



Медикаментозное управление диспергированием биопленки за счет регуляции активности бактериального циклического дигуанозинмонофосфата (часть 1)

For citation: Zdorov'e Rebenka. 2020;15(1):60-67. doi: 10.22141/2224-0551.15.1.2020.196759

Резюме. Инфекционный процесс, вызванный патогенными бактериями, может сопровождаться формированием биопленки, что предопределяет сохранность бактерий и снижение эффективности действия антибактериальных средств. Разработка препаратов, которые способствуют диспергированию бактериальной биопленки, является одним из важнейших терапевтических направлений, способствующих решению проблемы лечения бактериальных инфекций, вызванных микроорганизмами, резистентными к действию антибактериальных средств. Одной из целевых, участвующих в формировании биопленок бактериальных молекул, которая может быть подвергнута медикаментозной регуляции, является вторичная мессенджерная нуклеозидная молекула — циклический дигуанозинмонофосфат (α -ди-ГМФ). Медикаментозное подавление уровня внутрибактериальной концентрации мессенджерной молекулы α -ди-ГМФ или блокирование ее активности позволяет предотвратить формирование и вызвать разрушение бактериальной биопленки, что сопровождается увеличением эффективности лечения бактериальных инфекций. Снижение внутрибактериальной концентрации α -ди-ГМФ может быть достигнуто ингибированием процессов синтеза за счет: 1) подавления активности DGC ; 2) ограничения доступности субстратов, необходимых для синтеза α -ди-ГМФ; 3) усиления деградации молекулы α -ди-ГМФ за счет активации PDE . Терапия инфекционных заболеваний, которые сопровождаются формированием биопленок, требует медикаментозной индукции диспергирования бактерий из биопленок и применения целенаправленных антибиотических лекарственных средств, вызывающих гибель высвобожденных из биопленок бактерий. Использование аналогов α -ди-ГМФ, нарушающих функционирование нативного α -ди-ГМФ, и блокирование целевых рецепторов и других молекулярных структур также может приводить к диспергированию бактериальной биопленки. Лекарственные средства, модулирующие активность α -ди-ГМФ, позволяют повысить эффективность лечения бактериальных инфекций, которые сопровождаются формированием биопленок.

Ключевые слова: бактериальные биопленки; диспергирование; α -ди-ГМФ; антибиопленочная терапия; обзор

Введение

Бактериальный инфекционный процесс, который сопровождается формированием биопленки, имеет высокий риск толерантности заболевания к антибактериальной терапии и вероятности рецидивирования болезни [1]. С идентификацией молекулярных меха-

низмов циклов развития бактериальной биопленки появились новые возможности медикаментозного влияния на процессы не только ее образования, но и диспергирования. Установлено, что концентрация вторичных нуклеозидных мессенджеров определяет форму жизнедеятельности бактерий [38]. Также дан-

© 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.

ные бактериальные вторичные мессенджеры являются иммуностимулирующими молекулами, которые участвуют в рекрутировании моноцитов и гранулоцитов, индукции синтеза провоспалительных интерлейкинов, хемокинов, интерферонов, определяющих элиминацию возбудителей [3, 25]. Разработка препаратов, которые способствуют диспергированию бактериальной биопленки, является одним из важнейших терапевтических направлений, способствующих решению проблемы лечения бактериальных инфекций, вызванных микроорганизмами, резистентными к действию антибактериальных средств.

1. Циклический дигуанозинмонофосфат — фактор, определяющий форму жизнедеятельности бактерий

Впервые молекула циклического дигуанозинмонофосфата (cyclic diguanyl (diguanosine) monophosphate — c-di-GMP (ц-ди-ГМФ)) как вторичный нуклеозидный мессенджер была охарактеризована Moshe Ben-Ziman и соавт. [41] в 1987 году, когда они показали, что она является пролонгированным активатором бактериальной синтазы целлюлозы *Komagataeibacter xylinus* (*Gluconacetobacter xylinus*). В последующем было установлено, что ц-ди-ГМФ у бактерий многочисленных видов является ключевым фактором, который определяет форму жизни бактериальной колонии: будут ли

бактерии пребывать в виде планктона или будут образовывать биопленку [54].

1.1. Регуляция уровня ц-ди-ГМФ во внутреннем континууме бактерий

Внутрибактериальный уровень ц-ди-ГМФ регулируется ферментами двух антагонистических молекулярных семейств: дигуанилатциклаз (diguanylate cyclase (DGC)) и специфических для ГМФ фосфодиэстераз (phosphodiesterase (PDE)) (табл. 1, рис. 1) [56].

Циклический дигуанозинмонофосфат в бактериях синтезируется из ГТФ многочисленными DGC, молекулы которых характеризуются наличием консервативного мотива GGDEF (Gly-Gly-Asp-Glu-Phe). Домены GGDEF в димере DGC расположены на границе раздела и способны связываться с двумя молекулами ГТФ, синтезируя из них ц-ди-ГМФ в присутствии ионов Mg²⁺, действующих в качестве кофактора. Некоторые протеины DGC, такие как PelD (pellicle/biofilm biosynthesis glycosyltransferase) бактерий *Caulobacter crescentus*, WspR бактерий *Pseudomonas aeruginosa* и YdaM бактерий *Escherichia coli*, а также DgcK и DgcL бактерий *Vibrio cholerae*, обладают ингибирующим сайтом (I-сайтом), расположенным на расстоянии пяти аминокислотных остатков с активного каталитического сайта [49]. Характерным мотивом I-сайта является последовательность RxxD (x обозначает любую ами-

Таблица 1. Бактериальные дигуанилатциклазы и фосфодиэстеразы [22]

