. doi: 10.1080/14786419.2019.1644636
45. Hirano M, Saito C, Yokoo H, et al. Development of antimicrobial stapled peptides based on magainin 2 sequence. *Molecules*. 2021;26(2):444. doi: 10.3390/molecules26020444
46. Nguyen HL, Trujillo-Paez JV, Umehara Y, et al. Role of antimicrobial peptides in skin barrier repair in individuals with atopic dermatitis. *Int J Mol Sci*. 2020;21(20):7607. doi: 10.3390/ijms21207607
47. Sroka-Tomaszewska J, Trzeciak M. Molecular mechanisms of atopic dermatitis pathogenesis // *Int J Mol Sci*. 2021;22(8):4130. doi: 10.3390/ijms22084130
48. Leung DI. Staphylococcus aureus in atopic dermatitis. In: Reitamo S, Luger TA, Steinhoff M, eds. Textbook of atopic dermatitis. London: Informa Healthcare; 2008. P. 59–68.
49. Lin YT, Wang CT, Chiang BL. Role of bacterial pathogens in atopic dermatitis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2007;33(3):167–177. doi: 10.1007/s12016-007-0044-5
50. Byrd AL, Deming C, Cassidy SK, et al. Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis strain diversity underlying pediatric atopic dermatitis. *Sci Transl Med*. 2017;9(397):eaal4651. doi: 10.1126/scitranslmed.aal4651
51. Chng KR, Tay AS, Li C, et al. Whole metagenome profiling reveals skin microbiome-dependent susceptibility to atopic dermatitis flare. *Nat Microbiol*. 2016;1(9):16106. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.106
52. Hanski I, von Hertzen L, Fyhrquist N, et al. Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(21):8334–8339. doi: 10.1073/pnas.1205624109
53. Grice K, Sattar H, Baker H, Sharratt M. The relationship of transepidermal water loss to skin temperature in psoriasis and eczema. *J Invest Dermatol*. 1975;64(5):313–315. doi: 10.1111/1523-1747.ep12512258
54. Ong PY, Ohtake T, Brandt C, et al. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med*. 2002;347(15):1151–1160. doi: 10.1056/NEJMoa021481
55. Gupta R, Gupta N. Quorum sensing, bioluminescence and chemotaxis. In: Gupta R, Gupta N, eds. Fundamentals of bacterial physiology and metabolism. Springer: Singapore; 2021. P. 633–652.
56. Kanda N, Hau C, Tada Y, et al. Decreased serum LL-37 and vitamin D3 levels in atopic dermatitis: Relationship between IL-31 and oncostatin M. *Allergy*. 2012;67(6):804–812. doi: 10.1111/j.1398-9995.2012.02824.x
57. Glatz M, Bosshard PP, Hoetzenecker W, Schmid-Grendelmeier P. The role of Malassezia spp. in atopic dermatitis. *J Clin Med*. 2015;4(6):1217–1228. doi: 10.3390/jcm4061217

58. Roesner LM, Werfel T. Autoimmunity (or Not) in atopic dermatitis. *Front Immunol.* 2019;(10):2128. doi: 10.3389/fimmu.2019.02128

59. Badloe FM, De Vriese S, Coolens K, et al. IgE autoantibodies and autoreactive T cells and their role in children and adults with atopic dermatitis. *Clin Transl Allergy.* 2020;(10):34. doi: 10.1186/s13601-020-00338-7

60. Pellefigues C. IgE autoreactivity in atopic dermatitis: Paving the road for autoimmune diseases? *Antibodies (Basel).* 2020;9(3):47. doi: 10.3390/antib9030047.38

61. Machado M, Silva S, Costa EM. Are antimicrobial peptides a 21st-century solution for atopic dermatitis? *Int J Molecular Scis.* 2023;24(17):13460. doi: 10.3390/ijms241713460

ОБ АВТОРАХ

*** Галкина Анастасия Андреевна;**

адрес: Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 24;
ORCID: 0000-0003-4521-0813;
eLibrary SPIN: 7329-0197;
e-mail: anastasia.a.galkina@gmail.com

