



УДК 579.61:544.77.051.1-08:543.272.3

DOI: 10.22141/2224-0551.14.7.2019.184626

Абатуров А.Е.¹ , Крючко Т.А.² ¹ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепр, Украина²ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава, Украина

Медикаментозное влияние на диспергирование биопленки. Доноры оксида азота

For citation: Zdorov'e Rebenka. 2019;14(7):450-457. doi: 10.22141/2224-0551.14.7.2019.184626

Резюме. В научном обзоре отражены современные представления о значении низких концентраций оксида азота в процессе диспергирования и эрадикации бактериальной биопленки. Для написания статьи осуществлялся поиск информации с использованием баз данных Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, Google Scholar, EMBASE, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka. Охарактеризовано значение оксида азота в развитии рецидивов инфекционно-воспалительных заболеваний респираторного тракта. Подчеркнута способность оксида азота при высоких (микромольных) концентрациях быть высокотоксичным соединением для бактерий и важнейшим компонентом неспецифической защиты макроорганизма от патогенных микроорганизмов, а при низких (наномольных) концентрациях выполнять роль сигнальной молекулы. Отражена способность монооксида азота диспергировать биопленку бактерий через усиление экспрессии или активности протеинов, связанных с подвижностью бактерий: пили, рамнолипидов. Представлена характеристика основных доноров оксида азота и молекулярных платформ, которые могут быть использованы для их доставки в макроорганизм. Описаны основные группы доноров оксида азота, такие как органические нитраты, соединения нитрозилированных металлов, диолаты диазения (*N*-diazoniumdiolate — *NONO*ate) и *S*-нитрозотиолы (*S*-nitrosothiol — *RSNO*). Указано, что доноры оксида азота усиливают диспергирование биопленки и способствуют повышению антибактериальной активности антибиотиков. Охарактеризованы молекулярные платформы доставки и оптимизации режима высвобождения оксида азота: неорганические и полимерные наночастицы, металлорганические координационные полимеры, дендримеры, липосомы, мицеллы. Подчеркнута возможность использования данных соединений для разработки новых препаратов, которые будут эффективны при лечении заболеваний, ассоциированных с формированием биопленок патогенными бактериями.

Ключевые слова: диспергирование биопленки; респираторный тракт; доноры оксида азота; рецидивирующие и хронические инфекционно-воспалительные заболевания; обзор

Введение

Формирование биопленки патогенными бактериальными агентами ассоциировано с рецидивирующим и хроническим течением воспалительного процесса респираторного тракта. Жизненный цикл бактериальной биопленки характеризуется наличием диспергирования и отсева патогенов в неколонизированные регионы систем макроорганизма. Монооксид азота (NO) является одним из мощных триггеров диспергирования бактериальной биопленки, усиление его продукции может инициировать как рецидив, так и

завершение инфекционно-воспалительного процесса [7]. В настоящее время разработано несколько технологий диспергирования биопленки, основанных на использовании антибиопленочной активности NO. Созданы соединения, которые генерируют NO, обеспечивают целенаправленную доставку NO и биоматериалы, высвобождающие NO [34]. Nicolas Barraud и соавт. [10] считают, что использование низкого уровня концентрации NO представляет собой одну из самых перспективных стратегий, обеспечивающих контроль развития биопленок в контексте врачебной практики.

© 2019. The Authors. This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для корреспонденции: Абатуров Александр Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии 1 и медицинской генетики, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», ул. Вернадского, 9, г. Днепр, 49044, Украина; e-mail: alexabaturov@i.ua

For correspondence: Oleksandr Abatur, MD, PhD, Professor, Head of the Department of pediatrics 1 and medical genetics, State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Vernadsky st., 9, Dnipro, 49044, Ukraine; e-mail: alexabaturov@i.ua

Full list of author information is available at the end of the article.

Монооксид азота и бактериальные биопленки

Метаболизм многочисленных микроорганизмов включает реакции азотного цикла (N-цикл), степень окисления атома азота в котором колеблется от +5 в нитратах до -3 в аммиаке [47]. Бактерии образуют NO в процессе восстановления нитритов, в частности ферментом бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, ответственным за генерацию NO, является цитохром cd1-нитритредуктаза [18].

При высоких концентрациях (микромольных) NO является высокотоксичным соединением для бактерий и представляет собой важнейший компонент неспецифической защиты макроорганизма от патогенных микроорганизмов [41]. Бактерии при высоких концентрациях NO предупреждают его токсическое действие за счет функционирования механизмов денитрификации и детоксикации [48]. На действие высоких концентраций NO реагирует группа NO-чувствительных бактериальных протеинов: FNR-подобные транскрипционные факторы (регуляторные белки фумарата и нитрата — fumarate and nitrate regulatory proteins — FNR), активатор транскрипции NorR (регулятор NO-редуктазы — regulator of NO reductase) и NO-чувствительный репрессор NsrR (репрессор нитрозативного стресса — repressor of nitrosative stress) [27].

Однако при низких (наномольных) концентрациях NO является сигнальной молекулой. У млекопитающих она связывается со своим специфическим рецептором — растворимой гуанилатциклазой (soluble guanylyl cyclase — sGC). Комплекс NO/sGC при участии железа протопорфирина IX конвертирует гуанозинтрифосфат во вторичный мессенджер — циклический гуанозин 3',5'-монофосфат (цГМФ), что приводит к увеличению концентрации последнего в несколько сот раз выше базального уровня. цГМФ участвует в регуляции тонуса гладких мышц, миокардиоцитов, активности агрегации тромбоцитов, ангиогенеза и др. [1, 2, 26]. При низких (наномольных) концентрациях NO взаимодействует со специфическими бактериальными сенсорами, активация которых опосредует диспергирование бактериальной биопленки за счет увеличения деградирующей активности бактериальных фосфодиэстераз (phosphodiesterase — PDE), что приводит к последующему уменьшению концентрации внутриклеточного вторичного мессенджера и регулятора развития биопленки — циклического дигуанозинмонофосфата (cyclic diguanyl monophosphate — c-di-GMP/ц-ди-ГМФ) [7, 10].