Протеин	Домены	Микроорганизм	Биологический эффект
Дигуанилатциклазы			
AxDGC2	PASa-GGDEF-EAL	<i>A. xylinus</i>	Синтез целлюлозы
BpeGReg	Globin-GGDEF	<i>B. pertussis</i>	Формирование биопленки
DgcA	GGDEF	<i>C. crescentus</i>	Ингибирование подвижности
PleD	REC1-REC2-GGDEF	<i>C. crescentus</i>	Выброс жгутиков
PelD	GGDEF	<i>P. aeruginosa</i>	Синтез полисахаридов
WspR	REC-GGDEF	<i>P. aeruginosa</i>	Синтез полисахаридов
DgcK	PAS-GGEEF	<i>V. cholerae</i>	Ингибирование подвижности
DgcL	REC-GGEEF	<i>V. cholerae</i>	Ингибирование подвижности
YdaM	GGDEF	<i>E. coli</i>	Синтез целлюлозы
MucR	MHYT-GGDEF-EAL	<i>P. aeruginosa</i>	Синтез альгината
Фосфодиэстеразы			
AxPDEA1	PAS-EAL	<i>A. xylinus</i>	Ингибирование синтеза целлюлозы
RocR	EAL	<i>P. aeruginosa</i>	Сборка фимбрий
YahA	EAL	<i>E. coli</i>	Гидролиз ц-ди-ГМФ
BlrP1	BLUF-EAL	<i>K. pneumoniae</i>	Гидролиз ц-ди-ГМФ
PvrR	CheY-EAL	<i>P. aeruginosa PA14</i>	Подавление образования биопленки
YciR	GGDEF-EAL	<i>E. coli</i>	Экспрессия извитых фимбрий (курли)
Гибридные соединения дигуанилатциклазы/фосфодиэстеразы			
BphG1	GGDEF-EAL	<i>R. sphaeroides</i>	Синтез и деградация с-ц-ди-ГМФ
ScrC	GGDEF-EAL	<i>V. parahaemolyticus</i>	Регуляция планктона
SwDGC	GGDEF-EAL	<i>S. woodyi</i>	Формирование биопленки

нокислоту), с которой связывается ц-ди-ГМФ, тем самым аллостерически ингибируя свой собственный синтез [16].

Деградация ц-ди-ГМФ опосредуется специфическими PDE, содержащими консервативные каталитические домены EAL (Glu-Ala-Leu) или HD-GYP (His-Asp-Gly-Tyr-Pro) [36]. Основная роль PDE с доменом EAL состоит в том, чтобы линейаризовать молекулу ц-ди-ГМФ в 5'-фосфоганилил-гуанозин (pGpG) с последующим образованием ГМФ; а протеинов, содержащих домен HD-GYP, — в том, чтобы гидролизировать молекулу ц-ди-ГМФ с образованием двух молекул ГМФ (рис. 1) [12].

Геномный анализ показал, что домены GGDEF и EAL являются наиболее распространенными мотивами бактериальных DGC, PDE, а ц-ди-ГМФ является центральным регулятором формирования биопленок у всех грамотрицательных бактерий, исследованных до настоящего времени, и у ряда грамположительных бактерий. Молекулы ц-ди-ГМФ не синтезируются организмами млекопитающих [21].

Большинство DGC и PDE содержат разнообразные сенсорные N-терминальные домены, которые контролируют активность ферментов в ответ на внутри- или

внеклеточные сигналы. Бактерии, как правило, продуцируют несколько различных DGC и PDE, что свидетельствует о наличии специфичности разнообразных путей передачи ц-ди-ГМФ-ассоциированных сигналов [34, 45].

В последнее время представление о том, что функционирование ферментов DGC и PDE определяет только уровень глобальной внутрибактериальной концентрации ц-ди-ГМФ, подверглось существенному пересмотру. Показано, что некоторые DGC и PDE предопределяют уровень локальной концентрации ц-ди-ГМФ в непосредственной близости к энхансерам генов, участвующих в формировании фенотипа бактерий (рис. 2) [57]. Например, бактерии *Pseudomonas aeruginosa* продуцируют 33 GGDEF-домен-содержащих, 21 EAL-домен-содержащих и 3 HD-GYP-домен-содержащих протеина, но только пять из них регулируют базальный уровень ц-ди-ГМФ [52].

1.2. Фенотипические эффекты влияния ц-ди-ГМФ

Учитывая глобальное влияние ц-ди-ГМФ на жизнедеятельность бактериальных клеток, предполагают, что у данной молекулы существует множество молеку-

