



УДК 616.2-022.7-085:615-039]-053.2

DOI: 10.22141/2224-0551.13.7.2018.148925

Абатуров А.Е.¹, Крючко Т.А.²

¹ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепр, Украина

²ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава, Украина

Антибиопленочная терапия при лечении респираторных инфекционных заболеваний, вызванных бактериальными патогенами

For cite: Zdorov'e rebenka. 2018;13(7):704-709. doi: 10.22141/2224-0551.13.7.2018.148925

Резюме. В колонизированной среде патогенные бактерии переходят из планктонной формы существования к микробиосоциальной, формируя своеобразную структуру — биопленку. Формирование биопленки является ключевым фактором вирулентности широкого круга патогенных бактерий, которые вызывают как острые, так и хронические инфекции. Толерантность к антибактериальным средствам бактерий биопленки лежит в основе большинства рецидивирующих и хронических инфекционных заболеваний. В настоящее время для решения данной проблемы разрабатываются терапевтические стратегии, которые направлены на подавление жизнеспособности биопленок. Лекарственные средства, созданные для борьбы с патогенными бактериальными биопленками, делятся на две большие группы: соединения, ингибирующие их формирование, и соединения, дестабилизирующие или разрушающие структуру зрелой сформированной биопленки. Существуют экспериментально подтвержденные данные, что применение данных лекарственных средств станет эффективным методом лечения заболеваний, ассоциированных с формированием биопленок.

Ключевые слова: бактериальные биопленки; респираторные инфекционные заболевания

Введение

Патогенные бактерии, достигая определенной плотности в колонизированной среде, из планктонной формы существования переходят к оседлой или микробиосоциальной форме жизнеспособности, формируя своеобразную структуру — биопленку, которая располагается на открытых поверхностях органов макроорганизма [21]. Биопленка представляет собой образование, содержащее бактерии, которые заключены в состоящий из полисахаридов, протеинов и экстрабактериальной ДНК экзополимерный матрикс, который предохраняет бактерии от действия антимикробных агентов [4, 14, 23]. С формированием бактериальной биопленки, по мнению современных микробиологов, связано развитие хронических воспалительных заболеваний, ассоциированных с бактериальным инфекцион-

ным процессом. Предупреждение формирования или разрушение бактериальной биопленки является перспективным методом медикаментозного лечения бактериальных инфекционных болезней человека.

Краткое представление об архитектуре и функциях бактериальной биопленки

Матрикс функционирует как биологический каркас, стабилизирующий сложную трехмерную структуру биопленки, и как коммуникативная система. Матрикс биопленки состоит из внеклеточных полимерных веществ (extracellular polymeric substances — EPS). Основными компонентами матрикса биопленки являются: протеины (> 2 %); полисахариды (1–2 %); молекулы ДНК (< 1 %),

РНК (< 1 %); ионы (связанные и свободные) и, наконец, вода (около 97 %) [16]. Доставка необходимых питательных веществ бактериям внутри биопленки требует высокого содержания воды в матриксе. Компоненты матрикса формируют устойчивую высокогидратированную структуру, которая удерживает бактерии в непосредственной близости друг от друга, что позволяет им осуществлять межбактериальные коммуникации и обмен ДНК. Матрикс защищает бактериальную массу от дегидратации, антимикробных веществ, антибиотиков, активных радикалов, радиации и других агентов, обладающих антибактериальной активностью. Бактерии в ответ на изменения уровня обеспеченности питательными веществами продуцируют ферменты, которые модифицируют композицию внеклеточных полимерных веществ, адаптируя архитектуру биопленки к конкретной окружающей среде [7].

