

УДК [597-1.05:615.1/.4]:597.442

DOI <https://doi.org/10.32851/wba.2019.1.4>

АЦИПЕНСИНИ – АНТИМІКРОБНІ ПЕПТИДИ З КЛІТИН ОСЕТРОВИХ ВИДІВ РИБ (ACIPENSERIDAE) (ОГЛЯД)

¹Симон М.Ю. – м. н. с., seemann.sm@gmail.com

²Забитівський Ю.М. – заст. директора, yurafish@ukr.net

¹Грициняк І.І. – академік НААН, професор, директор, info@if.org.ua

¹Інститут рибного господарства НААН

²Львівська дослідна станція Інституту рибного господарства НААН

Робота є коротким оглядом інформації з відкритих спеціальних літературних джерел стосовно нової групи антимікробних пептидів – аципенсинів (АМП). Ці речовини були вперше виділені з лейкоцитів російського осетра (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt) та описані в 2000-х роках. АМП риб є одними з ключових ефекторних молекул системи вродженого імунітету, так як система адаптивного, або набутого, імунітету у пойкилотермних тварин не може забезпечити формування досить швидкої і ефективної відповіді (утворення антитіл) на інфекцію за низької температури навколишнього середовища (за таких умов цей процес може тривати близько тижня). Вони є важливими компонентами вродженого імунітету та відрізняються від антимікробних пептидів інших риб, земноводних та теплокровних тварин і людини. Принцип дії та особливості будови цих сполук, а також порівняння їх з подібними пептидами у інших тварин наведено у статті. Останніми роками здійснюються дослідження щодо використання аципенсинів у лікуванні інфекційних захворювань та протиопухлинній терапії людини, в першу чергу за рахунок їх здатності до транспортування лікарських засобів, що також висвітлено в даному огляді.

Вперше об'єктом дослідження АМП були представники родини осетрових риб (*Acipenseridae*). Дослідниками та рибоводами-практиками давно помічено, що осетрові риби відрізняються високою стійкістю до різних інфекційних агентів, і можливо, що саме Ас є чинником, який забезпечує цю резистентність. В цілому, виявлення Ас – похідних ядерного гістону H2A – свідчить на користь припущення про біологічно значущу роль гістонів і їх фрагментів в забезпеченні протиінфекційного захисту організму.

Ключові слова: аципенсини, осетрові види риб (*Acipenseridae*), вроджений імунітет, набутий імунітет, інфекційний агент, антимікробні пептиди, гістон H2A, CPP, NETs.

Постановка проблеми. Ендогенні антимікробні пептиди (АМП) є важливими компонентами системи вродженого імунітету людини та тварин [1, с. 6498]. Їх дія в першу чергу спрямована на захист організму від різноманітних інфекцій. Вперше вони були виділені в 80-х роках ХХ століття з гемолімфи гусениць шовкопряда (*Hyalophoracecropia*) [2, с. 68; 3, с. 148]. У наші дні відомо, що АМП продукують всі групи

тварин і рослин (тіоніни), й хоча їх структура та послідовність амінокислот різні, проте властивості схожі. Так, усі АМП синтезуються у вигляді великих попередників з сигнальними послідовностями, які потім трансформуються до 12–20 амінокислотних залишків або в результаті відщеплення частини послідовності, або в результаті глікозилювання або галогенування. Всі вони є амфіпатичними молекулами (їм притаманна головна гідрофільна ділянка, яка взаємодіє з водою або негативно зарядженими іонами, та хвостова гідрофобна, що взаємодіє з ліпідами) [4, с. 3948; 5, с. 770]. Також, молекули АМП в більшості своїй позитивно заряджені, що допомагає їм взаємодіяти з негативно зарядженими мембранами бактерій. Крім того, молекули АМП впливають як на грамегативні, так і на грампозитивні бактерії (в тому числі й на штами, стійкі до антибіотиків), а також на гриби, віруси та найпростіші організми [6, с. 710; 7, с. 2; 8, с. 2].

Існує ряд відмінностей АМП від багатьох класичних антибіотиків. Наприклад, якщо останні є продуктами вторинного метаболізму, то переважна більшість АМП синтезуються безпосередньо на рибосомах [9, с. 10; 10, с. 358]. Для більшості АМП мішенню дії є мембрани клітин патогенних організмів, а принципом дії – порушення нормальної проникності мембран, аж до повного лізису клітини. Іншим варіантом дії є проникнення в клітину мікроорганізму і взаємодія з ДНК, або РНК – що порушує нормальні процеси біосинтезу і загибель клітини. З цієї причини розвиток резистентності патогенів до АМП менш ймовірний, оскільки для нього необхідні зміни в структурі та електрофізіологічних властивостях клітинної мембрани [11, с. 536; 12, с. 185; 13, с. 263]. Широкий спектр антибіотичної дії, в тому числі щодо резистентних штамів патогенів, відносно мала ймовірність селекції стійких до АМП збудників інфекційних захворювань, швидке та ефективно знищення клітин-мішеней дозволяють розглядати ці пептидні сполуки як основу для розробки лікарських засобів нового покоління, що особливо актуально на тлі зниження потенціалу звичайних антибіотиків, насамперед – з причини глобальної резистентності до них мікроорганізмів [14; 15, с. 493; 16, с. 145].

Оскільки АМП вперше були описані як сполуки, що характеризуються вираженою антимікробною активністю, за ними закріпилася ця назва. Однак слід врахувати, що пізніше було виявлено: деякі АМП нейтрофілів стимулюють хемотаксис макрофагів, нейтрофілів, незрілих дендритних клітин, дегрануляцію тучних клітин, збільшують проникність судин і стимулюють їх зростання, впливають на функціональну активність та метаболізм тромбоцитів, з'являють бактеріальний ліпополісахарид, впливають на процесинг ІЛ-1, інгібують індукований АКТП стероїдогенез в клітинах коркового шару надниркових залоз, а також пригнічують індукований α -меланоцит-стимулюючим гормоном синтез альдостерону ($C_{21}H_{28}O_5$) клітинами надниркових залоз

[17, с. 31; 18, с. 1085; 19, с. 437]. Перераховані вище властивості АМП дозволяють розглядати їх як регуляторні молекули, які беруть участь в механізмах взаємодії систем вродженого та набутого імунітету а також імунної та нейроендокринної систем [14; 20, с. 503].

