

Д.И. Яновская

**УСТОЙЧИВОСТЬ PSEUDOMONAS AERUGINOSA К АНТИБИОТИКАМ:
МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ И ВОЗМОЖНЫЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ
ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СТРАТЕГИИ**

Научный руководитель: канд. биол. наук, доц. Л.Н. Усачева

Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

D.I. Yanovskaya

**ANTIBIOTIC RESISTANCE OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA:
MECHANISMS OF FORMING AND POSSIBLE ALTERNATIVE
THERAPEUTIC STRATEGIES**

Tutor: PhD, associate professor L.N. Usachova

Department of Microbiology, Virology, Immunology

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Устойчивость *P. aeruginosa* к антибиотикам является многофакторным признаком, поскольку она может возникать за счет врожденных, приобретенных или адаптивных механизмов. Предложенные новые терапевтические подходы, такие как подавление чувства кворума, фаговая терапия и использование наночастиц продемонстрировали значительный антимикробный эффект против резистентных к антибиотикам штаммов *P. aeruginosa in vitro*.

Ключевые слова: синегнойная палочка, терапевтические стратегии, антибиотики.

Resume. Antibiotic resistance in *P. aeruginosa* is multifactorial as it can arise through innate, acquired or adaptive mechanisms. Proposed novel therapeutic approaches such as quorum sensing suppression, phage therapy, and the use of nanoparticles have shown significant antimicrobial effects against antibiotic-resistant strains of *P. aeruginosa in vitro*.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, therapeutic strategies, antibiotics.

Актуальность. *Pseudomonas aeruginosa* – условно-патогенный микроорганизм, возбудитель сапронозной инфекции, который является основной причиной заболеваемости и смертности у пациентов с муковисцидозом и у лиц с ослабленным иммунитетом. Из-за способности легко адаптироваться во внешней среде, штаммы синегнойной палочки часто становятся возбудителями внутрибольничных инфекций. Элиминация внутрибольничных штаммов осложняется из-за его устойчивости к дезинфектантам, антисептикам и антибиотикам. Штаммы *P. aeruginosa* используют свои высокие уровни врожденных и приобретенных механизмов резистентности для противодействия большинству применяемых препаратов. Кроме того, адаптивная антибиотикорезистентность *P. aeruginosa* имеет механизм, который включает устойчивость, опосредованную биопленками, и образование устойчивых к лекарственным препаратам персистирующих клеток, а также отвечает за сопротивляемость и рецидивы инфекций. Открытие и разработка альтернативных терапевтических стратегий, которые открывают новые пути против инфекции *P. aeruginosa* становятся все более востребованными и привлекают все больше внимания [1].

Цель: освещение механизмов устойчивости *P. aeruginosa* к антибиотикам и анализ текущего состояние некоторых новых терапевтических подходов к лечению инфекций *P. aeruginosa*.

Задачи:

1. Охарактеризовать проблему резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам.
2. Изучить терапевтические стратегии лечения инфекции, вызванной синегнойной палочкой.

Материал и методы. Проведен анализ научных статей с использованием сервера PubMed по ключевым словам «*Pseudomonas aeruginosa*, therapeutic strategies, antibiotics» за 2010–2020 гг.

Результаты и их обсуждение. *Pseudomonas aeruginosa* – грамотрицательная бактерия, способная выживать в самых разных условиях. Геном *P. aeruginosa* (5,5–7 млн п.н.) относительно велик по сравнению с другими секвенированными бактериями и кодирует большую часть регуляторных ферментов, важных для метаболизма, транспорта и оттока органических соединений. Эта расширенная способность обеспечивает большую метаболическую гибкость и высокую адаптируемость к изменениям окружающей среды [2, 3].

Этот возбудитель у лиц с ослабленным иммунитетом чаще всего вызывает легочные инфекции, не поддающиеся лечению антибиотиками, и приводит к ухудшению легочной функции и летальному исходу у пациентов с муковисцидозом. У пациентов с ХОБЛ синегнойная палочка является причиной более 5% инфекционных обострений и связана с повышенной смертностью этих пациентов [2].

Pseudomonas aeruginosa обладает высоким уровнем внутренней устойчивости к большинству антибиотиков за счет ограниченной проницаемости внешней мембраны, систем оттока, которые выталкивают антибиотики из клетки, и продукции ферментов, инактивирующих антибиотики, таких как β-лактамазы. Бактерии могут приобрести устойчивость к антибиотикам за счет мутационных изменений или приобретения генов устойчивости посредством горизонтального переноса генов. В дополнение к высокому уровню внутренней антибиотикорезистентности приобретённая резистентность в значительной степени способствует развитию полирезистентных штаммов, что усложняет элиминацию этого микроорганизма и приводит к большему количеству случаев инфекций [4].

Адаптивная резистентность увеличивает способность бактерии выживать при атаке антибиотиками, из-за временных изменений в экспрессии генов и/или белков в ответ на стимул окружающей среды, и она обратима при устранении стимула. У *P. aeruginosa* наиболее охарактеризованными механизмами адаптивной резистентности являются образование биопленки и генерация клеток-персистеров.

