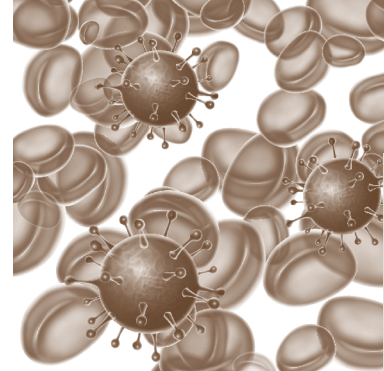


Новые возможности борьбы с биопленками при заживлении хронических ран



Бехало В.А.,
Сысолятина Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 123098, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Хронические раны являются серьезной проблемой для общественного здравоохранения. Инфицирование раневых поверхностей приводит к формированию биопленок. Состав бактерий в биопленках может изменяться. Микроорганизмы биопленки бывают устойчивыми к антибиотикам и антисептикам, что делает традиционное лечение малоэффективным.

Цель обзора – оценка роли биопленок при хронических раневых инфекциях и их влияния на процесс заживления хронических ран с анализом терапевтических стратегий.

Материал и методы. Для поиска источников научной информации использованы базы данных PubMed, Scopus, Web of Science и Google Scholar. Ключевые слова: «хронические раны», «хронические раневые инфекции», «биопленка» и «терапевтические подходы к борьбе с биопленкой». В результате поиска найдено 1250 статей, для анализа отобраны 60.

Результаты и обсуждение. В научном обзоре кратко описан процесс заживления хронических ран, инфицированных бактериями, способными образовывать биопленки. Представлены методы борьбы с образованием биопленок и способы их разрушения.

Заключение. Альтернативные терапевтические стратегии борьбы с биопленками включают терапию бактериофагами, ферментами, антимикробную фотодинамическую терапию, плазменную обработку и применение антимикробных пептидов. Преимуществами этих методов являются клиническая эффективность и возможность использовать их в комплексе с традиционными подходами при лечении хронических ран.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. Разработка концепции и планирование, поиск и извлечение литературы, написание текста, редактирование – Бехало В.А.; ответственность за целостность всех частей обзора, редактирование, утверждение окончательного варианта рукописи – Сысолятина Е.В.

Для цитирования: Бехало В.А., Сысолятина Е.В. Новые возможности борьбы с биопленками при заживлении хронических ран // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2025. Т. 14, № 1. С. 80–89. DOI: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2025-14-1-80-89>

Статья поступила в редакцию 18.09.2024. Принята в печать 14.01.2025.

Ключевые слова:
хронические раны;
хронические
раневые
инфекции;
биопленка;
терапевтические
подходы против
биопленки

New possibilities for biofilm control during chronic wounds healing

Bekhalo V.A., Sysolyatina E.V.

National Research Center for Epidemiology and Microbiology
named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Ministry
of Health of the Russian Federation 123098, Moscow, Russian
Federation

Abstract

Chronic wounds are a serious public health problem because they are often associated with chronic infections and require long-term, expensive treatment. Infection of wound surfaces leads to the formation of biofilms – multicellular structures consisting of metabolically active and inactive cells and a matrix. The composition of bacteria in biofilms may vary, as well as their effect on the wound healing process. Biofilms often show resistance to antibiotics and antiseptics, which makes traditional treatment ineffective.

The aim of the review is to evaluate the role of biofilms in chronic wound infections and their effect on the healing process of chronic wounds with an analysis of therapeutic strategies.

Material and methods. The databases PubMed, Scopus, Web of Science and Google Scholar were used to search for sources of scientific information. The key words are “chronic wounds”, “chronic wound infections”, “biofilm” and “therapeutic approaches to biofilm control”. As a result of the search, 1,250 articles were found, and 60 were selected for analysis.

Results and discussion. The scientific review briefly describes the healing process of chronic wounds infected with bacteria capable of forming biofilms. Methods of combating biofilm formation and methods of their resolution are presented.

Conclusion. Alternative therapeutic strategies for biofilm control include bacteriophage therapy, enzymes, antimicrobial photodynamic therapy, plasma treatment, and the use of antimicrobial peptides. The advantage of these methods is their clinical effectiveness and the ability to use them in combination with traditional approaches to treating chronic wounds.

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Contribution. Concept development and planning, literature search and extraction, text writing, editing – Bekhalo V.A.; responsibility for the integrity of all parts of the review, editing, approval of the final version of the manuscript – Sysolyatina E.V.

For citation: Bekhalo V.A., Sysolyatina E.V. New possibilities for biofilm control during chronic wounds healing. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye* [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]. 2025; 14 (1): 80–9. <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2025-14-1-80-89> (in Russian)

Received 18.09.2024. **Accepted** 14.01.2025.

Keywords:

chronic wounds;
chronic wound
infections; biofilm;
therapeutic
approaches against
biofilm

Хронические раны представляют серьезную проблему для общественного здравоохранения в связи с длительным периодом заживления, требующим значительных затрат. Важным фактором, препятствующим заживлению этих ран, является формирование в них бактериальных биопленок – структурированных сообществ бактерий, заключенных в экзополисахаридный матрикс. Микроорганизмы в составе биопленок защищены не только от иммунного ответа хозяина, но и от средств химиотерапии.

В связи с этим разрабатываются альтернативные терапевтические стратегии, направленные на нарушение структуры и функции биопленок. В обзоре рассмотрены несколько подходов, включая терапию бактериофагами, ферментативное лечение, антимикробную фотодинамическую терапию, плазменную терапию и применение антимикробных пептидов (АМП). Проведен анализ потенциала существующих инновационных методов с акцентом на новые подходы к повышению эффективности лечения хронических ран.

Цель – оценка роли биопленок при хронических раневых инфекциях, их влияния на процесс заживления хронических ран с анализом терапевтических стратегий.

Материал и методы

Проведен систематический поиск научной информации, имеющей отношение к хроническим ранам, хроническим

раневым инфекциям, биопленкам и терапевтическим подходам против биопленок. Для поиска использованы базы данных PubMed, Scopus, Web of Science и Google Scholar.

Стратегия поиска разработана с использованием комбинации ключевых слов и логических операторов для обеспечения всестороннего охвата. Ключевые слова для поиска источников научной информации: «хронические раны», «хронические раневые инфекции», «биопленка» и «терапевтические подходы к борьбе с биопленкой». При необходимости применены дополнительные фильтры и термины сетки для уточнения результатов.

В рамках первоначального поиска найдено 1250 статей. После удаления дубликатов и проверки названий и аннотаций 300 исследований были определены как потенциально значимые. Они были дополнительно оценены на предмет соответствия установленным критериям включения и исключения, таким как соответствие теме, публикация в рецензируемых журналах и наличие полных текстов на английском языке.

После детального изучения полных текстов 60 статей были признаны подходящими для включения в анализ. Отобранные исследования представляют собой широкий спектр экспериментальных, клинических и обзорных статей,

посвященных патофизиологии хронических ран, роли биопленок в персистенции инфекции и инновационным терапевтическим подходам к лечению биопленок.