АМП риб є одними з ключових ефекторних молекул системи вродженого імунітету, так як система адаптивного, або набутого, імунітету у пойкилотермних тварин не може забезпечити формування досить швидкої і ефективної відповіді (утворення антитіл) на інфекцію за низької температури навколишнього середовища (за таких умов цей процес може тривати близько тижня) [14; 21, с. 2040; 22, с. 128]. Слід зазначити, що у гомойотермних тварин і людини система вродженого імунітету так само забезпечує першу лінію захисту від інфекцій, викликаних різними збудниками [23, с. 338; 24, с. 199]. Тому дослідження АМП лейкоцитів крові риб є важливим для обґрунтування біологічної ролі цієї групи фізіологічно активних речовин в здійсненні відповідей протиінфекційного імунітету, в тому числі й тому, що саме вони є основними ефекторними клітинами системи набутого імунітету.

Аналіз досліджень і публікацій. У 2000-х роках групою дослідників під керівництвом доктора біологічних наук О. В. Шамової описаний ряд АМП, виділених ними з лейкоцитів російського осетра (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt&Ratzenburg) та названих аципенсинами (Ac) [25, с. 10; 26, с. 51; 27, с. 105]. Пізніше були виділені подібні АМП і з лейкоцитів севрюги (*Acipenser stellatus* Pallas) [28, с. 89; 29, с. 51] Дані види риб в першу чергу цікаві тим, що вони відносяться до підкласу хрящових ганоїдів (*Chondrostei*), найбільш прадавніх риб на Землі. Зокрема, викопні форми хрящових ганоїдів відомі з кінця силурійського періоду ($443,8 \pm 1,5$ млн років тому – $419,2 \pm 3,2$ млн років тому), коли вони вперше виникли в річках Лавразії, що несли свої води до океану Тетіс.

Ac – це розчинні в кислотах катіонні пептиди, що демонструють антиінфекційну активність та являють собою фрагмент ядерного гістону H2A – невеликого білка з молекулярною масою від 10 до 15 кДа, склад якого надзвичайно збагачений позитивно зарядженими амінокислотами лізином ($C_6H_{14}N_2O_2$) і аргініном ($C_6H_{14}N_4O_2$) [30, с. 77; 31, с. 415]. Їм властива локалізація поза ядром клітини та висока антимікробна активність. Останнє слугувало основою теорії про те, що в процесі еволюції у окремих груп тварин в якості ендегенних антимікробних пептидів могли відібратися похідні білків, що зазвичай мають ядерну локалізацію [32, с. 139; 33, с. 33]. Слід зазначити, що хоча найбільш поширена група АМП – це представники родини дефенсинів (від лат. *defense* – захист), функціональна активність яких реалізується в фагоцитах (нейтрофіли та макрофаги хребетних, амебоцити та целомоцити безхребетних), а також на рівні бар'єрного епітелію зовнішніх покривів і

слизових оболонках, у лейкоцитах осетрових риб вони відсутні [27, с. 106; 34, с. 63; 35, с. 1277, 36, с. 531]. Таким чином, Ас відносяться до родини АМП кателіцидинів (бактенецини, протегріни тощо) яким властива ключова роль у відповіді вродженого імунітету. В нормі їх продукують макрофаги та гранулоцити, однак при проникненні інфекційних агентів або під дією біологічно активних речовин таку здатність набувають як епітеліальні, так і інші типи клітин [37, с. 210; 38, с. 46; 39, с. 799]. Своєрідність видового паттерну АМП осетрових риб полягає в домінуванні серед них похідних гістону H2A, який не виявляли раніше в фагоцитах інших видів риб [25, с. 10; 26, с. 51].

Значимість ролі Ас в організмі риб багато в чому визначається місцем гістонів (білків, що беруть участь в упаковці ниток ДНК в ядрі та в епігенетичній регуляції ядерних процесів) в системі функціонування нейтрофільних позаклітинних пасток (NETs – Neutrophil extracellular traps) [40, с. 315; 41, с. 2158; 42, с. 22]. Вони були вперше ідентифіковані в 2004 р. і є третім, поряд з фагоцитозом і секрецією антимікробних сполук, механізмом кілерної активності нейтрофілів. NETs формуються в процесі нетозу (NETosis) або контрольованої клітинної загибелі, який істотно відрізняється від некрозу (патологічного стану клітини, що супроводжується руйнуванням її мембрани) та апоптозу (запрограмованої клітинної загибелі без руйнування цитоплазматичної мембрани). NETs являють собою мережу з деконденсованого хроматину (речовини хромосом з ДНК, РНК і білків), яка стимулює антимікробні фактори як гранулярного (протеази, АМП), так і ядерного (гістони та продукти їх часткового протеолізу) походження [43, с. 173; 44, с. 3; 45, с. 1000]. NETs забезпечують захоплення та знищення патогенних мікроорганізмів, які з певних причин не можуть бути знешкоджені за допомогою фагоцитозу. Завдяки структурній ролі ДНК, дифузія антимікробних факторів з них уповільнена, що дозволяє досягти високих локальних концентрацій цих речовин і знизити згубну дію на здорові тканини [46, с. 575; 47, с. 200; 48, с. 1317].

Лейкоцити російського осетра містять шість пептидів з молекулярними масами 5336.2, 3803.0, 5173.0, 4777.5 і 5449.4 і 2740.2 Да, позначених Ас1-Ас6 відповідно. Всі вони являють собою лінійні молекули, тобто у них немає дисульфідних містків (ковалентних зв'язків між двома атомами сірки SS, що входять до складу сірковмісної амінокислоти цистеїну) [25, с. 10; 26, с. 51]. Переважаючими пептидними фракціями лейкоцитів є Ас1, Ас2 і Ас6. О. В. Шамовою, Д. С. Орловим, С. В. Баландіним та іншими було встановлено, що Ас1, Ас2, Ас3, Ас4 і Ас5 притаманні N-кінцеві ацетильовані фрагменти 1–50, 1–35, 1–49, 1–44 і 1–51 ядерного гістону H2A [27, с. 105; 28, с. 89]. Наприклад, Ас1 складається з 51 амінокислотного залишку, в тому числі з 13 позитивно заряджених залишків аргініну і лізину (при відсутності негативно

заряджених), а також з 10 залишків гідрофобних амінокислот (валіну, лейцину, тирозину та фенілаланіну). В той же час, Ас6 є фрагментом 62–85 ядерного гістону H2A. Часткова N-кінцева амінокислотна послідовність Ас була встановлена методом автоматичного мікросеквенування (GenBank KP059880) [30, с. 77]. У ряді випадків останнє стало можливим після проведення хімічної реакції деблокування N-кінцевих амінокислотних залишків. Аналіз N-кінцевих послідовностей пептидів дозволяє провести комп'ютерна програма BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) [25, с. 10; 31, с. 415].