Внутри биопленки бактерии коконированы во внеклеточном матриксе. Обычно 5–35 % объема биопленки составляют микроорганизмы, а оставшийся объем приходится на внеклеточный матрикс [11]. Пленкообразующие патогенные бактерии, заключенные в матриксе, отличаются высокой степенью толерантности к действию традиционных антибиотиков и влиянию иммунной реакции организма (табл. 1) [24]. Результаты многочисленных экспериментальных *in vitro* и *in vivo* исследований показали, что значения минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК) антибиотиков для бактерий, находящихся в биопленке, намного выше (примерно в 10–10 000 раз), чем их уровни для планктонных форм бактерий [22]. Таким образом, невозможно создать антибиотик, который бы оказывал эффек-

тивное бактерицидное действие на бактерии, локализованные в биопленке, и не приводил к развитию токсических или побочных эффектов.

Биопленки не только способствуют толерантности бактерий к действию антибиотиков, но и участвуют в ингибировании иммунного ответа макроорганизма. Формирование бактериальных биопленок лежит в основе многочисленных хронических инфекций, возбудители которых не чувствительны к традиционной антибактериальной терапии [2, 32].

Вместе с тем в настоящее время установлено, что и некоторые антибиотики обладают противобиопленочной активностью (табл. 2).

Стадии формирования бактериальной биопленки

Формирование биопленки является сложным процессом, в котором различают несколько этапов: 1) начальный контакт/адгезия бактерии с поверхностью; 2) образование микроколоний; 3) матурация и формирование зрелой архитектуры биопленки; 4) дисперсия биопленки [9, 27].

Заболевания, ассоциированные с формированием бактериальных биопленок

Согласно мнению Muhsin Jamal и соавт. [16], приблизительно 65 % всех бактериальных инфекций ассоциированы с формированием бактериальных биопленок.

Формирование биопленок в качестве важнейшего патогенетического компонента характерно для развития не только хронических, но и острых инфекционных заболеваний респираторного тракта (табл. 3) [8].

Таблица 1. Механизмы антибактериальной толерантности бактерий, расположенных в биопленках [5]

Антибактериальная группа	Толерантность, ассоциированная с матриксом биопленки	Физиологическая толерантность	Адаптивная толерантность
Бета-лактамы	Снижение диффузии антибиотика	Отсутствие влияния на неделящиеся бактерии	Индукция синтеза бета-лактамаз. Индукция альгинатных генов субингибирующими концентрациями. Активация эффлюксных помп бактерий в качестве реакции на стресс
Хинолоны	Без влияния	Снижение антимикробной активности в анаэробных условиях	Активация эффлюксных помп бактерий в качестве реакции на стресс. Активация эффлюксной помпы PA1874-1877
Аминогликозиды	Альгинатассоциированное нарушение диффузии	Низкая активность против неделящихся бактерий	Активация эффлюксных помп MexXY и PA1874-1877. Индукция образования биопленки субингибирующими концентрациями
Азитромицин			Активация эффлюксных помп (mexCD-oprJ)

Терапия, направленная на подавление формирования или разрушение бактериальной биопленки

В связи с высоким удельным весом в патогенезе бактериальных инфекций потребность в разработке противобиопленочных лекарственных средств приобретает особую актуальность. Учитывая, что в образовании биопленки участвуют механизмы межбактериальной коммуникации, полагают, что малые молекулы, которые способны нарушать функ-

ционирование quorum-sensing-ассоциированных сигнальных путей, могут быть использованы как противобиопленочные средства [3]. Так как при ограничении ресурсов питания или превышении допустимого уровня концентрации токсических продуктов во внутренних архитектурных образованиях индуцируются механизмы диспергирования биопленки, считают, что потенциальным методом противобиопленочного лечения является применение соединений, способствующих диспергиро-

Таблица 2. Антибиотики, активные против патогенной бактериальной биопленки [12, 34]