Результаты

Фазы заживления ран: клеточные популяции и регуляторные механизмы

Заживление ран состоит из последовательных этапов: гемостаза, воспаления, пролиферации и ремоделирования. Каждый этап играет значимую роль в восстановлении целостности и функциональности тканей. Гемостаз начинается сразу после травмы и длится несколько минут. В это время тромбоциты взаимодействуют с коллагеном поврежденных кровеносных сосудов. Это активирует тромбоциты, вызывая их агрегацию и адгезию в месте повреждения. Активированные тромбоциты высвобождают гранулы с факторами свертывания, что приводит к образованию волокон фибрина, а затем тромба. Тромб служит не только физическим барьером, препятствующим кровопотере, но и основой для последующих процессов заживления ран на клеточном уровне [1].

После установления гемостаза начинается фаза воспаления. Она характеризуется привлечением нейтрофилов к месту повреждения. Вырабатывая активные формы кислорода (АФК) и другие антимикробные вещества, нейтрофилы играют важную роль в защите от инфекции. Они также высвобождают сигналы, которые способствуют пролиферации фибробластов [2] и ангиогенезу. По мере прогрессирования фазы воспаления в область раны мигрируют моноциты, где они дифференцируются в макрофаги типа М1. Такие макрофаги играют значимую роль в выработке провоспалительных цитокинов, которые усиливают воспалительную реакцию, а также в фагоцитозе мертвых нейтрофилов и другого клеточного дебриса [3]. Эта фаза длится от нескольких часов до нескольких дней.

Переход от стадии воспаления к стадии пролиферации характеризуется трансформацией макрофагов типа М1 в макрофаги типа М2. Эти макрофаги выделяют различные факторы роста, играющие ключевую роль в процессе регенерации тканей. Эпидермальный фактор роста (англ. Epidermal Growth Factor, EGF) стимулирует деление кератиноцитов и их миграцию через раневую область, запуская процесс реэпителизации. Фактор роста эндотелия сосудов (англ. Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) способствует формированию новых кровеносных сосудов, обеспечивая приток питательных веществ и кислорода к тканям. Фактор роста фибробластов (англ. Fibroblast Growth Factor, FGF) стимулирует деление фибробластов, которые начинают синтезировать и откладывать коллаген, постепенно замещая временный фибриновый матрикс грануляционной тканью, что является характерной чертой стадии пролиферации [4]. Этот этап может длиться от нескольких дней до нескольких недель.

В ходе заключительной фазы заживления (ремоделирования) временная грануляционная ткань заменя-

ется более прочным внеклеточным матриксом (ВКМ), вырабатываемым фибробластами. ВКМ богат коллагеном и другими структурными белками, которые придают новообразованной ткани прочность на растяжение. Ключевую роль в заживлении раны, уменьшая ее размер и восстанавливая барьерную функцию кожи, играют миофибробласты – специализированные сократительные клетки. В итоге между синтезом коллагена и деградацией временной грануляционной ткани достигается баланс, что обеспечивает созревание и функциональное восстановление зажившей ткани [5]. За счет этих скоординированных этапов процесса заживления устраняются повреждения тканей, восстанавливаются барьерная функция кожи и тканевый гомеостаз.

Каждый из этих этапов включает активацию различных клеток и выработку многочисленных веществ, таких как цитокины и хемокины, которые играют важную роль в регуляции иммунного ответа организма [5]. Продолжительность каждого этапа может изменяться в зависимости от размера, типа, глубины раны и состояния здоровья пациента.

Патофизиология хронических ран: механизмы замедления заживления и терапевтические мишени

В отличие от острых ран, которые проходят все стадии репарации своевременно, заживление хронических ран останавливается в фазе воспаления. Это приводит к каскаду патологических явлений, которые серьезно затрудняют заживление раны [6].

Характерно для хронических ран избыточное присутствие нейтрофилов и макрофагов в области раны. Эти иммунные клетки играют важную роль на начальных этапах ранозаживления, но при этом они продуцируют большие количества активных форм кислорода (АФК) [7] и протеолитических ферментов, которые способствуют непрерывному повреждению тканей и разрушению ВКМ. Продолжительное воспаление и чрезмерное производство АФК создают неблагоприятную среду, которая ухудшает функционирование клеток и еще больше замедляет процесс заживления.

В хронических ранах часто нарушается процесс ангиогенеза. Это приводит к гипоксии и некрозу тканей, что дополнительно осложняет процесс заживления. Дефицит функционирующих кровеносных сосудов также препятствует эффективной доставке иммунных клеток и терапевтических агентов в рану, что усугубляет состояние [8].

Ключевыми клетками, обеспечивающими закрытие раневого дефекта, являются фибробласты и кератиноциты. Фибробласты, играющие ключевую роль в производстве ВКМ и ремоделировании тканей, подвержены процессу старения при хронических ранах. Стареющие фибробласты обладают более низкой способностью к пролиферации и синтезу компонентов ВКМ, таких как коллаген. Это приводит к недостаточной выработке ВКМ, что критически важно для структурной целостности и прочности формирующейся ткани. Недостаточное производство ВКМ дополнительно затрудняет процесс уменьшения площади и закрытия раны, тем

самым поддерживая хроническое состояние [8]. Еще одним процессом, нарушенным в хронических ранах, является реэпителизация, при которой кератиноциты мигрируют и покрывают раневую поверхность. Постоянная воспалительная среда и присутствие биопленок препятствуют пролиферации и миграции кератиноцитов. Деградация ВКМ и постоянное повреждение тканей препятствуют созданию стабильной основы, необходимой для движения кератиноцитов. Это нарушение приводит к неполному или замедленному заживлению раны, поддерживая хроническое состояние [8].

Наличие длительного воспаления, характерное для хронических ран, способствует активной колонизации очага бактериями и формированию биопленок. Согласно исследованиям, около 80% инфекций, возникающих после хирургических вмешательств, включая хронические раневые инфекции, связаны с бактериями, способными образовывать биопленки [9]. Биопленки представляют собой сложные структуры, состоящие из множества клеток микроорганизмов, которые окружены защитным слоем внеклеточного полимерного вещества (EPS – extracellular polymeric substance). Эта структура обеспечивает защиту бактерий от воздействия иммунной системы организма и противомикробных препаратов. Наличие биопленки приводит к поддержанию хронического воспаления, нарушению нормальных процессов заживления и развитию устойчивости к антибиотикам, что значительно усложняет лечение ран.

Механизмы образования биопленок и развития резистентности

Процесс образования биопленки представляет собой сложную и строго регулируемую последовательность событий, которая позволяет бактериям формировать устойчивые сообщества в сложных условиях, включая хронические раны. Он состоит из ряда этапов, каждый из которых регулируется системами микробиологической коммуникации, известными как чувство кворума (quorum sensing – QS). Образование биопленок увеличивает выживаемость бактерий и их устойчивость к лечению, создавая значительные проблемы в медицинской практике. Понимание механизмов образования и регуляции биопленок, включая роль чувства кворума, является критически важным для разработки эффективных стратегий разрушения биопленок и улучшения терапевтических результатов при лечении хронических ран.

