

ROS清除剂在细菌抗生素耐受中的作用研究进展

李梦婷 曾洁 刘小东 薛云新 王岱*

(分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室, 厦门大学, 厦门 361102)

摘要: 活性氧簇(ROS)是生物在有氧环境中进行能量代谢时产生的一类分子的总称, ROS不仅在动物、植物以及细菌的生理过程中发挥着重要的作用, 也在研究抗生素杀菌和细菌耐药性的产生上有着重要的功能, 添加ROS清除剂有助于我们更好的研究ROS在细菌对抗菌剂耐受中的作用。本文主要通过通过对常见的ROS清除剂过氧化氢酶、硫脲、联吡啶、DMSO、褪黑素和其他较为常见的清除剂等化合物在抗生素杀菌过程中的作用机制、ROS清除剂添加对细菌耐受性的影响及其他生理作用进行综述, 旨在对这些常见的ROS清除剂的不同功能和缺点进行一个更广泛和深入的了解, 以便我们在选用相关ROS清除剂时对其作用机理有较为清楚的了解从而选取合适的ROS清除剂。

关键词: ROS清除剂; 细菌; 耐受; 抗生素; 作用

中图分类号: R915 **文献标志码:** A

Advances in the role of ROS scavengers in antibiotic tolerance of bacteria

Li Meng-ting, Zeng Jie, Liu Xiao-dong, Xue Yun-xin and Wang Dai

(State Key Laboratory of Molecular Vaccine and Molecular Diagnostics, Xiamen University, Xiamen 361102)

Abstract Reactive oxygen species (ROS) is a general term for a class of molecules produced by energy metabolism in an aerobic environment. ROS plays an important role not only in the physiological processes of animals, plants, and bacteria, but also in the studies of antibiotic sterilization. It has an important function in the production of bacterial resistance. The addition of ROS scavengers helps us better study the role of ROS in the tolerance of bacteria to antimicrobial agents. In this paper, the mechanism of action of common ROS scavengers such as catalase, thiourea, bipyridine, DMSO, melatonin and other relatively common scavengers in the sterilization process of antibiotics, the effects of ROS scavenger addition on bacterial tolerance, and other physiological effects were introduced. A review of the effects of ROS scavengers and the physiological roles of other organisms in order to provide a broader and deeper understanding of the different functions and shortcomings of these common ROS scavengers, so that we will have a clearer understanding of the appropriate ROS scavengers when selecting relevant ROS scavengers.

Key words ROS scavenger; Bacteria; Tolerance; Antibiotics; Role

自从1928年发现青霉素以来, 大量抗生素被投入使用, 由于早期人们对抗生素的了解较少, 导致抗生素在很长一段时间内不合理使用, 产生了很多危害, 甚至出现了“超级细菌”^[1]。常见的杀菌抗生

素可以分为3大类, β -内酰胺类、氨基糖苷类和喹诺酮类, 这些杀菌抗生素在杀菌时存在一条共有的依赖于ROS的杀菌通路(图1), 即他们与各自相应的初级靶位点结合后, 通过依赖于TCA循环的电子传递

收稿日期: 2018-12-25

基金项目: 国家自然科学基金(No. 81473251/81661138005/31741006); 福建省中青年教育科研项目资助(No. JT180009); 厦门大学校长基金(No. 20720160060)

作者简介: 李梦婷, 女, 生于1993年, 在读硕士研究生, 研究方向为病原微生物的抗生素耐受性, E-mail: 1415812028@qq.com

*通讯作者, E-mail: daiwang@xmu.edu.cn

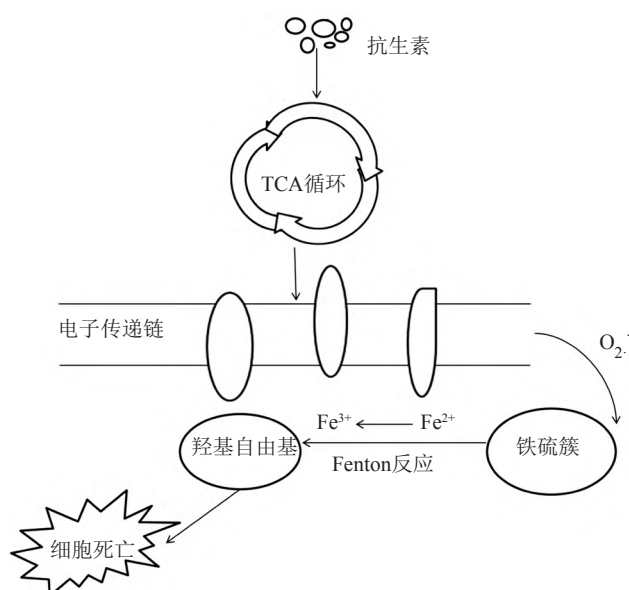


图1 抗生素诱导杀菌的机制

Fig. 1 The common mechanism of which antibiotics kill bacteria

链产生超氧化物，超氧化物会损坏铁硫簇释放 Fe^{2+} ，使 Fe^{2+} 被Fenton反应氧化，Fenton反应导致羟基自由基的形成，并对DNA、脂质和蛋白质产生破坏，导致细胞的死亡^[2]。在这一过程中，由于细胞中氧化剂的产生和自身抗氧化应激能力不足以清除过量的ROS，过量的ROS对细菌产生毒性造成细菌死亡，这在抗生素杀菌过程中起着重要的作用^[2-3]。

