

Б.П. Кузьмінов*, 
К.Д. Мажак 

БІОПЛІВКА ЯК НАДКЛІТИННА ОРГАНІЗАЦІЯ ПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
вул. Зелена, 12, Львів, 79005, Україна
Danylo Halytskyi Lviv National Medical University
Zelena str., 12, Lviv, 79005, Ukraine
*e-mail: kuzminovborys@gmail.com

Цитування: *Медичні перспективи*. 2024. Т. 29, № 4. С. 58-65

Cited: *Medicni perspektivi*. 2024;29(4):58-65

Ключові слова: біоплівки, антибіотикорезистентність, Quorum sensing, персистери

Key words: biofilms, antibiotic resistance, Quorum sensing, persisters

Реферат. Біоплівка як надклітинна організація патогенних бактерій. Кузьмінов Б.П., Мажак К.Д. Висока частота резистентності до антибіотиків серед бактеріальних клінічних ізолятів зумовлює необхідність відкриття нових мішеней для пригнічення патогенності мікробів без стимуляції їх резистентності. Опрацьовані джерела дозволяють стверджувати, що цього можна досягти шляхом націлювання на детермінанти вірулентності. Метою роботи був пошук нових активних речовин з антибіоплівковою активністю на основі аналізу літературних даних щодо структури бактеріальних біоплівок, механізмів їхньої стійкості до антимікробних засобів. Електронний пошук проводився в Medline (інтерфейс PubMed), Scopus і Web of Science за ключовими словами: біоплівки, антибіотикорезистентність, Quorum sensing, персистери (між 2011 роком і березнем 2024 року). Відібрано 30 джерел, опрацьовано 85. Предметом пошуку був також: мікробний пейзаж шпитальних штамів мікроорганізмів, біоплівкоутворення мікроорганізмами – збудниками інфекційних хворіб, регуляція факторів вірулентності в бактеріальній біоплівці. Дослідженнями останніх років встановлено, що для клітинного зв'язку багато патогенних бактерій виробляють сигнальні молекули. Ця сигнальна система називається системою визначення кворуму (Quorum sensing – QS), і вона залежить від щільності бактеріальної популяції та опосередковується сигнальними молекулами, які називаються феромонами або автоіндукторами (AI). Бактерії використовують QS для регулювання діяльності та поведінки, включаючи компетентність, кон'югацію, симбіоз, вірулентність, рухливість, споруляцію, продукування антибіотиків та утворення біоплівки. Дослідження з націлювання на бактеріальні комунікаційні сигнали та придушення QS демонструють фундаментальний підхід до формування конкуруючої мікробної комунікації. Пошук, синтез і розробка лікарських засобів на основі модифікованих автоіндукторів різної природи може призвести до прориву у сфері антибіотикотерапії інфекційних захворювань, а також хірургічних гнійно-септичних післяопераційних ускладнень. В опрацьованій літературі описано ряд гіпотез щодо участі «токсин-антитоксин»-систем, які контролюють ріст і метаболізм бактерій, у стимуляції утворення клітин-персистерів. Висловлюється припущення про одночасне набуття стійкості до багатьох антибіотиків факторів, у тому числі й до фізико-хімічних. Тому спостерігається підвищена увага науковців до дослідження антибіоплівкової дії нових сполук і препаратів, здатних впливати на енергетичні або метаболічні процеси в клітинах, а також на речовини, що не потребують метаболічно активної мішені. В огляді проілюстровано загальні сучасні підходи до використання ланцюгів QS у патогенних бактерій як нових терапевтичних мішеней.

Abstract. Biofilm as a supracellular organization of pathogenic bacteria. Kuzminov B.P., Mazhak K.D. The high frequency of resistance to antibiotics among bacterial clinical isolates necessitates the discovery of new targets for suppressing the pathogenicity of microbes without stimulating their resistance. The studied sources suggest that this can be achieved by targeting the determinants of virulence. The search for new active substances with anti-biofilm activity based on the analysis of literature data on the structure of bacterial biofilms, mechanisms of their resistance to antimicrobial agents was the purpose of this work. An electronic search was conducted in Medline (PubMed interface), Scopus, and Web of Science between 2011 and July, 2024 using the keywords: biofilms, antibiotic resistance, Quorum sensing, persisters. 30 sources were selected, 85 were processed. The subject of the search was: microbial landscape of hospital strains of microorganisms, biofilm formation by microorganisms – pathogens of infectious diseases, regulation of virulence factors in bacterial biofilm. Studies of recent years have established that many pathogenic bacteria produce signal molecules for cellular communication. This signaling system is called Quorum sensing (QS) and it depends on the density of the bacterial population and is mediated by signaling molecules called pheromones or autoinducers (AI). Bacteria use QS to regulate activities and behavior including competence, conjugation, symbiosis, virulence, motility, sporulation, antibiotic production and biofilm formation. Researches aimed at bacterial communicative signals and suppressing QS demonstrate a fundamental approach to forming competitive microbial communication. The search,