Процесс формирования биопленки начинается, когда свободно плавающие планктонные бактерии контактируют с поверхностью, например, раневого ложа благодаря слабым обратимым взаимодействиям, опосредованным структурами клеточной поверхности, такими как пили или фимбрии. По мере усиления взаимодействия бактерии выделяют адгезивные вещества, которые способствуют необратимому связыванию [10].

Прочно прикрепившись, бактерии начинают размножаться и формируют небольшие скопления, известные как микроколонии. Микроколонии производят и выделяют вовне внеклеточное полимерное вещество (extracel-

lular polymeric substance, EPS). Такая матрица, состоящая из полисахаридов, белков, нуклеиновых кислот и липидов, обеспечивает структурную стабильность и защиту бактериального сообщества [11].

Важную роль в функционировании и устойчивости биопленок, особенно в отношении устойчивости к антибиотикам, играет внеклеточная ДНК. В частности, было обнаружено, что она способствует резистентности к аминогликозидам у синегнойной палочки [12].

По мере роста микроколонии трансформируются в сложную трехмерную структуру биопленки. Фаза созревания характеризуется продолжающимся производством и накоплением EPS. Это имеет решающее значение для поддержания целостности биопленки и защиты бактерий от воздействия окружающей среды, включая антимикробные препараты и иммунные реакции. Полное созревание биопленки в сложную трехмерную структуру обычно происходит в течение 7–14 дней, но может занять и больше времени в зависимости от условий окружающей среды (биологические загрязнения) и характеристик бактерий.

Формирование и поддержание биопленок строго регулируются уже упоминавшейся системой QS – механизмом межклеточной коммуникации, который позволяет бактериям координировать свое поведение в зависимости от плотности популяции. QS включает производство, высвобождение и обнаружение сигнальных молекул, известных как аутоиндукторы. Микроорганизмы могут иметь разное количество систем чувства кворума. Так, у *P. aeruginosa* их три – Las, Rhl и Pqs. Они тесно взаимосвязаны и работают согласованно, регулируя экспрессию генов в ответ на накопление специфических сигнальных молекул [13]. А у золотистого стафилококка одна система QS – Agr [14]. По мере увеличения популяции бактерий в микроколонии возрастает концентрация аутоиндукторов в окружающей среде. Когда достигается пороговая концентрация, эти сигнальные молекулы связываются со специфическими рецепторами на бактериальных клетках, активируя сигнальные пути QS. Эти пути регулируют экспрессию генов, участвующих в различных клеточных функциях, включая выработку EPS, метаболизм и вирулентность [15].

В зрелой биопленке создаются градиенты питательных веществ, кислорода и сигнальных молекул, которые формируют различные ниши внутри биопленки. Эти ниши поддерживают разнообразие и специализацию бактерий, позволяя им адаптироваться к различным условиям внутри биопленки. В некоторых областях биопленки могут находиться активно растущие клетки, в то время как в других располагаются метаболически неактивные клетки, обладающие высокой устойчивостью к противомикробным препаратам.

Матрица из EPS не только обеспечивает физическую защиту, но и облегчает горизонтальный перенос генов, способствуя генетическому разнообразию и распространению генов устойчивости к антибиотикам. Устойчивость биопленки дополнительно усиливается наличием персистеров – подгруппы бактерий: клеток, которые

способны выживать при длительном воздействии высоких доз антибиотиков. Персистеры обладают разной степенью устойчивости и классифицируются на более и менее чувствительные (неглубокие и глубокие персистеры) [16].

При хронических ранах образование биопленки значительно замедляет процесс заживления. Защитная матрица из пенополистирола и измененное метаболическое состояние бактерий, ассоциированных с биопленкой, делают их менее восприимчивыми к антибиотикам и снижают эффективность иммунного ответа организма. Эта персистирующая инфекция усугубляет воспаление, задерживает повторную эпителизацию и препятствует закрытию раны. В случае формирования полимикробной биопленки микроорганизмы разных видов, входящие в ее состав, могут обмениваться генетической информацией, что способствует развитию дополнительной устойчивости к противомикробным препаратам [17].

Клинические симптомы образования биопленок в ране включают следующие признаки: 1) устойчивость к лечению антибиотиками или антисептиками, что может указывать на наличие бактериальной резистентности; 2) отсутствие положительной динамики при использовании соответствующих антибиотиков или антисептиков, что может свидетельствовать о неэффективности применяемых методов лечения; 3) замедление процесса заживления, что может быть связано с нарушением репарации; 4) повторяющиеся циклы инфекций или обострений указывают на хронический характер заболевания; 5) избыточное образование экссудата может быть признаком активного воспаления; 6) хроническое воспаление низкой степени выраженности может указывать на длительное присутствие патогенных микроорганизмов; и 7) незначительная эритема, которая может быть связана с наличием бактериальной инфекции [18].

При наличии такого большого комплекса симптомов врачи-клиницисты сталкиваются с серьезной проблемой, связанной с диагностикой, вызванной тем, что бактерии в состоянии биопленки не способны к росту в условиях культивирования на питательных средах. Единственный метод, позволяющий точно диагностировать микробную биопленку, – это сканирующая электронная микроскопия, однако данный метод не применяется в клинической практике [19]. Дополнительные методы могут включать полимеразную цепную реакцию, денатурирующий гель-электрофорез в градиенте, *in situ* гибридизацию и флуоресцентную микроскопию, но они также не применяются в рутинной практике [20].

Чтобы преодолеть прочность биопленок, предлагаются различные стратегии, такие как терапия бактериофагами, ферментативные методы лечения, антимикробная фотодинамическая терапия, терапия холодной плазмой, а также использование АМП. Эти подходы могут стать эффективными методами для борьбы с инфекциями, связанными с образованием биопленок.

Терапия бактериофагами: механизмы, преимущества и иммуномодулирующий потенциал воздействия на биопленки синегнойной палочки *Pseudomonas aeruginosa*

Стойкая и эластичная природа биопленок, особенно тех, которые образуются синегнойной палочкой, создает серьезные проблемы при лечении. Многообещающей стратегией борьбы с биопленками *P. aeruginosa* является применение бактериофагов [21].

Бактериофаги, или фаги, представляют собой вирусы, способные инфицировать бактериальные клетки. Они обладают уникальной структурой, которая позволяет им прикрепляться к стенкам бактериальных клеток и проникать внутрь. Фаги обычно развиваются по литическому и/или лизогенному циклам.

В литическом цикле фаг внедряется в бактериальную клетку, активно размножается внутри нее и в конечном итоге приводит к ее лизису, высвобождая новые фаговые частицы. Этот процесс обеспечивает высокую эффективность уничтожения бактерий, что делает его основанием для потенциального терапевтического применения фагов.

