

УДК 612-002:615.779.9

Д.И. ЗАБОЛОТНЫЙ, М.Б. САМБУР, Н.В. ВОРОШИЛОВА, С.В. ВЕРЕВКА

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ КОМПОНЕТЫ БИОПЛЕНОК В ФОРМИРОВАНИИ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И ХРОНИЗАЦИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА. СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

*ГУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И. Колумийченко НАМН Украины»
(дир. – акад. НАМН Украины, проф. Д.И. Заболотный)*

Антибиотикорезистентность – причины и проблемы

В ряду многочисленных медико-социальных проблем современности особое место занимает возрастание антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов. Согласно определению ВОЗ, резистентность в отношении антимикробных препаратов является проявлением стойкости микроорганизмов к препарату, бывшему ранее эффективным средством лечения обусловленных этим микроорганизмами заболеваний [12]. Это явление обрело всемирное распространение, причем в последние десятилетия со всей остротой поднялась проблема полирезистентности – стойкости микробиологических возбудителей в отношении разных типов антибиотиков [13]. Появление и стремительное распространение подобного рода патогенов не только существенно осложняет лечение соответствующих заболеваний, но и создает предпосылки для регресса клинической медицины с возвращением в доантибиотиковую эру [33].

На сегодняшний день известно свыше 6000 антибиотиков, однако лишь 2-3% из них применяются в клинической практике. Остальные оказались либо недопустимо токсичными, либо недостаточно эффективными. При этом за последние десятилетия не было создано ни одного нового антибио-

тика, а так называемые “новые” являются лишь измененными лекарственными формами, отличающимися главным образом все возрастающими дозами препарата [8]. Ведущие фармацевтические компании просто не заинтересованы в производстве новых антибиотиков, поскольку формирование резистентных к ним форм возбудителей происходит очень быстро – приблизительно в течение 1 года. Это исключает получение фирмой-производителем надлежащей прибыли на средства, вложенные в разработку и продвижение на рынок нового препарата. В то же время постоянное возрастание резистентности возбудителей заболеваний к антимикробным препаратам ежегодно приводит к миллионам смертельных случаев. В этом отношении показателен пример отмеченной в Европе в 2011 г. вспышки кишечной инфекции, обусловленной кишечной палочкой штамма *E. coli* O104:H4, или ЕНЕС. В отношении этого возбудителя известные антибиотики оказались практически неэффективными [4]. Это инициировало принятие комплекса рекомендаций, сводящихся к предоставлению большей части пациентов возможности выздороветь самим по себе, к какой-то части – предоставлению симптоматического лечения и лишь в самых тяжелых случаях признается целесообразным применение двух типов антибиотиков, которые, как предполагается, не усиливают

выброс токсинов и не приводят к летальному исходу [8]. Очевидная неэффективность подобных рекомендаций истощающе объясняет интерес к механизмам формирования антибиотикорезистентности и путям их преодоления.

Чем же обусловлено развитие антибиотикорезистентности? Явление это не является чем-то качественно новым, с чем разнообразные микроорганизмы ранее не встречались. Антибиотики являются средствами, обретенными самими микроорганизмами на протяжении своей эволюции. Не менее рутинным является и формирование сопротивляемости их действию. То есть наблюдается непрерывное соревнование между усовершенствованием повреждающего действия одних микроорганизмов и выработкой защитных механизмов другими [4]. Одним из полей этого соревнования стала человеческая популяция, в которой применение антибиотиков на современном этапе происходит в абсолютно неестественных сверхвысоких количествах.

Единого мнения о причинах формирования антибиотикорезистентности инфекционных патогенов не существует, однако ведущими единогласно признаются три причины [4, 8, 24]:

- широкое применение антибиотиков и структурно подобных им веществ в ветеринарии, что приводит к их постоянному поступлению в человеческий организм с пищей в низких субтерапевтических дозах;

- неконтролируемое самолечение антибиотиками, обычно прекращаемое при исчезновении внешних признаков заболевания и, как следствие, способствующее формированию и распространению резистентных штаммов возбудителя;

- формирование полирезистентных штаммов в лечебных учреждениях, поскольку именно там бактерии подвергаются наиболее интенсивному влиянию разнообразных антибиотиков. Подобные штаммы получили название “госпитальных суперинфекций”, в разных формах присутствующих во всех без исключения клиниках.

К приведенному списку стоит добавить присутствие в стационарах неизвестных штаммов, нерациональные схемы применения антибиотиков, использование про-

сроченных препаратов и многое другое [14]. Тот факт, что не учитываются особенности возбудителя у каждого конкретного больного, также способствует формированию и распространению антибиотикорезистентных штаммов. В последнем случае, при отсутствии данных лабораторных исследований, назначение антибиотика широкого спектра действия может временно погасить внешние признаки заболевания, однако будет способствовать развитию антибиотикорезистентности, а также целого ряда сопутствующих осложнений. Своевременное же выявление характера антибиотикорезистентности инфицирующего агента данного конкретного пациента может быть основанием для применения так называемых антибиотиков резерва – редко употребляемых, а потому дорогих, использующихся в крайнем случае [8].

Биопленки и резистентность

В отношении причин возникновения резистентности к антибиотикам также единого мнения не существует [4]. Полагают, что она может развиваться у определенной части бактерий данного вида вследствие природной резистентности. Обычно природные инфекционные агенты представляют собой пул разных штаммов одного патогенного организма. При воздействии антибиотика более устойчивые штаммы становятся доминирующими. Немаловажная роль отводится и генетическим мутациям, приводящим к образованию антибиотикорезистентной формы. Здесь ведущую роль играют разнообразные варианты горизонтального переноса генов между микроорганизмами как одного, так и разных видов, что в условиях селекции, обусловленной прессингом антибиотика, обеспечивает доминирование резистентных штаммов [4, 8, 23, 29].

Принято считать, что основные механизмы антибиотикорезистентности опосредованы процессами, включающими нейтрализацию действия антибиотика посредством его модификации (гидролиз, фосфорилирование, ацетилирование, гликозилирование), активное удаление антибиотика из клетки (эффлюкс), изменение свойств мишени воздействия антибиотика и изменение прони-

цаемости внешней мембраны [4]. При этом, однако, не учитывается такая важная черта абсолютного большинства микроорганизмов, как их существование в форме биопленок.