Одним из классов сенсоров NO являются протеины семейства гем оксид азота или кислородсвязывающего домена (heme-nitric oxide or oxugen binding domain — H-NOX), которые влияют на формирование биопленки за счет изменения внутрибактериальной концентрации ц-ди-ГМФ [27]. Лигандом представителей семейства H-NOX, кроме NO, также является молекулярный кислород [52]. Гены протеинов семейства H-NOX идентифицированы в геномах более чем 300 видов бактерий. NO-связывающие протеины H-NOX

непосредственно регулируют как синтез ц-ди-ГМФ, так и активность фосфодиэстераз бактерий. Снижение концентрации ц-ди-ГМФ приводит к подавлению биопленки при наличии NO [7].

Однако многие чувствительные к действию NO бактерии не кодируют ген *H-NOX*. Для рекогниции NO они используют другие семейства бактериальных сенсоров NO (nitric oxide sensing protein — NosP).

В частности, у бактерий *Pseudomonas aeruginosa* NO-чувствительными сенсорами NosP являются: цитоплазматический хемотаксический протеин BdlA (biofilm dispersal locus A), мембранный протеин NbdA (nitric oxide induced biofilm dispersal locus A) и система Lap [19].

Протеин BdlA является ключевым компонентом процесса диспергирования биопленки. Его молекула состоит из двух смежных доменов PAS (Per Arnt Sim), предположительно участвующих в связывании кофактора гема и C-терминального домена TapH, соединяющегося с лигандсвязывающими доменами метилакцепторными хемотаксическими рецепторами [45]. Протеин BdlA является контролером диспергирования, чувствительным к действию не только NO, но и глутамата, серебра, ртути, мышьяка и сукцинатов. Циклаза BdlA фосфорилируется только при наличии фактора NicD, и активность фосфорилирования BdlA обратно пропорциональна фосфорилированию NicD. Делеция гена *bdlA* сопровождается уменьшением активности образования биопленок приблизительно в четыре раза и увеличением концентрации ц-ди-ГМФ приблизительно в шесть раз [54].

Наномольные концентрации NO способствуют активации хемотаксического протеина BdlA у бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, ген которого располагается в локусе A диспергирования биопленки [43]. После активации протеин BdlA стимулирует фосфодиэстеразу DipA (dispersal induced phosphodiesterase) и рекрутирует регулятор фосфодиэстеразы RbdA (regulator of biofilm dispersal), что обуславливает снижение уровня ц-ди-ГМФ и диспергирование бактериальной биопленки [54, 59].

Транскрипционная активность протеина NbdA, индуцированная действием NO, приводит к повышению каталитической активности PDE и, как следствие, снижению концентрации ц-ди-ГМФ [35].

Система Lap представлена рецептором LapD, протеазой LapG и адгезином LapA. Рецепторный протеин LapD — мембранный белок, состоящий из доменов HAMF, GGDEF (без консервативных I- или A-сайтов) и EAL, которые не обладают каталитической активностью. Однако протеин LapD при помощи домена EAL непосредственно связывается ц-ди-ГМФ [41] и, изменяя свою конформацию, взаимодействует с мембранно-связанной протеазой LapG, что предотвращает расщепление поверхностного адгезина LapA протеазой LapG, способствует прогрессированию развития биопленки [14, 23]. По всей вероятности, периплазматическая протеаза LapG участвует в NO-ассоциированной реакции диспергирования биопленки бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, так как биопленки, организо-

ванные лишеными LapG бактериями, не диспергируют на воздействие NO [10].

Монооксид азота также приводит к диспергированию биопленки за счет модуляции активности факторов транскрипции: OxyR, SoxR, NsrR, NorR, FhpR, DNR и других регуляторов транскрипции фумарат-нитратредуктазы (fumarate nitrate reductase — FNR). Молекулы данных факторов транскрипции связаны с железосодержащими кофакторами, которые реагируют с NO, тем самым изменяя их сродство к ДНК-мишеням. Монооксид азота усиливает экспрессию или активность протеинов, связанных с подвижностью бактерий: пили (PilA), рамнолипидов (RhIAB) [19], способствуя диспергированию биопленки (рис. 1).

Рамнолипиды являются экстрацеллюлярными метаболитами, обладающими поверхностно-активными свойствами. Низкая концентрация рамнолипидов увеличивает гидрофобность мембраны бактерии, что способствует адгезии микроорганизма с поверхностью слизистых оболочек и формированию биопленки. Однако избыток рамнолипидов ингибирует образование биопленки, блокирует клеточную агрегацию и уменьшает вторичную колонизацию микроорганизмов на предварительно сформированные биопленки планктонными бактериями. Активный процесс диспергирования на поздних стадиях жизни биопленки опосредуется рамнолипидами [11].

Доноры монооксида азота

Соединения, которые являются NO-донорами, представляют собой вещества, несущие стабилизированную молекулу NO, которая высвобождается при определенных условиях. Высвобождение молекулы NO индуцируется самыми разнообразными триггерами: светом, теплом, изменением pH или наличием некоторых активных ферментов, тиолов, металлов. Основными группами NO-доноров являются органические

нитраты, соединения нитрозилированных металлов, диолаты диазения (N-diazeniumdiolate — NONOate) и S-нитрозотиолы (S-nitrosothiol — RSNO) [53].

Соединения, дотирующие NO, способны усиливать диспергирование биопленки и способствовать повышению антибактериальной активности антибиотиков (рис. 2).

Органические нитраты

Одним из наиболее известных нитратов, антибиопленочное действие которого достаточно изучено, является изосорбид моонитрат [24]. Sayeed Hasan и соавт. [24] продемонстрировали, что изосорбида моонитрат вызывает диспергирование биопленки бактерий *Staphylococcus aureus*. Применение изосорбида моонитрата в концентрации 60 мг/мл индуцирует увеличение количества колониеобразующих единиц планктонных бактерий через 6 и 24 часа экспозиции в 3 и 5 раз соответственно, что, по мнению авторов, свидетельствует о способности изосорбида моонитрата стимулировать переход «оседлых» бактерий биопленки в планктонные формы. Также показано, что изосорбида моонитрат повышает эффективность антибактериального действия ципрофлоксацина.