В отличие от литического цикла, лизогенный цикл характеризуется интеграцией генома фага в ДНК хозяина. В этом случае фаг пассивно реплицируется вместе с клеткой хозяина до тех пор, пока не будет активирован для перехода в литический цикл. Этот механизм позволяет фагу сохраняться в популяции бактерий, обеспечивая постоянную защиту от инфекции [22].

Таким образом, с одной стороны, бактериофаги могут использоваться как мощный инструмент с прямым антибактериальным действием, обладающий высокой специфичностью и эффективностью против целевых бактерий. С другой стороны, известно, что бактериофаги могут ингибировать образование биопленок *P. aeruginosa*, регулируя механизмы QS [21]. Нарушая сигнальные пути QS, фаги препятствуют координации жизнедеятельности бактерий, что необходимо для созревания биопленки. Это приводит к неспособности бактерий эффективно продуцировать EPS и предотвращает первоначальное образование биопленки.

Бактериофаги также могут воздействовать на уже сформировавшиеся биопленки *P. aeruginosa* и разрушать их [21]. Фаги инфицируют бактериальные клетки, находящиеся внутри биопленки, размножаясь в них и в конечном итоге вызывая их лизис. Эта литическая активность уменьшает популяцию бактерий в биопленке, ослабляя ее структурную целостность. Кроме того, при фаго-опосредованном лизисе высвобождаются бактериальные ферменты, которые могут разрушать матрицу EPS, что приводит к дальнейшему разрушению структуры биопленки.

Терапия бактериофагами имеет ряд преимуществ перед традиционными противомикробными препаратами. Бактериофаги обладают высокой специфичностью, которая гарантирует, что фаги воздействуют только на определенный вид бактерий, (например, на *P. aeruginosa*), не нанося вреда полезной микробиоте [23]. Такой подход сводит к минимуму сопутствующий ущерб микробному сообществу хозяина.

Еще одним достоинством бактериофагов является способность эволюционировать параллельно со своими бактериальными мишенями. Такая динамика совместной эволюции позволяет фагам адаптироваться к механизмам бактериальной резистентности, сохраняя свою эффективность с течением времени [24]. Эта способность к адаптации является значительным преимуществом в борьбе с антибиотикорезистентными бактериями.

Фаготерапию можно сочетать с традиционными антибиотиками для повышения эффективности лечения [25]. Поскольку фаги могут разрушать матрицу биопленки, тем самым они улучшают проникновение лекарств и снижают устойчивость микроорганизмов. Этот синергетический эффект может привести к более эффективному уничтожению биопленок. Интересно, что использование фагов обычно приводит к развитию чрезмерной воспалительной реакции нейтрофилов.

По-видимому, это связано с тем, что при воздействии фагов наблюдается незначительное повышение уровня интерлейкина-8 (IL-8) – хемокина, ответственного за привлечение иммунных клеток к очагам инфекции. IL-8 играет решающую роль в организации иммунного ответа, привлекая нейтрофилы и другие иммунные клетки к очагам инфекции. Способность фагов индуцировать выработку IL-8 позволяет предположить, что они могут играть определенную роль в модулировании иммунного ответа, потенциально повышая способность организма выявлять и устранять бактериальные инфекции [26].

Такая модуляция иммунного ответа фагами может иметь терапевтические последствия. Тонко воздействуя на уровни цитокинов, фаги могут помочь направить иммунные клетки к месту инфекции, потенциально повышая эффективность уничтожения бактерий и избегая при этом побочных эффектов, связанных с чрезмерным воспалением. Это свойство может быть особенно ценным при лечении хронических или персистирующих инфекций, когда для эффективного лечения необходим сбалансированный иммунный ответ. Для того чтобы полностью понять механизмы, лежащие в основе фагово-иммунных взаимодействий, и оптимизировать фаготерапию для клинического применения, необходимы дальнейшие исследования.

Фаготерапия уже показала положительные результаты в экспериментальных моделях и некоторых клинических случаях, особенно при лечении хронических ран и респираторных инфекций у пациентов с муковисцидозом [27]. Однако для ее широкого клинического применения необходимо подготовить нормативно-правовую базу и стандартизированные протоколы получения, очистки и определения характеристик фагов. Еще одним важным направлением работы должно стать предотвращение развития устойчивости к фагам аналогично антибиотикорезистентности [28]. Для предотвращения этого необходимы постоянный мониторинг и разработка фаговых коктейлей (комбинаций различных фагов).

Энзибиотики: новый класс противомикробных препаратов, воздействующих на бактериальные клетки и биопленки

Энзибиотики – это собирательный термин, происходящий от двух терминов: «энзимы» и «антибиотики». Первоначально его употребляли применительно к эндолизинам, гидролазам пептидогликана, которые синтезируются бактериофагами [29]. В настоящее время к энзибиотикам относят также деполимеразы полисахаридов [30], синтезируемые бактериофагами и способные расщеплять бактериальные полисахариды, включая матрикс биопленок [31]. Кроме этого, к энзибиотикам относят аутолизины – самостоятельно вырабатываемые бактериальные ферменты, которые расщепляют пептидогликан, способствуя ремоделированию клеточной стенки и отделению дочерних клеток во время клеточного деления [32]; бактериоцины – антибактериальные белки или пептиды, вырабатываемые бактериями, которые подавляют рост близкородственных штаммов бактерий [31]; лизоцимы и грибковые эндогликанызы – природные ферменты, которые разрушают клеточные стенки бактерий и грибов соответственно, что подчеркивает их потенциал в качестве антимикробных средств широкого спектра действия [31].

Одним из наиболее перспективных направлений терапии с использованием энзибиотиков является применение эндолизинов. Они имеют высокую специфичность (чаще всего в пределах близких видов) и не оказывают влияния на эукариотические клетки человека и животных, а также на естественную микрофлору [33]. Развитие устойчивости к эндолизинам маловероятно по нескольким причинам. Во-первых, они взаимодействуют с высококонсервативными молекулами клеточной стенки; во-вторых, бактериофаги и бактерии коэволюционируют уже длительное время; в-третьих, эндолизины воздействуют на клеточную стенку снаружи, а не изнутри, поэтому активный эффлюкс и снижение проницаемости мембраны не будут снижать их эффективность. Некоторые эндолизины имеют два каталитических домена, которые гидролизуют разные химические связи пептидогликана, что дополнительно снижает вероятность формирования резистентности к ним. Антибактериальный эффект эндолизинов на грамотрицательные бактерии ограничен проницаемостью наружной мембраны; тем не менее охарактеризовано несколько видов эндолизинов, действующих против микроорганизмов группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и виды *Enterobacter*) [34].

Проводятся исследования по применению препаратов эндолизинов *in vivo* [35], например при использовании антибактериального геля из трех эндолизинов, эффективных в отношении грамотрицательных бактерий (LysAm24, LysAp22, LysECD7), для лечения абсцессов, вызванных *Fusobacterium necrophorum* у кроликов. В ходе экспериментов показано уменьшение коли-

чества лейкоцитов и сегментоядерных нейтрофилов в крови, замедление распространения инфекции и почти двукратное увеличение выживаемости животных [34].