Согласно общепринятому определению, биопленка – это агрегат микроорганизмов, в котором клетки зафиксированы между собой и/или с нерастворимой поверхностью посредством встраивания в матрицу из внеклеточного полимерного вещества (ВПВ), синтезируемого самими клетками [39]. Биопленки существуют как в фиксированном на поверхности раздела фаз состоянии, так и в мобильной, не связанной с каким-либо субстратом форме. Природные биопленки, как правило, многокомпонентны и сформированы несколькими – иногда сотнями – видов микроорганизмов разных физиологических групп [9]. Отдельные члены подобного сообщества состоят между собой в сложных симбиотических взаимодействиях, обеспечивая тем самым повышение сопротивляемости подобного сообщества и его выживание [34].

Концепция биопленок предложена сравнительно недавно – в середине 80-х годов прошлого века [9]. За прошедшие годы проведены многосторонние исследования самих разнообразных биопленок как основной формы жизни. По интенсивности разрастания микроорганизмы в составе биопленок значительно уступают свободным планктонным формам, однако именно биопленки являются основной формой существования микроорганизмов. Обусловлено это повышенной сопротивляемостью биопленок воздействию разнообразных неблагоприятных факторов окружающей среды, включая антибиотики. Подробно описаны стадии формирования биопленок, дифференциация фенотипа клеток в их составе, механизмы формирования каналов питания, горизонтального переноса генов, формирования отличных между собой по фенотипу форм и многое другое. При этом, несмотря на интенсивные исследования, единого мнения о причинах высокой сопротивляемости биопленок воздействию неблагоприятных факторов нет [9]. Не упуская из виду генетические преобразования, претерпеваемые микроорганизмами в составе сложных

многокомпонентных социумов, обратим внимание на структуру внеклеточного полимерного вещества (ВПВ) [22], в состав которого входят углеводы, белки, липиды и нуклеиновые кислоты (рис. 1).

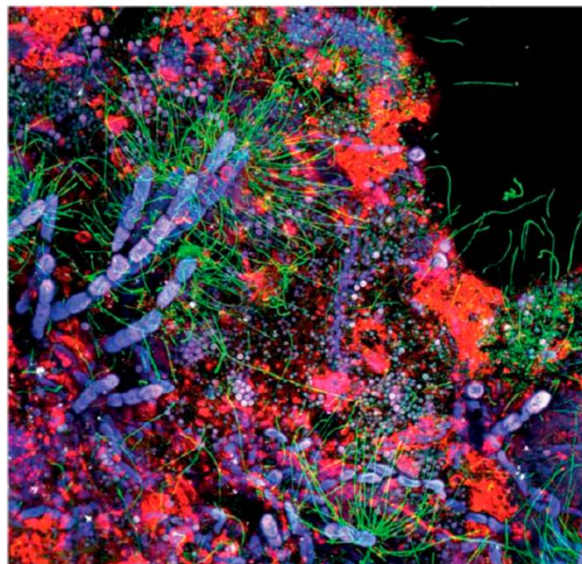


Рис. 1. Флуоресценция составляющих компонентов биопленок. Нуклеиновые кислоты окрашены SybrGreen и светятся зеленым, лектиновые включения окрашены AAL-Alexa568 и светятся красным, аутофлуоресценция хлорофилла ПА – синяя, аутофлуоресценция цианобактерий – фиолетово-белая. Размер кадра 246х246 мкм [26].

Как видно из представленной информации, ВПВ является не аморфным многокомпонентным гелем, а достаточно структурированным образованием. Составляющие ВПВ не только в той или иной степени задействованы в формировании и обеспечении жизнедеятельности трехмерного ассоциата микроорганизмов, но и в его воздействии на организм хозяина. Углеводы обеспечивают надлежащий уровень гидратированности биопленки, ее проницаемость для необходимых клеткам веществ. Нерастворимые компоненты ВПВ обеспечивают адгезивные связи как между отдельными микроорганизмами в составе биопленки, так и самой биопленки в отношении нерастворимых поверхностей. Они же ковалентно конъюгируют секретируемые бактериями и высвобождающиеся при их распаде ферменты, формируя тем самым своего рода внешнюю пищеварительную систему, переводящую посту-

пающие из окружающей среды вещества и остатки отмерших микроорганизмов в приемлемую для клеток биопленки питательную форму [21, 22]. Образованные из секретированных микроорганизмами белков β -структурированные фибриллы являются своего рода строительными лесами трехмерной структуры биопленки [37].

В контексте нашей работы особого внимания заслуживает рассмотрение причин высокой резистентности биопленок к воздействию антибиотиков. В этом отношении биопленки качественно – на 2-3 порядка – превосходят одноклеточные планктонные формы [9]. Показано, что ВПВ способны сорбировать и накапливать разнообразные токсины, включая антибиотики [21, 28]. Подобное свойство равноценно созданию фильтрационного барьера, резко уменьшающего количество токсических молекул,

способных достичь внутриклеточного пространства. Особого внимания при этом заслуживает роль внеклеточной ДНК (eDNA). Изначально полагали, что внеклеточная ДНК является одним из видов останков отмерших и разрушенных клеток, источником фосфора и энергии для выживших клеток. Впоследствии установлено ее участие в адгезивных взаимодействиях на ранних стадиях формирования биопленки [38, 41]. Внеклеточная eDNA способна эффективно связывать отдельные виды токсинов и антибиотиков [18, 25]. Последнее обстоятельство заставляет вспомнить, что основная часть антибиотиков проявляет свое бактерицидное действие за счет способности влиять на процессы транскрипции и трансляции, то есть вследствие того или иного взаимодействия с внутриклеточными нуклеиновыми кислотами (табл.).