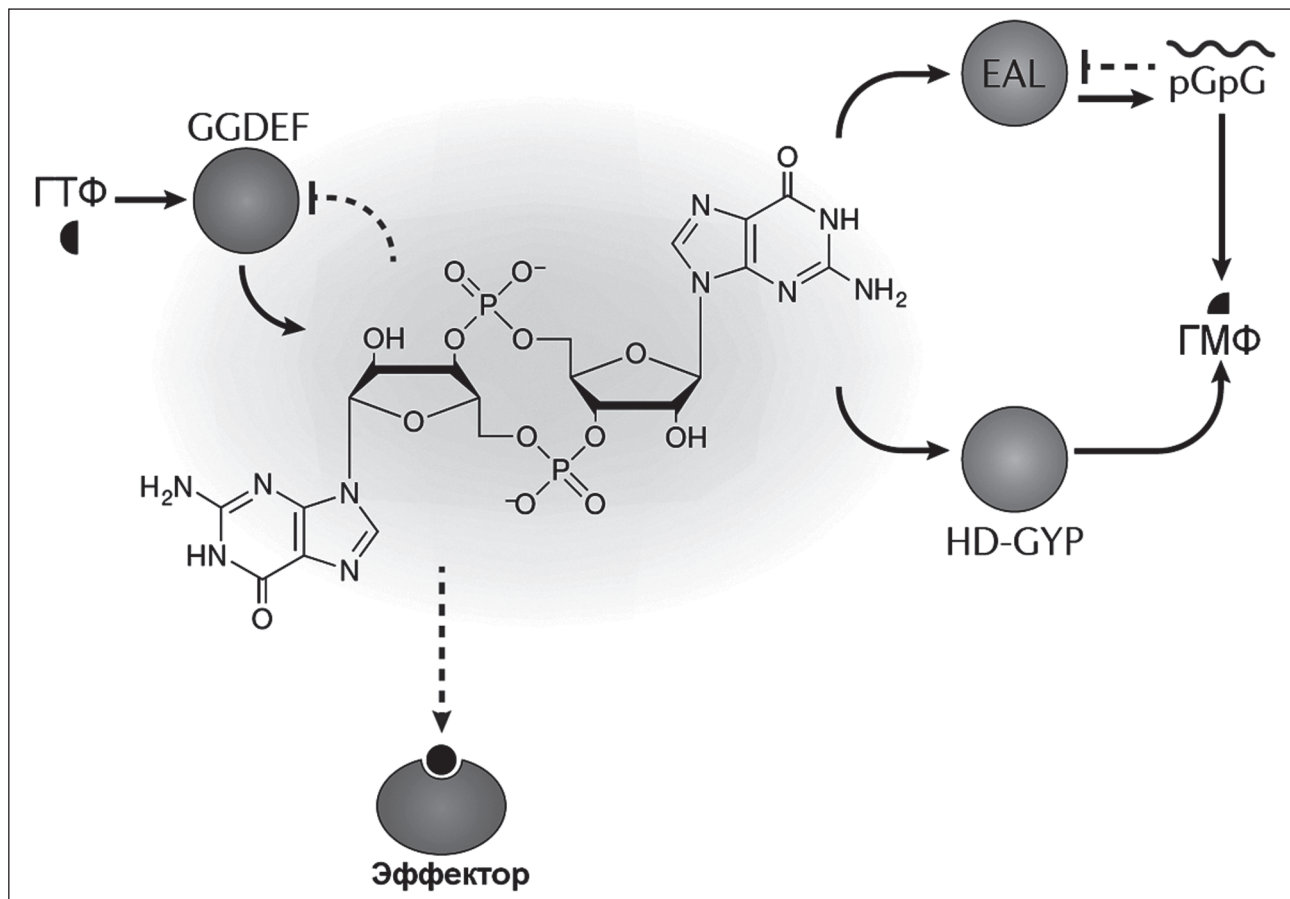


Рисунок 1. Регуляция уровня ц-ди-ГМФ [21]

Примечание: синтез ц-ди-ГМФ катализируется DGC при совместном участии двух каталитических доменов GGDEF. Специфические фосфодиэстеразы PDE, которые содержат домены EAL или HD-GYP, гидролизуют ц-ди-ГМФ в 5'-фосфоганилил-(3'-5')-гуанозин (pGpG) или ГМФ соответственно. Связывание ц-ди-ГМФ с эффекторными молекулами предопределяет состояние бактерий, изменяя их подвижность, адгезивность, вирулентность и способность формировать биопленки.

лярных целей. Молекулярными мишенями ц-ди-ГМФ являются: мРНК, факторы транскрипции, рецепторы, которые содержат домены PilZ, GGDEF и EAL (рис. 3). Среди эффекторных протеинов, способных связываться с мономерами или димерами ц-ди-ГМФ, наиболее изученными являются белки, содержащие домены PilZ, RxxD. Внутриклеточный вторичный мессенджер ц-ди-ГМФ, взаимодействуя со специфическими РНК и протеинами, индуцирует проявление разнообразных фенотипических эффектов со стороны бактерий [32, 35].

Примерами PilZ-содержащих белков являются следующие протеины: Alg44, который участвует в синтезе альгината бактериями *Pseudomonas aeruginosa*; DgrA, определяющий активность мотильности бактерий *Caulobacter crescentus*; VcsA, регулирующий синтез целлюлозы бактериями *Komagataeibacter xylinus*. Домен RxxD представляет собой еще один мотив, связывающийся с ц-ди-ГМФ. У бактерий *Pseudomonas aeruginosa* связывание ц-ди-ГМФ с мотивами RxxD эффекторных белков PopA и PelD влияет на клеточный цикл и продукцию экзополисахаридов [31, 38, 49].

Согласно современной модели механизма влияния ц-ди-ГМФ на выбор бактериями формы жизни, определяющим переключателем бактериального метаболизма является ц-ди-ГМФ-зависимый транскрипционный регулятор FleQ. При низких концентрациях ц-ди-ГМФ энхансер-связывающий протеин FleQ не активирует экспрессию генов экстрацеллюлярного матрикса, участвующих в формировании биопленки, но усиливает экспрессию гена флагеллина, определяющего подвижность бактерий. При высоких концентрациях ц-ди-ГМФ изменяет пространственную структуру комплекса FleQ/FleN, что сопровождается усилением экспрессии генов матриксных протеинов биопленки и подавлением экспрессии гена флагеллина (рис. 4) [29].

Продукты гена *Pel* участвуют в синтезе полисахаридов Pel, которые вместе с полисахаридами Psl являются ключевыми компонентами матрикса биопленки, бактерий *Pseudomonas aeruginosa*. Полисахариды Pel богаты глюкозой, а Psl состоят из повторяющихся единиц D-маннозы, D-глюкозы и L-рамнозы. Представляет интерес то, что полисахариды Psl отсутствуют в центральных регионах микроколоний биопленки, ко-