Ас, як і інші відомі похідні ядерного гістону H2A, – буфорин (АМП азіатської жаби *Bufo bufo gargarizans*), паразин (АМП амурського, або далекосхідного, сома *Silurus asotus*), хіппосин (АМП білокорого палтуса *Hippoglossus hippoglossus*), абхизин (АМП червоного молоска морського вушка, або абалону, з родини *Haliotis*) – характеризуються широким спектром антимікробної дії [29, с. 64; 44, с. 8]. Однак механізм її реалізації в них істотно відрізняється: буфорин проникає в бактеріальні клітини без істотного пошкодження їх мембран і взаємодіє з нуклеїновими кислотами, що приводить до пригнічення життєво важливих процесів в мікробних клітинах і їх загибелі. Паразин, навпаки, істотно ушкоджує бактеріальні мембрани. Ас1, Ас2, Ас3, Ас4, Ас5 структурно схожі на хіппосин (на відміну від буфорину та паразину в них ацетильований N-кінець), але принципом дії відрізняються й від нього. Ас, на відміну від хіппосину, не суттєво збільшують проникність мембран бактерій. В той же час, слід зазначити, що в концентраціях, що перевищують МК (мінімальні інгібуючі концентрації), більшість АМП руйнують структурну цілісність мембран, на додаток до пригнічення внутрішньоклітинних процесів. Таким чином проявляє себе двонаправлений механізм дії (dual mode of action) збагачених амінокислотою проліном (C₅H₉NO₂) пептидів, наприклад, бактенецинів. Однак, для Ас таких концентрацій не виявлено [27, с. 105; 28, с. 89; 30, с. 77; 31, с. 415].

Антимікробну активність трьох головних фракцій Ас (Ас1, Ас2, Ас6) дослідники оцінювали методом радіальної дифузії, проводячи експерименти в різних умовах: в середовищі, що містить тільки 10 мМ натрій-фосфатний буфер без додавання солей, та в тому ж середовищі, але із вмістом 100 мМ хлориду натрію (концентрація, близька до фізіологічної) [25, с. 10; 26, с. 51]. Подібний підхід, спрямований на оцінку впливу підвищення іонної сили розчину на ефективність антимікробної дії пептидів, використовують у багатьох експериментах з вивчення антимікробних властивостей природних АМП, оскільки він дозволяє порівнювати активність отриманих пептидів з ефектами інших АМП [49, с. 464; 50, с. 386]. В ході досліджень було виявлено, що активність Ас1 і Ас2 щодо анаморфного дріжджового гриба *Candida albicans* 820 та грампозитивної бактерії MRSA ATCC 33591 знижується при підвищенні іонної сили розчину (міри інтенсивності електричного поля, створюваного

іонами в ньому) [27, с. 108]. В цілому, Ас Ас1 і Ас2 володіють високою антимікробною активністю в середовищі з низькою іонною силою по відношенню до грамнегативних і грампозитивних бактерій (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* EGD, MRSA ATCC 33591), а також гриба *Candida albicans* 820. Крім того, Ас6 активний лише відносно грамнегативних бактерій в середовищі з низькою іонною силою. Таким чином, низька, в порівнянні з Ас1 і Ас2, антимікробна активність Ас6 дозволяє припустити, що саме N-кінцеві похідні гістону H2A відіграють ключову роль в здійсненні протиінфекційного захисту [28, с. 89]. Підвищення іонної сили розчину призводить до створення електростатичного бар'єру навколо бактеріальної клітини, що перешкоджає взаємодії з її мембраною катіонних АМП, що не характеризуються вираженою амфіфільністю [25, с. 10; 51, с. 27]. В цілому, зниження антимікробної активності Ас за підвищення іонної сили розчину притаманно багатьом АМП і дозволяє припустити, що поряд з Ас, що конститутивно синтезуються в лейкоцитах осетрових риб, є й індукцйбельні антимікробні чинники, синтез яких при розвитку інфекційного процесу посилюється. Останні можуть діяти спільно з Ас, в результаті чого підвищується ефективність антимікробної дії АМП [27, с. 10530, 30, с. 77].

При порівнянні активності Ас та трьох інших АМП (протегрину-1 свині, α -дефенсину з нейтрофілів людини – HNP-1 і бактенецину з них же, у кози – ChVac5), що мають різну структуру й принцип антимікробної дії, було встановлено, що в концентраціях, близьких до МІК, Ас1, Ас2 і Ас6 збільшують проникність зовнішньої мембрани *E. coli* ML-35r для хромогенного маркера. Однак, їх вплив на проникність цитоплазматичної мембрани бактерії не був істотним, у порівнянні з дією мембрано-активного пептиду протегрину-1 (PG-1) з лейкоцитів свині [29, с. 73; 31, с. 415]. Останній має конформацію β -шпильки та належить до найбільш активних з описаних до теперішнього часу пептидів лейкоцитів тварин, які мають широкий спектр антимікробної дії, заснований на їх здатності ушкоджувати мембрани мікроорганізмів. В той же час, принцип дії Ас1 і Ас2 нагадує такий у пролін-багатих бактенецинів ChVac, що демонструють антибактеріальну дію переважно стосовно грамнегативних бактерій, причому не пошкоджуючи мембрани останніх, а впливаючи на внутрішньоклітинні мішені. Так, Ас1, Ас2 і Ас6 справляють лише тимчасову дію на проникність зовнішньої мембрани бактерії для хромогенного маркера нітроцефіну – спочатку збільшуючи її проникність (за 15–29' для Ас1 і Ас2, та за 50' для Ас6), проте вже за 90' практично ніяк на неї не впливаючи. Таким чином, основною мішенню дії Ас в концентраціях, близьких до МІК, є не бактеріальні мембрани, а суто внутрішньоклітинні компоненти [27, с. 105; 28, с. 89; 30, с. 77; 31, с. 415].