Болякина Дарья Константиновна;

ORCID: 0009-0006-2223-1514;
e-mail: bolyakina.dasha@gmail.com

Шатилова Анастасия Витальевна;

ORCID: 0000-0003-3780-2878;
eLibrary SPIN: 1988-1536;
e-mail: av.timofeeva@nrcii.ru

Шатилов Артём Андреевич;

ORCID: 0000-0002-4675-8074;
eLibrary SPIN: 6768-5796;
e-mail: aa.shatilov@nrcii.ru

Бабихина Марина Олеговна;

ORCID: 0009-0000-5935-1647;
eLibrary SPIN: 4621-0268;
e-mail: mbabihina@gmail.com

Голомидова Алла Константиновна, канд. биол. наук;

ORCID: 0000-0001-9893-0270;
eLibrary SPIN: 9954-3759;
e-mail: alla_golomidova@mail.ru

Никонова Александра Александровна, канд. биол. наук;

ORCID: 0000-0001-9610-0935;
eLibrary SPIN: 1950-5594;
e-mail: aa.nikonova@nrcii.ru

Андреев Сергей Михайлович, канд. хим. наук;

ORCID: 0000-0001-8297-579X;
eLibrary SPIN: 2542-5260;
e-mail: andsergej@yandex.ru

Кудлай Дмитрий Анатольевич, д-р мед. наук;

ORCID: 0000-0003-1878-4467;
eLibrary SPIN: 4129-7880;
e-mail: D624254@gmail.com

Шершакова Надежда Николаевна, канд. биол. наук;

ORCID: 0000-0001-6444-6499;
eLibrary SPIN: 7555-5925;
e-mail: nn.shershakova@nrcii.ru

Хайтов Муса Рахимович, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН;

ORCID: 0000-0003-4961-9640;
eLibrary SPIN: 3199-9803;
e-mail: mr.khaitov@nrcii.ru

AUTHORS' INFO

*** Anastasiia A. Galkina;**

address: 24 Kashirskoe Shosse, 115522 Moscow, Russia;
ORCID: 0000-0003-4521-0813;
eLibrary SPIN: 7329-0197;
e-mail: anastasia.a.galkina@gmail.com

Darya K. Bolyakina;

ORCID: 0009-0006-2223-1514;
e-mail: bolyakina.dasha@gmail.com

Anastasia V. Shatilova;

ORCID: 0000-0003-3780-2878;
eLibrary SPIN: 1988-1536;
e-mail: av.timofeeva@nrcii.ru

Artem A. Shatilov;

ORCID: 0000-0002-4675-8074;
eLibrary SPIN: 6768-5796;
e-mail: aa.shatilov@nrcii.ru

Marina O. Babikhina;

ORCID: 0009-0000-5935-1647;
eLibrary SPIN: 4621-0268;
e-mail: mbabihina@gmail.com

Alla K. Golomidova, Cand. Sci. (Biol.);

ORCID: 0000-0001-9893-0270;
eLibrary SPIN: 9954-3759;
e-mail: alla_golomidova@mail.ru

Alexandra A. Nikonova, Cand. Sci. (Biol.);

ORCID: 0000-0001-9610-0935;
eLibrary SPIN: 1950-5594;
e-mail: aa.nikonova@nrcii.ru

Sergey M. Andreev, Cand. Sci. (Chem.);

ORCID: 0000-0001-8297-579X;
eLibrary SPIN: 2542-5260;
e-mail: andsergej@yandex.ru

Dmitry A. Kudlay, MD, Dr. Sci. (Med.);

ORCID: 0000-0003-1878-4467;
eLibrary SPIN: 4129-7880;
e-mail: D624254@gmail.com

Nadezda N. Shershakova, Cand. Sci. (Biol.);

ORCID: 0000-0001-6444-6499;
eLibrary SPIN: 7555-5925;
e-mail: nn.shershakova@nrcii.ru

Musa R. Khaitov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding member of the Russian Academy of Sciences;

ORCID: 0000-0003-4961-9640;
eLibrary SPIN: 3199-9803;
e-mail: mr.khaitov@nrcii.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author