



УДК: 606:61

ФАГОТЕРАПІЯ: АЛЬТЕРНАТИВА АНТИБІОТИКАМ У СТОЛІТТІ МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНОСТІ

Студ. Д.В. Ахтямова, Ю.С. Савіна, гр.БХФ 2-15
Наук.керівник доц. Т.А.Пальчевська
Київський національний університет технологій і дизайну

Мета і завдання. Розглянути і порівняти результати найактуальніших досліджень, щоб структурувати інформацію та зробити висновки щодо стратегій по боротьбі з мультирезистентними бактеріями. Особлива увага приділяється обраним бактеріальним модельним організмам, фаговим сім'ям і родинам.

Об'єкт та предмет дослідження. Об'єкт дослідження: фаги, фаго-кодовані літичні ферменти. Предмет: механізм дії біоінженерних фагів та їх можливе застосування у боротьбі з бактеріальними інфекціями.

Методи та засоби дослідження. Аналіз інтернет джерел, шляхом систематичного пошуку на платформах Medline та Pubmed, до березня 2019 року. Пошук був обмеженим дослідженнями, що опубліковані раніше 2010 року. Були проаналізовані довгострокові дослідження у котрих повідомлялося про альтернативу використання антибіотиків бактеріофагами.

Практичне значення отриманих результатів. Проблема антибіотикорезистентності стала глобальним викликом сьогодення. Головною його причиною вважають нераціональне застосування антибактеріальної терапії, адже це призводить до селекції хіміорезистентних штамів збудника. Антибіотики ефективно нейтралізують велику кількість видів бактерій. Деякі види бактерій здатні виробляти гени, які захищають їх від дії ліків. Вони виживають під час лікування, розмножуються і передають свої гени потомству. Через це ефективність препаратів в майбутньому суттєво знижується. У роботі набуло подальшого розвитку вивчення альтернативи антибіотикам.

Результати дослідження. Фаги - бактеріоспецифічні віруси, що складаються з ДНК або РНК, укладеної в капсид білка. Вони використовувалися для лікування таких патогенів, як *Shigella dysenteriae*, ще в 1919 році. Як природні бактеріальні паразити, фаги не здатні відтворюватися незалежно і в кінцевому рахунку їх виживання залежать від бактеріального господаря. Фаги, як правило, зв'язуються зі специфічними рецепторами на поверхні бактеріальних клітин, вводять свій генетичний матеріал у клітину-господаря, а потім або інтегрують цей матеріал в бактеріальний геном і відтворюються вертикально або захоплюють механізм реплікації бактерій для отримання наступного покоління фагового потомства («літичні» фаги) [2].

Більшість фагів є інфекційними тільки для бактерій, які несуть їх комплементарний рецептор, який ефективно визначає літичний фаговий діапазон господаря. Специфічність до господаря різниться між фагами, деякі з яких є специфічними тільки для певного виду штаму, тоді як інші продемонстрували здатність до інфекціонування цілого ряду бактеріальних штамів і навіть родів. З часом у бактерій з'явилися численні механізми, щоб протистояти інфекціонуванню літичними фагами, і фаги проявили настільки ж вражаючу різноманітність механізмів порушення цієї резистентності. Для бактерій це може включати в себе зміну або втрату рецепторів і інтеграцію ДНК-фага в систему кластерних регулярно вбудованих палиндромних повторів/системи CRISPR (CRISPR / Cas), Тоді як для фага це може включати в себе розпізнавання нових або змінених рецепторів і анти-CRISPR генів [2].



Серед найбільш перспективних досягнень фаготерапії є виділення фаго-кодованих літичних ферментів, які функціонально схожі з антимікробним еукаріотичним ферментом лізоцимом. Гени для літичних ферментів фагів експресуються бактеріальним господарем під час літичного циклу і допомагають фагу шляхом гідролізу клітинної стінки вивільненню вірусне потомство. Відкриття та аналіз цих білків відкриває можливості для розробки нових фармацевтичних препаратів на основі фагів. Два основних класи білків використовуються більшістю видів фагів під час лізису бактеріального господаря. Одним з яких є трансмембранний білок холін, а інший - гідролаза клітинної стінки пептидоглікану, що називається ендолізін (лізін). Ці два білки разом запускають лізис бактеріальної клітини. Холіновий білок діє як молекулярний «годинник» в літичному циклі. Під час процесу вірусної збірки всередині цитоплазми молекули холіну накопичуються в мембрані клітини. Наприкінці літичного циклу білки холіну утворюють отвір на цитоплазматичній стороні клітинної мембрани, дозволяючи білкам лізину отримувати доступ і гідролізувати клітинну стінку. Кожен фаг може кодувати декілька унікальних ферментів лізину і холіну, деякі з яких є дуже специфічними, але інші можуть проявляти активність широкого спектру між штамми і навіть між видами, як у випадку нещодавно відкритого лізину АВgp46. АВgp46 має здатність лізувати кілька грамнегативних і мультирезистентних патогенів, включаючи *A.baumannii*, *P.aeruginosa* і *Salmonella typhimurium* [2].