Особливу зацікавленість науковців викликає активність АМП щодо клітин людини, оскільки вони розглядаються як перспективні прототипи нових лікарських препаратів. У той же час, ці білкові сполуки

здатні викликати клітинну загибель, зумовлену цитотоксичною дією [52, с. 234; 53, с. 106; 54, с. 468]. Тому з'ясування того, наскільки токсичні Ас1, Ас2 і Ас6 саме для клітин макроорганізму, є виключно важливим. Виявлено, що вони не мають гемолітичної активності щодо еритроцитів людини в діапазоні концентрацій від 1 до 40 мкМ та не справляють цитотоксичних ефектів на клітини К-562 (клітини еритромієлоїдного лейкозу людини) та U-937 (клітини гістіоцитарної лімфоми людини) *in vitro*. В той же час, Ас швидко транслокуються (впродовж 5') до клітини К-562 та потім легко спостерігаються у внутрішньоклітинному просторі. Зокрема, Ас1 за 15' і 40' продовжує накопичуватися в клітинах. При цьому, істотних ознак пошкодження клітин не спостерігається і він накопичується переважно в цитоплазмі [45, с. 1000]. Наявність подібних властивостей відкриває перспективи практичного застосування пептидів в протипухлинній терапії, як векторів для доставки лікарських препаратів в малігнізованих (тих, що набули нормальної або патологічно зміненої тканини) клітинах. Так, Є. С. Умняковою, І. В. Кудрявцевим, Н. А. Грудініною та іншими були досліджені можливості застосування Ас1 в протипухлинній терапії людини [46, с. 575]. Ними було виявлено, що Ас1 характеризується всіма позитивними якостями проникаючих в клітину пептидів (Cell Penetrating Peptides – CPP). CPP сприяють транспорту лікарських речовин крізь мембрани клітин-мішеней, що повсюдно використовується в імунології, для лікування інфекційних захворювань, зокрема викликаних мікроорганізмами, яким притаманна внутрішньоклітинна локалізація, а також з метою терапії захворювань, що супроводжуються утворенням пухлин. В той же час, багатьом CPP властиві побічні ефекти (вони здатні порушувати функціонування мембранних білків нормальних клітин організму, викликати алергічні реакції тощо) або ж вони з легкістю піддаються швидкій деградації в біологічних рідинах [50, с. 387; 55, с. 8; 56, с. 6488]. Саме тому вивчення властивостей Ас, що не мають подібних характеристик, є настільки актуальним. Так, рекомбінантний Ас1, аналогічно до природного пептиду, не виявляє гемолітичної активності в діапазоні концентрацій від 0 до 100 мкМ. Ефект зниження МІК для нього досягається шляхом видалення NaCl з живильного середовища при тестуванні методом серійних розведень [45, с. 1003]. Наприклад, в дослідженнях П. В. Пантелєєва були встановлені значення МІК для рекомбінантного препарату Ас1: МІК (– NaCl) – 12,5 мкМ, МІК (+ NaCl) – > 50 мкМ [44, с. 7]. Крім того, перевагою створеного Є. С. Умняковою рекомбінантного препарату Ас1, отриманого з Ас1 як результат біотехнологічної процедури, розробленої під її керівництвом, є можливість отримувати його у великих кількостях, що вкрай важливо з розрахунку на практичне застосування цієї речовини [46, с. 575].

Висновки. Відкриття О. В. Шамової було першим, в якому АМП були виділені саме з клітин крові, тому що до цього АМП виділяли тільки зі шкіри, шкірних слизових секретів та слизової оболонки кишечника риб. Крім того, вперше об'єктом дослідження АМП були представники родини осетрових риб (*Acipenseridae*). Дослідниками та рибоводами-практиками давно помічено, що осетрові риби відрізняються високою стійкістю до

різних інфекційних агентів, і можливо, що саме Ас є чинником, який забезпечує цю резистентність. В цілому, виявлення Ас – похідних ядерного гістону Н2А – свідчить на користь припущення про біологічно значущу роль гістонів і їх фрагментів в забезпеченні протиінфекційного захисту організму. Досліджуючи молекулярні чинники системи вродженого імунітету риб, можна отримати інформацію, важливу для розуміння еволюції захисних механізмів у тваринному світі, а також виокремити ефективні антимікробні речовини, які в перспективі зможуть слугувати моделями для створення нових лікарських засобів.

АЦИПЕНСИНЫ – АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ ИЗ КЛЕТОК ОСЕТРОВЫХ ВИДОВ РЫБ (*ACIPENSERIDAE*) (ОБЗОР)

¹Симон М.Ю. – м. н. с., seemann.sm@gmail.com

²Забытывский Ю.М. – зам. директора, yurafish@ukr.net

¹Грициняк И.И. – академик НААН, профессор, директор, info@if.org.ua

¹Институт рыбного хозяйства НААН

²Львовская опытная станция ИРХ НААН

Работа является кратким обзором информации из открытых источников относительно новой группы антимикробных пептидов – аципенсинов. Эти вещества были впервые выделены из лейкоцитов русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt) и описаны в 2000-х годах. Они являются важными компонентами врожденного иммунитета и отличаются от антимикробных пептидов других рыб, земноводных и теплокровных животных, а также человека. АМП рыб являются одними из ключевых эффекторных молекул системы врожденного иммунитета, так как система адаптивного или приобретенного, иммунитета у пойкилотермных животных не может обеспечить формирование достаточно быстрой и эффективной ответа (образование антител) на инфекцию за низкой температуры окружающей среды (при таких условиях этот процесс может длиться около недели). Принцип действия и особенности строения этих соединений, их сравнение с подобными пептидами у других животных изложены в статье. В последние годы проводятся исследования по использованию аципенсинов в лечении инфекционных заболеваний и противоопухолевой терапии человека, в первую очередь за счет их способности к транспорту лекарственных средств, что также отражено в данном обзоре.

Впервые объектом исследования АМП были представители семейства осетровых рыб (*Acipenseridae*). Исследователями и рыбоведами-практиками давно замечено, что осетровые рыбы отличаются высокой устойчивостью к различным инфекционным агентам, и возможно, что именно Ас является фактором, который обеспечивает эту резистентность. В целом, выявление Ас - производных ядерного гистона Н2А - свидетельствует в пользу предположения о биологически значимую роль гистонов и их фрагментов в обеспечении противоинфекционной защиты организма

Ключевые слова: аципенсины, осетровые виды рыб (*Acipenseridae*), врожденный иммунитет, приобретенный иммунитет, инфекционный агент, антимикробные пептиды, гистон Н2А, CPP, NETs.