Способ действия и механизмы резистентности основных антибиотиков [4]

Класс антибиотика	Представители	Мишень	Модели резистентности
Бета-лактамы	Пенициллины (ампициллин), цефалоспорины (цефамидин), пенициллины (меропенем), монобактамы (азтреонам)	Биосинтез пептидогликана	гидролиз, эффлюкс, изменение мишени
Аминогликозиды	Гентамицин, стрептомицин, спектиномицин	Трансляция	фосфорилирование, ацетилирование, эффлюкс, изменение мишени
Гликопептиды	Ванкомицин, тейкопланин	Биосинтез пептидогликана	репрограммирование биосинтеза пептидогликана
Тетрациклины	Тетрациклин, биомицин	Трансляция	монооксигенация, эффлюкс, изменение мишени
Макролиды	Эритромицин, азитромицин	Трансляция	гидролиз, гликозилирование, фосфорилирование, эффлюкс, изменение мишени
Линкозамины	Клиндамицин	Трансляция	эффлюкс, изменение мишени
Стрептограмины	Синергид	Трансляция	С-О-лиаза (стрептограмины типа В), ацетилирование, (стрептограмины типа А), эффлюкс, изменение мишени
Оксазолидоны	Линезолид	Трансляция	эффлюкс, изменение мишени
Фениколы	Хлорамфеникол	Трансляция	эффлюкс, изменение мишени
Хинолоны	Ципрофлоксацин	Репликация РНК	ацетилирование, эффлюкс, изменение мишени

Развернутые нити дехроматизированной ДНК в составе ВПВ могут существенно снижать возможности молекул антибиотика попасть во внутриклеточное пространство и, тем самым, воздействовать на опосредованные внутриклеточными нуклеиновыми кислотами процессы. Связывание же внеклеточной ДНК молекул антибиотика никоим образом не влияет на функционирование клетки. Подобного рода защита по самой природе своей широко специфична, поскольку снижает эффективность любых антибиотиков, нацеленных на взаимодействие с нуклеиновыми кислотами. В то же время не лишне отметить способность ВПВ сорбировать токсические вещества самой разнообразной природы [21]. Тем самым внеклеточное полимерное вещество оказывается своего рода фильтром, защищающим клетку от воздействия нежелательных веществ.

Частичное отмирание как условие выживания сообщества?

Из изложенного материала логично проистекает ряд следствий, хорошо согласующихся с известными данными о не исключаящих друг друга свойствах самих разнообразных биопленок. Присущий микроорганизмам интенсивный обмен веществ приводит к постоянному обновлению компонентов внеклеточного полимерного вещества – как их распада, так и синтеза. Для последнего требуется значительные количества строительного материала – секретиремого живыми клетками либо исходящего от отмерших. Первый источник достаточно ограничен, емкость же второго более чем достаточна. Поэтому формирование, поддержание и развитие биопленок требует постоянного образования обреченных на отмирание, нежизнеспособных в данных условиях клеток. Подобное предположение хорошо согласуется со стимуляцией образования биопленок токсинами [25]. В составе биопленок присутствуют отличные между собой по фенотипу формы одних и тех же микроорганизмов, не отличающихся между собой по генотипу. Причины подобного рода фенотипической пластичности остаются дискуссионными. Наиболее вероятным объяснением считается горизонталь-

ный перенос генов – признанный фактор микробной эволюции [9, 21]. При этом подавляющее большинство новообразуемых мутантных форм оказываются нежизнеспособными, подлежащими распаду, и лишь незначительная часть обретает полезные мутации, формируя тем самым клеточную составляющую резистентной к конкретному неблагоприятному фактору биопленки. Тем самым воздействие любого неблагоприятного фактора стимулирует дисперсию фенотипа, а массовое образование нежизнеспособных форм обеспечивает количественные и качественные изменения ВПВ, обеспечивая тем самым выживание сообщества микроорганизмов в целом. Так, токсическое действие ионов тяжелых металлов приводит к формированию антибиотикорезистентности [36]. По всей вероятности, массовое отмирание составляющих биопленку микроорганизмов приведет к качественному изменению состава ВПВ, что и обеспечивает развитие антибиотикорезистентности у выжившей части сообщества микроорганизмов.

Согласно общепринятому мнению, основные механизмы антибиотикорезистентности опосредованы способностью микроорганизмов к нейтрализации антибиотиков, предотвращении их проникновения сквозь клеточную мембрану или удалению антибиотика из клетки [4]. Как следует из приведенного материала, реализация всех этих механизмов существенно облегчается нахождением более устойчивых клеток в составе биопленок с непрерывным формированием защитного ВПВ из столь же непрерывно образующихся и отмирающих менее устойчивых клеток. Тем самым постоянное образование и отмирание части клеток составляет необходимую предпосылку для выживания сообщества микроорганизмов в целом.

В случае гетерогенных биопленок достаточно рутинным обстоятельством является подавление одним из видов микроорганизмов другого. По всей видимости, имеет место не межвидовая конкуренция, а стратегия обеспечения необходимого материала для обновления ВПВ. В этом отношении весьма показателен пример биопленок, сформированных двумя формами одного и

того же вида клеток *Ruminococcus* [32]. При этом одна форма вырабатывает бактерицид, токсичный для другого, превращая последний в своего рода депо материалов для обновления ВПВ.

Биопленки и воспаление

Все без исключения многоклеточные организмы колонизированы микроорганизмами – преимущественно в форме биопленок [9]. Склонность подобных колоний к разрастанию ограничивается защитными системами макроорганизма. Ослабление этого противодействия приводит не только к разрастанию биопленки, но и качественным изменениям ее состава. Даже у биопленок, сформированных одним видом микроорганизмов, клетки внешних и внутренних слоев резко различаются по фенотипу – от энергично бурящих каналы питания свimmers до спящих или отмирающих персистеров. Обмен веществ у внешних слоев проходит по аэробному пути, у внутренних – по анаэробному. Зачастую катаболиты внешнего слоя потребляются внутренними. Учитывая изменчивость рациона различных фенотипических форм, не приходится удивляться их способностью к потреблению тканей носителя. В этом отношении в наиболее благоприятном состоянии находятся биопленки, колонизирующие воспаленные ткани. Неотъемлемым обстоятельством воспалительного процесса является несбалансированный протеолиз, приходящий к образованию значительных количеств поврежденных белков [1-3]. Для колонизирующих воспаленные ткани биопленок подобная составляющая может служить не только пищевой добавкой, но и дополнительным строительным материалом для формирования ВПВ, в первую очередь за счет способности β -структурированных фибрилл к аутохтонному росту [6].

Как уже отмечалось, токсины, выделяемые клетками одного фенотипа для отравления клеток другого, способствуют непрерывному обновлению ВПВ за счет продуктов распада. Но эти же токсины, равно как и продукты распада перманентно отмирающих клеток, могут повреждать ткани организма-хозяина. При этом конкурентное преимущество, а значит – и распро-

странение – получают фенотипические формы, способствующие интоксикации ткани. То есть формируется симбиоз воспаленной ткани и микроорганизмов сформированной на ней биопленки. При этом воздействие бактериальной составляющей подобного симбиоза на прилегающую воспаленную ткань качественно отличается от исходной формы. С другой стороны, становится объяснимым локальный характер такого симбиоза, поскольку вне участка воспаленной ткани биопленка не только лишается продуктов распада воспаленной ткани, но и оказываются под воздействием защитных систем организма.

