*Шпак Анжела Сергіївна*

*(Одеса, Україна)*

**БІОЛОГІЧНІ НАУКИ**

(Молекулярна біологія мікробіологія)

**СТІЙКІСТЬ КЛІТИН*CANDIDAALBICANS*ПРИ ФОРМУВАННІ БІОПЛІВКИ**

Сучасні засоби терапії протигрибкових захворювань діляться на п'ять класів: (1) полієни, які пов'язують стероли в мембрані грибкової клітини і приводять до витоку електроліту через сформуванні трансмембранні канали; (2) піримідинові аналоги, що включаються в зростаючі ланцюги РНК / ДНК і, таким чином, інгібують синтез грибкових нуклеїнових кислот; (3) азоли, дію яких спрямовано на біосинтез ергостерол, зокрема блокування ферменту ланостерол-14a-деметилази; (4) алліламіни, мішенню яких є біосинтез ергостеролу через вимкнення ферменту сквален-оксидази і (5) ехінокандіни, які блокують фермент b-1,3-глюкан-синтазу і, таким чином, пригнічують включення ді-1,3-глюкана в клітинну стінку та порушують її цілісність [5].

Однак останніми роками з’являються висловлювання про кінець ери протимікробних препаратів, зокрема антимікотичних засобів. Сумнівупідлягає не стільки сам принцип можливостілікування, наприклад, кандидозу, шляхом впливу на збудника, скількиможливістьподоланнярезистентності.

Форма існування мікроорганізмів у складі біоплівок – еволюційно вигідний спосіб надклітинної організації патогенних, умовно-патогенних прокаріотів у макроорганізмі. Біоплівкоутворення шпитальними штамами бактеріями набуває особливого значення у відділеннях інтенсивної терапії, хірургічних стаціонарах [2].

Загалом, клітини, якіповільнозростають, є більшстійкими. Тому булозапропоновано, щоклітинибіоплівкиє стійкішими, так як вони ростутьповільніше. Але, деякі дослідники відхіляють значення впливу зниженоїшвидкості росту клітинбіоплівки на стійкість до протигрибкових препаратів. Так, при порівнянні чутливості до амфотерицина В біоплівки*C. albicans* з планктонною формою існування клітин було виявлено, що біоплівко-асоційовані клітини стійкіші при всіх темпах зростання, в той час як планктонні клітини резистентні тільки при дуже повільному зростанню [3].

Виходячи з того, що стійкість біоплівкизміюється в залежності від розміру вихідного інокулята, у деяких дослідах було запропоновано, що щільності клітин впливає на її резистентність до антибіотиків. Щільність клітин, схоже, впливає на стійкість*C. albicans* до декількох препаратів, але це, ймовірно, не є механізмом специфічної нечутливості угруповань, оскільки аналогічна тенденція спостерігалася в планктонних клітинах.

У деяких дослідженнях було показано, що позитивна регуляція специфічних генів, бере участь у розвитку стійкості планктонних клітин до протигрибкових препаратів [12].При цьому ці гениможутьвідрізнятисявідгенів, якікодуютьеффлюкс насоси, такі як CDR1 і MDR1: наприклад,гени, щокодуютьбілки-мішені для діїімідазолу, щозалученідобіосинтезуергостеролу. Останнібудутьвикликатинездатність препарату ефективнознищувати патоген[13]. Тому ймовірно, щозміниекспресіїгенівтакожвідповідальні за стійкістьасоційованиху біоплівкиклітин*C. albicans*.

Позитивну регуляцію ефлюкс-насосів антибіотиків у клітин, що входять до складу біоплівок різних мікроорганізмів, було описано як фактор стійкості до дії відповідних препаратів [11]. У *C. albicans* було показано дві групи еффлюксних насосів, що сприяють розвитку резистентності до лікарських препаратів: АТФ-зв'язуючого транспортеру, що кодується CDR-генами, і головного посередника MF-надсімейства, яке кодується генами MDR[4].

Підвищена експресія CDR1- та MDR1-генів вперше була зафіксована у клінічних ізолятів *C. albicans* з високою стійкістю до азолів впродовж тривалого лікування ними. Крім того, було показано, що мутанти, позбавлені CDR1- і MDR1-генів, втрачають свою стійкість до азолів разом зі стійкістю до інших антіфунгальних і метаболічних інгібіторів [6].

Клітини-персістери є фенотиповим, а не мутантним, варіантом, які здатні виживати при значно вищій концентрації антибіотиків [9]. Вважається, що нездатність антибіотика знищити клітини-персістери є наслідком неактивного стану, в якому вони перебувають, так як антибіотикам потрібна активна мішень для виконання відповідних функцій [10].