synthesis, and development of drugs based on modified autoinducers of various natures can lead to a breakthrough in the field of antibacterial therapy of infectious diseases, as well as surgical purulent postoperative complications. The processed literature describes a number of hypotheses regarding the participation of "toxin-antitoxin" systems that control the growth and metabolism of bacteria in the stimulation of the formation of persister cells. The simultaneous acquisition of resistance to many antibacterial factors, including physico-chemical ones, is suggested. Therefore, there is an increased attention of scientists to the study of the anti-biofilm effect of new compounds and drugs capable of influencing energy or metabolic processes in cells, as well as substances that do not require a metabolically active target. The review illustrates general modern approaches to the use of QS chains in pathogenic bacteria as new therapeutic targets.

Біоплівка – організоване угруповання мікроорганізмів, найчастіше мультівидовий шар, що характеризується утворенням позаклітинної матриці, яка утримує мікроорганізми разом, виконує захисні функції та допомагає прикріплюватися до поверхонь. Прогрес у візуалізації та біохімічних методах досліджень дозволив виявити, що біоплівки – це організована екосистема, всередині якої багато клітин, як правило, різних видів бактерій, грибів, водоростей, які взаємодіють через сигналізацію між собою та скоординовані реакції, що строго регулюються. Індивідуальні члени мають «специфічні обов'язки», які в комбінації з іншими посилюють життєздатність усього консорціуму. Формування біоплівки є однією з основних стратегій виживання більшості мікроорганізмів не тільки в навколишньому середовищі, але й у макроорганізмі. Здатність патогенних бактерій до плівкоутворення створює суттєві проблеми для практичної медицини, ветеринарії, тому що істотно підвищує стійкість мікроорганізмів до дії антимікробних препаратів, факторів імунного захисту макроорганізму тощо. На цей час відомо, що біоплівки характеризуються етапністю розвитку, наявністю позаклітинного матриксу та здатністю до саморегуляції за рахунок міжклітинної комунікації (системи Quorum sensing), що дозволяє вибрати принципово нові мішені для антибіоплівкової терапії. Обмін інформацією забезпечують спеціалізовані хімічні сигнальні молекули, завдяки яким мікробне співтовариство діє як єдиний організм. У більшості випадків біоплівкові мікроорганізми викликають хронічні форми захворювань, а при дисемінації та вивільненні планктонних форм – здатні призводити до загострення запальних, хронічних процесів. Біоплівки, утворені бактеріями, грибами або мікробними асоціаціями, ускладнюють перебіг ранового процесу, спричиняють хвороби ЛОР-органів, інфекції м'яких тканин та кісток, дихальної, видільної, серцево-судинної систем, запальні процеси сечостатевого органів, шлунково-кишкового тракту та ін. Експериментально доведено, що мікроорганізми здатні формувати біоплівки не лише на біотичних, але й на абіотичних поверхнях [1, 2]. Особливої уваги

заслужують інфекції, пов'язані з медичними пристроями – лінзами, протезами, катетерами, стентами, штучними клапанами тощо, оскільки біоплівки можуть розвиватись на них вже в перші години й дні після встановлення [1, 3, 4]. Якщо роль біоплівок у розвитку інфекцій, пов'язаних з імплантацією, очевидна, то зв'язок біоплівок з інфекціями, що виникають не внаслідок імплантації, на сьогодні ще не зовсім зрозуміла. Невідомо, яким чином відбувається формування біоплівки в умовах ранового дефекту та як розвивається хронічне запалення, що уповільнює загоєння ран. У численних дослідженнях останніх років з вивчення процесу формування біоплівок, їх властивостей встановлено, що біоплівка поліморфна та структурно адаптована до умов навколишнього середовища. У її складі бактерії здатні обмінюватися сигналами та проявляти скоординовану активність, яка властива багатоклітинним організмам. На основі цих даних медична мікробіологія, клінічна та експериментальна фармакологія активно розробляють нові підходи до подолання плівкоутворення, діагностики й лікування гнійно-запальних, гнійно-септичних процесів, викликаних біоплівкоутворювальними мікроорганізмами. З метою подолання стійкості біоплівок, окрім пошуку таргетних молекул, також ведеться створення молекул, подібних до білків людини та мікроорганізмів, а також застосування вірусів бактерій – бактеріофагів.