活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)是细胞在有氧条件下进行能量代谢产生的一类具有氧化活性的分子总称，包括羟自由基($\cdot\text{OH}$)、超氧阴离子($\text{O}_2\cdot^-$)和过氧化氢(H_2O_2)等，它们在细菌的生理和病理发展中都起着十分重要的作用^[4-5]。在真核生物中，细胞在正常生理代谢过程中形成的ROS被认为是参与细胞生长、分化和死亡的重要信号介质^[4]，真核细胞中也存在自身的抗氧化机制来平衡过量的ROS，以便细胞能在适宜的环境中进行生长代谢。在细菌中，ROS也能够损伤核酸、蛋白质和脂质，当胞内ROS水平超过机体解毒作用和修复能力水平时导致细胞死亡^[6]。过量的ROS不仅可以将细菌杀死，也能使细菌的某些基因发生突变，这也被认为是细菌通过自发突变获得抗生素耐受和耐药性的方法之一。细菌对抗生素的耐受性是指细菌对抗生素的MIC不变，但其在抗生素存在时有较高存活率的一种状态，在抗生素治疗时，耐受细菌和耐药细菌有着相同的生存优势，同时，在一定条件下，耐受细菌也较易发展为耐药细菌，因此消除细菌耐受和耐药问题也是在抗生素使用过程中亟待解决的问题^[1,7]。虽然细

菌可以通过转录调控的方式上调参与氧化应激的蛋白KatG(hydroperoxidase I)、KatE(catalase II)、SoxS(DNA-binding transcriptional dual regulator SoxS)、OxyR(DNA-binding transcriptional dual regulator OxyR)和AhpCF(alkyl hydroperoxide reductase)等中和过量的ROS^[8-12]，但是在抗生素作用下产生的大量ROS已经超过细菌自身的解毒能力，因此通过使用外源ROS清除剂中和细胞内过量的ROS能够减少抗生素刺激产生的过量ROS对细菌遗传物质的损伤，从而增加细菌发生耐受和耐药突变的频率，也已经成为研究细菌发生耐受和耐药突变机制的一种常用方法^[13-14]。

许多细菌感染复发与用抗生素治疗细菌感染失败都和细菌对抗生素耐受有关。对抗生素耐受性(tolerance)通常是指细菌在远高于最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)剂量的杀菌抗菌剂作用下能短暂存活的能力^[15]。目前最新界定细菌耐受的标准是细菌对抗生素具有较低的MIC，但有较高的杀死99%细菌所需的最短治疗时间(minimum duration of treatment that is required to kill 99% of a bacterial population, MDK₉₉)相对于非耐受菌株^[16]。先前的研究报道在使用氟喹诺酮类抗生素奥索利酸和环丙沙星进行MIC测定和杀菌曲线测定实验中添加ROS清除剂二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)时并没有改变细菌对这两种抗生素的MIC但是增加了细菌对这两种抗生素的MDK₉₉相对于没有添加ROS清除剂的对照组^[17-18]，说明在细菌对抗生素的杀菌动力学测定实验中添加ROS清除剂能够增加细菌对抗生素的耐受性，但是目前并没有文献将ROS清除剂对细菌耐受性进行综述。本文主要通过对常见的外源ROS清除剂过氧化氢酶、硫脲、联吡啶、二甲基亚砜、褪黑素在应用方面的研究进行了总结，并对不同的ROS清除剂对细菌耐受性的影响进行了分析，以期待能更好的了解外源ROS清除剂的更为广泛的应用范围和作用机制，从而对研究细菌药物耐受及耐药机制给予理论指导。

1 过氧化氢酶

过氧化氢酶(catalase, CAT)是一种比较常见的ROS清除剂(表1)，于1811年被泰纳尔首次发现，其主要功能是将过氧化氢分解为 O_2 和 H_2O ，避免机体受到 H_2O_2 的损伤。常见的过氧化氢酶主要有3类：单功能过氧化氢酶、双功能过氧化氢酶、非血红素(锰)和小过氧化氢酶^[19]。在有氧化应激的细胞中，过氧化氢酶的存在能够降解过多的 H_2O_2 ，从而抑制Fenton反应，减少细胞的死亡^[21]。