Здатність до формування персістерів у *C. albicans* було вперше показано під час дослідження пригнічення більшості клітин біоплівки відносно низькими концентраціями амфотерицинуB. Але при цьому 1 % угрупування залишався повністю неушкодженим, навіть при дуже високих концентраціях препарату [8].

Персистери не ростуть та не поділяються, щозумовлюєперебуванняїх хромосоми та білкових систем реплікації, репарації та транскрипції в інтактномустані. Білкиперсистеріввимикають роботу всіхмішенейантибіотиків, чимопосередковуютьмультитолерантність (MDT, multi-drugtolerance), тобто здатність клітини виживати за присутності декількох антибіотиків за рахунок уповільнення метаболізму та «вимкнення» основних біологічних процесів клітини[7]. Антибіотикиефективнопроявляють свою діювідносноклітин, якіінтенсивноподіляються, з високимрівнемсинтетичнихпроцесів, але коли клітинаперебуває у стадіїфізіологічногоспокою («клітинногоанабіозу»), антибактеріальнийзасіб не здатнийвиявитиповноюмірою свою біохімічнуфункцію [3]. Саме пригнічення персисторів є одним із варіантів терапії, метою якої є збільшення чутливості *C. albicans* до антимікотиків. Отже, бактерицидні антибіотики відносно персистерів здійснюють тільки бактеріостатичний ефект [3].

В основі підвищеного виживання клітин у складі біоплівки лежать також властивості позаклітинного матриксу. Перш за все, це обумовлено наявністю у його складі екзополімерів, які затримують та уповільнюють проникнення антибіотиків [1].

Дію всіх механізмів стійкості бактерій, по суті, можна звести до одного явища – запобігання взаємодії антибіотика з його мішенню (за рахунокзмін самих мішенейабо за допомогою синтезу ферментів, щонейтралізуютьантибіотики).

Відкриття феномену соціальногоповодженнябактерій, що одержав назву «відчуття кворуму» (quorumsensing), і розшифруванняструктурихімічнихагентівміжклітинноїкомунікаціїстимулювалипошук і розробкупринциповоновихантибактеріальнихпрепаратів [2]. У зв’язку з цимрозробляютьсяновіпідходи до ідентифікації та вивченнябіоплівок, зокрема *C. albicans*. Це, перш за все, генотипування, засноване на детекціїспецифічнихгенів. Ведетьсярозробкановихантибіотиків, зміна тактики антибіотикотерапії, а такожпошукінгібіторів кворуму мікроорганізмів у біоплівці [3].

**Література:**

1. Грузина В. Д. Коммуникативные сигналы бактерий // Антибиотики и химиотерапия. – 2003. – № 48. – С. 32–39.
2. Смирнова Т. А., Диденко Л. В., Азизбекян Р. Р. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок // Микробиология. – 2010. –Т. 79, № 4. – С. 435 – 446.
3. Baillie G., Douglas L.J. Effect of growth rate on resistance of Candida albicans biofilms to antifungal agents // Antimicrob. Agents Chemother. – 1998. – Vol.42. – Р.1900–1905.
4. Ben-Yaacov R., Knoller S., Caldwell G.A.Candida albicans gene encoding resistance to benomyl// Chemother. –1994. – Vol. 38. – Р.648–652.
5. Cowen L.E., Steinbach W.J. Stress, drugs, and evolution: the role of cellular signaling in fungal drug resistance// Eukaryot. Cell. –2008.– Vol. 20. – Р.747 – 764.
6. Hoiby N.T.Antibiotic resistance of bacterial biofilms// Int. J. Antimicrob. Agents. – 2010. – Vol. 35, № 4. – P. 322.
7. Keren I., Shah D., Spoering A. Specialized persister cells and the mechanism of multidrug tolerance in Escherichia coli// Bacteriol. – 2004. – Vol.186. – Р.8172–8180.
8. Keren I., Kaldalu N.B., Spoering A.K.[Persister cells andtolerance to antimicrobials //](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14734160)Microbiolog. –2004. –Vol. 186, № 24. – P. 8172 – 8180.
9. LaFleur M.D., Kumamoto C.A., Lewis K. Candida albicans biofilms produce antifungal-tolerant persister cells// Antimicrob Agents Chemother. – 2006. – Vol. 50. – Р.3839–3846.
10. Lewis K. Persister cells: molecular mechanisms related to antibiotic tolerance// Exp.Pharmacol. – 2012. – Vol.211. – Р.121–133.
11. Soto S.M. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm // Virulence. – 2013.– Vol.4. – Р. 223–229.
12. Sutherland I.W. Polysaccharide lyases// Microbiology.– 2001. –Vol.147.– P. 3.
13. White T.C., Marr K.A., Bowden R.A. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance // Clin. Microbiol. Rev. – 2008. – Vol. 11. – Р.382–402.

**Науковий керівник:**

к.б.н., доц.Русакова М.Ю.