В рассмотренную схему хорошо вписываются данные об участии бактерии *Helicobacter pylori* в патогенезе заболеваний пищеварительной системы [30]. Эта бактерия инфицирует различные органы пищеварительной системы человека, преимущественно желудок и двенадцатиперстную кишку посредством встраивания в слизистую оболочку с последующей колонизацией последней. Из-за продуктов жизнедеятельности бактерий повышается концентрация аммиака и возрастает pH, что вызывает компенсаторную реакцию клеток слизистой оболочки, секретирующих соляную кислоту и пепсин. В тоже время *Helicobacter pylori* вырабатывает вещества, которые разрушают защитный слой слизистой оболочки желудка, а соляная кислота и пепсин начинают воздействовать на уже беззащитную слизистую оболочку, разрушая последнюю (рис. 2).

Обоснование и экспериментальное доказательство участия *Helicobacter pylori* в развитии гастрита, дуоденита и язвы желудка удостоено Нобелевской премии по физиологии и медицине 2005 г. Впоследствии этот список был пополнен панкреатитом и раком желудка. В то же время *Helicobacter pylori* присутствует у более чем половины человеческой популяции, причем в 90% случаев каких-либо заболеваний слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта не наблюдается. Эти и целый ряд других возражений против признания *Helicobacter pylori* участником патологического процесса [7] снимаются рассмотренными выше соображениями о симбиозе между сформированной биопленкой и подлежащей воспа-

ленной тканью. Не приходится удивляться и низкой эффективности антибиотикотерапии опосредованных *Helicobacter pilori* заболе-

ваний, поскольку бактериальная составляющая симбиоза защищена ВПВ, вплоть до формирования полирезистентности [35].

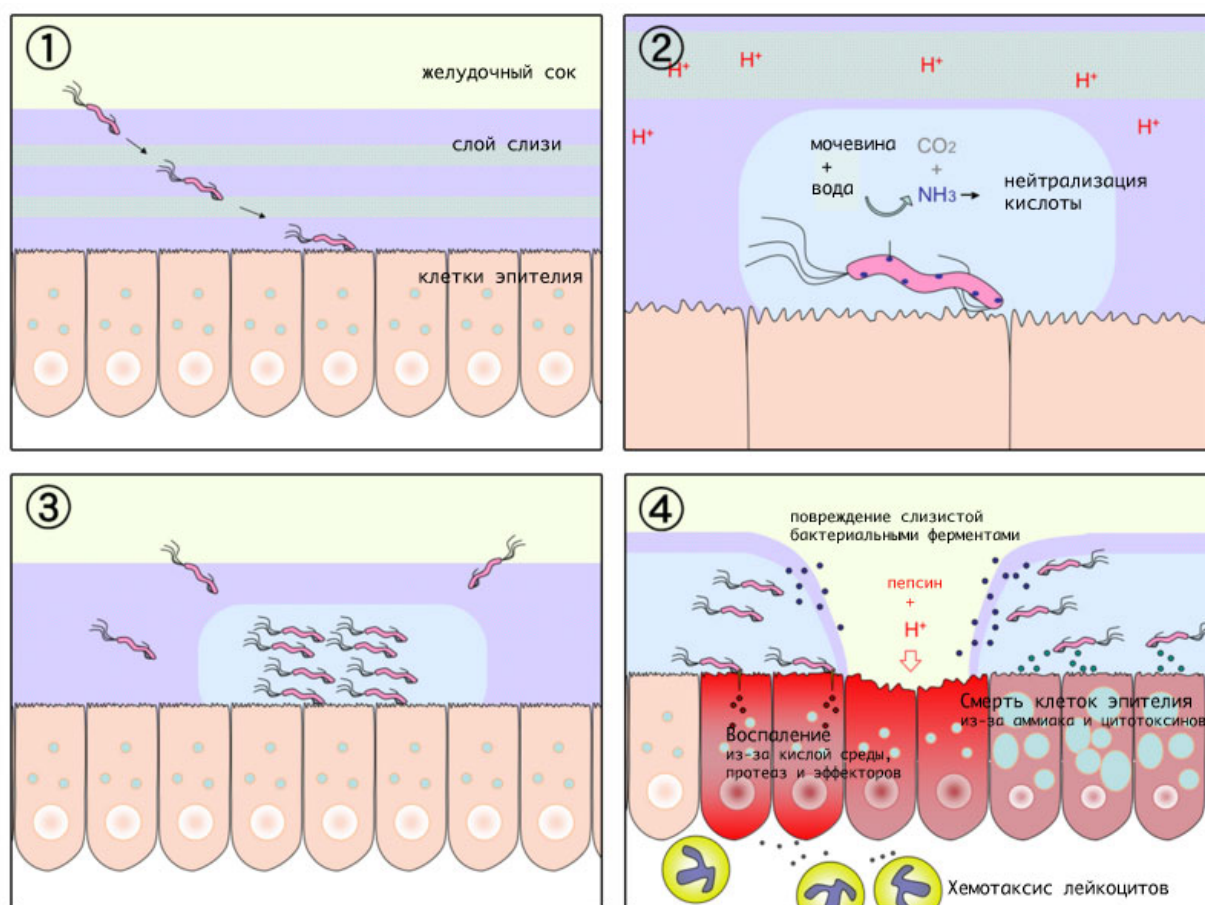


Рис. 2. Традиционная схема повреждающего воздействия *Helicobacter pilori* на слизистую оболочку желудка.

По всей видимости, схожим, хотя и менее выраженным образом происходит участие биопленок в хронизации многих заболеваний, включая кистозный фиброз, периодонтит, инфекционный эндокардит, хронический средний отит, хронический риносинусит, хронический тонзиллит, простатит, хронический остеомиелит, атопический дерматит, онихомикоз, дентальный кариес и др. [11, 15, 16, 19, 20, 27, 31]. Более глубокое ослабление защитных механизмов организма способно привести к осложнениям, превосходящим по тяжести исходную причину ослабление защитных систем организма хозяина. Примером подобного сценария является сепсис – системная воспали-

тельная реакция организма на появление в крови инфекционных агентов и продуцируемых ими токсинов, прямо или опосредованно обусловленных разрастанием микроорганизмов, вышедших из-под контроля ослабленной защитной системы организма.