表1 常见的ROS清除剂
Tab. 1 Common ROS scavengers

ROS清除剂	清除类型	抗生素	增加耐受性	细菌自主合成	参考文献
过氧化氢酶	H ₂ O ₂	环丙沙星、利福平等	是	是	[13]
硫脲	羟基自由基	氨苄西林、卡那霉素、达托霉素、诺氟沙星、环丙沙星、利福平、异烟肼等	是	否	[14, 18, 32, 33, 70]
联吡啶	螯合亚铁离子, 降低Fenton反应	达托霉素、莫西沙星、奥索利酸、诺氟沙星、黏菌素等	是	否	[18, 37, 38, 42, 70]
DMSO	羟基自由基	氨苄西林、卡那霉素、环丙沙星、奥索利酸等	是	否	[17]
褪黑素	羟基自由基	环丙沙星等	有待确定	是	[52, 71]
白藜芦醇	羟基自由基	环丙沙星、卡那霉素、达托霉素等	是	否	[57, 62]
谷胱甘肽	H ₂ O ₂ , 羟基自由基	氟喹诺酮类抗生素等	是	否	[66, 68]

在细菌中过氧化氢酶的灭活或缺失能增强抗生素的杀菌能力, 而过氧化氢酶的表达能减少细菌胞内H₂O₂的浓度, 提高细菌对抗生素的耐受性, 从而减少抗生素对细菌的杀伤作用。特别在研究ROS引起的氧化应激和抗菌性抗生素介导的ROS杀菌等问题上, 过氧化氢酶发挥着重要的作用^[13]。如通过青蒿琥酯灭活过的过氧化氢酶或敲除相关的过氧化氢酶合成基因可以增加抗生素的杀菌能力^[22]; 在铜绿假单胞菌中通过严谨反应调节过氧化氢酶可以保护铜绿假单胞菌免受H₂O₂和抗生素介导的杀伤作用^[23]; 在呼吸道相关的机会致病菌和嗜水气单胞菌等的存活中, 过氧化氢酶也起着重要的调控作用^[24-25]。

在植物和动物等中, 过氧化氢酶活性也起着十分重要的作用。在植物中, 病原菌诱导的氧化还原核仁毒素 I (NRX I) 可以通过保护过氧化氢酶等, 提高过氧化氢酶的解毒能力, 从而保护细胞免受氧化应激的损伤^[26]; 在水稻细菌性枯叶病中, 由黄单胞菌和米曲霉编码的CAT有助于细菌免受PCA(吩嗪-1-羧酸)诱导的压力^[27]。在动物中, 过氧化氢酶参与了体内的多种生理反应, 如过氧化氢酶通过调节ROS的水平来参与宿主肠道与微生物的体内平衡^[28]; 肿瘤细胞中的肿瘤因子P53和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCC)的抗癌功能也被认为可能是通过保持过氧化氢酶的活性来抑制ROS的积累, 以此保护正常细胞免受内源性ROS的损伤^[29-30]。在环境保护方面, 污染环境中的过氧化氢酶可能在对抗活性氧的抗性及其降解特定污染物等方面发挥着巨大的作用^[31]。但CAT是一种酶, 它在使用时对周围环境较为敏感, 比较容易失活。

2 硫脲

硫脲(又称硫代尿素, thiourea)(表1), 是一种化工产品, 常用于工业方面, 如染料、树脂等的原料, 因其能与氧化剂发生强烈的化学反应, 在细菌

和植物中也是一种良好的羟基自由基清除剂。

硫脲常用于研究抗生素杀菌, 是由于过量的ROS产生的氧化毒性能导致细菌死亡, 而非抑制浓度的硫脲的添加, 能减少细菌胞内羟基自由基的浓度, 增加细菌对抗生素等引起ROS增多物质的耐受性, 从而提高细菌的存活率。Grantss等^[32]发现在耻垢分枝杆菌和结核分枝杆菌的持留菌中维持有较高的溶解氧, 当抗生素处理时, 细菌会发生死亡, 而在其中加入硫脲后, 细菌的存活率会大大的增加; 在大肠埃希菌中, 添加亚抑制浓度的硫脲会减少细菌内羟基自由基的积累, 使细菌不被氨苄西林、卡那霉素和环丙沙星3种杀菌性抗生素的杀死^[18]; 在亚致死浓度的抗生素处理的细菌中, 会诱导细菌基因组发生突变, 导致细菌耐药性的增加^[33], 而加入硫脲能明显减少抗生素诱导产生的耐药突变^[14]。精油中的主要成分含氧单萜柠檬醛和香芹酚是一种抗微生物剂, 为研究其与常见的杀菌性抗生素的机制的异同, 会添加硫脲作为ROS清除剂, 来探究其机制是否与ROS有关^[34]。在研究大肠埃希菌对脂肪酸的利用的实验中, 添加硫脲能显著降低胞内的H₂O₂的浓度, 减少H₂O₂对大肠埃希菌生长的抑制, 促进了脂肪酸转变为L-赖氨酸, 也为工业上L-赖氨酸的生产提供了很好的指导意义^[35]。在农业上, 硫脲的使用也较为广泛, 在农作物的叶片上施用硫脲不仅可以增强田间条件下不同作物的胁迫耐受性, 也能增加农作物的产量和含油量^[36]。但硫脲在使用时会对环境和人造成较大的伤害, 且容易致癌, 使用过程中需做好防护措施。

3 联吡啶

联吡啶(bipyridine, DIP)主要有2,2'-联吡啶和4,4'-联吡啶(表1), 是由三氯化铁与吡啶反应而得到的, 主要用于有机合成, 是医药中间体, 本文主要阐述

