

В. В. ВЛАСОВ, В. В. МОРОЗОВА, Н. В. ТИКУНОВА

Правда о фаготерапии, или Памятка врачу и пациенту

Первые клинические эксперименты с бактериофагами начались сто лет назад. Казалось, что этот новый метод терапии обречен на успех: с научной точки зрения он выглядел безупречным, и результаты применения выглядели многообещающими. Почему же в последующие десятилетия интерес к терапевтическому применению бактериофагов в мире упал? Почему он возник вновь, и почему эта замечательная идея до сих пор не реализована в полной мере? И практические врачи, и их пациенты сегодня должны четко представлять не только суть, но и все сильные и слабые стороны этого перспективного вида терапии

Бактериофаги – это не обычные лекарства. Они не являются простыми химическими веществами, как антибиотики и большинство других препаратов, но их вряд ли можно считать и полноценными живыми организмами, так как они, как и все остальные вирусы, могут размножаться только в клетке-хозяине. По сути, это нанороботы с генетической программой, способные проникнуть внутрь бактериальной клетки и там размножиться, разрушив ее.

Поэтому к бактериофагам не всегда применимы стандартные для фармакологии нормы и подходы. И хотя фаговые препараты сегодня производятся и используются в медицине, наши знания о многообразии этих вирусов, механизмах их взаимодействия с бактериями и конкуренции с себе подобными пока недостаточны, чтобы в полной мере использовать их мощный терапевтический потенциал.

Безопасно и эффективно

Фаготерапия родилась едва ли не сразу после открытия самих бактериофагов, однако широкие испытания этих противобактериальных средств начали проводиться в СССР только в конце 1930-х гг. В результате была доказана эффективность препаратов бактериофагов как профилактического средства при борьбе с эпидемиями дизентерии и холеры, а использование их при лечении ран и гнойно-воспалительных процессов показало их потенциал как альтернативы антибиотикам.

Однако результаты исследований тех времен были зачастую противоречивы: иногда фаги сразу подавляли развитие инфекционных процессов, но иногда оказывались бесполезными. Специалисты сразу поняли, в чем причина: лечение было успешным лишь тогда, когда использовались фаги, способные инфицировать именно тот бактериальный штамм, который и вызвал заболевание. Поэтому при возникновении эпидемии требовалось выделить инфекционный агент, проверить на нем имеющиеся фаговые препараты и запустить в производство в качестве лекарства наиболее эффективный бактериофаг.

К сожалению, результаты подобных исследований, проводившихся в СССР, не были должным образом документированы и описаны в научной литературе, к тому же они проводились по схемам, не соответствующим принятым на сегодня протоколам клинических испытаний. Тем не менее главные результаты этой работы были бесспорны: фаги доказали свою безопасность и высокую эффективность в реальных условиях и с тех пор используются в нашей стране в клинической практике наряду с обычными лекарственными средствами.

С появлением антибиотиков интерес к фагам на Западе был утрачен, но после появления антибиотикоустойчивых штаммов бактерий в разных странах начали разрабатывать фаговые препараты и проводить испытания, которые, по сути, повторяли исследования, уже проведенные в СССР. Результаты этих работ вновь



ВЛАСОВ Валентин Викторович – академик РАН, доктор химических наук, профессор, директор Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Лауреат Государственной премии РФ (1999). Автор и соавтор более 300 научных работ, 20 патентов



МОРОЗОВА Вера Витальевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Автор более 30 научных работ, 6 патентов.



ТИКУНОВА Нина Викторовна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 120 научных работ, 21 патента

Ключевые слова: бактериофаги, фаготерапия, фагосодержащие лекарства,
Key words: bacteriophages, phage therapy, phage-based preparation