Об'єднання лізинів фагів і антибіотиків може бути більш ефективним для усунення інфекцій, ніж при застосуванні антибіотиків окремо, як продемонстровано *in vitro* і *ex vivo* в моделі товстої кишки з використанням *C.difficile* [3].

Недавнє дослідження показало, що лізини здатні навіть перетинати мембрани епітеліальних клітин для усунення важких внутрішньоклітинних інфекцій *S.pyogenes*. Фагові лізини також можуть порушувати вегетативні клітини, здатні атакувати ендоспори бактерій, що є виразною перевагою перед антибіотиками.

Зусилля по оптимізації лізинів шляхом біоінженерії дали певні перспективні результати. Оскільки лізини діють шляхом ферментативного розщеплення бактеріальної клітинної стінки, вони є менш ефективними проти грамнегативних бактерій, які мають непроникну зовнішню мембрану ліпополісахариду. У спробі розширити активність лізину до цільових грамнегативних патогенів, дослідники синтезували штучні молекули лізину, що називаються Artilynsins, вони здатні проникати у зовнішню мембрану. Деякі з цих лізинів утворюються шляхом об'єднання активного сайту ферменту лізину з ліпополісахаридними дестабілізуючими пептидами, що дозволяє молекулі проникати у зовнішню мембрану. До теперішнього часу було показано, що артилізини деколонізують *P.aeruginosa* в моделі нематодних кишок і захищають людські кератиноцити. Важливим показником є те, що бактерії не будуть розвивати стійкість до лізинів у зв'язку з тим, що лізини націлені на ділянки клітинної стінки пептидоглікану, що є критичним для бактеріальної життєздатності. Майбутній потенціал для застосування фази-лізину включає комбіноване лікування у поєднанні з антибіотиками, оскільки є більш ефективним [2].

На відміну від антибіотиків, фаги мають тенденцію бути специфічними як до виду, так і до штаму. У певних ситуаціях це може бути головною перевагою, враховуючи добре задокументовані, побічні ефекти антибіотиків широкого спектру дії на мікроби комменсального кишечника, які є відомими за побічними наслідками, такими як пов'язані з антибіотиками діарея та розлад травлення. Дані про побічні дії внаслідок терапії фагами обмежені, але, порівняно з антибіотиками, фагова терапія, як повідомляється, призводить до меншого знищення мікрофлори кишечника [3].

Висновки. Таким чином, використання фагів для боротьби з бактеріальними інфекціями, зокрема, з мультирезистентними бактеріями, все частіше свідчить про



перспективу терапії фагом як альтернативу або доповнення до антибіотиків. Проте, розбіжності в останніх дослідженнях щодо імуномодуючих ефектів і потенціалу горизонтального переносу генів дають зрозуміти, що потрібно глибше дослідити взаємодію між фагом, мікробіомом і людиною-господарем перед проведенням фаготерапії у великих масштабах. Підвищена ефективність антибактеріальних агентів в поєднанні означає, що терапія з використанням певної комбінації фагів, фагових лігичних білків, біоінженерних фагів та/або антибіотиків буде необхідна для вирішення зростаючої проблеми антибіотикорезистентних інфекцій.

Ключові слова. антибіотики, бактеріофаг, бактеріофагова терапія.

ЛІТЕРАТУРА

1. Singh PK, Donovan DM, Kumar A. Intravitreal injection of the chimeric phage endolysin Ply187 protects mice from Staphylococcus aureus endophthalmitis [Електронний ресурс] // Antimicrob Agents Chemother.. – 2014. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24890598>
2. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance [Електронний ресурс] // World J Gastrointest Pharmacol Ther. – 2017. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5547374/#B74>
3. Wittebole X, De Roock S, Opal SM. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. Virulence. [Електронний ресурс] // [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]. – 2014. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23973944>.