Мета дослідження – спираючись на вітчизняні та закордонні літературні дані, узагальнити рівень наукових знань у пошуку нових активних речовин з антибіоплівковою активністю на основі аналізу даних щодо структури бактеріальних біоплівок, механізмів їхньої стійкості до антимікробних засобів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Електронний пошук проводився на масиві цифрових публікацій на світових ресурсах PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), Scopus (<https://www.scopus.com/>) та Web of Science Core Collection (<https://www.webofscience.com/wos/woscc/basic-search>) за ключовими словами «біоплівки», «антибіотикорезистентність», «Quorum sensing», «персистери». Глибина пошуку охопила період 2011-2024 рр. Предметом пошуку

був також: мікробний пейзаж шпитальних штамів мікроорганізмів, біоплівкоутворення мікроорганізмами – збудниками інфекційних хвороб, регуляція факторів вірулентності в бактеріальній біоплівці. Мовні обмеження не застосовувалися. Заголовки, анотація та повний текст усіх статей, охоплених критеріями пошуку, були опрацьовані, і ті, що повідомляли про формування, життєвий цикл біоплівки, регулювання діяльності та поведінки *Quorum sensing*, були відібрані до цього аналізу – 85 джерел. Також було проаналізовано список посилань ідентифікованих досліджень (відстеження прямого та зворотного цитування), щоб виявити додаткові статті. Після систематизації відібраної інформації залишилось 30 найбільш релевантних джерел. Використані методи: бібліографічний та аналітичний.

Дослідження проведено відповідно до принципів біоетики, викладених у Гельсінській декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей» та «Загальній декларації про біоетику та права людини (ЮНЕСКО)». Етичне схвалення на проведення дослідження було отримано від комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол № 14 від 28 грудня 2023 р.).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Незважаючи на високий рівень науково-практичного обґрунтування наявних стандартів лікування бактеріальних інфекцій, ефективність лікування таких хворих в Україні та світі є недостатньо високою. Тому проблема клінічного вилікування хворих є пріоритетною. Ймовірність успішного лікування зменшується не тільки з появою нових стійких штамів мікроорганізмів – збудників інфекційних захворювань із тотальною резистентністю до антимікробних препаратів (АМП), а й суттєвими змінами клінічної картини перебігу інфекційного процесу на тлі супутньої патології: цукрового діабету (ЦД), хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ), ВІЛ/СНІДу, зростання частоти первинної медикаментозної резистентності збудників, супресивних порушень як гуморальної, так і клітинної ланок імунітету, значної розбалансованості обмінних процесів, екологічних та стресових чинників [4, 5]. Лікування таких категорій хворих є однією з найскладніших проблем медичної практики, вимагає тривалішого перебування хворого в стаціонарі та значно підвищує фінансові витрати на його лікування [5, 6].

Експансія медикаментозно стійких штамів мікроорганізмів закономірно приводить до по-

шуку нових методів етіотропної, патогенетичної терапії та комбінованих технологій лікування хворих особливо з коморбідністю, вибір яких залежить від характеру запалення, показників величини і напрямків зрушень імунометаболічних систем та ін. [7, 8]. Є лише окремі експериментальні й клінічні дослідження, які доводять доцільність застосування модифікованих автоіндукторів. Проте на сьогодні немає клінічно обґрунтованих алгоритмів їх застосування за коморбідності.

Згідно з даними GLASS (Глобальна система нагляду за стійкістю до антимікробних препаратів), опублікованими у 2017 році, щорічно антибіотикорезистентні штами зумовлюють гнійно-запальні процеси в 500 тис. осіб [9], а витрати на лікування пацієнтів у країнах ЄС сягають 7 млрд євро, у США – 6,5 млрд доларів США [10, 11]. За прогнозами аналітиків, до 2050 року смертність від інфекційних хвороб у Європі може становити 400 тис. осіб, в Азії – близько 5 млн осіб щорічно [11].

Причиною виникнення стійкості збудників до АМП є не лише їхнє нераціональне використання, але й обмаль даних щодо особливостей життєвого циклу мікроорганізмів, їхніх структурних і фізіологічних особливостей, соціальної поведінки, здатності до контактного та дистанційного спілкування, взаємозв'язків з макроорганізмом.

Упродовж тривалого часу мікроорганізми сприймалися як планктонні одноклітинні без'ядерні організми, які розмножуються поділом клітин. Саме з урахуванням такої форми існування мікроорганізмів були встановлені механізми дії антибактеріальних препаратів, схеми та режими їхнього застосування. Сучасна лабораторна техніка та методи дослідження дозволили розширити уявлення про структуру та фізіологічні особливості мікроорганізмів. Виявлено, зокрема, наявність фізичного контакту між мікроорганізмами, що забезпечує горизонтальний перенос генетичної інформації, у тому числі генів резистентності та хімічної комунікації – основи соціальної поведінки бактерій і грибів у мікробних спільнотах [12].