© В. В. Власов, В. В. Морозова Н. В. Тикунова, 2016

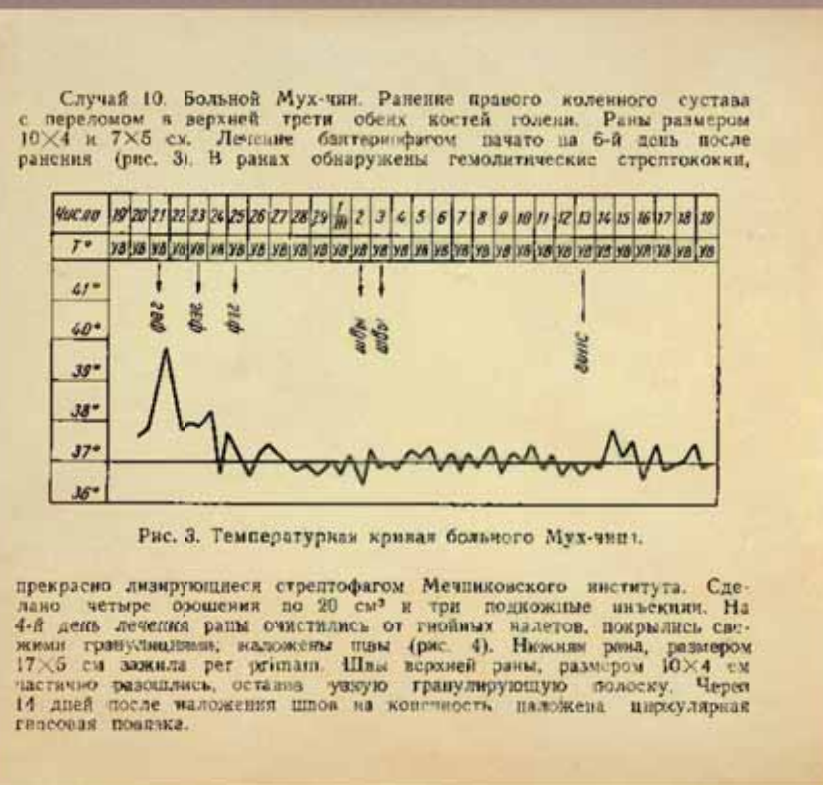


↓
Бакпосев для выявления патогенного микроорганизма

↑
Обработка раны фаговым препаратом



В новосибирской клинике проводится экспериментальное лечение диабетической стопы – грозного осложнения диабета, которое может привести к гангрене, потере конечности и инвалидизации больного. Бактериальная инфекция является одним из факторов, вызывающих эту тяжелую патологию. При фаговой терапии диабетической стопы из больных тканей берут мазок для выявления конкретной бактерии-патогена. Затем из коллекции бактериофагов подбирают тот, который способен лизировать именно эту бактерию. Фаговый препарат наносят на стерильную салфетку, которую прикладывают к ране. Лечение длится около недели



АНТИБИОТИКИ

Достоинства:

широкий спектр действия;
простота патентования

Недостатки:

разрушают собственную микрофлору организма, что создает угрозу вторичных инфекций;
не способны концентрироваться в области инфекционного поражения;
вызывают побочные эффекты: аллергии, кишечные расстройства и т. д.;
приводят к возникновению бактериальных штаммов с лекарственной устойчивостью;
создание новых антибиотиков – длительный и дорогостоящий процесс

БАКТЕРИОФАГИ

Достоинства:

специфичность действия, для любой бактерии можно найти убивающий ее бактериофаг;
поиск нового фага занимает несколько дней или недель;
производство недорогое и экологически чистое;
не вызывают дисбактериоз;
не токсичны и не вызывают побочных эффектов;
после уничтожения патогенного агента элиминируются из организма

Недостатки:

слишком высокая избирательность – для гарантии успеха лечения нужно идентифицировать патоген;
патентование затруднено

ЗНАКОМЬТЕСЬ – ФЕКОТРАНСПЛАНТАЦИЯ

После лечения антибиотиками в кишечнике иногда происходит быстрое размножение агрессивной бактерии рода клостридий – *Clostridium difficile*, вызывающей тяжелейшую диарею, не поддающуюся медикаментозному лечению. Проблема настолько серьезна, что еще недавно от этой болезни в США погибали ежегодно тысячи больных. Лечить эту диарею научились совсем недавно и очень простым способом – вводя в кишечник больного фекальную микрофлору, взятую от здорового донора. Выздоровление часто наступает практически мгновенно, буквально на следующий день. Очевидно, при такой «пересадке» фекалий больной получает полный набор «правильных» микроорганизмов, уничтоженных антибиотиками, плюс бактериофаги, регулирующие численность патогенных штаммов.

Первоначально распространение метода в США сдерживалось FDA, которое пыталось использовать в его отношении принципы регулирования, принятые для обычных лекарств. Однако протесты терапевтов и больных наряду с очевидной безопасностью процедуры сыграли свою роль, и ее разрешили проводить, используя обычные меры предосторожности – выбор здоровых доноров и проведение процедуры специалистами в лечебных учреждениях. Этот метод лечения в последние несколько лет получил в США широкое распространение, давая хорошие результаты. Вероятно, только предубеждением врачей можно объяснить тот странный факт, что лечение фекоотрансплантацией сегодня практикуется не во всех европейских странах, а в России его можно получить только в Центре новых медицинских технологий в новосибирском Академгородке

подтвердили безопасность препаратов бактериофагов, что, в частности, отметило и Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (FDA).