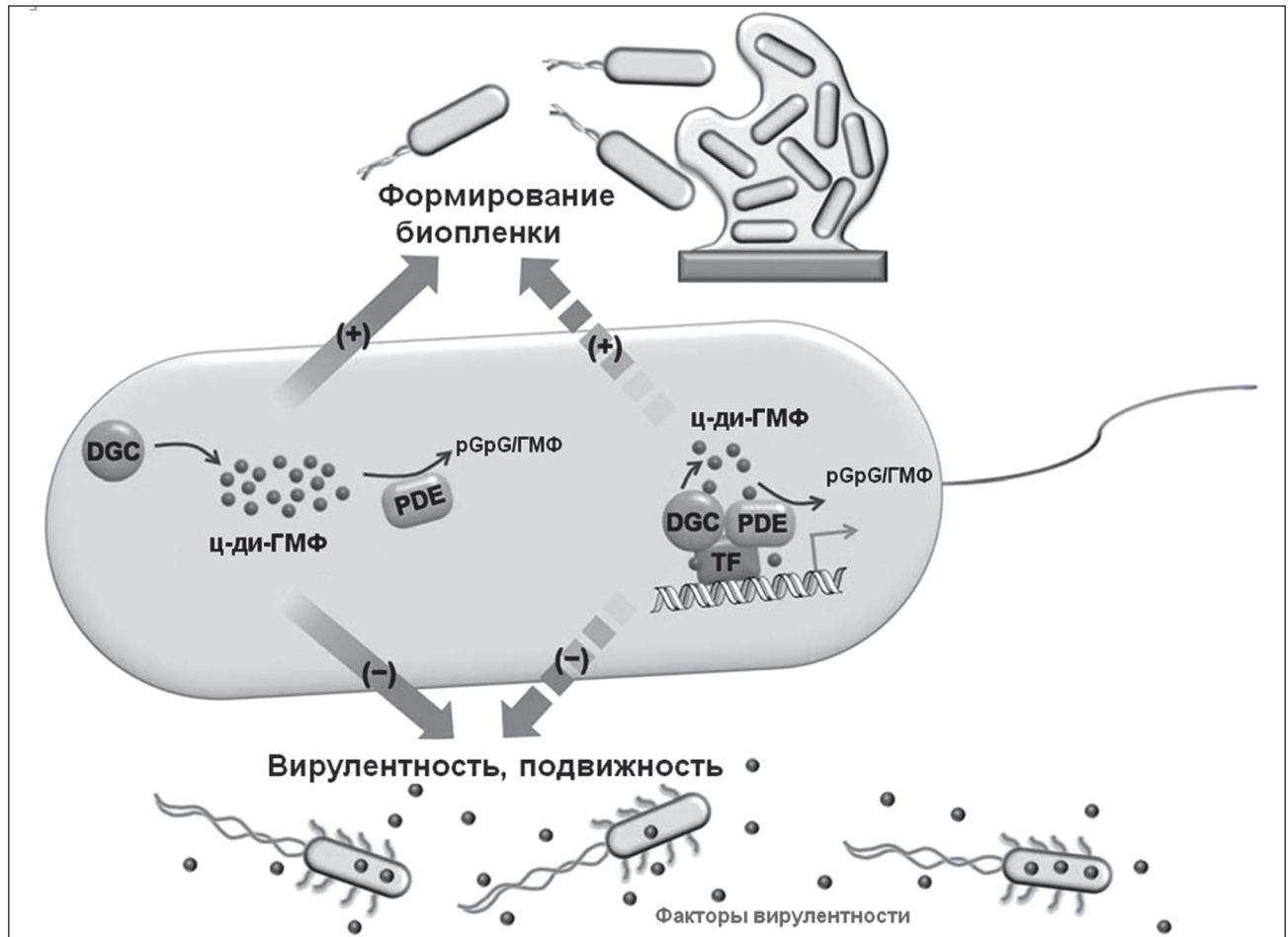


Рисунок 2. Глобальное и локальное регулирование ц-ди-ГМФ [57]

Примечание: ферменты DGC и PDE контролируют глобальную внутрибактериальную концентрацию ц-ди-ГМФ, которая участвует в процессе формирования биопленок, продукции факторов вирулентности и протеинов, определяющих подвижность бактерии. Некоторые DGC и PDE регулируют концентрацию ц-ди-ГМФ в локализованном пуле и непосредственно взаимодействуют с факторами транскрипции (TF). Несмотря на то, что данные DGC и PDE не влияют на уровень глобальной концентрации ц-ди-ГМФ, они оказывают значительное влияние на формирование бактериального фенотипа.

торая является инициальным местом диспергирования бактерий [28, 45].

С другой стороны, ц-ди-ГМФ ингибирует планктонный образ жизни, подавляя транскрипцию факторов вирулентности и синтез компонентов секреции T3SS [8, 30, 51], а низкий уровень концентрации ц-ди-ГМФ сопровождается усилением активности системы секреции T2SS бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, которая является центральным аппаратом секреции матрикс-деградирующих ферментов, в частности, бактериальных протеаз [37].

Таким образом, высокий уровень внутрибактериальной концентрации ц-ди-ГМФ индуцирует продукцию матриксных компонентов и способствует формированию биопленки, тогда как низкий уровень внутрибактериальной концентрации ц-ди-ГМФ сопровождается дисперсией бактериальной биопленки и переходом бактерий к план-

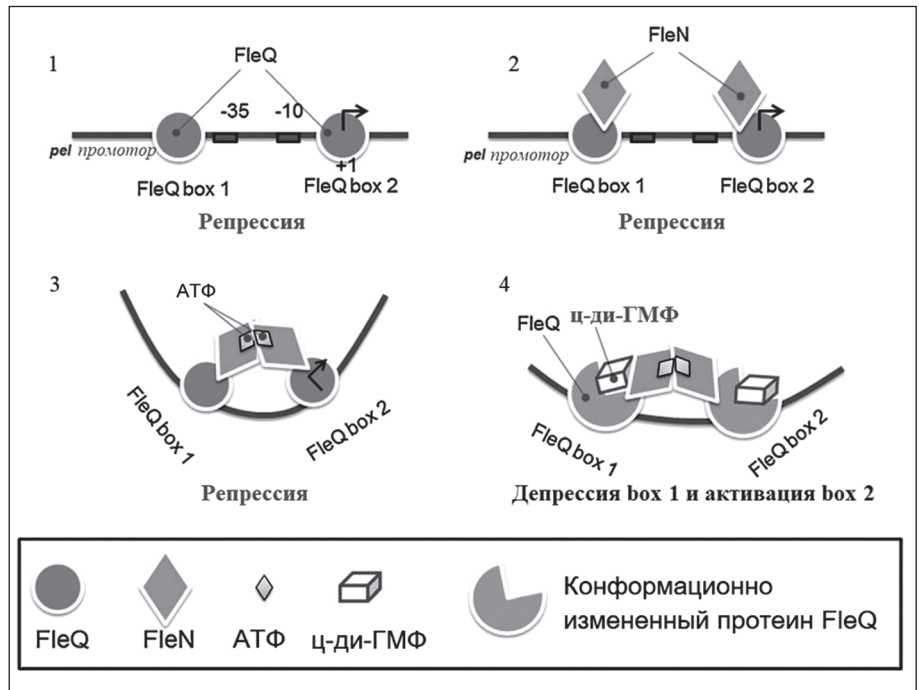


Рисунок 4. Влияние ц-ди-ГМФ на систему FleQ/FleN на примере гена *Pel* бактерий *Pseudomonas aeruginosa* [29]: 1) протеины FleQ связываются с двумя сайтами промотора гена *Pel*; 2) каждый протеин FleQ связывается с мономером АТФазы FleN; 3) АТФ, связываясь с протеинами FleN, ассоциированными с FleQ, вызывает ассоциацию мономеров, что приводит к конформационным изменениям молекулы ДНК, которые препятствуют экспрессии гена *Pel*; 4) при связывании ц-ди-ГМФ с протеином FleQ восстанавливается форма ДНК, что способствует экспрессии гена *Pel*