Эндолизины оказывают и антибиопленочный эффект. Установлено, что инкубирование их с биопленками с большим (*Klebsiella pneumoniae*) и малым (*Acinetobacter baumannii*) количеством экзополисахаридного матрикса приводило, как минимум, к двукратному снижению биомассы. Механизм действия был, по-видимому, связан с разрушением кислых экзополисахаридов (для LysAp22), сильной ДНК-связывающей способностью (LysAm24) и сочетанием этих свойств [36]. В других исследованиях было показано, что коктейль из альгинатного геля с эндолизином LysSi3 и лизостафином подавлял рост колонизирующих кожу *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae*, а также развитие смешанных биопленок этих культур за счет разрушения матрикса [34]. Тем не менее не все механизмы действия эндолизинов на биопленки еще понятны.

Таким образом, энзибиотики представляют собой универсальный и мощный класс противомикробных средств, обладающих потенциалом для решения растущей проблемы устойчивости к антибиотикам. Обладая высокой специфичностью в отношении планктонных бактериальных клеток и биопленок, эти ферменты обеспечивают выраженный антибактериальный эффект *in vitro* и *in vivo*. Дальнейшие исследования и разработки энзибиотиков могут привести к созданию новых эффективных методов лечения бактериальных инфекций, в том числе и хронических инфекций ран.

Достижения в области антимикробной фотодинамической терапии и синергетические подходы к усиленной эрадикации бактерий, в том числе при хронической инфекции ран

Антимикробная фотодинамическая терапия (АФДТ) и связанная с ней фотодинамическая антимикробная химиотерапия продемонстрировали высокую активность против бактериальных патогенов, в том числе в виде биопленок.

В этих методах используются фотосенсибилизаторы, активируемые светом определенной длины волны, которые генерируют АФК, вызывающие окислительное повреждение микробных клеток. В отличие от традиционных антибиотиков, АФДТ показала минимальный потенциал развития резистентности [37], что делает ее перспективной для лечения бактериальных инфекций, вызванных как планктонными, так и биопленочными формами. Эффективность АФДТ заключается в том, что воздействие оказывается одновременно на несколько мишеней и повреждения происходят на разных уровнях. При активации светом фотосенсибилизатор переходит в возбужденное состояние, передавая энергию молекулярному кислороду для получения АФК, включая синглетный кислород $O_2^1\Delta g$, супероксидные анионы ($\bullet O_2^-$) и гидроксильные радикалы ($\bullet OH$) [38]. Эти АФК вызывают обширные повреждения липидного бислоя мембран, белков и нуклеиновых кислот, что приводит к гибели бактериальных клеток [39].

Химическое повреждение мембран еще более усугубляется окислительным повреждением мембраносвязанных белков и ферментов, нарушающим важнейшие функции бактерий. Кроме того, АФДТ вызывает денатурацию бактериальных белков и фрагментацию ДНК, что в конечном итоге приводит к гибели клеток [40].

Широкий спектр действия АФДТ в сочетании с его способностью разрушать биопленки – общий механизм бактериальной резистентности дает ему значительное преимущество перед традиционными противомикробными препаратами. АФДТ эффективна против биопленок, воздействуя как на бактериальные клетки внутри них, так и на внеклеточные полимерные вещества (EPS), которые обеспечивают структурную целостность [38]. АФК, образующиеся при АФДТ, могут разрушать EPS, способствуя более глубокому проникновению препарата и усиливая его антимикробную активность.

Для повышения эффективности АФДТ используют в комплексе с различными другими неинвазивными методами лечения, оказывающими добавочный и синергетический эффекты. К ним относится, например, фототермическая гипертермия, которая подразумевает использование агентов, преобразующих свет в тепло, вызывая локализованную гипертермию. Это приводит к непосредственному уничтожению бактериальных клеток и/или повышает их чувствительность к другим методам воздействия [41]. При использовании АФДТ в сочетании с фототермической терапией может разрушаться бактериальные биопленки и усиливать поглощение фотосенсибилизаторов, что приводит к увеличению выработки АФК и усилению антибактериальных эффектов [42]. Для магнитной гипертермии используются магнитные наночастицы, которые выделяют тепло при воздействии переменного магнитного поля [43]. Такое локальное нагревание может повысить проницаемость бактериальных мембран, делая их более восприимчивыми к повреждениям, вызванным АФДТ. Сочетание фотодинамической терапии с традиционными антибиотиками может привести к синергетическому эффекту, когда окислительный стресс, вызванный АФДТ, повышает восприимчивость бактерий к антибиотикам [44]. Эта комбинация также может снизить дозу антибиотиков, потенциально снижая риск развития резистентности.

Другим способом повысить эффективность АФДТ является комбинация различных методов, применение комплекса АФДТ с сонодинамической терапией (СДТ). В СДТ используют ультразвук для активации определенных соносенсибилизаторов, продуцирующих АФК аналогично АФДТ [45]. Доказано, что комбинация СДТ и АФДТ повышает глубину проникновения активных компонентов в ткани и антимикробную эффективность, особенно при глубоко укоренившихся инфекциях. Фотодинамическая терапия может быть усилена нанозимами – наноматериалами с ферментативной активностью, способными также генерировать АФК при определенных условиях [46]. В сочетании с АФДТ нанозимы могут усиливать выработку АФК, тем самым усиливая антимикробное действие и преодолевая ограничения обычных фотосенсибилизаторов.

Антимикробная фотодинамическая терапия и связанные с ней методы являются многообещающей альтернативой традиционным антибиотикам, особенно в условиях растущей устойчивости к противомикробным препаратам. Способность АФДТ воздействовать как на планктонные бактерии, так и на биопленки в сочетании с минимальным потенциалом развития резистентности делает его ценным инструментом в борьбе с бактериальными инфекциями ран. Более того, интеграция АФДТ с другими неинвазивными методами лечения, такими как фототермическая гипертермия, магнитная гипертермия, химиотерапия антибиотиками и плазменной терапией, может еще больше повысить его эффективность за счет дополнительных и синергетических эффектов [47].

Применение низкотемпературной (холодной) плазмы

Плазма – это четвертое состояние вещества, ионизированный газ, состоящий из электронов, ионов, свободных радикалов, заряженных и нейтральных частиц, ультрафиолетового излучения и электромагнитного поля. Ионизированный газ с макроскопической температурой, незначительно превышающей комнатную, и температурой электронов ниже 10 000 К называется низкотемпературной плазмой (НТП) [48]. Благодаря воздействию на объект комплекса активных частиц эффекты НТП простираются от антибактериальных и ранозаживляющих до противоопухолевых [49].

Воздействие НТП может быть как прямым (при обработке поверхности ионизированным газом), так и опосредованным (при использовании жидкостей, обработанных НТП). Эффекты применения НТП зависят от ряда параметров: состава и влажности плазмообразующего газа (воздух, аргон, гелий), типа плазмотрона, способа генерации плазмы (барьерный разряд, коронный разряд, сверхвысокие частоты), условий экспозиции и частоты применения [50].