Згідно із сучасними уявленнями біоплівка – це безперервний шар бактеріальних клітин, які за своєю структурою становлять тривимірну колонію. Клітини прикріплені одна до однієї та до поверхонь біополімерним екзоклітинним матриксом, що продукують ці ж бактерії. Такі бактеріальні організації можуть бути утворені бактеріями одного або кількох видів. Вони можуть складатися як з активних функціонуючих клітин, так і зі «спочиваючих», або некультивованих, форм. Біоплівки можуть бути утворені

непатогенними та патогенними представниками мікрофлори. Біоплівка забезпечує виживання та адаптацію в навколишньому середовищі, темпи еволюції мікроорганізмів більш швидші порівняно з альтернативною формою існування (планктонна) [4, 5].

Структурована спільнота клітин бактерій – біоплівка – оточена полімерним матриксом, прикріпленим до поверхні, властивості якого визначають взаємодію мікробного товариства з навколишнім середовищем. Основними складовими матриксу біоплівки є: вода (до 97%), клітини мікроорганізмів (до 5%), полісахариди, білки та нуклеїнові кислоти (до 2% кожного компонента) [13]. Матрикс у різних видів бактерій відрізняється за фізичними властивостями та хімічним складом. Цикл розвитку біоплівки складається з декількох етапів: адгезії планктонних клітин до поверхні за допомогою поверхневих адгезинів та олігосахаридів на клітинних мембранах і з подальшим формуванням мікроколоній, формування моношару та дозрівання біоплівки з утворенням усіх її структур. Для цього процесу характерними є синтез матриксу й формування складних відносин між мікроорганізмами. Функції матриксу різноманітні. Окрім каркасної, яка забезпечує стабільність біоплівки, основною функцією матриксу є протекторна. Матрикс захищає бактерії від негативних факторів навколишнього середовища, таких як радіація, зміни рН, осмотичний шок, висихання. Екзополімерний субстрат сорбує метали та мінерали, розчинені органічні речовини, концентрує поживні речовини, ферменти й фактори росту. Завершується розвиток біоплівки розривом матриксу та дисемінацією планктонних клітин з подальшою колонізацією ними нових поверхонь [13, 14]. Бактерії в біоплівках набувають особливої форми антибіотикорезистентності, що проявляється в підвищенні стійкості до антимікробних агентів, дезінфектантів та імунного захисту макроорганізму.

Ключовим компонентом біоплівки є екзогенна ДНК (eДНК), яка містить велику кількість генів протимікробної резистентності. Сама по собі eДНК є фактором резистентності. Установлено, що вона утворюється як під час росту біоплівки одного виду, так і під час формування біоплівок, утворених різними видами бактерій. Виявлено, що eДНК формується в результаті автолізу клітин. У біоплівці вона має сітчасту структуру і може виконувати роль фіксуючого каркаса біоплівки. Однак головна її функція полягає в обміні генетичною інформацією внаслідок трансформації. Дослідження останніх років свідчать,

що eДНК біоплівки є також джерелом проти-мікробної резистентності для інших популяцій мікроорганізмів, що забезпечується завдяки ще одному компоненту біоплівки – позаклітинним мембранним пухирцям – ліпідним везикулам, які відокремлюються від зовнішньої мембрани бактерій та інших клітинних форм життя, які є універсальним транспортним механізмом та забезпечують «спілкування» між організмами та навколишнім середовищем. Вони також несуть у собі такі корисні (шкідливі при антагонізмі) молекули, як ферменти, фактори патогенності, компоненти матриксу біоплівок, гормони (наприклад, при взаємодії клітин в організмі людини) та eДНК [7]. Таким чином, бактерія не гине, не руйнується, не вивільнює свою хромосомну ДНК в навколишнє середовище, а замість цього запаковує свої зайві копії ДНК в позаклітинні мембранні пухирці й розповсюджує їх по популяції мікроорганізмів – процес за типом брунькування.

Мікроорганізми виживають за концентрацій перекису водню або молочної кислоти в 4-8 разів більших, ніж необхідно для пригнічення росту окремих бактерій поза плівкою, а також за наявності антибіотиків у 500-1000 разів вищих дозах, ніж їхні мінімальні інгібуючі концентрації відносно планктонних клітин [13]. Крім відомих механізмів стійкості мікроорганізмів до антибактеріальних засобів (модифікація структури мішені, інактивація антибіотика ферментами, гіперактивність ефлюкських pomp, зниження проникності клітинної мембрани), біоплівці притаманні специфічні механізми захисту, зокрема: низька проникність матриксу, активація системи Quorum sensing (QS) та утворення клітин-персистерів зі сповільненим метаболізмом.