的是2,2'-联吡啶的功能和用途。

2,2'-联吡啶也是金属离子螯合剂,在ROS的相关实验上,添加在细菌中能很好地螯合 Fe^{2+} ,降低Fenton反应的发生,减少ROS的产生,增加了细菌对相关物质的耐受性,增强了其存活率。如在大肠埃希菌中,添加亚抑制浓度的硫脲和2,2'-联吡啶能够显著减少奥索利酸或诺氟沙星处理时细菌胞内的羟基自由基的浓度,增强了大肠埃希菌对这两种抗生素的耐受性,减少了对大肠埃希菌的杀死^[37];在其他探究铁离子作用的相关抗生素和ROS实验方面,2,2'-联吡啶也发挥了重要作用,在含有鲍曼不动杆菌的培养基中,加入2,2'-联吡啶来螯合环境中的铁,会使得其较易获得多黏菌素抗性^[38];使用2,2'-联吡啶预处理细胞也可以保护原核细胞和真核细胞免受金属离子介导的过氧化氢分解引起的氧化作用对细胞造成的损伤^[39-40]。同时在蜡状芽胞杆菌的生物膜的研究中,使用2,2'-联吡啶来降低环境中的铁,当环境中游离的铁被清除时,蜡状芽胞杆菌的生物膜形成会明显减少^[41];在研究无胸腺嘧啶死亡(TLD)的机制过程中,为探究ROS与细菌内TLD的关系时,添加无机化合物2,2'-联吡啶作为ROS清除剂,显著减少了细胞的死亡,探究结果也显示ROS促进了细菌内的TLD^[42]。

2,2'-联吡啶也通常存在于许多生物活性天然产物的活性中心,在其中发挥着十分关键的作用。几种常见的从蓝色链霉菌或链霉菌属等中分离出来的天然化合物,如caerulomycins、SF2738、collismycins和pyrisulfoxins等^[43],它们具有抗炎、抗菌或抗细胞毒性的作用。例如,caerulomycins A和caerulomycins C显示出抗生素活性^[44];collismycins C具有较强的抗生物膜功能和较弱的抗生素活性和细胞毒性^[43-45];pyrisulfoxins A对小鼠白血病细胞有毒性^[46]。但2,2'-联吡啶的大量使用也会造成人的损伤和环境的污染,这是限制其使用的一个重要因素。

4 二甲基亚砷

二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide, DMSO)是种含硫的有机化合物,常温下为液体,是一种良好的溶剂—既能溶解有机物又能溶解无机物,极性较强且沸点较高,有在较宽的温度范围内保持液态的特性等,所以被称为“万能溶剂”(表1)。在体内或体外实验中,DMSO经常被用作溶剂溶解一些水溶性或水不溶性的药物或测试样品,且使用DMSO作为溶剂的药物在进行药物MIC的测定时,会显示更低且

范围更窄的MIC值。

DMSO也是一种有效的羟基自由基清除剂。非抑制浓度(1/2MIC或1/3MIC)的DMSO,能显著减少氨苄西林、卡那霉素、环丙沙星和奥索利酸存在时细菌胞内ROS的积累,增加细菌的对这些抗生素的耐受性,进而提高细菌的存活率^[17];利用DMSO产生的甲烷和甲醛已经被用于检测和评估羟基自由基的产生对一些生物系统中的作用^[47]。

DMSO在其他方面也有着很好的作用及应用前景。在铜绿假单胞菌中,添加非抑制浓度的DMSO可以显著地抑制其中的绿脓菌素的产生,从而降低铜绿假单胞菌的毒性^[48];在琥珀酸杆菌利用甘油的过程中,添加1%~4%的DMSO作为外部电子,会显著提高甘油的消耗和琥珀酸的产生,这对生物催化利用甘油和琥珀酸的生产开辟了良好的应用前景^[49];在DNA修复方面,DMSO能够修复由 γ -辐射诱导产生的单链DNA的断裂^[50];在动物实验方面,以大鼠为模型,现已证明DMSO能够消除由硫代乙酰胺诱导的大鼠肝硬化,且也剂量依赖性降低由庆大霉素导致血浆尿素浓度升高和肌酐浓度的升高,25%的DMSO能够完全预防庆大霉素造成的肾毒性的发展^[51]。这些都为DMSO的广泛利用提供了实例。

5 褪黑素

褪黑素(N-乙酰基-5-甲氧基色胺, melatonin)是一种色氨酸衍生的内源性小分子物质(表1),于1958年在牛松果腺中被发现,随后证明在微生物、植物、动物中均存在,并参与机体的各种生理功能进程。它对人体危害较小,暂时未发现其明显的危害作用。褪黑素已被美国FDA批准上市,在日常生活中,褪黑素也是一种常见的保健药品,主要用于改善睡眠等症状。