Соединение нитрозилированных металлов

Железосодержащие нитрозилированные комплексы представляют собой давно известные доноры NO. Например, нитропруссид натрия (sodium nitroprusside (Na₂[Fe(CN)₅NO] • 2H₂O) — SNP), который широко используется во врачебной практике в качестве эффективного быстродействующего сосудорасширяющего препарата для лечения легочной гипертензии [17]. Продемонстрировано, что применение SNP сопровождается индукцией перехода патогенных бактерий от биопленочного состояния к планктонной форме жизни за счет снижения внутриклеточной

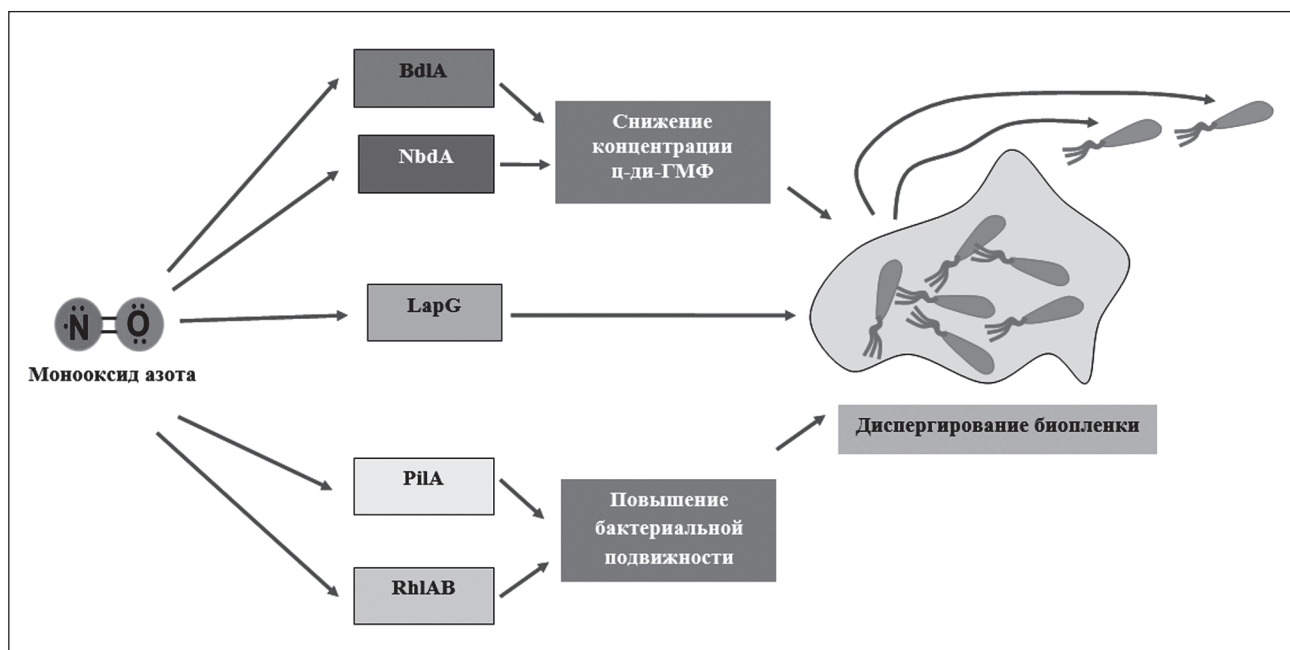


Рисунок 1. Пути влияния монооксида азота на диспергирование бактериальной биопленки

концентрації ц-ди-ГМФ [10, 33]. Спектр дії SNP в основному обмежується бактеріями родів *Pseudomonas*, *Bacillus* і *Clostridium* [9, 21, 39], незважаючи на те, що низька концентрація NO не змінює рівень диспергування біопленки бактерій *Streptococcus pneumoniae*, але сприяє посиленню активності килінга пневмококів на фоні застосування амоксициліну/клавуланата [6].

Диолаты диазения

Диолаты диазения представляют собой ионаты, которые характеризуются наличием димера NO-NO, связанного с нуклеофилом через атом азота [3]. Группа соединений NONOate, наиболее исследованных доноров NO, включает NONOate-спермин, NONOate-диэтиламин, NONOate-диэтиленetriамин, NONOate-дипропилтриамин и NONOate-пролин [57]. Установлено, что NONOate-соединения, инкапсулированные в наночастицы, способны эффективно диспергировать биопленки, сформированные микроорганизмами, в частности бактериями *Pseudomonas aeruginosa*, уменьшая ее биомассу на 79 % [4].

S-нитрозотиолы

В отличие от соединений NONOate генерация RSNO требует взаимодействия тиолов (R-SH) с нитрозирующими агентами, такими как алкилнитрит, триоксид динитроген и азотистая кислота. В доклиниче-

ских исследованиях *in vivo* из семейства RSNO наиболее часто используют S-нитрозо-N-ацетилпеницилламин (S-nitroso-N-acetylpenicillamine—SNAP) и S-нитрозо-L-глутатион (S-nitroso-L-glutathione — GSNO) [22, 40]. Соединения RSNO высвобождают NO при наличии каталитических агентов, таких как ионы переходных металлов: Cu²⁺, Hg²⁺, Fe²⁺, Ag⁺, Se²⁺ и Te²⁺ [28].

Молекулярные платформы доставки доноров монооксида азота

Для доставки и оптимизации режима высвобождения NO были предложены различные молекулярные платформы: неорганические и полимерные наночастицы, металлоорганические координационные полимеры, дендримеры, липосомы, мицеллы [16, 43, 56, 57].

Неорганические наночастицы

Из широкого спектра неорганических наночастиц для доставки NO чаще всего используют наночастицы кремния и золота [43]. Полагают, что неорганические наночастицы являются идеальным транспортным средством для лекарственных соединений, поскольку они являются инертными, биосовместимыми, биоразлагаемыми, термически и химически стабильными [13]. Yuan Lu и соавт. [37] продемонстрировали, что кремниевые наностержни являются отличной платформой для доставки NONOate-соединений. NO-высвобождающие мезопористые кремниевые