Большинство антибиотиков, используемых для лечения инфекций, вызванных *P. aeruginosa*, должны проникать через клеточную мембрану для достижения внутриклеточных мишеней.

Антибиотики попадают в бактериальную клетку несколькими путями: хинолоны и β-лактамы проникают через клеточные мембраны по каналам белков-поринов, тогда как аминогликозиды и полимиксины способствуют собственному поглощению, взаимодействуя с бактериальными ЛПС на внешней мембране грамотрицательных бактерий.

Проницаемость внешней мембраны *P. aeruginosa* крайне ограничена. OprF, гомолог белка A наружной мембраны *E. coli* (OmpA), является преобладающим порином *P. aeruginosa* и отвечает за неспецифическое поглощение ионов и сахаридов, но имеет низкую эффективность проникновения антибиотиков [2].

Наличие в основном закрытых каналов OprF может объяснить, почему проницаемость внешней мембраны псевдомонад намного ниже, чем у других бактерий. Кроме того, отсутствие у синегнойной палочки OprF приводит к повышенному образованию биопленок за счет усиления синтеза бис-(3'-5')-циклических димеров (с-di-GMP), который является важным мессенджером для контроля образования биопленки.

P. aeruginosa обладает рядом специфических поринов, в том числе специфическим для углеводов порином OprB, специфическим для основных аминокислот порином OprD, специфическим для фосфатов порином OprP и специфическим для пирофосфатов порином OprO. Среди этих поринов OprD участвует в поглощении антибиотиков. Он содержит сайты связывания карбапенемов, класса β -лактамных антибиотиков, а отсутствие OprD у *P. aeruginosa* повышает устойчивость к этому классу антибиотиков.

Бактериальные эффлюксные насосы играют важную роль в удалении токсичных соединений из клетки. В частности, белки, принадлежащие к семейству насосов оттока RND, играют ключевую роль в устойчивости *P. aeruginosa* к антибиотикам. Следовательно, использование ингибиторов эффлюксной помпы стало потенциальной терапевтической стратегией для лечения инфекций, вызванных *P. aeruginosa* [5].

Производство ферментов, инактивирующих антибиотики, является одним из основных механизмов внутренней резистентности бактерий. Многие антибиотики имеют химические связи, такие как амиды и сложные эфиры, которые подвержены гидролизу ферментами, обычно продуцируемыми *P. aeruginosa*.

Как и другие грамотрицательные бактерии, *P. aeruginosa* обладает индуцируемым геном *ampC*, кодирующим гидролитический фермент β -лактамазу, что приводит к инаktivации β -лактамных антибиотиков. Устойчивость *P. aeruginosa* к аминогликозидам обусловлена множеством факторов, таких как снижение проницаемости клеточной мембраны, увеличение оттока, изменения рибосом и модификация ферментов. Среди этих механизмов ферментативная модификация амино- и гликозидных групп в молекулярной структуре аминогликозидов играет преобладающую роль в устойчивости к этому классу антибиотиков [4].

Мутации могут вызывать снижение поглощения антибиотиков, модификации мишеней антибиотиков и избыточную экспрессию эффлюксных насосов и ферментов, инактивирующих антибиотики, что позволяет бактериям выживать в присутствии антимикробных молекул. Например, инаktivация системы окислительной репарации ДНК увеличивает частоту мутаций у *P. aeruginosa*, что приводит к усилению продукции β -лактамаз и сверхэкспрессии эффлюксной помпы MexCD-OprJ. Гены устойчивости к антибиотикам могут переноситься на плазидах, транспозонах, интегронах и профагах, и бактерии могут приобретать эти гены путем горизонтального переноса генов от одного и того же или разных видов бактерий. Основные механизмы

горизонтального переноса генов включают трансформацию, трансдукцию и конъюгацию [3, 4].

Биопленка представляет собой совокупность микроорганизмов, прикрепляющихся друг к другу и встроенных в самопродуцируемый матрикс внеклеточных полимерных веществ. Общие механизмы опосредованной биопленкой резистентности, защищающей бактерии от воздействия антибиотиков, включают предотвращение проникновения антибиотиков, изменение микроокружения, вызывающее медленный рост клеток биопленки, индукцию адаптивной реакции на стресс и персистентную дифференцировку клеток. *Pseudomonas aeruginosa* вызывает хронические инфекции в легких у пациентов с муковисцидозом и образует биопленку на поверхности эпителиальных клеток легких. Регуляция образования биопленок *P. aeruginosa* является многофакторной и в основном зависит от систем распознавания кворума, двухкомпонентных регуляторных систем GacS/GacA и RetS/LadS, экзополисахаридов и c-di-GMP [3].