Антибиотик	Класс	Механизм действия	Спектр активности
Азитромицин	Макролиды	Подавление синтеза лактонов	Грамотрицательные бактерии
Ванкомицин ($t_{1/2}$ 8 часов)	Гликопептиды	Бактерицидное действие, ингибирует образование бактериальных клеточных стенок	Грамположительные бактерии, в том числе MRSA
Даптомицин ($t_{1/2}$ 9 часов)	Липопептид	Бактерицидное действие, осуществляет вставку гидрофобного хвоста в клеточную мембрану, что приводит к деполаризации мембраны и гибели бактерий	Грамположительные бактерии, включая MRSA, VRSA, VRE и PRSP
Линезолид ($t_{1/2}$ 6 часов)	Оксазолидинон	Бактериостатическое действие. Связывается с бактериальной рибосомной субъединицей 50S, предотвращая образование функционального комплекса 70S	Грамположительные бактерии, включая MRSA, MSSA и VRE
Миноциклин ($t_{1/2}$ 15 часов)	Тетрациклины	Так же, как тигециклин	<i>Neisseria meningitidis</i>
Рифампицин ($t_{1/2}$ 4 часа)	Рифампицин	Бактерицидное действие, ингибирует синтез бактериальной РНК	Грамположительные и грамотрицательные бактерии
Тигециклин ($t_{1/2}$ 42 часа)	Глицилины (производные тетрациклинов)	Бактериостатическое действие. Связывается с 30S бактериальной рибосомальной субъединицей и предотвращает связывание тРНК с рибосомным комплексом мРНК	Грамположительные бактерии, включая VRE и MRSA, грамотрицательные бактерии и анаэробы

Примечания: MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) – метициллинрезистентные бактерии *Staphylococcus aureus*; PRSP (*penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae*) – пенициллинрезистентные бактерии *Streptococcus pneumoniae*; VRSA (*vancomycin resistant Staphylococcus aureus*) – ванкомицинрезистентные бактерии *Staphylococcus aureus*; VRE (*vancomycin-resistant enterococci*) – ванкомицинрезистентные энтерококки.

Таблица 3. Заболевания респираторного тракта и пленкообразующие бактерии

Заболевание	Причинно-значимые бактерии, наиболее часто формирующие биопленку	Источник
Бронхит	<i>Haemophilus influenzae</i> (30–70 %), <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i>	[28]
Пневмонии	<i>Staphylococcus aureus</i> или MRSA, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[10]
Пневмонии и искусственная вентиляция легких	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> и <i>Acinetobacter baumannii</i>	[13]
Муковисцидоз	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> и <i>Burkholderia cepacia</i> complex, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Achromobacter xylosoxidans</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	[6]
Хроническая обструктивная болезнь легких	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>	[1, 8]
Бронхоэктатическая болезнь	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> и, возможно, <i>Veilonella</i> spp., <i>Prevotella</i> spp., <i>Neisseria</i> spp.	[15, 30]

ванию биопленки [26, 31]. В частности, полагают, что лечение с применением ферментов может быть одним из подходов к ликвидации патологической биопленки, так как активное диспергирование биопленки сопровождается индукцией ферментов, разрушающих компоненты матрицы [33].

Также разработаны специфические рекомбинантные фаги, которые способны атаковать бактерии биопленки и продуцировать матрикс-разрушающий фермент [17, 19].

По механизму действия различают следующие группы противобиопленочных средств, влияющих:

- 1) на системы межбактериальной коммуникации, в частности, на аутоиндуктор AI-2 (грамотрицательных бактерий), диффузный фактор сигнала (diffusible signal factor — DSF);
- 2) транскрипционную активность грамотрицательных бактерий (например, деценовая кислота);
- 3) механизмы обеспечения железом (например, лактоферрин, препараты галлия, пиовердин);
- 4) на молекулы стенки бактерии (например, D-аминокислоты, которые препятствуют закреплению белковых амилоидных волокон; сарагозиновая кислота (zaragozic acid), нарушающая архитектуру микродоменов в клеточных мембранах);
- 5) антиматриксные молекулы (например, норспермидин (norspermidine), AA-861, парthenолид

(parthenolide), рамнолипид (rhamnolipid) и другие бактериальные поверхностно-активные вещества, уменьшающие межбактериальные взаимодействия);

б) молекулы, способствующие гибели клеток (индукторы синтеза оксида азота, вызывающего гибель бактерий) [25].