**ACIPENSINS – ANTIMICROBIAL PEPTIDES FROM CELLS
OF STURGEON FISH SPECIES (ACIPENSERIDAE) (REVIEW)**

¹*M. Simon* – junior research scientist, *seemann.sm@gmail.com*

²*Yu. Zabytivskiy* – deputy director, *yurafish@ukr.net*

¹*I. Hrytsyniak* – academician, director, *info@if.org.ua*

¹*Institute of Fisheries NAAS*

²*Lviv Research Station of Institute of Fisheries NAAS*

The work is a brief overview of information from open sources regarding a new group of antimicrobial peptides – acipensins. These substances were first isolated and described in the 2000s, from the leukocytes of the Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt). They are important components of innate immunity and differ from the antimicrobial peptides of other fish, amphibians and warm-blooded animals, including humans. AMP of fish is one of the key effector molecules of the innate immunity system, since the adaptive or acquired immunity system in poikilothermic animals cannot provide a sufficiently fast and effective response (antibody formation) to infection due to low ambient temperature (under such conditions, this process can last about a week). The principle of operation and structural features of these compounds, their comparison with similar peptides in other animals are described in the article. In recent years, research has been carried out on the use of acipensins in the treatment of infectious diseases and antitumor therapy in humans, primarily due to their ability to transport drugs, which is also reflected in this review.

For the first time, the object of AMP research was representatives of the sturgeon family (*Acipenseridae*). Researchers and practical fish farmers have long noticed that sturgeon fishes are highly resistant to various infectious agents, and it is possible that Ac is the factor that provides this resistance. In general, the identification of Ac, a derivative of the nuclear histone H2A, testifies to the assumption of a biologically significant role of histones and their fragments in providing anti-infection protection of the body.

Key words: acipensins, sturgeon fish species (*Acipenseridae*), innate immunity, acquired immunity, infectious agent, antimicrobial peptides, histone H2A, CPP, NETs.

ЛІТЕРАТУРА

1. Auvynet C., Rosenstein Y. Multifunctional host defense peptides: antimicrobial peptides, the small yet big players in innate and adaptive immunity. *FEBS Journal*. 2009. V. 276, № 22. P. 6497-6508.
2. Boman H. Peptide antibiotics and their role in innate immunity. *Annual Review Immunology*. 1995. V. 13. P. 61-92.
3. Тоголян А. А., Фрейдлин И. С. Клетки иммунной системы. С-Пб.: Наука. 2000. 231 с.
4. Cederlund A., Gudmundsson G., Agerberth B. Antimicrobial peptides important in innate immunity. *FEBS Journal*. 2011. V. 278. P. 3942-3951.
5. Gennaro R. et al. Pro-rich Antimicrobial Peptides from Animals: Structure, Biological Functions and Mechanism of Action. *Current Pharmaceutical Design*. 2002. V. 8. P. 763-778.

6. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nature*. 2003. V. 3. P.710-720.
7. Giuliani A., Pirri G., Nicoletto S. Antimicrobial peptides: an overview of a promising class of therapeutics. *Central European Journal of Biology*. 2007. V. 2. P. 1-33.
8. Guani-Guerra E. et al. Antimicrobial peptides: General overview and clinical implications in human health and disease. *Clinical Immunology*. 2010. V. 135. P. 1-11.
9. Кокряков В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения. СПб.: Наука. 1999. 162 с.
10. Yount N. et al. Advances in Antimicrobial Peptide Immunobiology. *Biopolymers (Peptide Science)*. 2006. V. 84. P. 358-435.
11. Johnson R. M., Harrison S. D., Maclean D. Therapeutic applications of cell-penetrating peptides. *Methods in Molecular Biology*. 2011. Vol. 683. P. 535-551.
12. Chugh A., Eudes F., Shim Y. S. Cell-penetrating peptides: nanocarrier for macromolecule delivery in living cells. *IUBMB Life*. 2010. Vol. 62, № 3. P. 183-193.
13. Dinca A., Chien W. M., Chin M. T. Intracellular delivery of proteins with cell-penetrating peptides for therapeutic uses in human disease. *International Journal Molecular Science*. 2016. Vol. 17, № 2. p. 263.
14. Кокряков В. Н. Поиск, выделение и структурно-функциональный анализ новых антибиотических пептидов и белков с антиэндотоксиновой активностью. № гранта: 09-04-01655. 2009. URL: http://www.rfbr.ru/rffi/ru/project_search/o_50535 (дата обращения 16.12.2018).
15. Jenssen H., Hamill P., Hancock R. Peptide Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006. V. 19. P. 491-511.
16. Pasupuleti M., Schmidtchen A., Malmsten M. Antimicrobial peptides: key components of the innate immune system. *Critical Review Biotechnology*. 2012. V. 32, №2. P. 143-171.
17. Yeaman M., Yount N. Mechanisms of antimicrobial peptide action and vresistance. *Pharmacol Reviews*. 2003. V. 55. P. 27-55.
18. Zeya H. I., Spitznagel J. K. Antibacterial and enzymatic basic protein from leukocyte lysosomes: separation and identification. *Science*. 1963. V. 142. P. 1085-1087.
19. Ярилин А.А. Иммунология. Москва : ГЭОТАР-Медиа. 2010. 752 с.
20. Ашмарин И.П., Ждан-Пушкина С.Н., Кокряков В.Н. Антибактериальные и противовирусные функции основных белков клетки и перспективы практического их использования. *Известия АН СССР. Сер.: Биология*. 1972. № 4. С. 502-508.