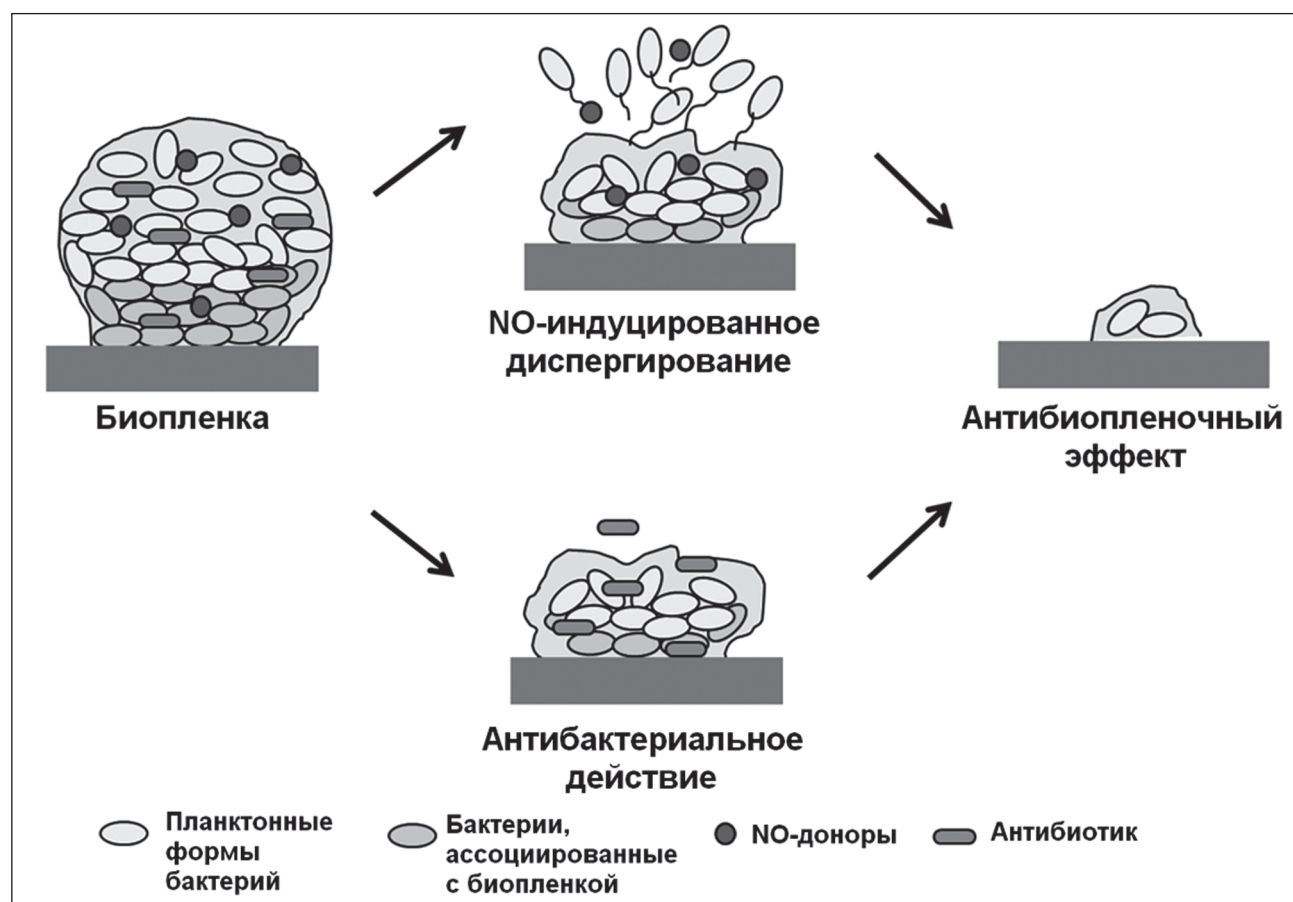


Рисунок 2. Синергизм действия NO-доноров и антибиотиков [24, модификация]

наностержни проявляють бактерицидну і антибіопленчатую активність проти грампозитивних бактерій *Staphylococcus aureus* і грамотрицательних бактерій *Pseudomonas aeruginosa*.

Полимерные наночастицы

Поли(молочно-со-гликолевая кислота) (poly(lactic-co-glycolic-acid) PLGA) представляє собою біосовместимий полімер, наночастиці якого одобрено FDA для застосування в медичній практиці в якості носіїв для доставки лікарських засобів в макроорганізм [32, 33, 46].

Показано, що PLGA діє як промотор і регулятор вивільнення NO з NO-донора. Вивільнюють молекули NO проявляють достовірне антибіопленочне діє проти біопленок, сформованих бактеріями *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli*. В частині, застосування дібутилгексилдіаміна діолата діазенія (dibutylhexyldiamine diazeniumdiolate — DBHD/N₂O₂), інкапсульованого в наночастиці PLGA, супроводжується зменшенням біомаси біопленки бактерій *Staphylococcus aureus* на 98,4 % і бактерій *Escherichia coli* на 99,9 % при температурі 37 °C [12].

Металлорганічні координаційні полімери

Металлорганічні координаційні полімери (metal-organic framework — MOF) представляють собою трьохмерні структурні пористі зв'язки, які складаються з іонів металів або кластерів, зв'язаних між собою жорсткими органічними молекулами [29, 38]. В наші часи показано, що використання MOF в якості платформи для доставки антибіотиків посилює антибіопленочну ефективність останніх [20]. Особливий інтерес ці зв'язки представляють як системи зберігання і доставки NO [58].

Дендримери

Дендримери представляють собою розчинні в воді гідрозв'язані макромолекули розміром від 1 до 100 нм з гіперрозгалуженою трьохмерною структурою, яка складається: 1) з центрального ядра, 2) гіперрозгалуженою мантією і 3) корони з багаточисельними поверхневими функціональними групами. Дендримери можуть використовуватися в якості носіїв для різних терапевтичних агентів. Розрізняють декілька генерацій дендримерів: перша генерація характеризується наявністю однієї точки, друга генерація — двох, третя генерація — трьох точок розгалуження кожної гілки і т.д. [15, 49]. Різні NO-вивільнюють полі(амідоаміни) (poly(amidoamine) — PAMAM) дендримери 1-ї генерації відрізняються довжиною алкільної ланцюга (пропіл, бутіл, гексил, октил і додецил), і чим довша ланцюг, тим більше період напіввивільнення NO [8, 36]. Встановлено, що октил- і додецил-модифіковані PAMAM-дендримери мають найбільш виражений антибактеріальний і антибіопленчатий діє проти бактерій *Streptococcus mutans* [8].