高于生理浓度的褪黑素处理细菌时,细菌对环丙沙星(ciprofloxacin, Cip)的最小抑制浓度升高了,Cip对细菌的杀伤能力也降低了,这种现象被推测与褪黑素能减少由Cip杀菌时引起的ROS增多使细菌对Cip产生了耐受性有关^[52],但具体机制有待研究。褪黑素作为抗氧化剂,能够有效的清除细菌胞内的自由基,在许多体外细胞和体外组织等上均有良好的效果;褪黑素在清除自由基的同时,也能上调胞内的几种抗氧化酶的表达,如谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶和过氧化氢酶等,从而加快自由基的清除^[53]。

一定浓度下褪黑素也能有效地对抗各种细菌或病毒的感染,也能有效地清除胞内的ROS。在多重

耐药的革兰阳性菌耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和革兰阳性菌耐碳青霉烯类的铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌中，体外添加较低浓度的褪黑素会有明显的抗菌作用，且抗菌作用在革兰阴性菌中较革兰阳性菌中好^[54]；使用褪黑素也可以有效的控制结核分枝杆菌、幽门螺杆菌、支原体等引起的细菌感染或一些病毒感染^[55-56]。

6 其他ROS清除剂

其他较常见的ROS有白藜芦醇和谷胱甘肽。白藜芦醇(resveratrol)(表1)，又称芪三酚，是一种具有天然活性的多酚类抗氧化物，主要从植物中分离出，其中葡萄中含量较高。在体外实验中，在用抗菌素处理的大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌中，亚抑制浓度(1/2MIC)的白藜芦醇能通过减少细菌胞内ROS的含量，增强它们对相关抗生素的耐受力，显著地降低抗菌素对这些细菌的致死率，同时也能促进细菌产生利福平耐药突变体^[57]。但白藜芦醇对细菌也有一定的杀伤作用，这可能与白藜芦醇的使用浓度有关。在大肠埃希菌中，白藜芦醇对大肠埃希菌有一定的抗菌性，而这种杀伤作用是通过对其细胞膜上的位点进行特异性损伤来介导的^[58]；白藜芦醇对食源性的人类致病菌伤寒沙门菌也有抗菌性，它能增加细菌外膜的渗透性和膜的去极化而使细菌被杀死^[59]；白藜芦醇对白念珠菌也有杀菌作用，但它在起作用的同时对人的红细胞无溶血活性，是治疗真菌感染的一种较好的药物^[6-61]；在癌症及其他疾病方面，白藜芦醇也有着很好的作用，如白藜芦醇与盐霉素联用可以显著增强白藜芦醇的抗癌活性，与雷帕霉素联用可以诱导膀胱癌细胞系的死亡，同时白藜芦醇在预防胃癌、肥胖及代谢相关的病症方面均有潜在价值^[62-65]。

谷胱甘肽(glutathione, GSH)(表1)，是一种存在于人体细胞内的三肽硫醇类的抗氧化剂，它有还原型和氧化型两种，生理条件下还原型较为常见。抗氧化剂谷胱甘肽对氟喹诺酮类的抗生素杀菌有着很大地保护作用，且这种特点是氟喹诺酮类药物所特有的^[66]，这与氟喹诺酮类抗生素产生ROS的能力有关，氟喹诺酮类产生ROS的能力较强，在使用GSH时能较完全的清除胞内的ROS，使细菌对氟喹诺酮类药物产生耐受性，从而能保护细菌不被氟喹诺酮类药物杀伤。

GSH也能显著降低细菌对抗生素的敏感性，如在大肠埃希菌中，改变细胞内或细胞外的谷胱甘肽水平可以显著影响其对环丙沙星及氨苄西林的敏感性^[67]；临床分离的耐碳青霉烯类的鲍曼不动杆菌中

也发现了类似现象，添加亚抑制浓度的谷胱甘肽与头孢他啶、氨基糖苷、羧苄青霉素、美罗培南等抗生素联用时会降低它们的MICs，且亚抑制的谷胱甘肽与美罗培南有着协同杀菌作用，这些为外源性的GSH与抗生素联用来治疗临床上多重耐药鲍曼不动杆菌感染提供了可能^[68]；谷胱甘肽也能对金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌和铜绿假单胞菌等感染性细菌表现出明显的浓度依赖性抑菌^[69]。

7 展望

在常见的ROS清除剂中，每种清除剂不仅在作为ROS清除剂上有着良好的效果，也在其他方面也发挥着巨大的潜在作用。从其来源方面，过氧化氢酶和褪黑素为内源性的物质，而硫脲、联吡啶和DMSO作为化工产品，属于外来物质，对机体有可能会产生其他的影响。不同的ROS清除剂使用时对机体的危害也不尽相同的，其中过氧化氢酶、褪黑素和谷胱甘肽作为内源物质对人体的危害可能较小，目前也未发现二者对人体有明显的较大的伤害作用，白藜芦醇作为植物中的提取物，对人体也属于外来物质，而其他几种清除剂在使用时或多或少会对人体造成不可逆的损伤，因此，在选用ROS清除剂时不仅要关注其可能发挥的作用，也需要根据其使用效果及量的多少和使用频率来确定相应的清除剂。同时也期待更多的效果较好且对机体危害较小的ROS清除剂的发现。

此外，在很多杀菌抗菌剂杀菌机制的探究中关于ROS产生导致细菌死亡的机制研究中都会使用ROS清除剂，如硫脲，联吡啶和DMSO等^[18,37,42]，从而验证确实是ROS过量导致细菌死亡。但是，目前并没有研究详细报道每一种ROS清除剂所分解的具体ROS组分，实际上本研究还不能完全将这些ROS清除剂的具体功能细分，在未来的研究中我们期望能有更多相关的研究成果来填补这些不足，以期能更详细的探究细菌对抗生素耐受的具体机制，为新药靶的发现及新药的开发提供理论基础。

参考文献

- [1] Magiorakos A P, Srinivasan A, Carey R B, *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2012, 18(3): 268-281.
- [2] Kohanski M A, Dwyer D J, Collins J J. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8(6): 423-435.