Формування біоплівки регулюється складними механізмами міжклітинної комунікації Quorum sensing. Уперше QS, як систему регуляції біолюмінесценції в морської бактерії *Vibrio fischeri*, описав К.Н. Neelson (1970 р.). Подальшими дослідженнями встановлено, що система QS регулює вірулентність бактерій, синтез токсинів, антибіотиків, ферментів, процес спорудляції, формування мікробних угруповань, взаємодію між мікроорганізмами та організмом господаря й ін. Сигнальна система QS включає два обов'язкові компоненти: низькомолекулярний регулятор (автоіндуктор – AI), який легко дифундує через клітинну мембрану та рецепторний регуляторний білок, з яким зв'язується AI. У разі досягнення певної щільності популяції AI накопичується до необхідного порогового значення та взаємодіє із відповідними регуляторними білками з утворенням комплексу «AI-рецепторний білок»,

який зв'язується з промоторними ділянками генів-мішеней, що викликає різку індукцію експресії певних генів, відповідальних за синтез альгінату, ДНК та інших речовин. Використовуючи QS, мікроорганізми здійснюють внутрішньовидову, міжвидову комунікацію, взаємодіють з вищими еукаріотами, забезпечують виживання за несприятливих умов, зокрема впливу агресивних речовин – антибіотиків і дезінфектантів [14, 15].

У бактерій виділяють декілька типів (видів) AI: похідні N-ацил-гомосеринлактону (автоіндуктор-1, AI-1) синтезуються грамнегативними бактеріями. Сьогодні налічується близько 40 видів AI-1. Рецепторні білки, з якими зв'язуються AI-1, та їхні синтази, гомологічні LuxI і LuxR білкам QS-систем – LasI-LasR і RhlI-RhlR.

Система LasI-LasR регулює синтез факторів вірулентності (елазаз, протеаз, ендотоксинів) та активує другу систему QS. Синтаза LasI відповідає за продукцію N-(3-оксододеканойл)-гомосеринлактону (3-охо-C12-HSL). Система RhlI-RhlR забезпечує виживання синьогнійної палички в навколишньому середовищі, контролює експресію генів вірулентності та синтез піоціаніну. RhlI-синтаза визначає синтез N-бутирил-гомосеринлактону (C4-HSL); фуранозил-боратдієфір (автоіндуктор-2, AI-2) синтезується грампозитивними та грамнегативними бактеріями, регулює синтез факторів вірулентності у *Vibrio cholerae* та *Escherichia coli*, споруляцію в *Bacillus subtilis*. Синтаза AI-2-LuxS кодується генами AI ароматичної природи (автоіндуктор-3, AI-3), виявлені в *E. coli* для системи QS, яка регулює процеси адгезії мікроорганізмів до епітеліальних клітин, активує експресію генів *flhDC*-операона, що контролюють синтез джгутиків у бактерій [15].

Найбільш вивченою є QS-система *Staphylococcus aureus*, що контролює процеси адгезії та колонізації мікроорганізмів, синтез токсинів, ферментів тощо. У стафілококів виявлено 4 типи пептидних AI. Цікавим є факт, що кожен тип AI, активуючи власний специфічний рецепторний білок, пригнічує активацію трьох інших типів [15]. Установлено, що один вид бактерій може використовувати та розпізнавати різні типи сигнальних молекул [16], а сама система QS може бути мішенню дії антимікробних лікарських препаратів [16, 17].

Розшифрування механізму соціального поводження бактерій у біоплівці, що отримав назву «відчуття кворуму», обміну інформацією, який забезпечують спеціалізовані хімічні сигнальні молекули і завдяки яким мікробне співтовариство діє як єдиний організм, стимулювали пошук і розробку принципово нових антибактеріальних

препаратів [18, 19]. Втручання QS може привести до вирішальних результатів у контролі патогенності. Інгібування QS є привабливим новим підходом до розробки нових ліків [18], які могли б, по-перше, знижувати або блокувати вірулентність бактерій, для того щоб з інфекцією могла боротися імунна система організму; по-друге, були б здатними попереджати формування біоплівок або забезпечувати їх руйнування. Такі потенційні протимікробні препарати можуть містити модифіковані автоіндуктори, працювати за принципом «дезінформаційних перешкод» і вимикати експресію тих чи інших генів, відповідальних за синтез факторів вірулентності. Вплив на експресію генів вірулентності може перетворювати вірулентні мікроорганізми в авірулентні. Подальша робота – за імунною системою людського організму [20].

За стресових умов частина мікробної популяції переходить у метаболічно інертний стан, який зумовлює стійкість біоплівок до антимікробних препаратів [21]. Субпопуляція клітин-персистерів за генотипом відповідає батьківській і виявляється в будь-якій мікробній популяції в невеликій кількості (0,1-1,0%), незалежно від наявності стрес-факторів [22, 23]. Бактеріальні популяції виробляють персистери, функцією яких є виживання [24, 25]. Персистери - це сплячі клітини, що не діляться, які виявляють толерантність до багатьох лікарських засобів і виживають при лікуванні всіма відомими протимікробними препаратами. Механізм стійкості до персистерів відрізняється від добре вивчених механізмів стійкості до антибіотиків. Бактерицидні антибіотики вбивають клітини не шляхом пригнічення функцій, а шляхом спотворення їхніх мішеней на виробництво летальних продуктів. Наприклад, фторхінолони перетворюють ДНК-гіразу (яка необхідна для реплікації, відновлення та рекомбінації ДНК бактерій) у ДНК-ендонуклеазу. Активність антибіотичних мішеней, очевидно, знижується у сплячих персистерів, пояснюючи толерантність до антибіотиків. Біоплівки захищені від імунної системи за допомогою екзополімерних матриць, а поєднання захисту від імунної системи в поєднанні з толерантністю до декількох антибіотиків робить ці інфекції дуже важко викоріненими.

