

РАСТВОРИМЫЕ И ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ ПАПАИН И ТРИПСИН–ДЕСТРУКТОРЫ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК

Е.Ю. Тризна¹, Д.Р. Байдамшина¹, М.Г. Холявка², И.С. Шарафутдинов¹, А.Р. Хаирутдинова¹, Ф.А. Хафизова¹, Е.Ю. Закирова¹, Р.Г. Хафизов¹, М.И. Богачев³, А.Р. Каюмов¹

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

² Воронежский Государственный университет, Воронеж, Россия

³ Санкт–Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина), Санкт–Петербург, Россия

Soluble and immobilized papain and trypsin as destroyers of bacterial biofilms

E.Yu. Trizna¹, D.R. Baydamshina¹, M.G. Kholiyavka², I.S. Sharafutdinov¹, A.R. Hairutdinova¹, F.A. Khafizova¹, E.Yu. Zakirova¹, R.G. Hafizov¹, A.R. Kayumov¹

¹ Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia

² Voronezhsky State University, Voronezh, Russia

³ St. Petersburg Electrotechnical University, St. Petersburg, Russia

Протеолитические ферменты активно используются в медицине при лечении пациентов с длительно незаживающими ранами, удалении некротических масс и служат дополнением к хирургическому вмешательству. В связи с этим исследовали способность папаина и трипсина в растворимой и иммобилизованной форме разрушать бактериальные биопленки. Установлено, что обработка папаином приводит к лизису биопленок образованных *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, и в меньшей степени *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*. Показано, что ни один из исследуемых ферментов не обладает мутагенностью и цитотоксичностью, и не вызывает повышения количества некротических клеток в культуре *in vitro*.

Ключевые слова: протеолитические ферменты, биопленки, папаин, трипсин, иммобилизация.

Введение

Протеолитические ферменты, катализирующие гидролиз белков, давно используются в медицине при лечении пациентов с длительно незаживающими ранами и ожогами [1–5]. Ферменты разрушают некротические массы, образующиеся в результате повреждения тканей, снижают риск тромбоза. В организме они продуцируются эндогенно и их активация регулируется, но не всегда она оказывается достаточной для эффективного заживления раны [6]. В современной медицине все чаще для ранозаживления применяются растворимые и иммобилизованные формы ферментов, среди которых наиболее распространены трипсин, химотрипсин, коллагеназа и папаин [1, 2, 7]. Для трипсина и папаина были получены положительные результаты при использовании при лечении ожогов, пролежней и других повреждений покровов и мягких тканей [8–10].

Известно, что растворимые формы ферментов обладают некоторыми недостатками, такими как быстрая инактивация, гидролиз собственными протеазами организма и бактерий [3, 4]. Одним из способов повышения стабильности ферментов является иммобилизация на нерастворимых носителях [11–13]. Это позволяет увеличить время полужизни фермента, упрощает доставку и дает возможность быстро удалить фермент [11]. Свойства иммобилизованных ферментов определяются свойствами как самого фермента, так и его носителя [14]. Однако до сих пор не существует оптимальной методики иммо-

The proteolytic enzymes are widely used in medicine as a wound healing agents, removing necrotic tissues and serving as an alternative to surgery. The ability of soluble and immobilized papain and trypsin to destroy bacterial biofilm was investigated. We show that treatment with papain leads to disruption of biofilms formed by *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, and in a lesser extent of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. It is shown that none of the investigated enzymes has mutagenicity and cytotoxicity, and causes no increase in the amount of necrotic cells in culture *in vitro*.

Key words: proteolytic enzymes, biofilms, papain, trypsin, immobilization.

билизации протеолитических ферментов с выраженным регенерирующим эффектом [15].

Одним из наиболее перспективных матриц для иммобилизации с хорошей способностью к формированию геля, мембраны, с хорошими адгезионными свойствами, низкой стоимостью, низкими иммуногенностью и токсичностью, высокой механической прочностью и стабильностью, антибактериальными свойствами является природный полимер – хитозан [12, 15–17]. Композиция на основе хитозана, содержащая азелаиновую, ретиноевую или салициловую кислоту и антибиотики в различных комбинациях, используется в дерматологии [18]. Разработано ранозаживляющее средство, в составе которого содержится порошкообразный хитозан (65%); аскорбиновая кислота (5%); тримекаин (0,75%); пепсин и коллагеназа (32%) [19].

Недавно была показана возможность использования протеолитических ферментов для борьбы с бактериальными биопленками на поверхности ран, тканей, медицинских изделий [8–11]. Пектиназа и субтилизин А разрушали биопленку *Escherichia coli* и повышали их чувствительность к антибиотику [12]. Химотрипсин эффективно разрушал биопленку *Staphylococcus aureus* [13].

Ранее нами были иммобилизованы трипсин на матрице хитозана [20, 21], исследованы кинетические параметры фермента [22]. Также была проведена иммобилизация папаина на матрице хитозана (неопубликованные данные) по тем же методикам [20, 21].