Однак NO-вивільнюють PAMAM-дендримери мають різний діє на формування біопленки у різних мікроорганізмів. Так, NO-вивільнюють PAMAM-дендримери 1-ї генерації через 2 години експозиції викликають суттєві деструктивні зміни біопленки, сформованої бактеріями *Pseudomonas aeruginosa*, в той час як структура біопленки, сформованої бактеріями *Staphylococcus aureus*, практично не чутлива до їх впливу. Brittany V. Worley і співавт. [55] вважають, що відмінності діє NO-вивільнюють PAMAM-дендримерів обумовлені особливостями будови біопленки різних бактерій. Також продемонстровано, що гексилмодифіковані дендримери незалежно від ступеня генерації мають прекрасну антибактеріальну активність проти бактерій *Pseudomonas aeruginosa*. Слід зазначити, що NO-вивільнюють дендримери 2-ї генерації проявляють найменшу антибіопленочну активність.

Bin Sun і співавт. [51] створили NO-вивільнюють полі(пропіленіміни) (poly(propylene imine) — PPI) дендримери. Авторами встановлено, що ці дендримери, особливо 5-ї генерації, високоефективні в придушенні біопленок, сформованих бактеріями *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*.

Липосоми

Липосоми представляють собою сфери, сформовані амфифільними ліпідами, які складаються з гідрофобної оболонки і гідрофільного ядра. Липосоми сприяють підвищенню специфічності, зменшенню дози, зменшенню ризику небажаних лікарських засобів. Показано, що доставка антибактеріальних препаратів в липосомах збільшує їх ефективність при сформованій бактеріальній біопленці [25].

Продемонстровано, що ізосорбид мононітрат, одобрений для клінічного застосування NO-донор і інкапсульований в різні аніонні одно- і багатослойні липосомальні композиції, індукують об'ємне диспергування *in vitro* біопленки бактерій *Staphylococcus aureus* [30].

Dakota J. Suchyta і Mark H. Schoenfisch інкапсулювали в липосоми такі донори NO, як спермін NONOate і дипропілентриамін NONOate [50].

Мицелли

Полімерні мицелли (розміром від 10 до 200 нм) складаються з амфифільних полімерів, в частині з полі(2-гідроксиетилметакрилату) (poly(2-hydroxyethyl methacrylate) — PHEMA), метоксиполі(етиленгліколю) і полі(молочної кислоти) (poly(ethylene glycol) and poly(lactic acid) — m-PEG-PLA) або сукцинату d- α -токоферилу поліетиленгліколю (d- α -tocopheryl polyethylene glycol succinate — TPGS), які утворюють гідрофобне внутрішнє ядро, стабілізоване гідрофільною зовнішньою оболонкою [57]. Однак до цього часу не проведені дослідження антибіопленочного діє NO-генеруючих зв'язків на платформі мицелл.

Таблица 1. Применяемые NO-доноры при заболеваниях респираторного тракта [5]

Система доставки лекарств	Мишень (модели <i>in vivo/in vitro</i>)	Эффекты
Полимеры Полиэтиленоксид-со-молочная кислота	Альвеолы (модель <i>in vitro</i>)	Ингаляционное введение обеспечивает пролонгированную и устойчивую доставку NO в легкие с биодеградированием полимера
Микросферы	Макрофаги, инфицированные <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (модель <i>in vitro</i>)	Ингаляционное введение с контролируемым высвобождением NO в цитоплазме макрофага
Дендримеры Поли(амидоамино)дендримеры, конъюгированные с метиловым эфиром полиэтиленгликоля 2000	Альвеолы (модель <i>in vivo</i> , грызуны)	Ингаляционное введение сопровождается предотвращением развития тромбоза глубоких вен и увеличением продолжительности жизни
Липосомы	Сосудистые гладкие мышечные клетки (модель <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>)	Ингаляционное введение NO-липосом подавляет развитие гиперплазии интимы сонных артерий
Мицеллы	Линия клеток бронхиальной эпителиальной линии человека <i>in vitro</i> (16HBE)	Ингаляционное введение сопровождается 70% захватом препарата и его отличной интернализацией

Экспериментальные и клинические исследования NO-высвобождающих соединений

В настоящее время разрабатываемые NO-высвобождающие соединения, ассоциированные с молекулярными формами доставки, проходят испытания, преимущественно *in vitro* (табл. 1), а из коммерческих препаратов существуют только средства, рекомендованные для наружного применения при лечении ожоговых поверхностей [31, 56].

Необходимо учитывать, что NO при наличии кислорода образует диоксид азота (NO₂), что может привести к повреждению легких и развитию их отека [5].

Выводы

Таким образом, низкая концентрация NO вызывает диспергирование биопленки, сформированной практически любыми бактериальными патогенами. Монооксид азота при низкой концентрации индуцирует снижение концентрации ц-ди-ГМФ, что приводит к усилению подвижности бактерий и деградации матрикса биопленки. По всей вероятности, реактивные состояния человека, которые сопровождаются усилением продукции NO, могут привести к развитию рецидива именно за счет усиления дисперсии биопленки и колонизации новых регионов органов и систем. Применение NO-доноров сопровождается уменьшением массы биопленки патогенных бактерий и повышением эффективности действия антибактериальных средств. Разработка лекарственных средств, способных к длительному высвобождению стабильного уровня NO, будет способствовать решению задачи по достижению эффективности киллинга антибиотикорезистентных бактерий, способных быстро формировать биопленки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии какого-либо конфликта интересов и собственной финансовой заинтересованности при подготовке данной статьи.