Аллергизирующие эффекты антибиотиков

Не меньшего внимания заслуживает и возможное участие биопленок в формировании обусловленных антибиотикотерапией аллергических эффектов. Существующие препараты весьма далеки от “магической пули” Эрлиха и воздействуют не только на патогенные микроорганизмы, но и на все

сообщество колонизирующих макроорганизм микробов. Это неизбежно приводит к количественным и качественным изменениям как клеточной составляющей, так и внеклеточного полимерного вещества всего разнообразия биопленок. Подобные изменения неотвратно сопряжены с высвобождением значительных количеств фрагментов β -структурированных фибрилл, составивших “строительные леса” как исходных, так и измененных вследствие воздействия антибиотика биопленок. Ввиду высокой устойчивости к протеолизу реутилизация подобных продуктов распада протеолитическими ферментами ВПВ практически исключена, а вот иммуногенность для организма-хозяина весьма вероятна [40]. Перманентное образование подобных высокостабилизированных и иммуногенных включений достаточно для формирования несбалансированного иммунного ответа – молекулярной основы аллергизации [42]. Тем самым аллергизирующие эффекты антибиотиков могут быть обусловлены их воздействием на все разнообразие колонизирующих макроорганизм биопленок.

Приведенные процессы далеко не исчерпывают пути воздействия на прилегающие воспаленные ткани биопленок, однако и изложенного достаточно для вывода об их хронизирующем воздействии на воспалительный процесс прилегающих тканей и весомой роли в этом процессе компонентов внеклеточного полимерного вещества.

Некоторые практические следствия и выводы

Как следует из вышеизложенного, внеклеточное полимерное вещество является важнейшей функциональной составляющей формирования антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов. Эволюционно сформировавшаяся способность биопленок к изменению состава внеклеточного полимерного вещества под воздействием очередного антибиотика оказывается важнейшим преимуществом, не уступа-

щим по значимости фенотипической пластичности клеток. Массовое отмирание менее приспособленных или просто экспонированных для воздействия неблагоприятного фактора клеток обеспечивает обогащение ВПВ внеклеточной ДНК и, как следствие, повышает защищенность выживших клеток. При этом перенос сформировавшихся антибиотикорезистентных форм возбудителей существенно упрощается формированием «плавающих островов» (floating islands) биопленок – традиционной формы распространения колоний микроорганизмов. В этом отношении лишены защитного действия ВПВ одиночные бактерии намного менее эффективны. С другой стороны, внеклеточное полимерное вещество биопленок играет существенную роль в хронизации воспаления прилегающих тканей организма-хозяина. Поэтому изыскание методических подходов к разрушению ВПВ биопленок в условиях живого организма представляет собой в высшей степени привлекательную задачу. Разрушение межклеточной составляющей биопленки оставляет клетки лишеными защитного действия ВПВ, что обеспечит резкое возрастание эффективности антибиотика. Нарушение сформировавшейся структуры биопленки может оказаться фатальным для микроорганизмов, поскольку клетки из внутренних слоев не только оказываются открытыми к прямому воздействию антибиотика, но и оказываются в нехарактерной их фенотипу среде обитания. Поэтому в высшей степени перспективным представляются методические подходы, объединяющие традиционную антибиотикотерапию с ультразвуковым кавитационным разрушением биопленок [10, 17]. Существенным обстоятельством подобного похода представляется возможность локальной санификации тех или иных тканей без воздействия на весь организм. Особенно эффективной подобная комбинация методических подходов может оказаться при лечении локальных воспалительных процессов.