В Великобритании успешно проведены эксперименты по лечению бактериофагами хронического отита, вызванного нечувствительной к антибиотикам синегнойной палочкой *Pseudomonas aeruginosa*, а в рамках проекта *Phagoburn* семь медицинских центров Франции, Бельгии и Швейцарии проводят клинические испытания коктейля фагов для предотвращения инфекций при ожогах. Об испытаниях собственных оригинальных коктейлей фагов для лечения широкого спектра заболеваний сообщает и ряд американских фирм (*Intralytix*, *Enbiotix*, *AmpliPhi*). Правда ни одно из этих масштабных клинических испытаний пока не доведено до конца.

Что такое «медицинский бактериофаг»?

В России препараты бактериофагов можно приобрести в обычной аптеке. Но при этом нужно понимать, что в отличие от других лекарств с точной химической формулой и концентрацией действующих компонентов препарат бактериофага представляет собой нестандартный раствор, содержащий живые вирусные частицы. Даже препарат с одним и тем же названием, но произведенный на разных предприятиях или в разное время, может содержать отличающиеся комбинации и (или) пропорции фагов.

Все эти различия обусловлены самой спецификой процедуры отбора фагов и их производства. Бактериофаги отбирают по способности лизировать конкретный изолят бактерии, затем смесь фагов выращивают на заданной бактериальной культуре, а потом «запускают»



В жизненном цикле биопленки выделяют несколько стадий: первичное прикрепление микроорганизмов к поверхности (адгезия) (1); фиксация (окончательное прикрепление) с выделением внеклеточных полимеров (2); созревание, когда в колонии накапливаются питательные вещества, а клетки начинают делиться (3); дисперсия – выброс с поверхности биопленки микроорганизмов, которые могут стать родоначальниками новых колоний (4)

Чем менее вирулентен инфицирующий бактериофаг, тем больше шансов на то, что некоторые бактерии приобретут невосприимчивость, иммунитет к нему, станут устойчивыми к бактериофагной инфекции, и, наоборот, чем вирулентнее бактериофаг, тем меньше возможность возникновения устойчивых к бактериофагу рас бактерий. Из этих данных необходимо сделать следующий практический вывод: при употреблении бактериофагов для лечения различных инфекционных заболеваний людей или животных необходимо пользоваться только высоковирулентными в отношении возбудителя бактериофагами, которые обеспечивают максимальную гибель бактерий в организме больного. Использование маловирулентных бактериофагов может привести только к частичной гибели бактерий; остальные приобретут устойчивость к бактериофагу, и выздоровление будет задержано.

В основе устойчивости бактерий к бактериофагу наиболее часто лежит способность некоторых бактерий вырабатывать обильное количество обволакивающего слизистого вещества. Бактерия, защищенная слизью, становится недоступной для внедрения бактериофага. Последнему обстоятельству можно найти некоторую аналогию в простом эксперименте: если в бульонную культуру, где происходит бактериофагия, прибавить немного желатины, чтобы бульон стал слегка вязким, бактериофагия прекратится; произведи лишь бактериофаг не сможет, так как его проникновению препятствует наличие вязкой желатины вокруг бактериальных клеток.

Считается, что в естественной среде подавляющее большинство микроорганизмов, обитающих в условиях текучести на поверхности раздела двух сред, существует в виде «биопленок» – своеобразных «колоний» с особой пространственной и метаболической структурой. В таких «городах микробов» бактериальные клетки погружены во внеклеточный слизистый матрикс, формируемый полимерными веществами, выделяемыми самими клетками. Объект, к поверхности которого прикреплены биопленка, может быть как неживым (например, камни, катетеры, суставные протезы и др.), так и представлять собой часть живого организма (стенки кишечника, зубы, кожа и т. п.). Такая форма существования дает микроорганизмам массу преимуществ: благодаря слизистому матриксу микрофлора биопленки оказывается более устойчива к воздействию неблагоприятных факторов самой разной природы, от ультрафиолетового излучения и дегидратации до антибиотиков. Матрикс защищает бактерии и от атак бактериофагов и иммунных клеток организма-хозяина

в производство, где бактериофаги размножают уже в больших емкостях-ферментерах с использованием «производственных» штаммов бактерий.

