

ФАГОБИОТИКИ для здоровой жизни

Наше здоровье и долголетие тесно связаны со «здоровьем» микробиома – содружества микроорганизмов, обитающих в теле человека. На состояние этого важного «микробного органа», в свою очередь, влияют многие факторы – от антибиотиков до стресса. Использование бактериальных вирусов в виде пробиотиков для осторожного и направленного воздействия на микрофлору может стать профилактикой как тяжелых инфекционных болезней, так и неинфекционных, таких как дисбактериоз и некоторые виды рака. Это еще одно подтверждение того, что бактериофаги сегодня становятся технологической платформой, на которой можно потенциально разработать коммерческие продукты для самых разных целей, от лечения людей и животных до обеспечения безопасности пищевых продуктов

Ключевые слова: бактериофаги, фаготерапия, пробиотик, фагобиотик, фагосодержащие лекарства, фаговый биоконтроль.
Key words: bacteriophages, phage therapy, probiotics, phagebiotic, phage-based preparations, phage biocontrol

Несмотря на соблазн использовать бактериофаги во всех ситуациях, где задействованы бактериальные патогены, перед разработкой любого фагового продукта требуется провести тщательный и всесторонний анализ проекта, включая техническую осуществимость, стоимость, конкурентную среду и т. д. Важным фактором является и маркетинговая стратегия: некоторые фагосодержащие препараты лучше позиционировать как лекарства, однако другие можно использовать как биологически активные добавки-пробиотики, которые продаются без рецепта. Дело в том, что способность литических бактериофагов уничтожать определенные болезнетворные бактерии, не влияя на нормальную бактериальную флору, позволяет использовать их не только для лечения, но и для профилактики многих бактериальных заболеваний.

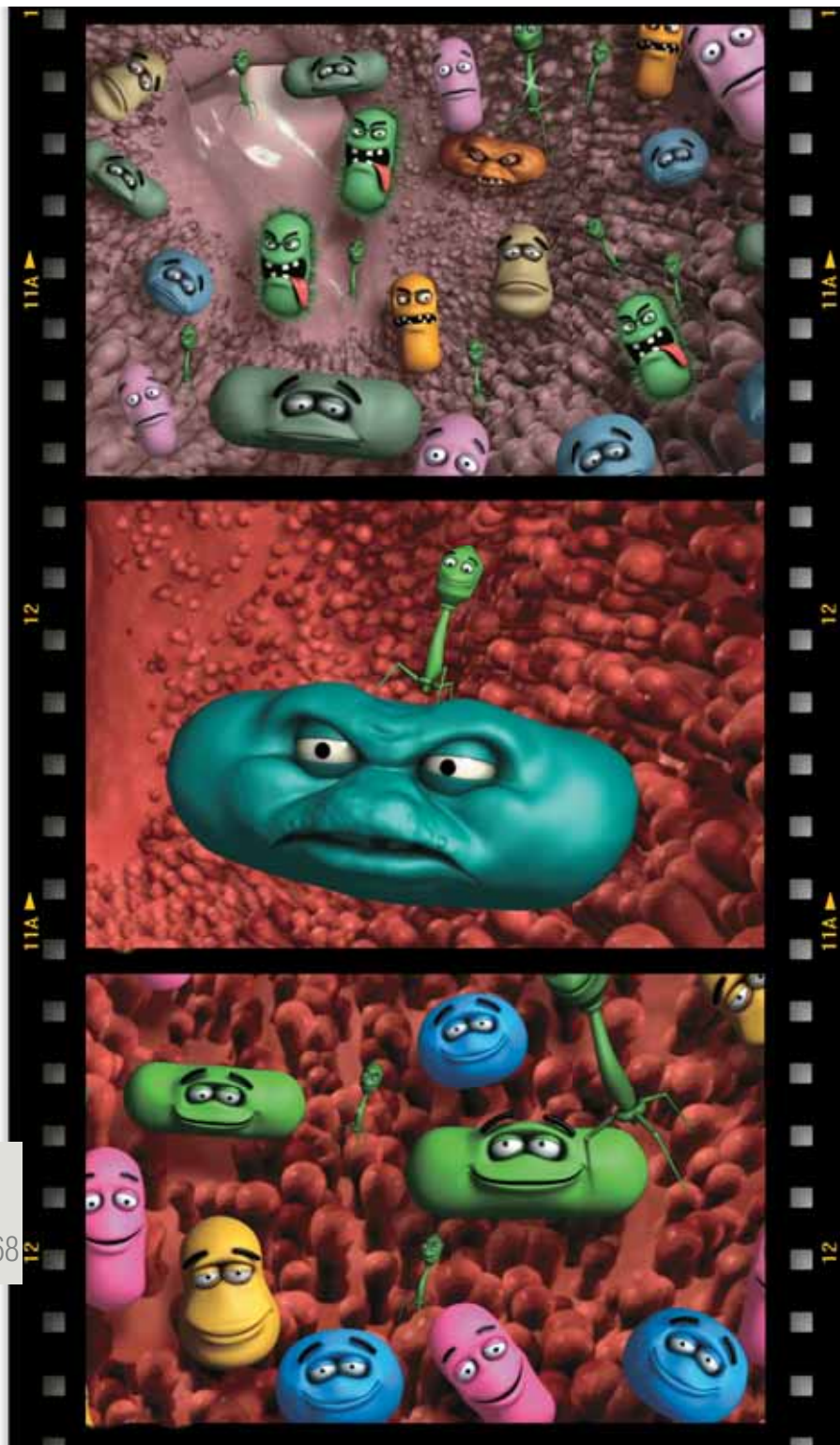
К примеру, фаговые препараты, мишень которых – патогены, вызывающие диарею, вполне могут стать биологически активной добавкой для профилактики таких острых кишечных инфекций, как шигеллез. Кстати сказать, об успешном применении фагов против *Shigella* spp. у людей свидетельствует ряд публикаций в научной литературе бывшего СССР (Goodridge, 2013). Такие пробиотики будут незаменимы для людей, много путешествующих по странам, где высока заболеваемость бактериальной диареей.