Персистери були виділені шляхом лізування зростаючої популяції клітин *Escherichia coli* ампіциліном і шляхом сортування клітин зі зниженою трансляцією репортера зеленого флуоресцентного білка. Аналіз транскриптомів персистерів вказав на зниження експресії генів, які кодуєть ферменти біосинтетичного шляху,

відповідно до стану спокою і збільшення експресії генів токсин-антитоксин (ТА). Ектопічна експресія кількох генів ТА, включаючи *hipA*, *relE* та *mazF*, індукує стан зворотнього спокою та створює стан толерантності до багатьох лікарських засобів, який імітує персистери, що утворюються природним шляхом [26].

Використання бібліотеки експресії та відбір на толерантність до антибіотиків привело до ідентифікації *GlpD* (гліцерин-3-фосфатдегідрогенази) як персистерного гена. Ген гліцерин-3-фосфатацилтрансферази *plsB*, ймовірно, і є геном персистерної підтримки. Вхід клітин у сплячий стан є звичайною адаптивною стратегією, яка може бути відповідальною за кілька, здавалося б, непов'язаних загадкових проблем у мікробіології. Біоплівки дріжджів викликають стійкі до ліків інфекції, і природа їх толерантності залишається нез'ясованою. Нещодавно було повідомлено, що біоплівки *Candida albicans* виробляють толерантні персистерні клітини, що вказує на конвергентну еволюцію цієї стратегії виживання серед неспоріднених груп мікроорганізмів. Приховані інфекції, такі як хвороба Лайма, викликана *Borrelia burgdorferi*, і стан носійства туберкульозу характеризуються наявністю клітин, які не знищуються відомими антибіотиками. Наявні дані свідчать про те, що більшість видів бактерій зупиняють ріст, коли відчувають присутність незнайомого чи агресивного до них середовища. З цієї точки зору, стан спокою може бути стандартним режимом життя більшості бактерій. Персистери можуть являти собою супротивника мікроорганізмів, спеціально еволюціонувавши, щоб протистояти знищенню за допомогою всіх можливих механізмів, чи то екологічних, чи терапевтичних [22, 25].

Запропоновано два можливі механізми переходу клітин мікроорганізмів у стан персистенції. Перший з них зумовлений сигнальною системою загальної стресової відповіді (SOS-відповідь) із вторинним месенджером (алармоном) гуанозину поліфосфатом – (p)ppGp. Унаслідок ушкодження мікробних клітин сублетальними концентраціями антимікробних засобів активується зазначена сигнальна система, збільшується внутрішньоклітинний рівень (p)ppGp, що стимулює перехід клітин у персистуючий стан [27, 28].

Другий механізм полягає в синтезі клітиною певного токсину (білок), який порушує трансляцію інших білків або деградацію РНК і блокує його дію – антитоксину (РНК або білок). Система «токсин-антитоксин» (ТА) контролює ріст і метаболізм бактерій.

Пошук, синтез і розробка протимікробних лікарських засобів на основі модифікованих

автоіндукторів різної природи може бути підставою до створення нових технологій у сфері антибактеріальної терапії інфекційних захворювань, а також хірургічних, гнійно-септичних, післяопераційних ускладнень (ГСІ), а їх комплексне застосування разом з антибіотиками – до істотного продовження життя багатьох антибіотиків [29]. В опрацьованій літературі описано ряд гіпотез щодо участі ТА-систем в утворенні клітин-персистерів.

Узагальнення та аналіз літературних даних дозволяє висловити припущення про одночасне набуття стійкості до багатьох антибактеріальних факторів, у тому числі й до фізико-хімічних. Тому формування персистентності має забезпечуватись або токсином, який блокує дуже велику кількість мішеней, або кількома ТА-системами одночасно. Стимулюють утворення клітин-персистерів речовини, що знижують метаболічну активність клітин, серед яких інгібітори синтезу білка (тетрацилін, рифампіцин), метаболізму фосфатів, синтезу АТФ і дихання клітин [30]. Саме з цим пов'язана увага науковців до дослідження антибіоплівкової дії нових сполук і препаратів, здатних впливати на енергетичні або метаболічні процеси в клітинах, а також на речовини, що не потребують метаболічно активної мішені.