Література

1. Бурлака ЮБ, Голобородько ОП, Шукліна ЮВ, Верьовка СВ. Показники ендогенної інтоксикації та запальної відповіді в плазмі крові хворих на хронічний тонзиліт. Лаб. діагностика. 2013; 1 (63): 16-9.
2. Веремеєнко КН, Голобородько ОП, Кизим АИ. Протеоліз в нормі і при патології. 1988. Київ: 200 с.
3. Громашевська ЛЛ. «Середні молекули» як один з показників «метаболічної інтоксикації». Лаб. діагностика. 1997; 1: 11-16.
4. Дьяченко АГ. Устойчивость бактерий к антибиотикам и ее эволюция. Клин. Иммунология. Аллергология. Инфектология. 2012; 4:5-11.
5. Заболотний ДІ, Кизим ОЙ, Верьовка СВ. Патологічні ефекти інтоксикації клітинних мембран ендогенними пептидами (огляд літератури і власних досліджень). Журн. НАМН України. 2011; 17 (3): 201-7.
6. Заболотний ДІ, Белоусова АО, Зарицька ІС, Верьовка СВ. Аутохтонна β-агрегація білків: причини, молекулярні механізми та патологічні наслідки. Журн. НАМН України. 2014; 24 (4): 385-92.
7. Крылов НН. Проблемы, которые не могут не волновать: утопии и реалии современного учения о язвенной болезни. Вестн. хирургической гастроэнтерологии. 2007; 1: 25-30.
8. Намазова-Баранова ЛС, Баранов АА. Антибиотикорезистентность в современном мире. Педиатрия и фармакология. 2017; 14:341-54.
9. Николаев ЮА, Плакунов ВК. Биопленка – “город микробов” или аналог многоклеточного организма? Микробиология. 2007; 766 (2): 149-63.
10. Ультразвукова кавітація хронічних ран / В кн.: Петренко ОМ, Безродний БГ, Зубов ДО, Васильєв РГ, Тихомиров АО. Застосування інноваційних технологій в хірургічному лікуванні гнійно-некротичних ран м'яких тканин. K.LAT & K, 2018: 78-80.
11. Abu Bakar M, McKimm J, Haque ZH, Majumder AA, Haque M. Chronic tonsillitis and biofilms: a brief overview of treatment modalities. J Inflamm Res. 2018 Sep 5;11:329-337. doi: 10.2147/JIR.S162486.
12. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. World Health Organization. Geneva: WHO, 2014; XXII: 232 p.
13. Antimicrobial Resistance Benchmark 2018. Amsterdam; 2018: 185 p.
14. Babady NE. Hospital-Associated Infections. Microbiol Spectr. 2016 Jun;4(3). doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0003-2015.
15. Barshak MB, Durand ML. The role of infection and antibiotics in chronic rhinosinusitis. Laryngoscope Investig Otolaryngol. 2017 Jan 23;2(1):36-42. doi: 10.1002/lio2.61.
16. Berger D, Rakhamimova A, Pollack A, Loewy Z. Oral biofilms: development, control, and analysis. High Throughput. 2018 Aug 31;7(3). doi: 10.3390/ht7030024.
17. Cai Y, Wang J, Liu X, Wang R, Xia L. A review of the combination therapy of low frequency ultrasound with antibiotics. Biomed Res Int. 2017;2017:2317846. doi: 10.1155/2017/2317846.
18. Chiang WC, Nilsson M, Jensen PØ, Høiby N, Nielsen TE, et al. Extracellular DNA shields against aminoglycosides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Antimicrob Agents Chemother. 2013 May;57(5):2352-61. doi: 10.1128/AAC.00001-13.
19. Del Pozo JL. Biofilm-related disease. Expert Rev Anti Infect Ther. 2018 Jan;16(1):51-65. doi: 10.1080/14787210.2018.1417036.
20. Drago L, Pignataro L, Torretta S. Microbiological aspects of acute and chronic pediatric rhinosinusitis. J Clin Med. 2019 Jan 28;8(2). doi: 10.3390/jcm8020149.
21. Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, et al. Biofilms: an Emergent Form of Bacterial Life. Nat Rev Microbiol. 2016 Aug 11;14(9):563-75. doi: 10.1038/nrmicro.2016.94.
22. Flemming H. EPS – then and now. Microorganisms. 2016 Nov 18;4(4). doi: 10.3390/microorganisms4040041.
23. Hazen TH, Mettus R, McElheny CL, Bowler SL, Nagaraj S, et al. Diversity among blaKPC-containing plasmids in *Escherichia coli* and other bacterial species isolated from the same patients. Sci Rep. 2018 Jul 6;8(1):10291. doi: 10.1038/s41598-018-28085-7.
24. Hoffman S, Outterson K, Rottigen G, Cars O, Clift C, et al. An international legal framework to address antimicrobial resistance. Bull World Health Organ. 2015 Feb 1; 93(2): 66 p. doi: 10.2471/BLT.15.152710.
25. Huseby MJ, Kruse AC, Digre J, Kohler PL, Vocke JA, et al. Beta toxin catalyses formation of nucleoprotein matrix in staphylococcal biofilms. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Aug 10;107(32):14407-12. doi: 10.1073/pnas.0911032107.
26. Kamiunke N, Herzsprung P, Neu T. Quality of dissolved organic matter affects planktonic but not biofilm bacterial production in streams. Sci Total Environ. 2015 Feb 15;506-507:353-60. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.11.043.
27. 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.
28. Mah T, Pitts B, Pellock B, Walker G, Stewart P, et al. A genetic basis for *Pseudomonas aeruginosa*

- biofilm antibiotic resistance. *Nature*. 2003 Nov 20;426(6964):306-10. doi: 10.1038/nature02122.
29. Mahfouz N, Caucci S, Achatz E, Semmler T, Guenther S, et al. High genomic diversity of multidrug resistant wastewater *Escherichia coli*. *Sci Rep*. 2018 Jun 12;8(1):8928. doi: 10.1038/s41598-018-27292-6.
 30. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection – the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut*. 2012 May;61(5):646-64. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302084.
 31. Maske TT, van de Sande FH, Arthur RA, Huysmans MCDNJM, Cenci MS. In vitro biofilm models to study dental caries: a systematic review. *Biofouling*. 2017 Sep;33(8):661-675. doi: 10.1080/08927014.2017.1354248.
 32. Odenyo A, Makie R, Stahl D, White B. The use of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes to study competition between ruminal fibrolytic bacteria: development of probes for *Ruminococcus* species and evidence for bacteriocin production. *Appl Environ Microbiol*. 1994 Oct;60(10):3688-96.
 33. O'Neill J, editors. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations. The Review on Antimicrobial Resistance. London; 2014. 20 p.
 34. Popat RI, Crusz SA, Messina M, Williams P, West SA, et al. Quorum-sensing and cheating in bacterial biofilms. *Proc Biol Sci*. 2012 Dec 7;279(1748):4765-71. doi: 10.1098/rspb.2012.1976.
 35. Sanden van Zanten, Kolesnikow T, Leung V, O'Rourke JL, Lee A. Gastric transitional zones, areas where *Helicobacter* treatment fails: results of a treatment trial using the Sydney strain mouse model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Jul;47(7):2249-55.
 36. Seiler C, Berendonk T. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. *Front Microbiol*. 2012 Dec 14;3:399. doi: 10.3389/fmicb.2012.00399.
 37. Taglialegna A, Lasa I, Valle J. Amyloid structures as biofilm matrix scaffolds. *J Bacteriol*. 2016 Sep 9;198(19):2579-88. doi: 10.1128/JB.00122-16.
 38. Tang L, Schramm A, Neu TR, Revsbech NP, Meyer RL. Extracellular DNA in adhesion and biofilm formation of four environmental isolates. A quantitative study. *FEMS Microbiol Ecol*. 2013 Dec;86(3):394-403. doi: 10.1111/1574-6941.
 39. Vert M, Doi Y, Hellwich K-H, Hess M, Hodge Ph, et al. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure Appl Chem*. 2012; 84: 377-410. *Pure Appl Chem*. 2012; 84(2): 377-410. doi: 10.1351/PAC-REC-10-12-04.
 40. Verevka SV. Parametabolic β -Aggregation of proteins: familiar mechanisms with diverse sequels / In: *Advances in Medicine and Biology* (Berhardt L.V., Ed.), Nova Science Publishers, NY. 2013; 72: 29-48.
 41. Vilain S, Pretorius JM, Theron J, Brözel VS. DNA as an adhesin: *Bacillus cereus* requires extracellular DNA to form biofilms. *Appl Environ Microbiol*. 2009 May;75(9):2861-8. doi: 10.1128/AEM.01317-08.
 42. Zabolotnyi DI, Gogunskaya IV, Zabolotnaya DD, Zabrodskaya LV, Verevka SV. Suicide antigens: induced denaturation of proteins in the development of allergic reactions / in: *Advances in Medicine and Biology* (Berhardt L.V., Ed.). Nova Science Publishers, NY. 2012; 53: 217-32.