Более сложный сценарий подразумевает использование литических фагов для лечения, например, бактериальных осложнений ран, в которых участвует сразу несколько видов возбудителей. Эффективное лечение в этом случае требует комплексных фаговых препаратов, таких как грузинский *Puobacteriophage* и российский «Пиобактериофаг комплексный» (производства НПО «Микроген»). В США успешно прошли испытания поливалентного препарата, содержащего восемь литических фагов против трех видов патогенных бактерий, характерных для инфицированных ран (кишечной палочки, золотистого стафилококка и синегнойной палочки (Rhoads *et al.*, 2009)). Производство и контроль за качеством подобных препаратов требует



СУЛАКВЕЛИДЗЕ Александр – кандидат биологических наук, главный научный сотрудник и вице-президент по исследованиям и развитию компании *Intralytix* (Балтимор, США). Международный эксперт по технологиям использования фагов, главный редактор журнала «Бактериофаг». Автор ряда публикаций по фаготерапии и биоуправлению и 14 патентов

© А. Сулаквелидзе



Литические бактериофаги направленно атакуют патогенные бактерии, обитающие в наших органах, включая слизистую кишечника, не трогая полезную микрофлору

гораздо больших усилий, поэтому их предпочтительнее разрабатывать и продавать как традиционное лекарственное средство.

И, конечно, стоимость разработки, стратегии нормативно-правового регулирования и временные рамки для коммерциализации разных продуктов будут также существенно различаться.

Оптом и под заказ

Фагосодержащие лекарства позволяют быстро и адекватно реагировать на появление новых высокоэффективных патогенных клонов и фагустойчивых мутантов в популяциях бактерий. Так как фаги эволюционировали совместно с бактериями более 3 млрд лет (Lenski, 1984), при необходимости из окружающей среды можно относительно легко выделить фаги со способностью убивать любую бактериальную «мишень».