Выбор терапевтических методов лечения зависит от степени зрелости патологической биопленки (рис. 1).

Выводы

Формирование биопленки является ключевым фактором вирулентности широкого круга патогенных бактерий, которые вызывают как острые, так и хронические инфекции. Толерантность к антибактериальным средствам бактерий биопленки лежит в основе большинства малокурабельных рецидивирующих и хронических бактериальных инфекционных заболеваний. В настоящее время для решения данной проблемы разрабатываются терапевтические стратегии, которые направлены на подавление жизнедеятельности биопленок [18]. Лекарственные средства, созданные для борьбы с патогенными бактериальными биопленками, составляют две большие группы: 1) соединения, ингибирующие формирование биопленки; 2) соединения, деста-

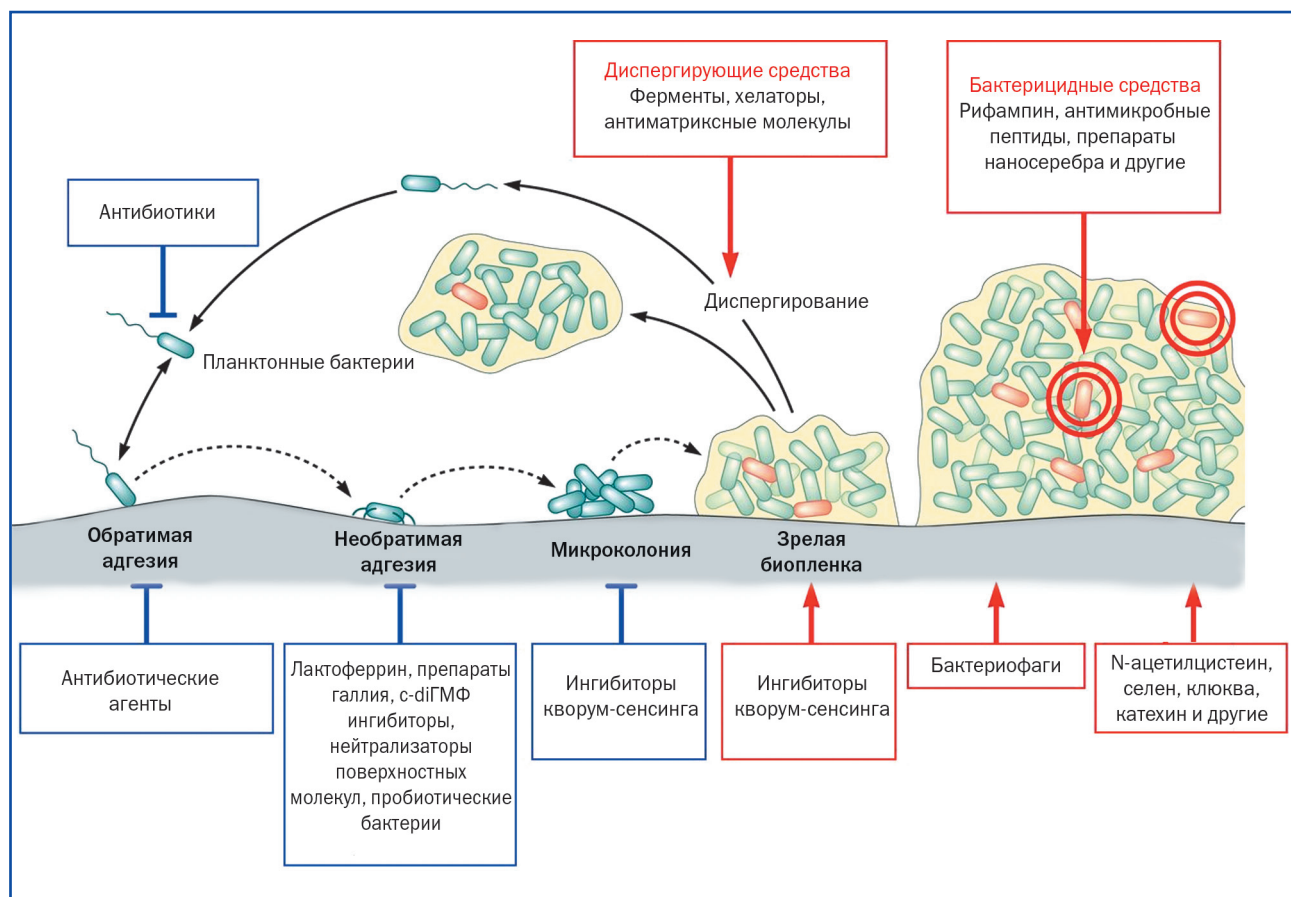


Рисунок 1. Методы противобиопленочной терапии [20, модификация]

Примечание: методы, предотвращающие образование биопленки, изображены синим цветом; методы, способствующие разрушению биопленки, показаны красным цветом.

билизирующие или разрушающие структуру зрелой сформированной биопленки [3, 29]. Существует экспериментально подтвержденная надежда, что применение данных лекарственных средств станет эффективным методом лечения заболеваний, ассоциированных с формированием биопленок.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии какого-либо конфликта интересов при подготовке данной статьи.