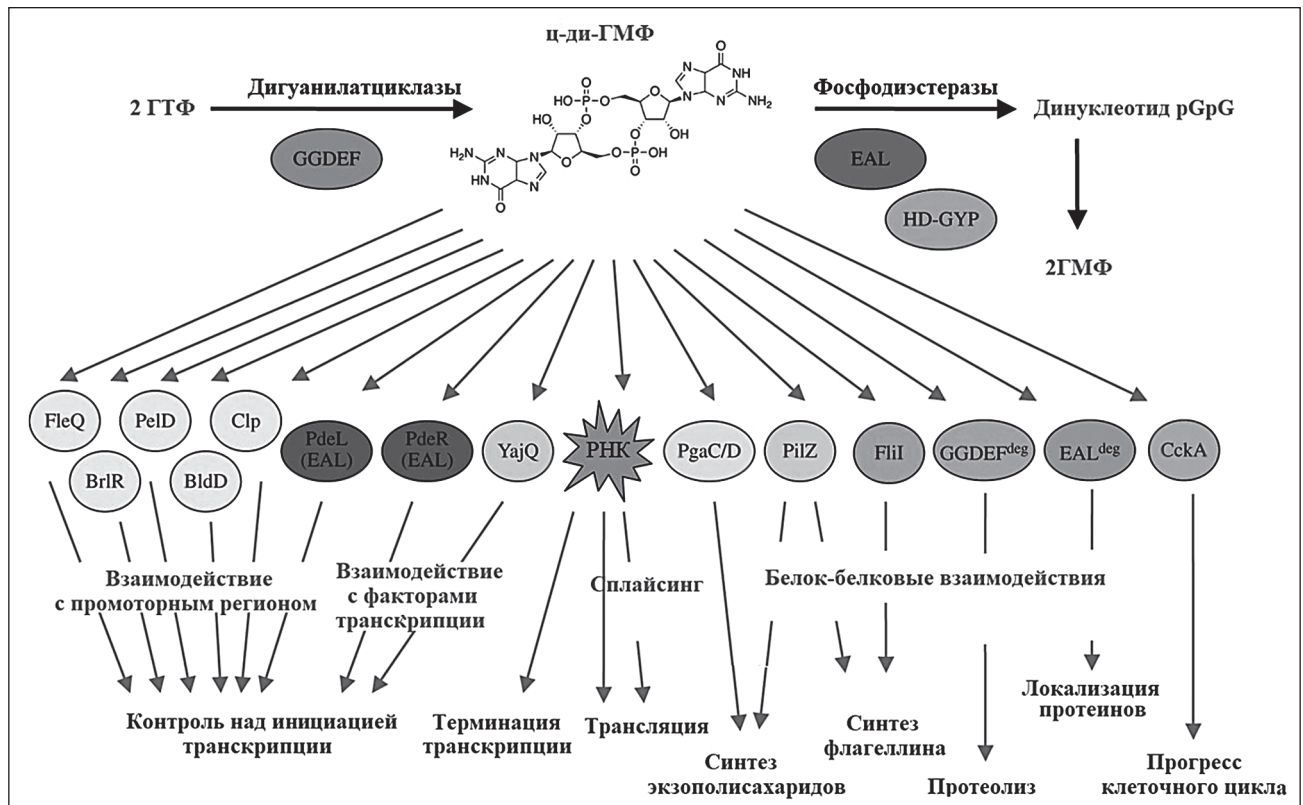


Рисунок 3. Молекулярные мишени ц-ди-ГМФ и ассоциированные с ними эффекты бактериальных клеток [20]

ктонному образу життя. Так, після того як бактерії *Pseudomonas aeruginosa* контактують з поверхнею слизової оболонки, активується мембранно-зв'язаний рецептор WspA, що приводить до продукції вторичного месенджера ц-ди-ГМФ, який викликає посилення продукції екзополісахаридів, eДНК, адгезинів, формування адгезивних пилі і інгібує рухливість бактерій. С другої сторони, ц-ди-ГМФ уповільнює експресію генів гострої вирулентності, жгутикових протеїнів і перешкоджає планктонній [32, 39].

Конфлікт інтересів. Автор заявляє про відсутність будь-якого конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