С практической точки зрения для этого нужно проводить мониторинг чувствительности патогена и по мере необходимости обновлять фагосодержащие препараты. Что касается первого условия, то тестирование бактерий на чувствительность к антибиотикам – стандартная практика во всех крупных больницах. Эти процедуры можно достаточно легко адаптировать под бактериофаги, повысив пропускную способность оборудования и внедрив фагоспецифичные протоколы.

Однако с нормативной точки зрения возможны трудности. Обновление фаговых препаратов путем замены старых штаммов на новые, более эффективные, успешно проводилось в бывшем СССР и странах Восточной Европы. Но такая практика вновь для западных регулирующих органов, для которых каждое изменение в лекарственном препарате служит предметом нового нормативного применения. Такие требования будут препятствовать

Бактериофаги относятся к наиболее распространенным организмам на Земле:

– одна столовая ложка (около 15 мл) обычной природной воды содержит около 3×10^9 фаговых частиц (Bergh *et al.*, 1989);

– фаги присутствуют, часто в огромных количествах, во всех свежих, необработанных продуктах (мясном фарше, колбасе, мясе курицы, пресноводной и морской рыбе, сыром молоке, сыре и другой «здоровой пище», включая йогурт) (Sulakvelidze & Kutter 2005);

– фаги присутствуют в кормах для животных и домашних птиц и в других кормовых ингредиентах (Maciorowski *et al.* 2001).

– по численности фаги являются вторыми после бактерий компонентами нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта (Breitbart *et al.* 2003; Sulakvelidze & Kutter 2005)

развитию новых эффективных средств на основе бактериальных вирусов, ориентированных на один или несколько патогенов (Sulakvelidze, 2012).

Позитивным моментом можно считать гибкость FDA (американского Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов) в отношении использования фагов для обеспечения безопасности пищевых продуктов. FDA разрешило в будущем обновлять несколько таких препаратов в ответ на появление в пищевых продуктах новых фагустойчивых штаммов бактериальных патогенов (Woolston & Sulakvelidze, 2015). Может ли подобный подход быть реализован для лечения человека, еще предстоит выяснить. Однако делать это необходимо, иначе мы не сможем оптимально использовать в здравоохранении все сильные стороны фаготерапии.

Следующая проблема возникает в связи с ситуацией, когда фаги подбираются индивидуально для каждого пациента. Так как литические фаги высоко специфичны, коммерческие фаговые препараты могут оказаться недостаточно эффективными в отношении конкретных штаммов, преобладающих в той или иной больнице или выделенных от конкретного пациента, как было не раз показано советскими исследователями (Zhukov-Verezhnikov *et al.*, 1978). Один из подходов к решению этой проблемы – проверка всех выделенных штаммов бактерий на чувствительность к фагам в поисках наиболее терапевтически активных вирусов. Подобный тип «персонализированной медицины» приобретает в мире все большую популярность, в том числе и в отношении выбора наиболее эффективного антибиотика.

Таким образом, чтобы фаготерапия выбрала весь свой потенциал, фаги должны быть «сделаны на заказ». С технической точки зрения это вполне выполнимо: например, можно собрать большие библиотеки охарактеризованных литических фагов и разработать



технологии быстрого скрининга их активности против выделенных бактериальных патогенов. Но это потребует некоторого творческого мышления от регулирующих органов.

Наконец, необходимо продумать логистику, чтобы такой подход был еще и коммерчески жизнеспособным. Может оказаться целесообразным на первых порах создать небольшое количество опорных клиник или центров с хорошо подготовленным персоналом, где будут реализованы соответствующие технологии. Число (размер) этих центров может впоследствии возрасти по мере того, как персонализированный подход к лечению будет завоевывать все больше сторонников среди специалистов-медиков.

Фаги-пробиотики

Одно из самых интригующих потенциальных применений бактериофагов – использование их в качестве пробиотиков для тонкой настройки микрофлоры желудочно-кишечного тракта и (или) других органов – кожи, полости рта, влагалища.