References

- Madsen JS, Sorensen SJ, Burmolle M. Bacterial social interactions and the emergence of community-intrinsic properties. *Curr Opin Microbiol.* 2018 Apr;42:104-109. doi: 10.1016/j.mib.2017.11.018.
- Brouse L, Brouse R, Brouse D. Natural Pathogen Control Chemistry to Replace Toxic Treatment of Microbes and Biofilm in Cooling Towers. *Pathogens.* 2017 Mar 31;6(1). pii: E14. doi: 10.3390/pathogens6010014.
- Gupta P, Sarkar S, Das B, Bhattacharjee S, Tribedi P. Biofilm, pathogenesis and prevention - a journey to break the wall: a review. *Arch Microbiol.* 2016 Jan;198(1):1-15. doi: 10.1007/s00203-015-1148-6.
- Moser C, Pedersen HT, Lerche CJ, et al. Biofilms and host response - helpful or harmful. *APMIS.* 2017 Apr;125(4):320-338. doi: 10.1111/apm.12674.
- Jamal M, Ahmad W, Andleeb S, et al. Bacterial biofilm and associated infections. *J Chin Med Assoc.* 2018 Jan;81(1):7-11. doi: 10.1016/j.jama.2017.07.012.
- Dragoš A, Kovács ÁT. The Peculiar Functions of the Bacterial Extracellular Matrix. *Trends Microbiol.* 2017 Apr;25(4):257-266. doi: 10.1016/j.tim.2016.12.010.
- Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol.* 2010 Sep;8(9):623-33. doi: 10.1038/nrmicro2415.
- Olsen I. Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015 May;34(5):877-86. doi: 10.1007/s10096-015-2323-z.
- Marquès C, Tasse J, Pracros A, et al. Effects of antibiotics on biofilm and unattached cells of a clinical *Staphylococcus aureus* isolate from bone and joint infection. *J Med Microbiol.* 2015 Sep;64(9):1021-6. doi: 10.1099/jmm.0.000125.
- Batoni G, Maisetta G, Esin S. Antimicrobial peptides and their interaction with biofilms of medically relevant bacteria. *Biochim Biophys Acta.* 2016 May;1858(5):1044-60. doi: 10.1016/j.bbamem.2015.10.013.
- Taraszkiewicz A, Fila G, Grinholc M, Nakonieczna J. Innovative strategies to overcome biofilm resistance. *Biomed Res Int.* 2013;2013:150653. doi: 10.1155/2013/150653.
- Ciofu O, Rojo-Molinero E, Macià MD, Oliver A. Antibiotic treatment of biofilm infections. *APMIS.* 2017 Apr;125(4):304-319. doi: 10.1111/apm.12673.
- Gbejuade HO, Lovering AM, Webb JC. The role of microbial biofilms in prosthetic joint infections. *Acta Orthop.* 2015 Apr;86(2):147-58. doi: 10.3109/17453674.2014.966290.
- Zeng J, Zhang N, Huang B, et al. Mechanism of azithromycin inhibition of HSL synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Sci Rep.* 2016 Apr 14;6:24299. doi: 10.1038/srep24299.
- Feraco D, Blaha M, Khan S, Green JM, Plotkin BJ. Host environmental signals and effects on biofilm formation. *Microb Pathog.* 2016 Oct;99:253-263. doi: 10.1016/j.micpath.2016.08.015.
- Palanisamy NK, Ferina N, Amirulhusni AN et al. Antibiofilm properties of chemically synthesized silver nanoparticles found against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Nanobiotechnology.* 2014 Jan 14;12:2. doi: 10.1186/1477-3155-12-2.
- Dua K, Shukla SD, Tekade RK, Hansbro PM. Whether a novel drug delivery system can overcome the problem of biofilms in respiratory diseases. *Drug Deliv Transl Res.* 2017 Feb;7(1):179-187. doi: 10.1007/s13346-016-0349-0.