- [3] Kohanski M A, Dwyer D J, Hayete B, *et al.* A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics[J]. *Cell*, 2007, 130(5): 797-810.
- [4] Li R, Jia Z, Trush M A. Defining ROS in biology and medicine[J]. *React Oxyg Species (Apex)*, 2016, 1(1): 9-21.
- [5] Phull A R, Nasir B, Haq I U, *et al.* Oxidative stress, consequences and ROS mediated cellular signaling in rheumatoid arthritis[J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 281: 121-136.
- [6] Brynildsen M P, Winkler J A, Spina C S, *et al.* Potentiating antibacterial activity by predictably enhancing endogenous microbial ROS production[J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(2): 160-165.
- [7] Levin-Reisman I, Ronin I, Gefen O, *et al.* Antibiotic tolerance facilitates the evolution of resistance[J]. *Science*, 2017, 355(6327): 826-830.
- [8] Seaver L C, Imlay J A. Alkyl hydroperoxide reductase is the primary scavenger of endogenous hydrogen peroxide in *Escherichia coli*[J]. *J Bacteriol*, 2001, 183(24): 7173-7181.
- [9] Suh M J, Keasey S L, Brueggemann E E, *et al.* Antibiotic-dependent perturbations of extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* proteome[J]. *Proteomics*, 2017, 17(9). doi: 10.1002/pmic.201700003.
- [10] Li M, Guan X, Wang X, *et al.* DsbM affects aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa* by the reduction of OxyR[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2014, 352(2): 184-189.
- [11] Semchyshyn H, Bagnyukova T, Lushchak V. Involvement of *soxRS* regulon in response of *Escherichia coli* to oxidative stress induced by hydrogen peroxide[J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2005, 70(11): 1238-1244.
- [12] Ling J, Cho C, Guo L T, *et al.* Protein aggregation caused by aminoglycoside action is prevented by a hydrogen peroxide scavenger[J]. *Mol Cell*, 2012, 48(5): 713-722.
- [13] Hwang S, Ryu S, Jeon B. Roles of the superoxide dismutase SodB and the catalase KatA in the antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni*[J]. *J Antibiot (Tokyo)*, 2013, 66(6): 351-353.
- [14] Kohanski M A, DePristo M A, Collins J J. Sublethal antibiotic treatment leads to multidrug resistance via radical-induced mutagenesis[J]. *Mol Cell*, 2010, 37(3): 311-320.
- [15] Handwerger S, Tomasz A. Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1985, 25: 349-380.
- [16] Brauner A, Fridman O, Gefen O *et al.* Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(5): 320-330.
- [17] Mi H, Wang D, Xue Y, *et al.* Dimethyl sulfoxide protects *Escherichia coli* from rapid antimicrobial-mediated killing[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(8): 5054-5058.
- [18] Liu Y, Liu X, Qu Y, *et al.* Inhibitors of reactive oxygen species accumulation delay and/or reduce the lethality of several antistaphylococcal agents[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(11): 6048-6050.
- [19] Klotz M G, Klassen G R, Loewen P C. Phylogenetic relationships among prokaryotic and eukaryotic catalases[J]. *Mol Biol Evol*, 1997, 14(9): 951-958.
- [20] Zamocky M, Furtmuller P G, Obinger C. Evolution of catalases from bacteria to humans[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2008, 10(9):1527-1548.
- [21] Cabiscol E, Tamarit J, Ros J. Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species[J]. *Int Microbiol*, 2000, 3(1): 3-8.
- [22] Zeng Q P, Xiao N, Wu P, *et al.* Artesunate potentiates antibiotics by inactivating heme-harboring bacterial nitric oxide synthase and catalase[J]. *BMC Res Notes*, 2011, 4: 223. doi: 10.1186/1756-0500-4-223.
- [23] Khakimova M, Ahlgren H G, Harrison J J, *et al.* The stringent response controls catalases in *Pseudomonas aeruginosa* and is required for hydrogen peroxide and antibiotic tolerance[J]. *J Bacteriol*, 2013, 195(9): 2011-2020.
- [24] Eason M M, Fan X. The role and regulation of catalase in respiratory tract opportunistic bacterial pathogens[J]. *Microb Pathog*, 2014, 74: 50-58.
- [25] Zhang M, Yan Q, Mao L, *et al.* KatG plays an important role in *Aeromonas hydrophila* survival in fish macrophages and escape for further infection[J]. *Gene*, 2018, 672: 156-164.
- [26] Kneeshaw S, Keyani R, Delorme-Hinoux V, *et al.* Nucleoredoxin guards against oxidative stress by protecting antioxidant enzymes[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017. doi: 10.1073/pnas.1703344114.
- [27] Pan X, Wu J, Xu S, *et al.* CatB is critical for total catalase activity and reduces bactericidal effects of phenazine-1-carboxylic acid on *Canthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *X. oryzae* pv. *oryzicola*[J]. *Phytopathology*, 2017, 107(2): 163-172.
- [28] Yang H T, Yang M C, Sun J J, *et al.* Catalase eliminates reactive oxygen species and influences the intestinal microbiota of shrimp[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2015, 47(1): 63-73.
- [29] Kang M Y, Kim H B, Piao C, *et al.* The critical role of catalase in prooxidant and antioxidant function of p53[J]. *Cell Death Differ*, 2013, 20(1): 117-129.
- [30] Pal S, Dey S K, Saha C. Inhibition of catalase by tea catechins in free and cellular state: A biophysical approach[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): doi: 10.1371/journal.pone.0102460.
- [31] Zhang H C, Ma K X, Yang Y J, *et al.* Molecular cloning, characterization, expression and enzyme activity of catalase from planarian *Dugesia japonica* in response to environmental pollutants[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018,