21. Cole A. M. et al. Characterization of a fish antimicrobial peptide: gene expression, subcellular localization, and spectrum of activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000. V. 44. P. 2039-2045.
22. Lehrer R. et al. Neutrophils and host defense. *Annual International Medicine.* 1988. V. 109, № 2. P. 127-142.
23. Medzhitov R., Janeway Ch. Inhibit Immunity. *The New England Journal of Medicine.* 2000. V. 343. P. 338-344.
24. Janeway C., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual Review Immunology.* 2002. V. 20. P. 197-216.
25. Шамова О.В. Антимикробные пептиды из лейкоцитов русского осетра (*Acipenser guldenstadti*). *Фундаментальные исследования.* 2006. №1. С. 10-13.
26. Шамова О.В. Природные антимикробные пептиды аципенсины и мини-бактенецины: получение, характеристика физико-химических свойств и антибиотической активности: материалы V Международной науч.-практ. конф. «Современная медицина и фармацевтика: анализ и перспективы развития». Москва. 2012. С. 51-59.
27. Шамова О.В. Аципенсины – новые антимикробные пептиды из лейкоцитов русского осетра *Acipenser guldenstadtii*. *Acta naturae.* 2014. Т. 6, № 4(23). С. 105-116.
28. Зугайрова О.Н. Изучение антимикробных пептидов из лейкоцитов севрюги *Acipenser stellatus*. *Вестник Санкт-Петербургского университета.* 2007. Сер.: Биология. № 3. С. 89-98.
29. Шамова О.В. Молекулярно-клеточные основы реализации биологической активности антимикробных пептидов лейкоцитов : дис. ... доктора биол. наук : 14.03.03, 03.01.04. Санкт-Петербург, 343 с.
30. Шамова О.В. Катионные антимикробные пептиды из лейкоцитов осетра. *Russian Journal of Immunology.* 2004. Т. 9, №1. С. 77.
31. Antimicrobial peptides from leukocytes of the Russian sturgeon *Acipenser guldenstadti* // Shamova O. V. et al. Abstracts of the International Conf. on Biomolecular Science in honor of the 75th anniversary of the birth of Prof. Yu. Ovcinnikov. 2009. Moscow. P. 415.
32. Кокряков В.Н. Очерки о врожденном иммунитете. СПб.: Наука, 2006. 261 с.
33. Пантелеев П.В. Антимикробные пептиды как факторы врожденного иммунитета. Материалы XXVII Международной зимней молодежной научной школы «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии». Москва, 2015. С. 33.
34. Пигаревский В. Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. М. 1978. 128 с.
35. Кокряков В. Н., Ашмарин И. П., Пигаревский В. Е. О природе некоторых фракций лизосомальных катионных белков лейкоцитов. *Биохимия.* 1973. Т. 38, № 6. С. 1276-1280.

36. Klebanoff S., Clark R. The neutrophil: function and clinical disorder. Amsterdam. 1978. 810 p.
37. Галактионов В.Г. Эволюционная иммунология. Москва : ИКЦ Академкнига. 2005. 408 с.
38. Зуфаров К. А., Тухтаев К. Р., Юлдашев А. Ю. Лейкоциты и клетки рыхлой соединительной ткани (ультраструктурно-функциональные аспекты). Ташкент: Фан, 1979. 192 с.
39. Peptide-based treatment of sepsis // Brandenburg K. et al. / Applied Microbiology Biotechnology. 2011. V. 90, № 3. P. 799-808.
40. Lehrer R., Ganz T., Selsted M. Defensins: natural peptide antibiotic from neutrophils // ASM News. 1990. V. 56. P. 315-318.
41. Mangoni M. L. Host-defense peptides: from biology to therapeutic strategies // Cell Mol Life Sci. 2011. V. 68. №. 13. P. 2157-2159.
42. Nijnik A., Hancock R. Host defence peptides: antimicrobial and immunomodulatory activity and potential applications for tackling antibiotic-resistant infections // Journal Emerg ing Health Threats 2009. P. 21-29.
43. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities // Natural Review Immunology. 2006. V. 6. P. 173-182.
44. Пантелеев П. В. Структурно-функциональное исследование антимикробных пептидов животного происхождения : автореф. дис. на соискание уч. ст. канд. хим. н. : спец. 02.00.10 «Биоорганическая химия». Москва, 2015. 26 с.
45. Шамова О.В. Действие антимикробных пептидов из нейтрофильных гранулоцитов на опухолевые и нормальные клетки в культуре. *Цитология*. 2007. Т. 49, № 12. С. 1000-1010.
46. Умнякова Е.С. Интернализация антимикробного пептида аципенсина 1 в опухолевые клетки человека. *Медицинская иммунология*. 2016. Т. 18, №6. С. 575-582.
47. Liu S. P., Zhou L., Lakshminarayanan R., Beuerman R. W. Multivalent Antimicrobial Peptides as Therapeutics: Design Principles and Structural Diversities. *International Journal Peptide Research Therapy*. 2010. V. 16. P. 199-213.
48. Hancock R., Chappie D. Peptide antibiotics. *Antimicrobials Agents and Chemotherapy*. 1999. V. 43. P. 1317-1323.
49. Nguyen L., Haney E. Vogel H. The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends Biotechnol*. 2011. V. 29, № 9. P. 464-472.
50. Koren E., Torchilin V. Cell-penetrating peptides: breaking through to the other side. *Trends in Molecular Medicine*, 2012, Vol. 18, № 7. P. 385-393.
51. Корнева Е.А. Введение в иммунофизиологию. ЭЛСБИ-СПб. Санкт-Петербург. 2003. 48 с.

52. Cho J., Kim S. Non-membrane Targets of Antimicrobial Peptides: Novel Therapeutic Opportunities?. *Antimicrobial Peptides: Discovery, Design and Novel Therapeutic Strategies*. 2010. P. 234-241.
53. Lohner K. New strategies for novel antibiotics: peptides targeting bacterial cell membranes. *Genetic Physiology Biophysics*. 2009. V. 28, № 2. P. 105-116.
54. Marr A., Gooderham W., Hancock R. Antibacterial peptides for therapeutic use: obstacles and realistic outlook. *Current Opinion in Pharmacology*. 2006. V. 6. P. 468-472.
55. Properties of cell penetrating peptides (CPPs) // Kerkis A. et al. *IUBMB Life*. 2006. V. 58. P. 7-13.
56. Nicolas P. Multifunctional host defense peptides: intracellular-targeting antimicrobial peptides. *FEBS Journal*. 2009. V. 276., № 22. P. 6483-6496.