Еще одним серьезным препятствием для лечения инфекций, вызванных *P. aeruginosa*, является образование бактериальных клеток-персистеров. Большинство планктонных клеток могут быть уничтожены антибиотиками; однако персистеры способны оставаться жизнеспособными и повторно заселять биопленки, из-за существования покоящегося состояния, которое отключает синтез мишеней для антибиотиков. Клетки-персистеры не размножаются в присутствии антибиотиков, однако они возобновляют рост после удаления антибиотиков. Кроме того, такие стимулы окружающей среды как депривация питательных веществ усиливает образование клеток-персистеров. Альтернативные терапевтические стратегии лечения *P. aeruginosa* представлены ниже (табл.1) [1].

Табл. 1. Альтернативные терапевтические стратегии лечения *P. aeruginosa*

Терапевтическая стратегия	Преимущества	Недостатки
Ингибирование чувства кворума	Предотвращение или уменьшение образования биопленок, снижение вирулентности бактерий, низкий риск развития бактериальной резистентности	Узкий спектр, непреднамеренное воздействие на полезные бактерии
Ингибирование лектина	Высокая стабильность, низкий риск развития бактериальной резистентности	Узкий спектр из-за экспрессии более чем одного типа адгезина бактериями
Фаговая терапия	Репликация в месте заражения, высокая специфичность к бактериям-мишеням без воздействия на комменсальную флору, меньше побочных эффектов, бактерицидная активность в отношении устойчивых к антибиотикам бактерий, простота введения, доставка антимикробных агентов к бактериям	Фаговый клиренс после лечения, примесь фаговых препаратов, плохая стабильность фаговых препаратов и отсутствие знаний о способах действия фагов, бактериальная резистентность
Стратегия вакцинации	Повышение иммунитета хозяина, профилактика инфекций	Низкая эффективность, отсутствие лицензированной вакцины

Продолжение таблицы 1

Наночастицы	Высокая проникающая способность в бактериальную мембрану, нарушение формирования биопленки, множественные антимикробные механизмы, хорошие носители антибиотиков	Токсичность
Антимикробные пептиды	Широкий спектр активности, быстрая кинетика уничтожения, низкий уровень индуцированной резистентности, низкая токсичность для хозяина	Гемолитическая активность по отношению к клеткам-хозяевам, сниженная активность на основе чувствительности к соли, сыворотке и рН, склонность к протеолизу, высокая стоимость производства
Электрохимический каркас	Разрушение бактериальных биопленок, усиление проникновения антибиотиков	Сложность имплантации для клинических испытаний

В то же время, на сегодняшний день немногие из этих новых подходов перешли в клиническую практику из-за высокой стоимости, побочных эффектов и опасений по поводу безопасности. Требуется дополнительное изучение.

Выводы:

1. Устойчивость *P. aeruginosa* к антибиотикам является многофакторным признаком, поскольку может возникать за счет врожденных, приобретенных или адаптивных механизмов. Разнообразие механизмов устойчивости к антибиотикам способствует развитию полирезистентных штаммов и делает обычные антибиотики неэффективными для лечения инфекций, вызванных *P. aeruginosa*.

2. Новые терапевтические подходы, такие как подавление чувства кворума, фаговая терапия и использование наночастиц продемонстрировали значительный антимикробный эффект против устойчивых к антибиотикам штаммов *P. aeruginosa in vitro*, поэтому в настоящее время они рассматриваются как альтернатива или дополнение к антибиотикотерапии.

Литература

1. Hurley, M.N. Novel approaches to the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis [Электронный ресурс] / M.N. Hurley, M. Cámara, A.R. Smyth. – Электрон. дан. и прогр.: Германия, 2012. – Режим доступа к ресурсу: <https://erj.ersjournals.com/content/40/4/1014> – Дата доступа: 17.05.22.
2. Arber, W. Horizontal gene transfer among bacteria and its role in biological evolution [Электронный ресурс] / W. Arber. – Электрон. дан. и прогр.: Швеция, 2014. – Режим доступа: https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84900839965&origin=inward&txGid=fefd88e611c7381771a2f9e13951e61b&featureToggles=FEATURE_NEW_DOC_DETAILS_EXPORT:1 – Дата доступа: 17.05.22.
3. Брайденштейн, Э.Б. *Pseudomonas aeruginosa*: все дороги ведут к резистентности [Электронный ресурс] / Э.Б. Брайденштейн [et al.] – Электрон. дан. и прогр.: Канада, 2011. – Режим доступа к ресурсу: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0966842X11000862> – Дата доступа: 28.03.22.
4. Геномная структура и разнообразие *Pseudomonas aeruginosa* [Электронный ресурс] / Дж. Клокгетер [et al.]. – Электрон. дан. и прогр.: Германия, 2011. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2011.00150/full> – Дата доступа: 17.05.22.
5. Dreier, J. Interaction of antibacterial compounds with RND efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* [Электронный ресурс] / J. Dreier, P. Ruggerone. – Электрон. дан. и прогр.: Швеция, 2015. – Режим доступа: https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84938894017&origin=inward&txGid=4381dfd0327df147365c43796764c4b5&featureToggles=FEATURE_NEW_DOC_DETAILS_EXPORT:1. – Дата доступа: 17.05.22.