References

- Abaturov AE, Kryuchko TA. Dispersion of bacterial biofilm and chronization of respiratory tract infection. *Zdorov'e rebenka*. 2019;14(5):337-342. doi: 10.22141/2224-0551.14.5.2019.177411. (in Russian).
- Abaturov AE, Kryuchko TA. Pharmaceutical effect on the biofilm dispersion. Nitric oxide donors. *Zdorov'e rebenka*. 2019;14(7):450-457. doi: 10.22141/2224-0551.14.7.2019.184626. (in Russian).
- Abaturov AE, Yulish EI. The role of interferons in the protection of the respiratory tract, part 1: Cascade of excitation of the system of interferons. *Zdorov'e rebenka*. 2007;(5):136-144. (in Russian).
- AbdelKhalek A, Abutaleb NS, Mohammad H, Seleem MN. Repurposing ebselen for decolonization of vancomycin-resistant enterococci (VRE). *PLoS One*. 2018;13(6):e0199710. doi: 10.1371/journal.pone.0199710.
- Ahonen MJR, Dorrier JM, Schoenfish MH. Antibiofilm Efficacy of Nitric Oxide-Releasing Alginates against Cystic Fibrosis Bacterial Pathogens. *ACS Infect Dis*. 2019;5(8):1327-1335. doi: 10.1021/acsinfecdis.9b00016.
- Ahonen MJR, Suchyta DJ, Zhu H, Schoenfish MH. Nitric Oxide-Releasing Alginates. *Biomacromolecules*. 2018;19(4):1189-1197. doi: 10.1021/acs.biomac.8b00063.
- Allan RN, Kelso MJ, Rineh A, et al. Cephalosporin-NO-donor prodrug PYRRO-C3D shows β -lactam-mediated activity against *Streptococcus pneumoniae* biofilms. *Nitric Oxide*. 2017;65:43-49. doi: 10.1016/j.niox.2017.02.006.
- Almblad H, Harrison JJ, Rybke M, et al. The Cyclic AMP-Vfr Signaling Pathway in *Pseudomonas aeruginosa* Is Inhibited by Cyclic Di-GMP. *J Bacteriol*. 2015;197(13):2190-2200. doi:10.1128/JB.00193-15.
- Antoniani D, Bocci P, Maciag A, Raffaelli N, Landini P. Monitoring of diguanylate cyclase activity and of cyclic-di-GMP biosynthesis by whole-cell assays suitable for high-throughput screening of biofilm inhibitors. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2010;85(4):1095-1104. doi: 10.1007/s00253-009-2199-x.
- Antoniani D, Rossi E, Rinaldo S, et al. The immunosuppressive drug azathioprine inhibits biosynthesis of the bacterial signal molecule cyclic-di-GMP by interfering with intracellular nucleotide pool availability. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013;97(16):7325-7336. doi: 10.1007/s00253-013-4875-0.
- Barraud N, Kardak BG, Yepuri NR, et al. Cephalosporin-3'-diazoniumdiolates: targeted NO-donor prodrugs for dispersing bacterial biofilms. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2012;51(36):9057-9060. doi: 10.1002/anie.201202414.
- Chou SH, Galperin MY. Diversity of Cyclic Di-GMP-Binding Proteins and Mechanisms. *J Bacteriol*. 2016;198(1):32-46. doi:10.1128/JB.00333-15.
- Collins SA, Kelso MJ, Rineh A, et al. Cephalosporin-3'-Diazoniumdiolate NO Donor Prodrug PYRRO-C3D Enhances Azithromycin Susceptibility of Nontypeable *Haemophilus influenzae* Biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(2):e02086-16. doi: 10.1128/AAC.02086-16.
- Cutruzzola F, Frankenberg-Dinkel N. Origin and Impact of Nitric Oxide in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *J Bacteriol*. 2016;198(1):55-65. doi: 10.1128/JB.00371-15.
- de la Fuente-Núñez C, Reffuveille F, Fairfull-Smith KE, Hancock RE. Effect of nitroxides on swarming motility and biofilm formation, multicellular behaviors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(10):4877-4881. doi: 10.1128/AAC.01381-13.
- Düvel J, Bense S, Möller S, et al. Application of Synthetic Peptide Arrays To Uncover Cyclic Di-GMP Binding Motifs. *J Bacteriol*. 2015;198(1):138-146. Published 2015 Aug 31. doi: 10.1128/JB.00377-15.
- Fernicola S, Paiardini A, Giardina G, et al. In Silico Discovery and In Vitro Validation of Catechol-Containing Sulfonohydrazide Compounds as Potent Inhibitors of the Diguanylate Cyclase PleD. *J Bacteriol*. 2015;198(1):147-156. doi: 10.1128/JB.00742-15.
- Fernicola S, Torquati I, Paiardini A, et al. Synthesis of Triazole-Linked Analogues of c-di-GMP and Their Interactions with Diguanylate Cyclase. *J Med Chem*. 2015;58(20):8269-8284. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01184.
- Hasan N, Cao J, Lee J, et al. PEI/NONOates-doped PLGA nanoparticles for eradicating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm in diabetic wounds via binding to the biofilm matrix. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019;103:109741. doi: 10.1016/j.msec.2019.109741.
- Hengge R. Trigger phosphodiesterases as a novel class of c-di-GMP effector proteins. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2016;371(1707):20150498. doi:10.1098/rstb.2015.0498.
- Jenal U, Reinders A, Lori C. Cyclic di-GMP: second messenger extraordinaire. *Nat Rev Microbiol*. 2017;15(5):271-284. doi:10.1038/nrmicro.2016.190.
- Kalia D, Merey G, Nakayama S, et al. Nucleotide, c-di-GMP, c-di-AMP, cGMP, cAMP, (p)ppGpp signaling in bacteria and implications in pathogenesis. *Chem Soc Rev*. 2013;42(1):305-341. doi:10.1039/c2cs35206k.
- Kang D, Kirienko NV. High-Throughput Genetic Screen Reveals that Early Attachment and Biofilm Formation Are Necessary for Full Pyoverdine Production by *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol*. 2017;8:1707. doi:10.3389/fmicb.2017.01707.
- Kang D, Turner KE, Kirienko NV. PqsA Promotes Pyoverdine Production via Biofilm Formation. *Pathogens*. 2017;7(1):3. doi:10.3390/pathogens7010003.
- Karaolis DK, Means TK, Yang D, et al. Bacterial c-di-GMP is an immunostimulatory molecule. *J Immunol*. 2007;178(4):2171-2181. doi:10.4049/jimmunol.178.4.2171.
- Koo H, Allan RN, Howlin RP, Stoodley P, Hall-Stoodley L. Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies. *Nat Rev Microbiol*. 2017;15(12):740-755. doi:10.1038/nrmicro.2017.99.
- Lieberman OJ, Orr MW, Wang Y, Lee VT. High-throughput screening using the differential radial capillary action of ligand assay identifies ebselen as an inhibitor of diguanylate cyclases. *ACS Chem Biol*. 2014;9(1):183-192. doi:10.1021/cb400485k.
- Mann EE, Wozniak DJ. *Pseudomonas* biofilm matrix composition and niche biology. *FEMS Microbiol Rev*. 2012;36(4):893-916. doi:10.1111/j.1574-6976.2011.00322.x.
- Matsuyama BY, Krasteva PV, Baraquet C, Harwood CS, Sondermann H, Navarro MV. Mechanistic insights into c-di-GMP-dependent control of the biofilm regulator FleQ from *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(2):E209-E218. doi:10.1073/pnas.1523148113.
- McCarthy RR, Valentini M, Filloux A. Contribution of Cyclic di-GMP in the Control of Type III and Type VI Secretion in *Pseudomonas aeruginosa*. *Methods Mol Biol*. 2017;1657:213-224. doi:10.1007/978-1-4939-7240-1_17.
- Moradali MF, Ghods S, Rehm BHA. Activation Mechanism and Cellular Localization of Membrane-Anchored Alginate Polymerase in *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol*. 2017;83(9):e03499-16. doi:10.1128/AEM.03499-16.
- O'Connor JR, Kuwada NJ, Huangyutitham V, Wiggins PA, Harwood CS. Surface sensing and lateral subcellular localization of WspA, the receptor in a chemosensory-like system leading to c-di-GMP production. *Mol Microbiol*. 2012;86(3):720-729. doi:10.1111/mmi.12013.