References

1. Abaturov AE, Volosovets AP, Borysova TP. Activated Nitrogen-Containing Metabolites of the Human Body in Respiratory Diseases. Generators and Generation (Part 1). *Child's Health*. 2015;(66):136-140. (in Russian).
2. Abaturov AE, Volosovets AP, Borysova TP. Activated Nitrogen-Containing Metabolites of the Human Body in Respiratory Diseases. Generators and Generation (Part 2). *Child's Health*. 2015;(67):127-131. (in Russian).
3. Granik VG, Ryabova SYu, Grigoriev NB. Exogenous nitric oxide donors and inhibitors of its formation (the chemical aspects). *Russ chem rev*, 1997;66 (8):717-731. doi: 10.1070/RC1997v066n08A-BEH000317. (in Russian).
4. Adnan NNM, Sadrearhami Z, Bagheri A, et al. Exploiting the Versatility of Polydopamine-Coated Nanoparticles to Deliver Nitric Oxide and Combat Bacterial Biofilm. *Macromol Rapid Commun*. 2018 Jul;39(13):e1800159. doi: 10.1002/marc.201800159.
5. Akter F, Coghlan G, de Mel A. Nitric oxide in paediatric respiratory disorders: novel interventions to address associated vascular phenomena? *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2016 Aug;10(4):256-70. doi: 10.1177/1753944716649893.
6. Allan RN, Morgan S, Brito-Mutunayagam S, et al. Low Concentrations of Nitric Oxide Modulate *Streptococcus pneumoniae* Biofilm Metabolism and Antibiotic Tolerance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016 Mar 25;60(4):2456-66. doi: 10.1128/AAC.02432-15.
7. Arora DP, Hossain S, Xu Y, Boon EM. Nitric Oxide Regulation of Bacterial Biofilms. *Biochemistry*. 2015 Jun 23;54(24):3717-28. doi: 10.1021/bi501476n.
8. Backlund CJ, Worley BV, Schoenfisch MH. Anti-biofilm action of nitric oxide-releasing alkyl-modified poly(amidoamine) dendrimers against *Streptococcus mutans*. *Acta Biomater*. 2016 Jan;29:198-205. doi: 10.1016/j.actbio.2015.10.021.
9. Barraud N, Hassett DJ, Hwang SH, Rice SA, Kjelleberg S, Webb JS. Involvement of nitric oxide in biofilm dispersal of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*. 2006 Nov;188(21):7344-53. doi: 10.1128/JB.00779-06.
10. Barraud N, Kelso MJ, Rice SA, Kjelleberg S. Nitric oxide: a key mediator of biofilm dispersal with applications in infectious dis-