References

1. Burlaka YuB, Goloborod'ko OP, Shuklina YuV, Verevka SV. [Induces of endogenous intoxication and inflammatory response in blood plasma of patients with chronic tonsillitis]. *Laboratory Diagnostics Journ. (Ukr.)*. 2013; 1 (63): 16-9. [Article in Ukrainian].
2. Veremeenko KN, Goloborod'ko OP, Kizim AI. [Proteolysis at norma and at pathological state]. 1988. Kiev: 200 c. [In Russian].
3. Gromashevskaya LL. ["Middle-mass molecules" as one of indicators of "metabolic intoxication" of organism]. *Laboratory Diagnostics Journ*. 1997; 1: 11-16. [Article in Ukrainian].
4. Dyachenko AG. [Antimicrobial resistance and its evolution. *Klin. Immunology*]. *Allergology. Infectology*. 2011; 4: 5-11. [Article in Russian].
5. Zabolotnyi DI, Kizim AI, Verevka SV. [Pathologic effects of intoxication of cellular membranes by endogenous peptides]. *Journ. of the National academy of medical sciences of Ukraine*. 2011; 17(3): 201-7. [Article in Ukrainian].
6. Zabolotnyi DI, Belousova AA, Zaritska IS, Verevka SV. Autochthonic β -aggregation of proteins: cause, molecular mechanisms, and pathologic consequences. *Journ. of the National academy of medical sciences of Ukraine*. 2014; 24(4): 385-92. [Article in Ukrainian].
7. Krylov NN. [Problems that cannot but worry: utopias and the realities of the modern doctrine of peptic ulcer]. *Vestnik khirurgicheskoi gastroenterologii*. 2007; 1: 25-30. [Article in Russian].
8. Namazova-Baranova LS, Baranov AA. [Antibiotic resistance in modern world]. *Pediatric pharmacology*. 2017; 14 (5): 341-354. [Article in Russian].

9. Nikolaev YuA, Plakunov VK. Biofilm – “city of microbes” or an analogue of multicellular organisms? *Mikrobiologiya*. 2007; 766 (2): 149-163. [Article in Russian].
10. Ultrasound cavitation of chronic wounds / In.: Petrenko ON, Bezrodnyi BG, Zubov DO, Vasil'ev RG, Tyshomyrov AO. Application of innovative technologies in the surgical treatment of purulent-necrotic soft tissue wounds. *K.LAT & K*, 2018: 78-80. [Article in Ukrainian].
11. Abu Bakar M, McKimm J, Haque ZH, Majumder AA, Haque M. Chronic tonsillitis and biofilms: a brief overview of treatment modalities. *J Inflamm Res*. 2018 Sep 5;11:329-337. doi: 10.2147/JIR.S162486.
12. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. World Health Organization. Geneva: WHO, 2014; XXII: 232 p.
13. Antimicrobial Resistance Benchmark 2018. Amsterdam; 2018: 185 p.
14. Babady NE. Hospital-Associated Infections. *Microbiol Spectr*. 2016 Jun;4(3). doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0003-2015.
15. Barshak MB, Durand ML. The role of infection and antibiotics in chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*. 2017 Jan 23;2(1):36-42. doi: 10.1002/lio2.61.
16. Berger D, Rakhamimova A, Pollack A, Loewy Z. Oral biofilms: development, control, and analysis. *High Throughput*. 2018 Aug 31;7(3). doi: 10.3390/ht7030024.
17. Cai Y, Wang J, Liu X, Wang R, Xia L. A review of the combination therapy of low frequency ultrasound with antibiotics. *Biomed Res Int*. 2017;2017:2317846. doi: 10.1155/2017/2317846.
18. Chiang WC, Nilsson M, Jensen PØ, Høiby N, Nielsen TE, et al. Extracellular DNA shields against aminoglycosides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 May;57(5):2352-61. doi: 10.1128/AAC.00001-13.
19. Del Pozo JL. Biofilm-related disease. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2018 Jan;16(1):51-65. doi: 10.1080/14787210.2018.1417036.
20. Drago L, Pignataro L, Torretta S. Microbiological aspects of acute and chronic pediatric rhinosinusitis. *J Clin Med*. 2019 Jan 28;8(2). doi: 10.3390/jcm8020149.
21. Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, et al. Biofilms: an Emergent Form of Bacterial Life. *Nat Rev Microbiol*. 2016 Aug 11;14(9):563-75. doi: 10.1038/nrmicro.2016.94.
22. Flemming H. EPS – then and now. *Microorganisms*. 2016 Nov 18;4(4). doi: 10.3390/microorganisms4040041.
23. Hazen TH, Mettus R, McElheny CL, Bowler SL, Nagaraj S, et al. Diversity among blaKPC-containing plasmids in *Escherichia coli* and other bacterial species isolated from the same patients. *Sci Rep*. 2018 Jul 6;8(1):10291. doi: 10.1038/s41598-018-28085-7.
24. Hoffman S, Outtersen K, Rottigen G, Cars O, Clift C, et al. An international legal framework to address antimicrobial resistance. *Bull World Health Organ*. 2015 Feb 1; 93(2): 66 p. doi: 10.2471/BLT.15.152710.
25. Huseby MJ, Kruse AC, Digre J, Kohler PL, Vocke JA, et al. Beta toxin catalyses formation of nucleoprotein matrix in staphylococcal biofilms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Aug 10;107(32):14407-12. doi: 10.1073/pnas.0911032107.
26. Kamiunke N, Herzsprung P, Neu T. Quality of dissolved organic matter affects planktonic but not biofilm bacterial production in streams. *Sci Total Environ*. 2015 Feb 15;506-507:353-60. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.11.043.
27. 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.
28. Mah T, Pitts B, Pellock B, Walker G, Stewart P, et al. A genetic basis for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm antibiotic resistance. *Nature*. 2003 Nov 20;426(6964):306-10. doi: 10.1038/nature02122.
29. Mahfouz N, Caucci S, Achatz E, Semmler T, Guenther S, et al. High genomic diversity of multidrug resistant wastewater *Escherichia coli*. *Sci Rep*. 2018 Jun 12;8(1):8928. doi: 10.1038/s41598-018-27292-6.
30. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut*. 2012 May;61(5):646-64. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302084.
31. Maske TT, van de Sande FH, Arthur RA, Huysmans MCDNJM, Cenci MS. In vitro biofilm models to study dental caries: a systematic review. *Biofouling*. 2017 Sep;33(8):661-675. doi: 10.1080/08927014.2017.1354248.
32. Odenyo A, Makie R, Stahl D, White B. The use of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes to study competition between ruminal fibrolytic bacteria: development of probes for *Ruminococcus* species and evidence for bacteriocin production. *Appl Environ Microbiol*. 1994 Oct;60(10):3688-96.
33. O'Neill J, editors. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations. The Review on Antimicrobial Resistance. London; 2014. 20 p.
34. Popat RI, Crusz SA, Messina M, Williams P, West SA, et al. Quorum-sensing and cheating in bacterial biofilms. *Proc Biol Sci*. 2012 Dec 7;279(1748):4765-71. doi: 10.1098/rspb.2012.1976.