- Priftis KN, Litt D, Manglani S et al. Bacterial bronchitis caused by *Streptococcus pneumoniae* and nontypable *Haemophilus influenzae* in children: the impact of vaccination. *Chest.* 2013 Jan;143(1):152-157. doi: 10.1378/chest.12-0623.
- Fernández-Barat L, Torres A. Biofilms in ventilator-associated pneumonia. *Future Microbiol.* 2016 Dec;11:1599-1610. doi: 10.2217/fmb-2016-0040.
- Gil-Perotin S, Ramirez P, Marti V, et al. Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: a state of concept. *Crit Care.* 2012 May 23;16(3):R93. doi: 10.1186/cc11357.
- Ciofu O, Tölker-Nielsen T, Jensen PO, Wang H, Høiby N. Antimicrobial resistance, respiratory tract infections and role of biofilms in lung infections in cystic fibrosis patients. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015 May;85:7-23. doi: 10.1016/j.addr.2014.11.017.
- Ahearn CP, Gallo MC, Murphy TF. Insights on Persistent Airway Infection by Nontypeable *Haemophilus influenzae* in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Pathog Dis.* 2017 Jun 1;75(4). doi: 10.1093/femspd/ftx042.
- Ishak A, Everard ML. Persistent and Recurrent Bacterial Bronchitis-A Paradigm Shift in Our Understanding of Chronic Respiratory Disease. *Front Pediatr.* 2017 Feb 15;5:19. doi: 10.3389/fped.2017.00019.
- Rogers GB, van der Gast CJ, Serisier DJ. Predominant pathogen competition and core microbiota divergence in chronic airway infection. *ISME J.* 2015 Jan;9(1):217-25. doi: 10.1038/ismej.2014.124.
- Brackman G, Coenye T. Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm agents. *Curr Pharm Des.* 2015;21(1):5-11. doi: 10.2174/1381612820666140905114627.
- Oppenheimer-Shaanan Y, Steinberg N, Kolodkin-Gal I. Small molecules are natural triggers for the disassembly of biofilms. *Trends Microbiol.* 2013 Nov;21(11):594-601. doi: 10.1016/j.tim.2013.08.005.
- Romero D, Kolter R. Will biofilm disassembly agents make it to market? *Trends Microbiol.* 2011 Jul;19(7):304-6. doi: 10.1016/j.tim.2011.03.003.
- Xu D, Jia R, Li Y, Gu T. Advances in the treatment of problematic industrial biofilms. *World J Microbiol Biotechnol.* 2017 May;33(5):97. doi: 10.1007/s11274-016-2203-4.
- Kaistha SD, Umrao PD. Bacteriophage for Mitigation of Multiple Drug Resistant Biofilm Forming Pathogens. *Recent Pat Biotechnol.* 2016;10(2):184-194. doi: 10.2174/1872208310666160919122155.
- Latka A, Maciejewska B, Majkowska-Skrobek G, Briers Y, Drulis-Kawa Z. Bacteriophage-encoded virion-associated enzymes to overcome the carbohydrate barriers during the infection process. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2017 Apr;101(8):3103-3119. doi: 10.1007/s00253-017-8224-6.
- Omar A, Wright JB, Schultz G, Burrell R, Nadworny P. Microbial Biofilms and Chronic Wounds. *Microorganisms.* 2017 Mar 7;5(1). pii: E9. doi: 10.3390/microorganisms5010009.
- Lebeaux D, Ghigo JM, Beloin C. Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2014 Sep;78(3):510-43. doi: 10.1128/MMBR.00013-14.
- Koo H, Allan RN, Howlin RP, Stoodley P, Hall-Stoodley L. Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies. *Nat Rev Microbiol.* 2017 Dec;15(12):740-755. doi: 10.1038/nrmicro.2017.99.
- Richter K, Van den Driessche F, Coenye T. Innovative approaches to treat *Staphylococcus aureus* biofilm-related infections. *Essays Biochem.* 2017 Mar 3;61(1):61-70. doi: 10.1042/EBC20160056.