- 165: 88-95.
- [32] Grant S S, Kaufmann B B, Chand N S, *et al.* Eradication of bacterial persisters with antibiotic-generated hydroxyl radicals[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(30): 12147-12152.
- [33] Andersson D I, Hughes D. Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations[J]. *Drug Resist Updat*, 2012, 15(3): 162-172.
- [34] Chueca B, Pagan R, Garcia-Gonzalo D. Oxygenated monoterpenes citral and carvacrol cause oxidative damage in *Escherichia coli* without the involvement of tricarboxylic acid cycle and Fenton reaction[J]. *Int J Food Microbiol*, 2014, 189: 126-131.
- [35] Doi H, Hoshino Y, Nakase K, *et al.* Reduction of hydrogen peroxide stress derived from fatty acid beta-oxidation improves fatty acid utilization in *Escherichia coli*[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2014, 98(2): 629-639.
- [36] Pandey M, Srivastava A K, D'Souza S F, *et al.* Thiourea, a ROS scavenger, regulates source-to-sink relationship to enhance crop yield and oil content in *Brassica juncea* (L.) [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e73921.doi: 10.1371/journal.pone.0073921.
- [37] Wang X, Zhao X, Malik M, *et al.* Contribution of reactive oxygen species to pathways of quinolone-mediated bacterial cell death[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2010, 65(3): 520-524.
- [38] Lopez-Rojas R, Garcia-Quintanilla M, Labrador-Herrera G, *et al.* Impaired growth under iron-limiting conditions associated with the acquisition of colistin resistance in *Acinetobacter baumannii*[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2016, 47(6): 473-477.
- [39] Asad N R, Leitao A C. Effects of metal ion chelators on DNA strand breaks and inactivation produced by hydrogen peroxide in *Escherichia coli*: Detection of iron-independent lesions[J]. *J Bacteriol*, 1991, 173(8): 2562-2568.
- [40] Melo R G, Leitao A C, Padula M. Role of OGG1 and NTG2 in the repair of oxidative DNA damage and mutagenesis induced by hydrogen peroxide in *Saccharomyces cerevisiae*: Relationships with transition metals iron and copper[J]. *Yeast*, 2004, 21(12): 991-1003.
- [41] Hayrapetyan H, Muller L, Tempelaars M, *et al.* Comparative analysis of biofilm formation by *Bacillus cereus* reference strains and undomesticated food isolates and the effect of free iron[J]. *Int J Food Microbiol*, 2015, 200: 72-79.
- [42] Hong Y, Li L, Luan G, *et al.* Contribution of reactive oxygen species to thymineless death in *Escherichia coli*[J]. *Nat Microbiol*, 2017, 2(12): 1667-1675.
- [43] Lee J H, Kim E, Choi H, *et al.* Collismycin C from the micronesian marine bacterium *Streptomyces* sp. MC025 inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation[J]. *Mar Drugs*, 2017, 15(12). doi: 10.3390/md15120387.
- [44] McInnes A G, Smith D G, Wright J L C, *et al.* Caerulomycins B and C, new 2,2'-dipyridyl derivatives from *Streptomyces caeruleus*[J]. *Can J Chem*, 1977, 55(24): 4159-4165.
- [45] Gomi S, Amano S, Sato E, *et al.* Novel antibiotics SF2738A, B and C, and their analogs produced by *Streptomyces* sp.[J]. *J Antibiot (Tokyo)*, 1994, 47(12): 1385-1394.
- [46] Tsuge N, Furihata K, Shin-Ya K, *et al.* Novel antibiotics pyrisulfoxin A and B produced by *Streptomyces californicus*[J]. *J Antibiot (Tokyo)*, 1999, 52(5): 505-507.
- [47] Klein S M, Cohen G, Cederbaum A I. Production of formaldehyde during metabolism of dimethyl sulfoxide by hydroxyl radical generating systems[J]. *Biochemistry*, 1981, 20(21): 6006-6012.
- [48] Guo Q, Wu Q, Bai D, *et al.* Potential use of dimethyl sulfoxide in treatment of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(12): 7159-7169.
- [49] Carvalho M, Matos M, Roca C, *et al.* Succinic acid production from glycerol by *Actinobacillus succinogenes* using dimethylsulfoxide as electron acceptor[J]. *N Biotechnol*, 2014, 31(1): 133-139.
- [50] Repine J E, Pfenninger O W, Talmage D W, *et al.* Dimethyl sulfoxide prevents DNA nicking mediated by ionizing radiation or iron/hydrogen peroxide-generated hydroxyl radical[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78(2): 1001-1003.
- [51] Ali B H, Mousa H M. Effect of dimethyl sulfoxide on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2001, 20(4): 199-203.
- [52] Masadeh M M, Alzoubi K H, Al-Azzam S I, *et al.* Ciprofloxacin-induced antibacterial activity is attenuated by pretreatment with antioxidant agents[J]. *Pathogens*, 2016, 5(1). doi: 10.3390/pathogens5010028.
- [53] Garcia J J, Lopez-Pingarron L, Almeida-Souza P, *et al.* Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: a review[J]. *J Pineal Res*, 2014, 56(3): 225-237.
- [54] Tekbas O F, Ogur R, Korkmaz A, *et al.* Melatonin as an antibiotic: New insights into the actions of this ubiquitous molecule[J]. *J Pineal Res*, 2008, 44(2): 222-226.
- [55] Vielma J R, Bonilla E, Chacin-Bonilla L, *et al.* Effects of melatonin on oxidative stress, and resistance to bacterial, parasitic, and viral infections: a review[J]. *Acta Trop*, 2014, 137: 31-38.
- [56] Srinivasan V, Mohamed M, Kato H. Melatonin in bacterial and viral infections with focus on sepsis: a review[J]. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*, 2012, 6(1): 30-39.
- [57] Liu Y, Zhou J, Qu Y *et al.* Resveratrol antagonizes