НТП оказывает выраженное антибактериальное действие за счет повреждения клеточной стенки, мембран, белков и ДНК бактерий реактивными кислородными частицами и их производными, воздействия ультрафиолетового излучения и заряженных частиц [51].

Установлено, что плазменная обработка приводит к разрушению матрикса биопленок многих видов бактерий [52] и нарушению производства сигнальных молекул чувства кворума, например, у *P. aeruginosa*. В совокупности это повышает эффективность терапии ран и других методов антибактериального воздействия, например антибактериальной химиотерапии.

Использование НТП в заживлении инфицированных ран показало, что терапевтический потенциал этого метода связан не только с антибактериальным эффектом. Обработка НТП приводила к переходу хронических ран в острые за счет регуляции воспаления, взаимодействия реактивных частиц с тканями, стимуляции выработки факторов роста и паракринных сигналов [53].

Преимуществами применения НТП являются простота метода, его неинвазивность, сочетание антимикробного эффекта со стимуляцией пролиферации клеток и улучшением микроциркуляции, что приводит к ускорению заживления и снижению затрат на лечение. Вероятность развития устойчивости к плазменному воздействию также маловероятно в связи с большим количеством мишеней, на которые оказывается воздействие [54].

Применение антимикробных пептидов

АМП также играют важную роль в защите от широкого спектра патогенов, включая бактерии, грибы, вирусы, паразиты и даже раковые клетки. АМП представляют собой важный компонент врожденной иммунной системы всех живых организмов [55]. Эти пептиды обычно состоят из 12–100 аминокислот, имеют суммарный положительный заряд благодаря остаткам лизина и аргинина, что позволяет им избирательно связываться с анионными компонентами микробных мембран, такими как фосфолипиды, липополисахариды и тейхоевая кислота. Однако существуют также анионные АМП, которые встречаются реже и обычно функционируют за счет других механизмов, таких как связывание ионов металлов или специфических молекул на поверхности микроорганизмов. Структурные особенности АМП, например амфифильность и катионная природа, являются ключевыми для их биологической функции, поскольку они позволяют этим пептидам взаимодействовать с отрицательно заряженными мембранами патогенов и разрушать их [56]. АМП могут быть классифицированы на основе нескольких критериев, включая их вторичную структуру, заряд, гидрофобность, аминокислотный состав и длину [57]. Основным механизмом действия многих АМП является разрушение мембран микробных клеток, обычно сопровождающееся образованием пор в мембране, что приводит к лизису и гибели клеток. Образование пор описывают следующие модели: 1) бочкообразная модель, в которой АМП проникают перпендикулярно мембране и агрегируются, образуя бочкообразную структуру с центральной порой; 2) модель с тороидальными порами, в которой пептиды индуцируют непрерывный изгиб монослоев липидов; 3) модель «ковра», в которой АМП покрывают поверхность мембраны подобно ковру, нарушая целостность мембраны, образуя временные поры или вызывая мицелляризацию [58]. Помимо своего действия, направленного на мембрану, АМП могут также проникать в клетки и нарушать такие внутриклеточные процессы, как ингибирование синтеза нуклеиновых кислот, нарушение свертывания белков и взаимодействие с внутриклеточными мишенями, вызывая апоптоз или ингибируя метаболические пути. В дополнение к своей прямой антимикробной активности АМП обладают широким спектром иммуномодулирующих свойств. Они могут модулировать иммунный ответ хозяина, влияя на активность различных иммунных клеток – макрофагов, дендритных и Т-клеток, и могут действовать как сигнальные молекулы, запуская выработку цитокинов, хемокинов и других медиа-

торов, которые координируют иммунный ответ [59]. Эта двойная роль как антимикробных средств, так и модуляторов иммунитета делает АМР особенно важными в контексте инфекций и воспалений.

АМП также играют важную роль в заживлении ран и восстановлении тканей, где они могут усиливать миграцию и пролиферацию эпителиальных клеток, способствовать ангиогенезу и модулировать внеклеточный матрикс. Их способность уменьшать воспаление и одновременно бороться с инфекцией подчеркивает их потенциал в качестве терапевтических средств, особенно при лечении хронических ран, воспалительных заболеваний и рака [60].

Заключение

В представленном обзоре рассмотрены различные методы борьбы с планктонными бактериями и находящимися в составе биопленок. Рассмотренные стратегии включают терапию бактериофагами, ферментами, антимикробную фотодинамическую терапию, плазменную обработку и применение АМП. Каждый из этих подходов может применяться для разрушения биопленок, снижая устойчивость бактерий к традиционным методам лечения. Важнейшим преимуществом обозначенных методов является низкая вероятность развития к ним устойчивости и возможность использовать их в комплексе с традиционными подходами, что позволяет улучшить результаты лечения.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бехало Владимир Андреевич (Vladimir A. Bekhalo)* – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции иммунитета и иммунологической толерантности ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

E-mail: vbekhalo@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-4491-9919>

Сысолятина Елена Владимировна (Elena V. Sysolyatina) – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией онтогенеза и коррекции системы интерферона ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

E-mail: elena.sysolyatina84@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-1168-4159>