REFERENCES

1. Auvynet, C. & Rosenstein, Y. (2009). Multifunctional host defense peptides: antimicrobial peptides, the small yet big players in innate and adaptive immunity. *FEBS Journal*, 276, 6497–6508.
2. Boman, H. (1995). Peptide antibiotics and their role in innate immunity. *Annual Review Immunology*, 13, 61–92.
3. Totolyan, A.A. & Freydlin, I.S. (2000). *Kletki immunnyy sistemy* (An immune system cells). Sankt-Peterburg: Nauka. [in Russian].
4. Cederlund, A., Gudmundsson, G. & Agerberth, B. (2011). Antimicrobial peptides important in innate immunity. *FEBS Journal*, 278, 3942–3951.
5. Gennaro, R., Zanetti, M., Benincasa, M., Podda, E. & Miani, M. (2002). Pro-rich antimicrobial peptides from animals: structure, biological functions and mechanism of action. *Current Pharmaceutical Design*, 8, 763–778.
6. Ganz, T. (2003). Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nature*, 3, 710–720.
7. Giuliani, A., Pirri, G. & Nicoletto, S. (2007). Antimicrobial peptides: an overview of a promising class of therapeutics. *Central European Journal of Biology*, 2, 1–33.
8. Guaní-Guerra, E., Santos-Mendoza, T., Lugo-Reyes, S. O. & Teran, L. M. (2010). Antimicrobial peptides: General overview and clinical implications in human health and disease. *Clinical Immunology*, 135, 1–11.
9. Kokryakov, V.N. (1999). *Biologiya antibiotikov zhitnogo proishozhdeniya* (The biology of antibiotics of the animal origin). Sankt-Peterburg: Nauka. [in Russian].
10. Yount, N., Bayer, A., Xiong, Y. & Yeaman, M. (2006). Advances in Antimicrobial Peptide Immunobiology. *Biopolymers (Peptide Science)*, 84, 358–435.

11. Johnson, R.M., Harrison, S.D. & Maclean, D. (2011). Therapeutic applications of cell-penetrating peptides. *Methods in Molecular Biology*, 683, 535–551.
12. Chugh, A., Eudes, F. & Shim, Y. S. (2010). Cell-penetrating peptides: nanocarrier for macromolecule delivery in living cells. *IUBMB Life*, 62, 183–193.
13. Dinca, A., Chien, W. M. & Chin, M. T. (2016). Intracellular delivery of proteins with cell-penetrating peptides for therapeutic uses in human disease. *International Journal Molecular Science*, 17, 263.
14. Kokryakov V.N. (2009). Poisk, vydelenie i strukturno-funktsional'nyy analiz novykh antibioticheskikh peptidov i belkov s antiendotoksinovoy aktivnost'yu. № granta: 09-04-01655. URL: http://www.rfbr.ru/rffi/ru/project_search/o_50535 (data obrashcheniya 16.12.2018). [in Russian].
15. Jenssen, H., Hamill, P. & Hancock, R. (2006). Peptide Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 19, 491–511.
16. Pasupuleti, M., Schmidtchen, A. & Malmsten, M. (2012). Antimicrobial peptides: key components of the innate immune system. *Critical Review Biotechnology*, 32, 143–171.
17. Yeaman, M., Yount, N. (2013). Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Reviews. *Pharmacol Reviews*, 55, 27–55.
18. Zeya, H.I. & Spitznagel, J.K. (1963). Antibacterial and enzymatic basic protein from leukocyte lysosomes: separation and identification. *Science*, 142, 1085–1087.
19. Yarilin, A.A. (2010). *Immunologiya*. (The immunology). Moscow: GEOTAR-Media. [in Russian].
20. Ashmarin, I.P., Zhdan-Pushkina, S.N. & Kokryakov, V.N. (1972). Antibakterial'nye i protivovirusnye funktsii osnovnykh belkov kletki i perspektivy prakticheskogo ikh ispol'zovaniya. *Izvestiya AN SSSR. Ser.: Biologiya*, 4, 502–508. [in Russian].
21. Cole, A.M., Darouiche, R.O., Legarda, D., Connell, N. & Diamond, G. (2000). Characterization of a fish antimicrobial peptide: gene expression, subcellular localization, and spectrum of activity. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 44, 2039–2045.
22. Lehrer, R.I., Ganz, T., Selsted, M.E., Babior, B.M. & Curnutte, J.T. (1988). Neutrophils and host defense. *Annual International Medicine*, 109, 127–142.
23. Medzhitov, R. & Janeway, Ch. (2000). Inherent Immunity. *The New England Journal of Medicine*, 343, 338–344.
24. Janeway, C. & Medzhitov, R. (2002). Innate immune recognition. *Annual Review Immunology*, 20, 197–216.
25. Shamova, O.V., Orlov, D.S., Ovchinnikova, T.V., Sal, Kh.G., Tver'yanovich, I.A., Popova, V.A., Orlov, S.B., Dyubin, V.A. & Kokryakov, V.N. (2006). Antimikrobnnye peptidy iz leykotsitov russkogo