Тож пошук сполук з вираженою антибіоплівковою активністю, здатних порушувати QS-регуляцію патогенних бактерій, є важливим прикладним аспектом майбутніх досліджень. Можливими механізмами впливу на систему QS може бути пригнічення синтезу АІ, порушення зв'язування АІ з рецепторними білками, розщеплення сигнальних молекул, антагоністична дія відносно АІ тощо.

ВИСНОВКИ

1. Бактеріальна біоплівка – високоорганізована форма існування адгезованих бактеріальних асоціацій, здатних продукувати позаклітинний матрикс, життєдіяльність якої регулюється міжклітинними сигнальними молекулами й може знаходитись на різній стадії диференціювання за фізіологічними, морфологічними, генетичними ознаками.

2. Для формування та існування біоплівок, утворення яких доведено в більшості бактерій та грибів, необхідні міжклітинні взаємодії та комунікації, які забезпечуються сигнальними молекулами чи автоіндукторами у відповідь на зміни навколишнього середовища.

3. Пошук сигнальних систем, що регулюють формування й руйнування біоплівок, дозволить переглянути підходи до діагностики та лікування захворювань, зумовлених біоплівкоутворювальними мікроорганізмами, зробити значний внесок

у створення засобів профілактики та захисту від поширення антибіотикорезистентності.

Перспективи подальших досліджень.

Подальше детальне вивчення динаміки формування біоплівки, біологічних властивостей і закономірностей функціонування мікроорганізмів, що входять до її складу, дасть змогу вирішити низку питань практичної та теоретичної біології та медицини, а також допоможе в пошуку лікарських препаратів, здатних цілеспрямовано впливати на розвиток біоплівки як щодо активації, так і щодо пригнічення плівкоутворення.

Внески авторів:

Кузьмінов Б.П. – концептуалізація, методологія, адміністрування проєкту, написання – рецензування та редагування;

Мажак К.Д. – ресурси, формальний аналіз, курація даних, написання – початковий проєкт.

Фінансування. Дослідження не має зовнішніх джерел фінансування.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

1. Sidashenko O, Voronkova O, Sirokvasha O, Vinnikov A. [Methods of studying the dynamics of biofilm formation by opportunistically pathogenic bacteria]. Bulletin of Lviv University. Biological series. 2014;65:20-33. Ukrainian.
2. Percival SL, McCarty SM, Lipsky B. Biofilms and wounds: an overview of the evidence. *Advances in Wound Care*. 2015;7(4):373-81. doi: <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0557>
3. Petrenko OM, Bezrodnyi BG, Bondarchuk OL. Study of the ability of causative agents of phlegmon of soft tissues to form biofilms. *Surgery of Ukraine*. 2016;1:85-9. Ukrainian.
4. Tkachuk N, Zelena L. [Biofilms of some anaerobic bacteria on the polyethylene terephthalate surface. In: International Conference on Biological Research and Applied Science (IBRAS 2021). *Advances in Microbiology*, 2021 Jan 20-21, Karachi, Pakistan]. 2021. p. 88-90. Ukrainian. doi: <https://doi.org/10.37962/IBRAS/2021/188-90>
5. Vestby LK, Grønseth T, Simm R, Nesse LL. Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics*. 2020;9(2):59. doi: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020059>
6. European Union's action against antimicrobial resistance 2017 [Internet]. [cited 2024 Jun 15]. Available from: https://ec.europa.eu/health/amr/antimicrobial-resistance_en
7. Balko OI, Zelena LB, Kharkhota MA, Balko OB, Avdeeva LV. [The Quorum Sensing System in the Regulation of Pseudomonas aeruginosa Bacteriocinogenesis. In: *Modern Infectious Diseases: Etiology, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, Prevention, Biological Safety: Materials of the Scientific and Practical Conference Dedicated to the Memory of Academician L.V. Gromashevsky and the 25th anniversary of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine*, Kyiv, 2018 Oct 11-12]. Kyiv; 2018. p. 26-27. Ukrainian.
8. Vrynchanu NO, Dudikova DM, Grynchuk NI, Ndashkivska VV. [Biofilms. Current status and prospects of antimicrobial therapy]. *Pharmacology and medicinal toxicology*. 2019;13(5):311-21. Ukrainian. doi: <https://doi.org/10.33250/13.05.311>
9. Ustinov VA. New WHO report on antibiotic resistance. *Ukrainian medical journal*. [Internet]. 2018 [cited 2024 Jun 15]. Ukrainian. Available from: <http://www.umj.com.ua/article/120095/novyj-dokladvoz-po-antibiotikorezistentnosti>
10. Yovenko IA, Balaka IV. ["Antimicrobial Stewardship" program – a strategy of antimicrobial control in intensive care units in the era of antibiotic resistance]. *Acute and urgent conditions in the doctor's practice*. 2017;5-6(68-69):5-14. Ukrainian.
11. Billings N, Birjiniuk A, Samad TS, et al. Material properties of biofilms – a review of methods for understanding permeability and mechanics. *Reports on Progress in Physics*. 2015;78(3):036601. doi: <https://doi.org/10.1088/0034-4885/78/3/036601>
12. Netzker T, Fischer J, Weber J, Mattern DJ, König CC, Valiante V, et al. Microbial communication leading to the activation of silent fungal secondary metabolite gene clusters. *Front Microbiol*. 2015;6:299. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00299>
13. Sutherland IW. The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends in microbiology*. 2001;9(5):222-7. doi: [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(01\)02012-1](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02012-1)
14. Vorobei ES, Voronkova OS, Vinnikov AI. [Bacterial biofilms. Quorum Sensing – "Quorum sensing" in bacteria in biofilms]. *Bulletin of Dnipropetrovsk University. Biology. Ecology*. 2012;1(Issue 20):13-22. Ukrainian. doi: <https://doi.org/10.15421/011202>
15. Sharma S, Mohler J, Mahajan SD, Schwartz SA, Bruggemann L, Aalink R. Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. *Microorganisms*. 2023;11:1614. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061614>
16. Xiao Y, Zou H, Li J, Song T, Lv W, Wang W, et al. Impact of quorum sensing signaling molecules in gram-negative bacteria on host cells: current understanding and future perspectives. *Gut Microbes*. 2022 Jan-Dec;14(1):2039048. doi: <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2039048>