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Abazari M., Ghaffari A., Rashidzadeh H., Badeleh S.M., et al. A systematic review on classification, identification, and healing process of burn wound healing. *Int J Low Extrem Wounds*. 2022; 21 (1): 18–30.
- Niwetbowornchai N., Chaisiriratt T., Sriswasdi S., Saithong S., et al. Human neutrophil peptide regulates dermal fibroblast functions. *Sci Rep*. 2023; 13 (1): 17499. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44889-8> PMID: 37840103; PMCID: PMC10577140.
- Diban F., Di Lodovico S., Di Fermo P., D'Ercole S., et al. Biofilms in chronic wound infections: innovative antimicrobial approaches using the in vitro Lubbock chronic wound biofilm model. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (2): 1004. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24021004>
- Naskar A., Kim K.S. Recent advances in nanomaterial-based wound-healing therapeutics. *Pharmaceutics*. 2020; 12 (6): 499. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12060499> PMID: 32486142; PMCID: PMC7356512.
- Botelho Sampaio de Oliveira K., Lopes Leite M., Albuquerque Cunha V., Brito da Cunha N. et al. Challenges and advancements in antimicrobial peptide development. *Drug Discov Today*. 2023; 28 (8): 103629. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103629> PMID: 37230283.
- Hassannia M., Naderifar M., Salamy S., Akbarizadeh M.R., et al. Engineered phage enzymes against drug-resistant pathogens: a review on advances and applications. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2024; 47 (3): 301–12. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00449-023-02938-6> PMID: 37962644.
- Manoharan R.R., Prasad A., Pospíšil P., Kzyshkowska J. ROS signaling in innate immunity via oxidative protein modifications. *Front Immunol*. 2024; 15: 1359600. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1359600> PMID: 38515749; PMCID: PMC10954773.
- Wilkinson H.N., Hardman M.J. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open Biol*. 2020; 10 (9): 200223. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsob.200223> PMID: 32993416; PMCID: PMC7536089.
- Hrynshyn A., Simões M., Borges A. Biofilms in surgical site infections: recent advances and novel prevention and eradication strategies. *Antibiotics*. 2022; 11 (1): 69. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010069> PMID: 35052946; PMCID: PMC8773207.
- Zhao A., Sun J., Liu Y. Understanding bacterial biofilms: from definition to treatment strategies. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023; 13: 1137947. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>
- Muhammad M.H., Idris A.L., Fan X., Guo Y., et al. Beyond risk: bacterial biofilms and their regulating approaches. *Front Microbiol*. 2020; 11: 928. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00928>
- Dutt Y., Dhiman R., Singh T., Vibhuti A., et al. The association between biofilm formation and antimicrobial resistance with possible ingenious bio-remedial approaches. *Antibiotics*. 2022; 11: 930. URL: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070930>
- Qin S., Xiao W., Zhou C., et al. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduct Target Ther*. 2022; 7: 199. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>
- Idrees M., Sawant S., Karodia N., Rahman A. *Staphylococcus aureus* biofilm: morphology, genetics, pathogenesis and treatment strategies. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18 (14): 7602. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph18147602> PMID: 34300053; PMCID: PMC8304105.
- Erkihun M., Asmare Z., Endalamew K., Getie B., et al. Medical scope of biofilm and quorum sensing during biofilm formation: systematic review. *Bacteria*. 2024; 3: 118–35. DOI: <https://doi.org/10.3390/bacteria3030008>
- Niu H., Gu J., Zhang Y. Bacterial persisters: molecular mechanisms and therapeutic development. *Signal Transduct Target Ther*. 2024; 9: 174. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01866-5>
- Maisetta G., Batoni G. Editorial: interspecies interactions: effects on virulence and antimicrobial susceptibility of bacterial and fungal pathogens. *Front Microbiol*. 2020; 11: 1922. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01922> PMID: 32983002; PMCID: PMC7479088.
- Sen C.K., Roy S., Mathew-Steiner S.S., Gordillo G.M. Biofilm management in wound care. *Plast Reconstr Surg*. 2021; 148 (2): 275e–88e. DOI: <https://doi.org/10.1097/PRS.00000000000008142> PMID: 34398099; PMCID: PMC8439557.
- Haesler E., Swanson T., Ousey K., Larsen D., et al. Establishing a consensus on wound infection definitions. *J Wound Care*. 2022; 31 (suppl 12): S48–59. DOI: <https://doi.org/10.12968/jowc.2022.31.Sup12.S48> PMID: 36475847.
- Cleaver L., Garnett J.A. How to study biofilms: technological advances in clinical biofilm research. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023; 13: 1335389. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1335389>

* Автор для корреспонденции.