- osetra (*Acipenser guldenatadi*). *Fundamental'nye issledovaniya*, 1, 10–13. [in Russian]
26. Shamova, O.V., Orlov, D.S., Ovchinnikova, T.V., Sal, Kh.G., Tver'yanovich, I.A., Popova, V.A., Orlov, S.B., Dyubin, V.A. & Kokryakov, V.N. (2012). Prirodnye antimikrobnnye peptidy atsipensiny i mini-baktenetsiny: poluchenie, kharakteristika fiziko-khimicheskikh svoystv i antibioticheskoy aktivnosti. *Sovremennaya meditsina i farmatsevtika: analiz i perspektivy razvitiya: V Mezhdunarodnoya nauch.-prakt. konf.* Moscow. 51–59. [in Russian].
27. Shamova, O.V., Orlov, D.S., Balandin, S.V., Shramova, E.I., Tsvetkova, E.V., Panteleev, P.V., Leonova, Yu.F., Tagaev, A.A., Kokryakov, V.N. & Ovchinnikova, T.V. (2014). Atsipensiny – novye antimikrobnnye peptidy iz leykotsitov russkogo osetra *Acipenser gueldenstaedtii*. *Acta naturae*, 6, 105–116. [in Russian].
28. Zugairova, O. N., Shamova, O. V., Orlov, D. S., Dyubin, V. P., & Kokryakov, V. N. (2007). Izuchenie antimikrobnnykh peptidov iz leykotsitov sevryugi *Acipenser stellatus*. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Ser.: Biologiya*, 3, 89–98. [in Russian].
29. Shamova, O.V. (2013) Molekulyarno-kletochnye osnovy realizatsii biologicheskoy aktivnosti antimikrobnnykh peptidov leykotsitov. *Doctor's thesis*. Sankt-Peterburg. [in Russian].
30. Shamova, O.V., Orlov, D.S., Balandin, S.V., Shramova, E.I., Tsvetkova, E.V., Panteleev, P.V., Leonova, Yu.F., Tagaev, A.A., Kokryakov, V.N. & Ovchinnikova, T.V. (2004). Kationnye antimikrobnnye peptidy iz leykotsitov osetra. *Russian Journal of Immunology*, 9, 77. [in Russian]
31. Shamova, O.V., Orlov, D.S., Balandin, S.V., Shramova, E.I., Tsvetkova, E.V., Panteleev, P.V., Leonova, Yu.F., Tagaev, A.A., Kokryakov, V.N. & Ovchinnikova, T.V. (2009). Antimicrobial peptides from leukocytes of the Russian sturgeon *Acipenser gueldenstadii*. *International Conf. on Biomolecular Science in honor of the 75th anniversary of the birth of Prof. Yu. Ovcinnikov*. Moscow. P. 415.
32. Kokryakov, V.N. (2006). *Ocherki o vrozhdennom immunitete*. Sankt-Peterburg: Nauka. [in Russian].
33. Panteleev, P.V. (2015). Antimikrobnnye peptidy kak faktory vrozhdennogo immuniteta. *Perspektivnye napravleniya fiziko-khimicheskoy biologii i biotekhnologii: XXVII Mezhdunarodnoy zimney molodezhnoy nauchnoy shkoly*. Moscow. P. 33. [in Russian].
34. Pigarevskiy, V.E. (1978). *Zernistye leykotsity i ikh svoystva*. (Granular leukocytes and their properties). Moscow. [in Russian]
35. Kokryakov, V.N., Ashmarin, I.P. & Pigarevskiy, V.E. (1973). O prirode nekotorykh fraktsiy lizosomal'nykh kationnykh belkov leykotsitov. *Biokhimiya*, 38, 1276–1280. [in Russian].

36. Klebanoff, S. & Clark, R. (1978). *The neutrophil: function and clinical disorder*. Amsterdam.
37. Galaktionov, V.G. (2005). *Evolyutsionnaya immunologiya*. (An evolutionary immunology). Moscow: IKTs Akademkniga. [in Russian].
38. Zufarov, K.A., Tukhtaev, K.R. & Yuldashev, A.Yu. (1979). *Leykotsity i kletki rykhloy soedinitel'noy tkani (ul'trastrukturno-funksional'nye aspekty)*. (Leukocytes and loose connective tissue cells). Tashkent: Fan. [in Russian].
39. Brandenburg, K., Andra, J., Garidel, P. & Gutschmann, T. (2011). Peptide-based treatment of sepsis. *Applied Microbiology Biotechnology*, 90, 799–808.
40. Lehrer, R., Ganz, T. & Selsted, M. (1990). Defensins: natural peptide antibiotic from neutrophils. *ASM News*, 56, 315–318.
41. Mangoni, M. L. (2011). Host-defense peptides: from biology to therapeutic strategies. *Cell Mol Life Sci.*, 68, 2157–2159.
42. Nijnik, A. & Hancock, R. (2009). Host defence peptides: antimicrobial and immunomodulatory activity and potential applications for tackling antibiotic-resistant infections. *Journal Emerging Health Threats*, 21–29.
43. Nathan, C. (2006). Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Natural Review Immunology*, 6, 173–182.
44. Pantelev, P.V. (2015). *Strukturno-funksional'noe issledovanie antimikrobnnykh peptidov zhyvotnogo proiskhozhdeniya. Extended abstract of candidate's thesis*. Moskva. [in Russian].
45. Shamova, O.V., Sakuta, G.A., Orlov, D.S., Zenin, V.V., Shteyn, G.I., Kolodkin, N.I., Afonina, I.V. & Kokryakov, V.N. (2007). *Deystvie antimikrobnnykh peptidov iz neytrofil'nykh granulotsitov na opukholevye i normal'nye kletki v kul'ture*. *Tsitologiya*, 49, 1000–1010. [in Russian].
46. Umnyakova, E.S., Kudryavtsev, I.V., Grudinina, N.A., Balandin, S.V., Bolosov, I.A., Pantelev, P.V., Filatenkova, T.A., Orlov, D.S., Tsvetkova, E.V., Ovchinnikova, T.V. & Kokryakov V.N. (2016). Internalizatsiya antimikrobnogo peptida atsipensina 1 v opukholevye kletki cheloveka. *Meditinskaya immunologiya*, 18, 575–582. [in Russian].
47. Liu, S.P., Zhou, L., Lakshminarayanan, R. & Beuerman, R.W. (2010). Multivalent antimicrobial peptides as therapeutics: design principles and structural diversities. *International Journal Peptide Research Therapy*, 16, 199–213.
48. Hancock, R. & Chappie, D. (1999). Peptide antibiotics. *Antimicrobials Agents and Chemotherapy*, 43, 1317–1323.
49. Nguyen, L., Haney, E. & Vogel, H. (2011). The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends Biotechnology*, 29, 464–472.

50. Koren, E. & Torchilin, V. (2012). Cell-penetrating peptides: breaking through to the other side. *Trends in Molecular Medicine*, 18, 385–393.
51. Korneva, E. A. (2003). *Vvedenie v immunofiziologiyu*. (Introduction to Immunophysiology). ELSBI-SPb. Sankt-Peterburg. [in Russian].
52. Cho, J. & Kim, S. (2010). Non-membrane Targets of Antimicrobial Peptides: Novel Therapeutic Opportunities? Antimicrobial peptides: discovery, design and novel therapeutic strategies. P. 234–241.
53. Lohner, K. (2009). New strategies for novel antibiotics: peptides targeting bacterial cell membranes. *Genetic Physiology Biophysics*, 28, 105–116.
54. Marr, A., Gooderham, W. & Hancock R. (2006). Antibacterial peptides for therapeutic use: obstacles and realistic outlook. *Current opinion in pharmacology*, 6, 468–472.
55. Kerkis, A., Hayashi, M. A., Yamane, T., Kerkis, I. (2006). Properties of cell penetrating peptides (CPPs). *IUBMB Life*, 58, 7–13.
56. Nicolas, P. (2009). Multifunctional host defense peptides: intracellular-targeting antimicrobial peptides. *FEBS Journal*, 276, 6483–6496.