- eases. *Curr Pharm Des.* 2015;21(1):31-42. doi: 10.2174/1381612820666140905112822.
11. Berlanga M, Guerrero R. Living together in biofilms: the microbial cell factory and its biotechnological implications. *Microb Cell Fact.* 2016 Oct 1;15(1):165. doi: 10.1186/s12934-016-0569-5.
 12. Cai W, Wu J, Xi C, Meyerhoff ME. Diazoniumdiolate-doped poly(lactic-co-glycolic acid)-based nitric oxide releasing films as antibiofilm coatings. *Biomaterials.* 2012 Nov;33(32):7933-44. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.07.027.
 13. Chan AC, Bravo Cadena M, Townley HE, Fricker MD, Thompson IP. Effective delivery of volatile biocides employing mesoporous silicates for treating biofilms. *J R Soc Interface.* 2017 Jan;14(126). pii: 20160650. doi: 10.1098/rsif.2016.0650.
 14. Chatterjee D, Cooley RB, Boyd CD, Mehl RA, O'Toole GA, Sondermann H. Mechanistic insight into the conserved allosteric regulation of periplasmic proteolysis by the signaling molecule cyclic-di-GMP. *Elife.* 2014 Sep 2;3:e03650. doi: 10.7554/eLife.03650.
 15. Choudhary S, Gupta L, Rani S, Dave K, Gupta U. Impact of Dendrimers on Solubility of Hydrophobic Drug Molecules. *Front Pharmacol.* 2017 May 16;8:261. doi: 10.3389/fphar.2017.00261.
 16. Claes B, Boudewijns T, Muchez L, et al. Smart Metal-Organic Framework Coatings: Triggered Antibiofilm Compound Release. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2017 Feb 8;9(5):4440-4449. doi: 10.1021/acami.6b14152.
 17. Cobb A, Thornton L. Hyperinflation of Nitroprusside. *J Pharm Pract.* 2018 Aug;31(4):382-389. doi: 10.1177/0897190018762182.
 18. Cutruzzola F, Rinaldo S, Centola F, Brunori M. NO production by *Pseudomonas aeruginosa* cdi nitrite reductase. *IUBMB Life.* 2003 Oct-Nov;55(10-11):617-21. doi: 10.1080/15216540310001628672.
 19. Cutruzzola F, Frankenberg-Dinkel N. Origin and Impact of Nitric Oxide in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *J Bacteriol.* 2016 Jan 1;198(1):55-65. doi: 10.1128/JB.00371-15.
 20. Duan F, Feng X, Jin Y, et al. Metal-carbenicillin framework-based nanoantibiotics with enhanced penetration and highly efficient inhibition of MRSA. *Biomaterials.* 2017 Nov;144:155-165. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.08.024.
 21. Fida TT, Voordouw J, Ataeian M, et al. Synergy of Sodium Nitroprusside and Nitrate in Inhibiting the Activity of Sulfate Reducing Bacteria in Oil-Containing Bioreactors. *Front Microbiol.* 2018 May 16;9:981. doi: 10.3389/fmicb.2018.00981.
 22. Ganzarolli de Oliveira M. S-Nitrosothiols as Platforms for Topical Nitric Oxide Delivery. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2016 Oct;119 Suppl 3:49-56. doi: 10.1111/bcpt.12588.
 23. Giacalone D, Smith TJ, Collins AJ, Sondermann H, Koziol LJ, O'Toole GA. Ligand-Mediated Biofilm Formation via Enhanced Physical Interaction between a Diguanylate Cyclase and Its Receptor. *MBio.* 2018 Jul 10;9(4). pii: e01254-18. doi: 10.1128/mBio.01254-18.
 24. Hasan S, Albayaty YNS, Thierry B, Prestidge CA, Thomas N. Mechanistic studies of the antibiofilm activity and synergy with antibiotics of isosorbide mononitrate. *Eur J Pharm Sci.* 2018 Mar 30;115:50-56. doi: 10.1016/j.ejps.2018.01.003.
 25. Hemege HA. Nanomaterials for alternative antibacterial therapy. *Int J Nanomedicine.* 2017 Nov 10;12:8211-8225. doi: 10.2147/IJN.S132163.
 26. Horst BG, Marletta MA. Physiological activation and deactivation of soluble guanylate cyclase. *Nitric Oxide.* 2018 Jul 1;77:65-74. doi: 10.1016/j.niox.2018.04.011.
 27. Hossain S, Nisbett LM, Boon EM. Discovery of Two Bacterial Nitric Oxide-Responsive Proteins and Their Roles in Bacterial Biofilm Regulation. *Acc Chem Res.* 2017 Jul 18;50(7):1633-1639. doi: 10.1021/acs.accounts.7b00095.
 28. Hwang S, Cha W, Meyerhoff ME. Polymethacrylates with a covalently linked CuII-cyclen complex for the in situ generation of nitric oxide from nitrosothiols in blood. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2006 Apr 21;45(17):2745-8. doi: 10.1002/anie.200503588.
 29. Indra A, Song T, Paik U. Metal Organic Framework Derived Materials: Progress and Prospects for the Energy Conversion and Storage. *Adv Mater.* 2018 Sep;30(39):e1705146. doi: 10.1002/adma.201705146.
 30. Jardeleza C, Thierry B, Rao S, et al. An in vivo safety and efficacy demonstration of a topical liposomal nitric oxide donor treatment for *Staphylococcus aureus* biofilm-associated rhinosinusitis. *Transl Res.* 2015 Dec;166(6):683-92. doi: 10.1016/j.trsl.2015.06.009.
 31. Kang Y, Kim J, Lee YM, Im S, Park H, Kim WJ. Nitric oxide-releasing polymer incorporated ointment for cutaneous wound healing. *J Control Release.* 2015 Dec 28;220(Pt B):624-30. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.08.057.
 32. Khan I, Gothwal A, Sharma AK, et al. PLGA Nanoparticles and Their Versatile Role in Anticancer Drug Delivery. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 2016;33(2):159-93. doi: 10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.2016015273.
 33. Li X, Jiang X. Microfluidics for producing poly (lactic-co-glycolic acid)-based pharmaceutical nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018 Mar 15;128:101-114. doi: 10.1016/j.addr.2017.12.015.
 34. Li XH, Lee JH. Antibiofilm agents: A new perspective for antimicrobial strategy. *J Microbiol.* 2017 Oct;55(10):753-766. doi: 10.1007/s12275-017-7274-x.
 35. Li Y, Heine S, Entian M, Sauer K, Frankenberg-Dinkel N. NO-induced biofilm dispersion in *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by an MHYT domain-coupled phosphodiesterase. *J Bacteriol.* 2013 Aug;195(16):3531-42. doi: 10.1128/JB.01156-12.
 36. Lu Y, Slomberg DL, Shah A, Schoenfisch MH. Nitric oxide-releasing amphiphilic poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers as antibacterial agents. *Biomacromolecules.* 2013 Oct 14;14(10):3589-98. doi: 10.1021/bm400961r.
 37. Lu Y, Slomberg DL, Sun B, Schoenfisch MH. Shape- and nitric oxide flux-dependent bactericidal activity of nitric oxide-releasing silica nanorods. *Small.* 2013 Jun 24;9(12):2189-98. doi: 10.1002/sml.201201798.
 38. Metal-Organic Frameworks (MOF), or organometallic coordination polymers (MCOP). *Kazan;* 2013. 41 p.
 39. Moore CM, Nakano MM, Wang T, Ye RW, Helmann JD. Response of *Bacillus subtilis* to nitric oxide and the nitrosating agent sodium nitroprusside. *J Bacteriol.* 2004 Jul;186(14):4655-64. doi: 10.1128/JB.186.14.4655-4664.2004.
 40. Naghavi N, de Mel A, Alavijeh OS, Cousins BG, Seifalian AM. Nitric oxide donors for cardiovascular implant applications. *Small.* 2013 Jan 14;9(1):22-35. doi: 10.1002/sml.201200458.
 41. Nairz M, Dichtl S, Schroll A, et al. Iron and innate antimicrobial immunity-Depriving the pathogen, defending the host. *J Trace Elem Med Biol.* 2018 Jul;48:118-133. doi: 10.1016/j.jtemb.2018.03.007.
 42. Newell PD, Monds RD, O'Toole GA. LapD is a bis-(3',5')-cyclic dimeric GMP-binding protein that regulates surface attachment by *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Mar 3;106(9):3461-6. doi: 10.1073/pnas.0808933106.
 43. Pelgrift RY, Friedman AJ. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Adv Drug Deliv Rev.* 2013 Nov;65(13-14):1803-15. doi: 10.1016/j.addr.2013.07.011.
 44. Petrova OE, Cherny KE, Sauer K. The diguanylate cyclase GcbA facilitates *Pseudomonas aeruginosa* biofilm dispersion by activating BdlA. *J Bacteriol.* 2015 Jan 1;197(1):174-87. doi: 10.1128/JB.02244-14.
 45. Petrova OE, Sauer K. PAS domain residues and prosthetic group involved in BdlA-dependent dispersion response by *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *J Bacteriol.* 2012 Nov;194(21):5817-28. doi: 10.1128/JB.00780-12.
 46. Ramezani M, Ebrahimian M, Hashemi M. Current Strategies in the Modification of PLGA-based Gene Delivery System. *Curr Med Chem.* 2017;24(7):728-739. doi: 10.2174/0929867324666161205130416.
 47. Rinaldo S, Giardina G, Mantoni F, Paone A, Cutruzzola F. Beyond nitrogen metabolism: nitric oxide, cyclic-di-GMP and bacterial biofilms. *FEMS Microbiol Lett.* 2018 Mar 1;365(6). doi: 10.1093/femsle/fny029.
 48. Rinaldo S, Giardina G, Brunori M, Cutruzzola F. N-oxide sensing and denitrification: the DNR transcription factors. *Biochem Soc Trans.* 2006 Feb;34(Pt 1):185-7. doi: 10.1042/BST0340185.
 49. Sherje AP, Jadhav M, Dravyakar BR, Kadam D. Dendrimers: A versatile nanocarrier for drug delivery and targeting. *Int J Pharm.* 2018 Sep 5;548(1):707-720. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.07.030.
 50. Suchyta DJ, Schoenfisch MH. Encapsulation of N-Diazoniumdiolates within Liposomes for Enhanced Nitric Oxide Donor Stability and Delivery. *Mol Pharm.* 2015 Oct 5;12(10):3569-74. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00248.
 51. Sun B, Slomberg DL, Chudasama SL, Lu Y, Schoenfisch MH. Nitric oxide-releasing dendrimers as antibacterial agents. *Biomacromolecules.* 2012 Oct 8;13(10):3343-54. doi: 10.1021/bm301109c.
 52. Tsai AL, Martin E, Berka V, Olson JS. How do heme-protein sensors exclude oxygen? Lessons learned from cytochrome c', *Nostoc*

punctiforme heme nitric oxide/oxygen-binding domain, and soluble guanylyl cyclase. *Antioxid Redox Signal*. 2012 Nov 1;17(9):1246-63. doi: 10.1089/ars.2012.4564.