35. Sanden van Zanten, Kolesnikow T, Leung V, O'Rourke JL, Lee A. Gastric transitional zones, areas where Helicobacter treatment fails: results of a treatment trial using the Sydney strain mouse model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003 Jul;47(7):2249-55.
36. Seiler C, Berendonk T. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. *Front Microbiol.* 2012 Dec 14;3:399. doi: 10.3389/fmicb.2012.00399.
37. Taglialegna A, Lasa I, Valle J. Amyloid structures as biofilm matrix scaffolds. *J Bacteriol.* 2016 Sep 9;198(19):2579-88. doi: 10.1128/JB.00122-16.
38. Tang L, Schramm A, Neu TR, Revsbech NP, Meyer RL. Extracellular DNA in adhesion and biofilm formation of four environmental isolates. A quantitative study. *FEMS Microbiol Ecol.* 2013 Dec;86(3):394-403. doi: 10.1111/1574-6941.
39. Vert M, Doi Y, Hellwich K-H, Hess M, Hodge Ph, et al. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure Appl Chem.* 2012; 84: 377-410. *Pure Appl. Chem.* 2012; 84(2): 377-410. doi: 10.1351/PAC-REC-10-12-04.
40. Verevka SV. Parametabolic β -Aggregation of proteins: familiar mechanisms with diverse sequels / In: *Advances in Medicine and Biology* (Berhardt LV, Ed.), Nova Science Publishers, NY. 2013;72: 29-48.
41. Vilain S, Pretorius JM, Theron J, Brözel VS. DNA as an adhesin: *Bacillus cereus* requires extracellular DNA to form biofilms. *Appl Environ Microbiol.* 2009 May;75(9):2861-8. doi: 10.1128/AEM.01317-08.
42. Zabolotnyi DI, Gogunskaya IV, Zabolotnaya DD, Zabrodskaya LV, Verevka SV. Suicide antigens: induced denaturation of proteins in the development of allergic reactions / in: *Advances in Medicine and Biology* (Berhardt L.V., Ed.). Nova Science Publishers, NY. 2012; 53: 217-32.

Поступила в редакцію 11.11.2019

© Д.И. Заболотный, М.Б. Самбур, Н.В. Ворошилова, С.В. Вереvка, 2019

ПОЗАКЛІТИННІ КОМПОНЕНТИ БІОПЛІВОК В ФОРМУВАННІ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ТА ХРОНІЗАЦІЇ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ. СТАН ПРОБЛЕМИ

*Заболотний ДІ, Самбур МБ, Ворошилова НМ, Вереvка СВ
ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України»
e-mail: amtc@kndio.kiev.ua*

А н о т а ц і я

Безперервне удосконалення механізмів опору живих організмів впливу несприятливих чинників до-
вкілля становить невід'ємну властивість еволюції. Одним з проявів подібного удосконалення є формуван-
ня стійкості патогенних мікроорганізмів до впливу антибіотиків. Швидкість утворення та розповсюджен-
ня резистентних патогенів ускладнює лікування хвороб та створює загрозу відкидання клінічної медицини
в доантибіотикову еру. Ситуація ускладнюється можливістю формування полірезистентності – стійкості
мікробіологічних збудників до різних типів антибіотиків. Подібно більшості мікроорганізмів, бактеріальні
інфекційні агенти існують переважно у вигляді біоплівки – тривимірних агрегатів мікроорганізмів, зафік-
сованих між собою матрицею з позаклітинної полімерної речовини, безперервно утворюється самими
клітинами. Обґрунтовується роль позаклітинних компонентів біоплівки в формуванні антибіотикорезисте-
нтності, необхідності перманентного відмирання частини клітин для виживання спільноти мікроорганіз-
мів, впливу продуктів розпаду на оточуючі тканини як складової хронізації запального процесу. Обгово-
рюється перспективність ультразвукової деструкції біоплівки для пригнічення антибіотик резистентності
та запобігання хронізації запалення.

Ключові слова: інфекційні захворювання, хронізація запалення, антибіотикорезистентність, біоп-
лівки.

**EXTRACELLULAR COMPONENTS OF BIOFILMS IN THE FORMATION
OF ANTIBIOTIC RESISTANCE AND CHRONICITY OF THE INFLAMMATORY PROCESS.
STATE OF THE PROBLEM**

Zabolotnyi DI, Sambur MB, Voroshylova NM, Verevka SV

*State Institution «O.S. Kolomiychenko Institute of Otolaryngology
of National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; e-mail: amtc@kndio.kiev.ua*

Abstract

Permanent character of the improvement of resistance of living organisms to the influence of adverse environmental factors is an integral property of evolution. One of the manifestations of this improvement is the formation of the resistance of pathogens to antibiotics. The speed of formation and spread of resistant pathogens complicates the treatment of diseases and creates the danger of discarding of clinical medicine in the pre-antibiotic era. The situation is complicated by the possibility of the formation of multiresistance, which is the resistance of microbiological pathogens to different types of antibiotics. Similarly to the most of microorganisms, bacterial infectious agents exist mainly in the form of biofilms – three-dimensional associate of microorganisms that are fixed by a matrix from an extracellular polymeric substance, which is synthesized by the cells themselves. The main topics of this work are the roles of extracellular components of biofilms in the formation of antibiotic resistance, the need for permanent death of the part of the cells for survive of the community of microorganisms, and the effect of decay products on the adjacent tissues as the premise for the chronicity of the inflammatory process. The prospects of ultrasound destruction of biofilms for the suppression of antibiotic resistance and the prevention of chronic inflammation are discussed.

Key words: infectious diseases, antibiotic resistance, chronicity of inflammation, biofilms.