17. Li YH, Tian X. Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. *Sensors*. 2012;12(3):2519-38. doi: <https://doi.org/10.3390/s120302519>
18. Guo J, Yoshida K, Ikegame M, Okamura H. Quorum sensing molecule N-(3-oxododecanoyl)-l-homoserine lactone: an all-rounder in mammalian cell modification. *Journal of Oral Biosciences*. 2020;62(1):16-29. doi: <https://doi.org/10.1016/j.job.2020.01.001>
19. Todosiichuk TS, Strelets TI, Konopatska SV. [Increasing the resistance of microbial pathogens as a factor in the development of new antiseptics]. *Scientific News National technical University of Ukraine "Kyiv Polytechnic Institute"*. 2011;3:90-7. Ukrainian.
20. Siscar-Lewin S, Hube B, Brunke S. Antivirulence and avirulence genes in human pathogenic fungi. *Virulence*. 2019 Dec;10(1):935-47. doi: <https://doi.org/10.1080/21505594.2019.1688753>
21. Madhusoodanan J. How persister bacteria evade antibiotics, prolong infections. *Science Writer*. 2022 Sept 29;119(41):e2215617119. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.2215617119>
22. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2007;5:48-56. doi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro1557>
23. Niepa TH, Gilbert JL, Ren D. Controlling *Pseudomonas aeruginosa* persister cells by weak electrochemical currents and synergistic effects with tobramycin. *Biomaterials*. 2012;33(30):7356-65. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.06.092>
24. Jiang Z, Wang Y, Bai S, Liao T, Qiu L. The physiological and ecological properties of bacterial persisters discovered from municipal sewage sludge and the potential risk. *Environmental Research*. 2022;205(1):112481. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112481>
25. Zhang Y, Niu H, Gu J. Bacterial persisters: molecular mechanisms and therapeutic development. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2024;9:174. doi: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01866-5>
26. Nicolau SE, Lewis K. The Role of Integration Host Factor in *Escherichia coli* Persister Formation. *ASM Journals mBio*. 2022;13(1):e03420-21. doi: <https://doi.org/10.1128/mbio.03420-21>
27. Imperi F, Leoni L, Visca P. Antivirulence activity of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in microbiology*. 2014;5:178. doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2014.00178>
28. Zhu L, Yang X, Fu X, Yang P, Lin X, Wang F, et al. Pheromone cCF10 inhibits the antibiotic persistence of *Enterococcus faecalis* by modulating energy metabolism. *Front Microbiol*. 2024 Jul 8;15:1408701. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1408701>
29. Patel R, Soni M, Soyantar B, Shivangi S, Sutarriya S, Saraf M, et al. A clash of quorum sensing vs quorum sensing inhibitors: an overview and risk of resistance. *Arch Microbiol*. 2023 Mar 7;205(4):107. doi: <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03442-x>
30. Rangel-Vega A, Bernstein LR, Mandujano-Tinoco EA, García-Contreras SJ, García-Contreras R. Drug repurposing as an alternative for the treatment of recalcitrant bacterial infections. *Front Microbiol*. 2015 Apr 9;6:282. doi: <https://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.00282>

Стаття надійшла до редакції 27.08.2024;
затверджена до публікації 21.10.2024