Большая часть бактерий находится в желудочно-кишечном тракте, который колонизирован обильной и разнообразной микрофлорой, играющей важную роль не только в образовании фекалий, но и в защите слизистых оболочек, регуляции иммунологической толерантности и синтеза витамина К. Многочисленные факторы (лечение антибиотиками, неправильное питание, психологический и физический стресс и др.) могут вызывать изменения состава микрофлоры кишечника, что способствует развитию различных



Препараты на основе бактериофагов могут решить многие проблемы со здоровьем в качестве дополнения к бактериальным пробиотикам

Терапевтическое применение фагов пришло в упадок после того, как в 1940—1950-гг. стали широко доступны антибиотики. Фаготерапию продолжали практиковать лишь в странах бывшего СССР и Восточной Европы и, в гораздо меньшем масштабе, во Франции, Швейцарии и Египте (Sulakvelidze & Kutter 2005). За это время появилось несколько сотен публикаций относительно различных терапевтических применений бактериофагов, но большинство из них, опубликованные преимущественно в русских и грузинских биомедицинских журналах, были недоступны для западных специалистов. Сейчас ситуация постепенно улучшается: например, недавно было опубликовано на английском языке несколько обзоров ученых из стран бывшего Советского Союза и Восточной Европы (Alisky *et al.*, 1998; Sulakvelidze & Kutter, 2005)

хронических и дегенеративных заболеваний, включая ревматоидный артрит.

Один из подходов к лечению этих расстройств – использование препаратов с полезными, «пробиотическими» микроорганизмами, которые при попадании в организм в достаточных количествах препятствуют распространению потенциально патогенных штаммов и восстанавливают нормальный микробный баланс желудочно-кишечного тракта, улучшая общее состояние здоровья. Традиционно такие «коктейли» содержат различные бактерии (чаще всего лакто- и бифидо-) и продаются как пищевые добавки, а также в виде напитков, детских смесей и т. п. (Schrezenmeir & de Vrese, 2001). В наши дни бактериальные пробиотики завоевывают все большую популярность по всему миру.

Однако в качестве пищевых добавок-пробиотиков можно использовать и литические бактериофаги, поражающие «проблемные» бактерии. Основное различие между бактериальными и фаговыми пробиотиками заключается лишь в характере их воздействия на патогены: «пробиотические» бактерии не допускают или препятствуют заселению органа опасными «интервентами», а фаги просто убивают их. При этом на микрофлору в целом фагобиотики должны будут действовать очень щадяще благодаря своей высокой активности лишь в отношении конкретных видов бактерий. Кроме



того, подобные препараты должны быть совместимы (по сути, синергичны) с бактериальными пробиотиками. Такой подход может служить в качестве платформы для разработки нового класса «супер пробиотиков».

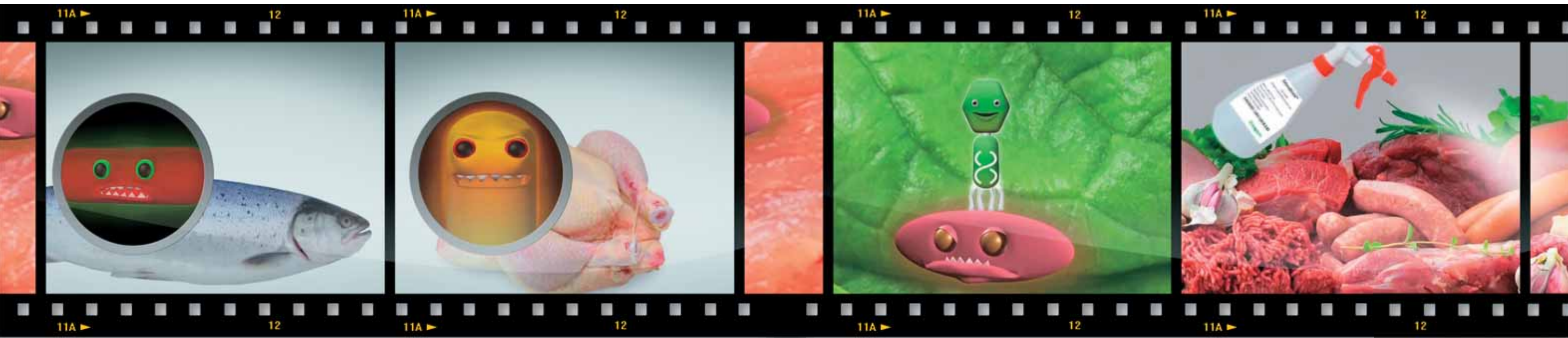
И дело даже не в названии: важно то, что фагобиотики могут решить многие потенциальные проблемы со здоровьем, так как их можно использовать в качестве новых средств профилактики таких значимых инфекционных заболеваний бактериальной этиологии, как, например, шигеллез, кариес, вызываемый *Streptococcus mutans*, кожные и глазные болезни (угри, хронический блефарит и эндофтальмит, вызываемые *Propionibacterium acnes*), «женские болезни» (бактериальный вагиноз, вызываемый *Fusobacterium nucleatum*).