21. Chegini Z., Khoshbayan A., Taati Moghadam M., Farahani I. Bacteriophage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: a review. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2020; 19: 1–17.
22. Fortaleza J.A.G., Ong C.J.N., De Jesus R. Efficacy and clinical potential of phage therapy in treating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections: a review. *Eur J Microbiol Immunol.* 2024; 14 (1): 13–25. DOI: <https://doi.org/10.1556/1886.2023.00064> PMID: 38305804; PMCID: PMC10895361.
23. Alipour-Khezri E., Skurnik M., Zarrini G. *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages and their clinical applications. *Viruses.* 2024; 16 (7): 1051. DOI: <https://doi.org/10.3390/v16071051> PMID: 39066214; PMCID: PMC11281547.
24. Hasan M., Ahn J. Evolutionary dynamics between phages and bacteria as a possible approach for designing effective phage therapies against antibiotic-resistant bacteria. *Antibiotics.* 2022; 11 (7): 915. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070915> PMID: 35884169; PMCID: PMC9311878.
25. Manohar P., Loh B., Nachimuthu R., Leptihn S. Phage-antibiotic combinations to control *Pseudomonas aeruginosa*-*Candida* two-species biofilms. *Sci Rep.* 2024; 14 (1): 9354. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59444-2> PMID: 38653744; PMCID: PMC11039464.
26. Roach D.R., Noël B., Chollet-Martin S., de Jode M., et al. Human neutrophil response to *pseudomonas* bacteriophage PAK_P1, a therapeutic candidate. *Viruses.* 2023; 15 (8): 1726. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15081726> PMID: 37632068; PMCID: PMC10458410.
27. Singh J., Yeoh E., Fitzgerald D.A., Selvadurai H. A systematic review on the use of bacteriophage in treating *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. *Pediatr Respir Rev.* 2023; 48: 3–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2023.08.001> PMID: 37598024.
28. Koderi Valappil S., Shetty P., Deim Z., Terhes G., et al. Survival comes at a cost: a coevolution of phage and its host leads to phage resistance and antibiotic sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* multidrug resistant strains. *Front Microbiol.* 2021; 12: 783722. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.783722>
29. Zhang J., Wu H., Wang D., Zhang C., et al. Intracellular glycosyl hydrolase PslG shapes bacterial cell fate, signaling, and the biofilm development of *Pseudomonas aeruginosa*. *bioRxiv.* 2021. DOI: <https://doi.org/10.1101/2021.08.17.456744>
30. Knecht L.E., Veljkovic M., Fieseler L. Diversity and function of phage encoded depolymerases. *Front Microbiol.* 2020; 10: 2949. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02949> PMID: 31998258; PMCID: PMC6966330.
31. Danis-Wlodarczyk K.M., Wozniak D.J., Abedon S.T. Treating bacterial infections with bacteriophage-based enzybiotics: in vitro, in vivo and clinical application. *Antibiotics.* 2021; 10 (12): 1497. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121497> PMID: 34943709; PMCID: PMC8698926.
32. Merz M., Schiffer C.J., Klingl A., Ehrmann M.A. Characterization of the major autolysin (AtlC) of *Staphylococcus carnosus*. *BMC Microbiol.* 2024; 24 (1): 77. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03231-6> PMID: 38459514; PMCID: PMC10921637.
33. Gondil V.S., Chhibber B. Bacteriophage and endolysin encapsulation systems: a promising strategy to improve therapeutic outcomes. *Front Pharmacol.* 2021; 12: 675440. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.675440> PMID: 34025436; PMCID: PMC8138158.
34. Vasina D.V., Antonova N.P., Grigoriev I.V., Yakimakh V.S., et al. Discovering the potentials of four phage endolysins to combat Gram-negative infections. *Front Microbiol.* 2021; 12: 748718. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.748718> PMID: 34721353; PMCID: PMC8548769.
35. Khan F.M., Rasheed F., Yang Y., Liu B., et al. Endolysins: a new antimicrobial agent against antimicrobial resistance. strategies and opportunities in overcoming the challenges of endolysins against Gram-negative bacteria. *Front Pharmacol.* 2024; 15: 1385261. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1385261>
36. Lendel A.M., Antonova N.P., Grigoriev I.V., Usachev E.V., et al. Biofilm-disrupting effects of phage endolysins LysAm24, LysAp22, LysECD7, and LysSi3: breakdown the matrix. *World J Microbiol Biotechnol.* 2024; 40 (6): 186. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-024-03999-9> PMID: 38683213.
37. Thi M.T.T., Wibowo D., Rehm B.H.A. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Int J Mol Sci.* 2020; 21 (22): 8671. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21228671> PMID: 33212950; PMCID: PMC7698413.
38. Songca S.P., Adjei Y. Applications of antimicrobial photodynamic therapy against bacterial biofilms. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (6): 3209. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23063209> PMID: 35328629; PMCID: PMC8953781.
39. Martins Antunes de Melo W.C., Celiešūtė-Germanienė R., Šimonis P., Stirkė A. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) for biofilm treatments. possible synergy between aPDT and pulsed electric fields. *Virulence.* 2021; 12 (1): 2247–72. DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1960105> PMID: 34496717; PMCID: PMC8437467.
40. Juan C.A., Pérez de la Lastra J.M., Plou F.J. Pérez-Lebeña E. The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (9): 4642. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22094642> PMID: 33924958; PMCID: PMC8125527.
41. Gunaydin G., Gedik M.E., Ayan S. Photodynamic therapy – current limitations and novel approaches. *Front Chem.* 2021; 9: 691697. DOI: <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.691697>
42. Dediu V., Ghitman J., Gradisteanu Pircalabioru G., Chan K.H., et al. Trends in photothermal nanostructures for antimicrobial applications. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (11): 9375. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24119375> PMID: 37298326; PMCID: PMC10253355.
43. Fatima H., Charinpanitkul T., Kim K.S. Fundamentals to apply magnetic nanoparticles for hyperthermia therapy. *Nanomaterials.* 2021; 11 (5): 1203. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano11051203> PMID: 34062851; PMCID: PMC8147361.
44. Pérez-Laguna V., García-Luque I., Ballesta S., Rezusta A., et al. Photodynamic therapy combined with antibiotics or antifungals against microorganisms that cause skin and soft tissue infections: a planktonic and biofilm approach to overcome resistances. *Pharmaceuticals.* 2021; 14 (7): 603.
45. Xu Y., Liu S., Zhao H., Li Y., et al. Ultrasonic irradiation enhanced the efficacy of antimicrobial photodynamic therapy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. *Ultrason Sonochem.* 2023; 97: 106423. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106423> PMID: 37235946; PMCID: PMC10230259.
46. Cong C., He Y., Zhao S., Zhang X., et al. Diagnostic and therapeutic nanoenzymes for enhanced chemotherapy and photodynamic therapy. *J Mater Chem B.* 2021; 9 (18): 3925–34. DOI: <https://doi.org/10.1039/d0tb02791j> PMID: 33942817.
47. Sisakhtnezhad S., Rahimi M., Mohammadi S. Biomedical applications of MnO2 nanomaterials as nanozyme-based theranostics. *Biomed Pharmacother.* 2023; 163: 114833. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114833> PMID: 37150035.
48. Акишев Ю.С. Низкотемпературная плазма при атмосферном давлении и ее возможности для приложений // Известия вузов. Химия и химическая технология. 2019. Т. 62, вып. 8. С. 26–60. [Akishev Yu.S. Low-temperature plasma under atmospheric pressure and its possibilities for applications. *Izvestiya vuzov. Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya* [Proceedings of Higher Educational Institutions. Chemistry and Chemical Technology]. 2019; 62 (8): 26–60. (in Russian)]
49. Prasad K., Sasi S., Weerasinghe J., Levchenko I., et al. Enhanced antimicrobial activity through synergistic effects of cold atmospheric plasma and plant secondary metabolites: opportunities and challenges. *Molecules.* 2023; 28 (22): 7481. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28227481> PMID: 38005203; PMCID: PMC10673009.
50. Das S., Gajula V.P., Mohapatra S., Singh G., et al. Role of cold atmospheric plasma in microbial inactivation and the factors affecting its efficacy. *Health Sci Rev.* 2022; 4: 100037.
51. Sulyatina E.V., Mukhachev A.Y., Yurova M., Grushin M.E., et al. Role of the charged particles in bacteria inactivation by plasma of a positive and negative corona in ambient air. *Plasma Process Polym.* 2014; 11: 315–34.
52. Mai-Prochnow A., Zhou R., Zhang T., Ostrikov K.K., et al. Interactions of plasma-activated water with biofilms: inactivation, dispersal effects and mechanisms of action. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 2021; 7 (1): 11. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41522-020-00180-6> PMID: 33504802; PMCID: PMC7841176.
53. Kolimi P., Narala S., Nyavanandi D., Youssef A.A.A., et al. Innovative treatment strategies to accelerate wound healing: trajectory and recent advancements. *Cells.* 2022; 11 (15): 2439. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11152439> PMID: 35954282; PMCID: PMC9367945.
54. Hiller J., Stratmann B., Timm J., Costea T.C., et al. Enhanced growth factor expression in chronic diabetic wounds treated by cold atmospheric plasma. *Diabetes Med.* 2022; 39 (6): e14787. DOI: <https://doi.org/10.1111/dme.14787> PMID: 35007358.
55. Cresti L., Cappello G., Pini A. Antimicrobial peptides towards clinical application—a long history to be concluded. *Int J Mol Sci.* 2024; 25 (9): 4870. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25094870> PMID: 38732089; PMCID: PMC11084544.
56. Goki N.H., Tehranizadeh Z.A., Saberi M.R., Khameneh B., et al. Structure, function, and physicochemical properties of pore-forming antimicrobial peptides. *Curr Pharm Biotechnol.* 2024; 25 (8): 1041–57. DOI: <https://doi.org/10.2174/013892010194428231017051836> PMID: 37921126.
57. Boparai J.K., Sharma P.K. Mini review on antimicrobial peptides, sources, mechanism and recent applications. *Protein Peptide Lett.* 2020; 27 (1): 4–16.
58. Zhang Q.Y., Yan Z.B., Meng Y.M., Hong X.Y., et al. Antimicrobial peptides: mechanism of action, activity and clinical potential. *Mil Med Res.* 2021; 8 (1): 48. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40779-021-00343-2> PMID: 34496967; PMCID: PMC8425997.
59. Kordi M., Talkhounche P.G., Vahedi H., Farrokhi N., et al. Heterologous production of antimicrobial peptides: notes to consider. *Protein J.* 2024; 43 (2): 129–58. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10930-023-10174-w> PMID: 38180586.
60. Ahmad A., Khan J.M., Bandy A.A. Systematic review of the design and applications of antimicrobial peptides in wound healing. *Cureus.* 2024; 16 (4): e58178. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.58178> PMID: 38741875; PMCID: PMC11089580.