53. Wo Y, Brisbois EJ, Bartlett RH, Meyerhoff ME. Recent advances in thromboresistant and antimicrobial polymers for biomedical applications: just say yes to nitric oxide (NO). *Biomater Sci*. 2016 Aug 19;4(8):1161-83. doi: 10.1039/c6bm00271d.

54. Wood TK. Biofilm dispersal: deciding when it is better to travel. *Mol Microbiol*. 2014 Nov;94(4):747-50. doi: 10.1111/mmi.12797.

55. Worley BV, Schilly KM, Schoenfisch MH. Anti-Biofilm Efficacy of Dual-Action Nitric Oxide-Releasing Alkyl Chain Modified Poly(amidoamine) Dendrimers. *Mol Pharm*. 2015 May 4;12(5):1573-83. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00006.

56. Yang L, Feura ES, Ahonen MJR, Schoenfisch MH. Nitric Oxide-Releasing Macromolecular Scaffolds for Antibacterial Applications. *Adv Healthc Mater*. 2018 Jul;7(13):e1800155. doi: 10.1002/adhm.201800155.

57. Yang TI, Zelikin AN, Chandrawati R. Progress and Promise of Nitric Oxide-Releasing Platforms. *Adv Sci (Weinh)*. 2018 Apr 23;5(6):1701043. doi: 10.1002/adv.201701043.

58. Zhang H, Tian XT, Shang Y, Li YH, Yin XB. Theranostic Mn-Porphyrin Metal-Organic Frameworks for Magnetic Resonance Imaging-Guided Nitric Oxide and Photothermal Synergistic Therapy. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2018 Aug 29;10(34):28390-28398. doi: 10.1021/acsami.8b09680.

59. Zheng Y, Tsuji G, Opoku-Temeng C, Sintim HO. Inhibition of *P. aeruginosa* c-di-GMP phosphodiesterase RocR and swarming motility by a benzoisothiazolinone derivative. *Chem Sci*. 2016 Sep 1;7(9):6238-6244. doi: 10.1039/c6sc02103d.

Получено/Received 15.06.2019

Рецензировано/Revised 27.06.2019

Принято в печать/Accepted 13.07.2019 ■

Information about authors

A.E. Abatur, MD, PhD, Professor, Head of the Department of pediatrics 1 and medical genetics, State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: alexabatur@i.ua; ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0001-6291-5386>

T.A. Kruchko, MD, Professor, Head of the Department of pediatrics 2, State Higher Education Institution of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava, Ukraine; e-mail: drkruchko@gmail.com; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-5034-4181>

Абатуров О.Є.¹, Крючко Т.О.²

¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро, Україна

²ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава, Україна

Медикаментозний вплив на диспергування біоплівки. Донори оксиду азоту

Резюме. У науковому огляді зображені сучасні уявлення про значення низьких концентрацій оксиду азоту в процесі диспергування та радикації бактеріальної біоплівки. Для написання статті здійснювався пошук інформації з використанням баз даних Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, Google Scholar, EMBASE, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka. Охарактеризовано значення оксиду азоту в розвитку рецидивів інфекційно-запальних захворювань респіраторного тракту. Підкреслена здатність оксиду азоту при високих (мікромолярних) концентраціях бути високотоксичною сполукою для бактерій і найважливішим компонентом неспецифічного захисту макроорганізму від патогенних мікроорганізмів, а при низьких (наномолярних) концентраціях виконувати роль сигнальної молекули. Відображено здатність монооксиду азоту диспергувати біоплівку бактерій через посилення експресії або активності протеїнів, пов'язаних із рухливістю бактерій: пілі, рамноліпідів. Надана характеристика основних донорів оксиду азоту та молеку-

лярних платформ, що можуть бути використані для їх доставки в макроорганізм. Наведені основні групи донорів оксиду азоту, такі як органічні нітрати, сполуки нітрозильованих металів, діолати діазенія (N-diazeniumdiolate — NONOate) і S-нітросотіолі (S-nitrosothiol — RSNO). Зазначено, що донори оксиду азоту підсилюють диспергування біоплівки і сприяють підвищенню антибактеріальної активності антибіотиків. Охарактеризовані молекулярні платформи доставки й оптимізації режиму вивільнення оксиду азоту: неорганічні і полімерні наночастинки, металоорганічні координаційні полімери, дендримери, ліпосоми, міцели. Підкреслена можливість використання даних сполук для розробки нових препаратів, що будуть ефективні при лікуванні захворювань, асоційованих із формуванням біоплівок патогенними бактеріями.

Ключові слова: диспергування біоплівки; респіраторний тракт; донори оксиду азоту; рецидивуючі та хронічні інфекційно-запальні захворювання; огляд

A.E. Abatur¹, T.A. Kryuchko²

¹State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

²Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine

Pharmaceutical effect on the biofilm dispersion. Nitric oxide donors

Abstract. The scientific review deals with the modern ideas about the importance of low concentrations of nitric oxide in the process of dispersing and eradicating of bacterial biofilms. For writing the article, information was searched using Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, Google Scholar, EMBASE, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka. The paper highlights the value of nitric oxide in the development of relapses of respiratory infectious-inflammatory diseases. It is emphasized that the ability of nitric oxide at high (micromolar) concentrations can become a highly toxic compound for bacteria and an important component of the nonspecific protection of a macroorganism from pathogenic microorganisms, and at low (nanomolar) concentrations can act as a signaling molecule. The ability of nitrogen monoxide to disperse the biofilm of bacteria through increased expression or activity of proteins associated with the motility of bacteria pili, rhamnolipids is described. The characteristics of the main donors of nitric oxide

and molecular platforms that can be used for their delivery to the macroorganism are presented. The main groups of nitric oxide donors are described, such as organic nitrates, nitrosylated metal compounds, diazenium diolates (N-diazeniumdiolate — NONOate) and S-nitrosothiols (S-nitrosothiol — RSNO). It is indicated that nitric oxide donors enhance the dispersion of biofilms and contribute to an increase in the antibacterial activity of antibiotics. The paper characterizes the molecular platforms for the delivery and optimization of the nitric oxide release regime: inorganic and polymer nanoparticles, organometallic coordination polymers, dendrimers, liposomes, micelles. The possibility of using these compounds to develop new drugs that will be effective in treating diseases associated with the formation of biofilms by pathogenic bacteria is underlined.

Keywords: biofilm dispersion; respiratory tract; nitric oxide donors; recurrent and chronic infectious and inflammatory diseases; review