- antimicrobial lethality and stimulates recovery of bacterial mutants[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4):e 0153023.doi: 10.1371/journal.pone. 0153023.
- [58] Subramanian M, Goswami M, Chakraborty S, *et al.* Resveratrol induced inhibition of *Escherichia coli* proceeds via membrane oxidation and independent of diffusible reactive oxygen species generation[J]. *Redox Biol*, 2014, 2: 865-872.
- [59] Lee W, Lee D G. Resveratrol induces membrane and DNA disruption via pro-oxidant activity against *Salmonella typhimurium*[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 489(2): 228-234.
- [60] Jung H J, Hwang I A, Sung W S, *et al.* Fungicidal effect of resveratrol on human infectious fungi[J]. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(5): 557-560.
- [61] Jung H J, Seu Y B, Lee D G. Candidicidal action of resveratrol isolated from grapes on human pathogenic yeast *C. albicans*[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2007, 17(8): 1324-1329.
- [62] Venkatadri R, Iyer A K V, Kaushik V, *et al.* A novel resveratrol-salinomycin combination sensitizes ER-positive breast cancer cells to apoptosis[J]. *Pharmacol Rep*, 2017, 69(4): 788-797.
- [63] Alayev A, Salamon R S, Schwartz N S, *et al.* Combination of rapamycin and resveratrol for treatment of bladder cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(2): 436-446.
- [64] Zulueta A, Caretti A, Signorelli P, *et al.* Resveratrol: A potential challenger against gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(37): 10636-10643.
- [65] Chen S, Zhou N, Zhang Z, *et al.* Resveratrol induces cell apoptosis in adipocytes via AMPK activation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457(4): 608-613.
- [66] Goswami M, Mangoli S H, Jawali N. Involvement of reactive oxygen species in the action of ciprofloxacin against *Escherichia coli*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(3): 949-954.
- [67] Smirnova G, Muzyka N, Lepekhina E, *et al.* Roles of the glutathione- and thioredoxin-dependent systems in the *Escherichia coli* responses to ciprofloxacin and ampicillin[J]. *Arch Microbiol*, 2016, 198(9): 913-921.
- [68] Alharbe R, Almansour A, Kwon D H. Antibacterial activity of exogenous glutathione and its synergism on antibiotics sensitize carbapenem-associated multidrug resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*[J]. *Int J Med Microbiol*, 2017, 307(7): 409-414.
- [69] Schairer D O, Chouake J S, Kutner A J, *et al.* Evaluation of the antibiotic properties of glutathione[J]. *J Drugs Dermatol*, 2013, 12(11): 1272-1277.
- [70] Wang X, Zhao X. Contribution of oxidative damage to antimicrobial lethality[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(4): 1395-1402.
- [71] El-Gendy F M, El-Hawy M A, Hassan M G. Beneficial effect of melatonin in the treatment of neonatal sepsis[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2018, 31(17): 2299-2303.