Фагобиотический подход также открывает возможности профилактики неинфекционных заболеваний, таких как ожирение и некоторые виды рака, развитие которых, как показывают современные исследования, могут провоцировать определенные бактерии желудочно-кишечного тракта. К таким бактериям относятся, на пример, *E. coli* типа B2, *Bacteroides fragilis* и *Salmonella Typhi*, которые иногда так и называют «онкобактерия-

Производственная база американской биотехнологической компании *Intralytix, Inc.* (Балтимор, США). Фото автора

ми». И действительно, на сегодня установлена тесная связь гепатобилиарного рака (рака печени и желчных путей) с хронической инфекцией желчного пузыря, вызываемого этой сальмонеллой (Dutta *et al.*, 2000). Фаги, которые будут нацелены на такие бактерии, могут в принципе снизить частоту возникновения некоторых видов злокачественных опухолей.

Наконец, бактериофаги можно использовать и как уникальный инструмент для исследований функциональной организации микробиомов млекопитающих. Например, с их помощью можно уничтожить или значительно уменьшить численность специфических видов бактерий в желудочно-кишечном тракте лабораторных животных, что будет «пробиотической версией» так называемого *генетического нокаута*. Изучив последовавшие за этим вмешательством местные и системные физиологические изменения, можно оце-



нить роль этих бактерий в микробиоме и их значимость для поддержания здоровья. Никакие другие доступные в настоящее время антибактериальные агенты не дают такой возможности «прицельно» изучить конкретную подгруппу бактерий.

Фаговый биоконтроль

Медленно, но неуклонно завоевывает признание в США и концепция использования бактериофагов для обеспечения безопасности пищевых продуктов. Все больше производителей пищевых продуктов признают преимущество использования бактериальных вирусов; о бактериофагах и их широком распространении в окружающей среде больше узнают и сами потребители.

С помощью фагов можно действительно безопасным и экологически чистым способом снизить количество патогенных бактерий (листерий, патогенных штаммов кишечной палочки, сальмонелл и др.) в пищевых продуктах без потери их питательной ценности и с сохранением нормальной, часто полезной микрофлоры. Для этого к продуктам добавляются (к примеру, распыляются по поверхности) соответствующие литические бактериофаги в нужной концентрации. Если бактерий-мишеней в продуктах не появится, то со временем фаги просто исчезнут.

За последние годы FDA уже одобрила несколько таких препаратов для обеспечения безопасности пищевых продуктов (Sulakvelidze, 2012; Woolston & Sulakvelidze, 2015). Первым официально признанным фагосодержащим препаратом для пищевых продуктов (в том числе готовых к применению) стал *ListShield* от компании *Intralytix, Inc.* Кстати сказать, он является на сегодняш-

ний день единственным препаратом на основе фага, одобренным FDA в качестве пищевой добавки. Препарат активен в отношении бактерии *Listeria monocytogenes*, вызывающей тяжелое заболевание, которое у людей со слабым иммунитетом может приводить к серьезным осложнениям и даже летальному исходу.

Еще нескольким фагосодержащим препаратам для пищевых продуктов присвоен статус GRAS (*Generally Recognized As Safe* – «в целом признаны безопасными»). Вероятно, что большинство, если не все, фагосодержащие препараты для обеспечения безопасности пищевых продуктов (а, возможно, и для «пробиотических» приложений) будут продаваться в США именно в этом статусе.