33. Oliveira C, Benfeito S, Fernandes C, Cagide F, Silva T, Borges F. NO and HNO donors, nitrones, and nitroxides: Past, present, and future. *Med Res Rev.* 2018;38(4):1159–1187. doi:10.1002/med.21461.
34. Opoku-Temeng C, Sintim HO. Targeting c-di-GMP Signaling, Biofilm Formation, and Bacterial Motility with Small Molecules. *Methods Mol Biol.* 2017;1657:419–430. doi:10.1007/978-1-4939-7240-1_31.
35. Orr MW, Lee VT. A PilZ domain protein for chemotaxis adds another layer to c-di-GMP-mediated regulation of flagellar motility. *Sci Signal.* 2016;9(450):fs16. doi:10.1126/scisignal.aai8859.
36. Qvortrup K, Hultqvist LD, Nilsson M, et al. Small Molecule Anti-biofilm Agents Developed on the Basis of Mechanistic Understanding of Biofilm Formation. *Front Chem.* 2019;7:742. doi:10.3389/fchem.2019.00742.
37. Ravichandran A, Ramachandran M, Suriyanarayanan T, Wong CC, Swarup S. Global Regulator MorA Affects Virulence-Associated Protease Secretion in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *PLoS One.* 2015;10(4):e0123805. doi:10.1371/journal.pone.0123805.
38. Römling U, Galperin MY. Discovery of the Second Messenger Cyclic di-GMP. *Methods Mol Biol.* 2017;1657:1–8. doi:10.1007/978-1-4939-7240-1_1.
39. Römling U, Galperin MY, Gomelsky M. Cyclic di-GMP: the first 25 years of a universal bacterial second messenger. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2013;77(1):1–52. doi:10.1128/MMBR.00043-12.
40. Rong F, Tang Y, Wang T, et al. Nitric Oxide-Releasing Polymeric Materials for Antimicrobial Applications: A Review. *Antioxidants (Basel).* 2019;8(11):556. doi:10.3390/antiox8110556.
41. Ross P, Weinhouse H, Aloni Y, et al. Regulation of cellulose synthesis in *Acetobacter xylinum* by cyclic diguanylic acid. *Nature.* 1987;325(6101):279–281. doi:10.1038/325279a0.
42. Sambanthamoorthy K, Luo C, Pattabiraman N, et al. Identification of small molecules inhibiting diguanylate cyclases to control bacterial biofilm development. *Biofouling.* 2014;30(1):17–28. doi:10.1080/08927014.2013.832224.
43. Sambanthamoorthy K, Sloup RE, Parashar V, et al. Identification of small molecules that antagonize diguanylate cyclase enzymes to inhibit biofilm formation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(10):5202–5211. doi:10.1128/AAC.01396-12.
44. Schürmer T. C-di-GMP Synthesis: Structural Aspects of Evolution, Catalysis and Regulation. *J Mol Biol.* 2016;428(19):3683–3701. doi:10.1016/j.jmb.2016.07.023.
45. Skariyachan S, Sridhar VS, Packirisamy S, Kumargowda ST, Challapilli SB. Recent perspectives on the molecular basis of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and approaches for treatment and biofilm dispersal. *Folia Microbiol (Praha).* 2018;63(4):413–432. doi:10.1007/s12223-018-0585-4.
46. Soren O, Rineh A, Silva DG, et al. Cephalosporin nitric oxide-donor prodrug DEA-C3D disperses biofilms formed by clinical cystic fibrosis isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(1):117–125. doi:10.1093/jac/dkz378.
47. Sortino S. Light-controlled nitric oxide delivering molecular assemblies. *Chem Soc Rev.* 2010;39(8):2903–2913. doi:10.1039/b908663n.
48. Thangamani S, Younis W, Seleem MN. Repurposing ebselen for treatment of multidrug-resistant staphylococcal infections. *Sci Rep.* 2015;5:11596. doi:10.1038/srep11596.
49. Valentini M, Filloux A. Biofilms and Cyclic di-GMP (c-di-GMP) Signaling: Lessons from *Pseudomonas aeruginosa* and Other Bacteria. *Biol Chem.* 2016; 291(24): 12547–12555. doi: 10.1074/115.711507.
50. Wang J, Zhou J, Donaldson GP, et al. Conservative change to the phosphate moiety of cyclic diguanylic monophosphate remarkably affects its polymorphism and ability to bind DGC, PDE, and PilZ proteins. *J Am Chem Soc.* 2011;133(24):9320–9330. doi:10.1021/ja1112029.
51. Wang T, Cai Z, Shao X, et al. Pleiotropic Effects of c-di-GMP Content in *Pseudomonas syringae*. *Appl Environ Microbiol.* 2019;85(10):e00152-19. doi:10.1128/AEM.00152-19.
52. Wei Q, Leclercq S, Bhasme P, et al. Diguanylate Cyclases and Phosphodiesterases Required for Basal-Level c-di-GMP in *Pseudomonas aeruginosa* as Revealed by Systematic Phylogenetic and Transcriptomic Analyses. *Appl Environ Microbiol.* 2019;85(21):e01194-19. doi:10.1128/AEM.01194-19.
53. Wo Y, Li Z, Brisbois EJ, et al. Origin of Long-Term Storage Stability and Nitric Oxide Release Behavior of CarboSil Polymer Doped with S-Nitroso-N-acetyl-D-penicillamine. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2015;7(40):22218–22227. doi:10.1021/acsami.5b07501.
54. Yan J, Deforet M, Boyle KE, et al. Bow-tie signaling in c-di-GMP: Machine learning in a simple biochemical network. *PLoS Comput Biol.* 2017;13(8):e1005677. doi:10.1371/journal.pcbi.1005677.
55. Yang L, Feura ES, Ahonen MJR, Schoenfisch MH. Nitric Oxide-Releasing Macromolecular Scaffolds for Antibacterial Applications. *Adv Healthc Mater.* 2018;7(13):e1800155. doi:10.1002/adhm.201800155.
56. Yin W, Wang Y, Liu L, He J. Biofilms: The Microbial "Protective Clothing" in Extreme Environments. *Int J Mol Sci.* 2019;20(14):3423. doi:10.3390/ijms20143423.
57. 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;7(9):6238–6244. doi:10.1039/c6sc02103d.
58. Zhou E, Seminar AB, Kim SK, Hall CL, Wang Y, Lee VT. Thiol-benzo-triazolo-quinazolinone Inhibits Alg44 Binding to c-di-GMP and Reduces Alginate Production by *Pseudomonas aeruginosa*. *ACS Chem Biol.* 2017;12(12):3076–3085. doi:10.1021/acscmbio.7b00826.