Получено 20.05.2018 ■

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

Антибіоплівкова терапія при лікуванні респіраторних інфекційних захворювань, викликаних бактеріальними патогенами

Резюме. У колонізованому середовищі патогенні бактерії переходять з планктонної форми існування до мікробіосоціальної шляхом формування своєрідної структури — біоплівки. Формування біоплівки є ключовим фактором вірулентності широкого кола патогенних бактерій, які викликають як гострі, так і хронічні інфекції. Толерантність до антибактеріальних засобів бактерій біоплівки лежить в основі більшості рецидивуючих і хронічних інфекційних захворювань. На даний час для вирішення даної проблеми розробляються терапевтичні стратегії, що спрямовані на

пригнічення життєдіяльності біоплівок. Лікарські засоби, створені для боротьби з патогенними бактеріальними біоплівками, діляться на дві великі групи: сполуки, що пригнічують їх формування, і сполуки, що дестабілізують або руйнують структуру зрілої сформованої біоплівки. Існують експериментально підтвержені дані, що застосування даних лікарських засобів стане ефективним методом лікування захворювань, асоційованих з формуванням біоплівок.

Ключові слова: бактеріальні біоплівки; респіраторні інфекційні захворювання

A.E. Abaturov¹, T.A. Kryuchko²

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

²HSEIU "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava, Ukraine

Antibiofilm therapy in the treatment of respiratory infectious diseases caused by bacterial pathogens

Abstract. In a colonized environment, pathogenic bacteria change the form of existence from the planktonic to the microbiosocial, forming a peculiar structure, the so-called biofilm. The formation of biofilm is a key factor in the virulence of a wide range of pathogenic bacteria that cause both acute and chronic infections. The tolerance of biofilm bacteria to antibacterial agents underlies the majority of recurrent and chronic infectious diseases. Currently, therapeutic strategies are being developed to solve this problem. These strategies are aimed

at suppressing the vital activity of biofilms. The therapeutic agents for protection against pathogenic bacterial biofilms are divided into two large groups. The first group are compounds that inhibit the formation of biofilms, and the second group are compounds that destabilize or destroy the structure of a mature formed biofilm. There is experimental evidence that the use of these drugs will be effective in the treatment of diseases associated with the formation of biofilms.

Keywords: bacterial biofilms; respiratory infections