Большинство фаговых препаратов для обработки пищевых продуктов (в том числе *ListShield*) не содержат консервантов и не изменяют состав, вкус, аромат и цвет продуктов. Некоторые из них являются кошерными и халяльными и входят в список «органических материалов» международной некоммерческой организации *National Review Institute*, которая определяет условия, необходимые для качественного производства и переработки органической продукции. По сути, эти фаговые препараты признаны пригодными для использования в производстве органических пищевых продуктов (Woolston & Sulakvelidze, 2015).

Чтобы фаготерапия стала широко доступной во всем мире, безусловно, необходимо решить ряд технических и других проблем (Sulakvelidze & Kutter, 2005; Sulakvelidze, 2011). Однако, учитывая уже имеющийся потенциал бактериофагов для безопасного и эффективного лечения заболева-

ний, вызванных бактериями со множественной лекарственной устойчивостью, давно назрела необходимость приложить все усилия по внедрению этого природного антибактериального подхода в современную медицину.

Что касается пробиотического использования фагов, то в течение ближайших лет будет, очевидно, разработано несколько таких препаратов, и начать можно с фагобиотиков для профилактики и лечения диареи четко установленной бактериальной этиологии (например, того же шигеллеза). В конечном счете фагобиотический подход может быть использован для поддержания нормальной бактериальной флоры в целом, что будет служить профилактикой многих болезней, в том числе неинфекционной природы. В этом смысле фаги смогут играть важную роль в нашей жизни, представляя собой уникальный инструмент для изучения, тонкой настройки и укрепления важнейшего «микробного органа» нашего организма.

Иллюстрации предоставлены автором

В пищевых продуктах могут содержаться бактерии, вызывающие кишечные инфекции. Чтобы снизить вероятность заражения, их можно обрабатывать фаговыми препаратами, прицельно убивающими только патогены

Литература

- Alisky, J., K. Iczkowski, A. Rapoport and N. Troitsky. *Bacteriophages show promise as antimicrobial agents* // *J. Infect.* 1998. V. 36(1). P. 5–15.
- Bergh, O., K. Y. Borsheim, G. Bratbak and M. Haldal. *High abundance of viruses found in aquatic environments* // *Nature.* 1989. V. 340(6233). P. 467–468.
- Breitbart, M., I. Hewson, B. Felts, et al. *Metagenomic analyses of an uncultured viral community from human feces* // *J. Bacteriol.* 2003. V. 185(20). P. 6220–6223.
- Lenski, R. E. *Coevolution of bacteria and phage: are there endless cycles of bacterial defenses and phage counterdefenses?* *J. Theor. Biol.* 1984. V. 108(3). P. 319–325.
- Maciorowski, K. G., S. D. Pillai and S. C. Ricke. *Presence of bacteriophages in animal feed as indicators of fecal contamination* // *J. Environ. Sci. Health.* 2001. V. 36(5). P. 699–708.
- Rhoads, D. D., R. D. Wolcott, M. A. Kuskowski, et al. *Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial* // *J. Wound Care.* 2009. V. 18(6). P. 237–238, 240–233.
- Sulakvelidze, A. *Challenges of bacteriophage therapy.* *Industrial Pharmaceutical Microbiology* // N. Hodges and G. Hanlon. Passfield, England, Euromed Communications, Ltd. 2012. S13.11–S13.20.
- Sulakvelidze, A., E. Kutter. *Bacteriophage therapy in humans.* *Bacteriophages // Biology and Application.* E. Kutter, A. Sulakvelidze. Boca Raton, FL, CRC Press. 2005. P. 381–436.
- Woolston, J., A. Sulakvelidze. *Bacteriophages and food safety eLS.* Chichester, John Wiley & Sons, Ltd. 2015.
- Zhukov-Verezhnikov, N. N., L. D. Peremitina, E. A. Berillo et al. (1978). *Therapeutic effect of bacteriophage preparations in the complex treatment of suppurative surgical diseases* // *Sov. Med.* 1978. V. 12. P. 64–66.