Продолжение в следующем номере

Получено/Received 23.12.2019

Рецензировано/Revised 14.01.2020

Принято в печать/Accepted 23.01.2020

Information about author

A.E. Abaturon, 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: alexabaturon@i.ua; ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6291-5386>

Абатуров О.Є.

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

Медикаментозне управління диспергуванням біоплівки за рахунок регуляції активності бактеріального циклічного дігуанозинмонофосфату (частина 1)

Резюме. Інфекційний процес, викликаний патогенними бактеріями, може супроводжуватися формуванням біоплівки, що зумовлює збереження бактерій і зниження ефективності дії антибактеріальних засобів. Розробка препаратів, які сприяють диспергуванню бактеріальної біоплівки, є одним із найважливіших терапевтичних напрямків, що сприяють вирішенню проблеми лікування бактеріальних інфекцій, викликаних мікроорганізмами, резистентними до дії антибак-

теріальних засобів. Однією з цільових бактеріальних молекул, що бере участь у формуванні біоплівок та може бути піддана медикаментозній регуляції, є вторинна месенджерна нуклеозидна молекула — циклічний дігуанозинмонофосфат (ц-ді-ГМФ). Медикаментозне пригнічення рівня внутрішньобактеріальної концентрації месенджерної молекули ц-ді-ГМФ або блокування її активності дозволяє запобігти формуванню та викликати руйнування бактеріальної біоплівки, що супро-

воджується збільшенням ефективності лікування бактеріальних інфекцій. Зниження внутрішньобактеріальної концентрації ц-ді-ГМФ може бути досягнуто шляхом інгібування процесів синтезу за рахунок: 1) пригнічення активності DGC; 2) обмеження доступності субстратів, необхідних для синтезу ц-ді-ГМФ; 3) посилення деградації молекули ц-ді-ГМФ за рахунок активації PDE. Терапія інфекційних захворювань, які супроводжуються формуванням біоплівки, вимагає медикаментозної індукції диспергування бактерій із біоплівки і застосування цілеспрямованих антибіотичних лікарських

засобів, що викликають загибель вивільнених із біоплівки бактерій. Використання аналогів ц-ді-ГМФ, що порушують функціонування нативного ц-ді-ГМФ, і блокування таргетних рецепторів та інших молекулярних структур також може призводити до диспергування бактеріальної біоплівки. Лікарські засоби, що модулюють активність ц-ді-ГМФ, дозволяють підвищити ефективність лікування бактеріальних інфекцій, які супроводжуються формуванням біоплівки.

Ключові слова: бактеріальні біоплівки; диспергування; ц-ді-ГМФ; антибіоплівкова терапія; огляд

A.E. Abaturov

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

Drug control of biofilm dispersion due to regulation of the activity of bacterial cyclic guanosine monophosphate (part 1)

Abstract. The infectious process caused by pathogenic bacteria can be accompanied by the formation of a biofilm, which determines the safety of bacteria and a decrease in the effectiveness of antibacterial agents. The development of drugs that contribute to the dispersion of bacterial biofilms is one of the most important therapeutic areas, which help solve the problem of treating bacterial infections caused by microorganisms that are resistant to antibacterial agents. One of the target bacterial molecules involved in biofilm formation, which can be subjected to drug regulation, is a nucleotide secondary messenger molecule — cyclic dinucleotide guanosine monophosphate (c-di-GMP). Drug suppression of the level of intra-bacterial concentration of the messenger molecule of c-di-GMP or blocking its activity helps prevent the formation of bacterial biofilm and leads to its destruction, which is accompanied by an increase in the level of effectiveness of treatment of bacterial infections. A decrease in the level of intra-bacterial concentration of c-di-GMP can be achieved by inhibiting the

synthesis processes due to: 1) suppression of diguanylate cyclase activity; 2) restriction on the availability of substrates required for the synthesis of c-di-GMP; 3) increased degradation of c-di-GMP molecule due to activation of phosphodiesterase activity. The treatment of infectious diseases, which are accompanied by the formation of biofilms, requires the medical induction of the dispersion of bacteria from biofilms and the use of targeted antibiotic drugs that cause the death of bacteria released from biofilms. The use of c-di-GMP analogues, which disrupt the functioning of native c-di-GMP, and the blocking of targeted receptors and other molecular structures can also lead to the dispersion of bacterial biofilm. Medicines that modulate the activity of c-di-GMP will increase the effectiveness of the antibacterial treatment of bacterial infections, which are accompanied by the formation of biofilms.

Keywords: bacterial biofilms; dispersion; c-di-GMP; antibiofilm therapy; review