В результате получается препарат, который убивает вполне определенный бактериальный штамм. Например, «бактериофаг синегнойный» содержит фаги, которые поражают синегнойную палочку *P. aeruginosa*, но сколько и каких фагов находится в конкретном препарате, какие именно штаммы синегнойной палочки он способен поражать, и подойдет ли он конкретному пациенту, лечащему врачу не известно. Если больший зарылся тем же штаммом, на котором выращивали фаг, препарат сработает «отлично». В ином случае можно надеяться лишь на многокомпонентность фагового коктейля – хорошо, если в нем окажется бактериофаг, специфично действующий на патоген.

Поэтому покупать препарат бактериофага, чтобы лечиться самостоятельно, не стоит. Назначить лечение и выбрать лекарство должен специалист. Спектр заболеваний, которые можно лечить бактериофагами широк: трофические язвы, ожоговые и раневые инфекции, инфекции органов дыхания, мочеполовой системы и желудочно-кишечного тракта, остеомиелит и т. п. Возбудителями болезней во всех этих случаях служат такие печально известные бактерии, как золотистый стафилококк, включая лекарственно устойчивые штаммы, синегнойная палочка, патогенные формы кишечной палочки, сальмонеллы, протей, стрептококки и др. В принципе в природе можно найти бактериофаг против любой бактерии, включая возбудителей чумы и сибирской язвы. Можно применять бактериофаги и для профилактики бактериальных инфекционных болезней, например, они были успешно использованы в детских садах и школах для предотвращения эпидемии дизентерии.

Препараты бактериофагов используют либо местно, непосредственно в очаге поражения, либо принимают внутрь. В рекламных изданиях утверждается, что фаги способны распространяться в организме человека и проникать из желудка в кровоток, но четких и однозначных научных подтверждений этого пока нет. Напомним, что за словами «препарат бактериофага» скрываются очень отличающиеся между собой вирусы бактерий, и их судьба в организме может также сильно различаться.

В ряде случаев фагам трудно добраться до своих «жертв». Например, возбудители туберкулеза находятся внутри клеток самого организма, куда фаги не могут проникнуть, а ряд бактерий формируют биопленки, непроницаемые не только для фагов, но и для антибиотиков. В этом случае дополнительно используют ферменты, разрушающие биопленки, которые могут продуцироваться специально сконструированными фагами.

В инфицированном организме фаги размножаются, пока не погибнет большинство чувствительных к ним бактериальных клеток. Окончательное выздоровление больного, в организме которого произошла «битва» бактериофагов с бактериями, наступит, когда в полную силу заработает иммунная система, которая будет защищать человека еще долгое время независимо от присутствия патогена.

Кстати сказать, благодаря своей специфичности фаги не убивают «хорошие» микроорганизмы, т. е. в отличие от антибиотиков, не нарушают микробиом человека. На сегодня известно, что нарушение кишечной микрофлоры может приводить к тяжелым последствиям, от проблем с желудочно-кишечным трактом до аллергий и нарушений функций центральной нервной системы. Кроме того, бактериофаги не мешают применению других терапевтических средств и сами не повреждаются ими.

Каждому – персональный «коктейль»

Почему же бактериофаги пока не стали основным средством борьбы с инфекциями, а в социальных сетях пациенты жалуются на неудачные попытки лечения? Частично это объясняется использованием неадекватных препаратов. Десять лет назад множество «лечебных учреждений» рекламировали излечение от всех болезней препаратами «стволовых клеток», а сейчас не менее активно рекламируются экстракты из «бактерий, выделенных из вечной мерзлоты» и «препараты на основе бактериофагов», в которых сами фаги обнаружить не удастся. Покупая препарат, нужно быть уверенным в том, что его изготовил надежный производитель.

Основная же и главная причина неудач – неумелый подбор фагов для лечения конкретных пациентов. Каждый конкретный фаг эффективен против одного или максимум нескольких штаммов бактерий, а у разных пациентов схожая по внешнему проявлению инфекция, например, ангина может быть вызвана разными штаммами стрептококка. Чтобы вылечить больного, необходимо выделить культуру патогена и протестировать ее на чувствительность к конкретным фагам. То есть терапия бактериофагами должна проводиться с использованием принципов персонализированной медицины, к чему современная медицина практически не готова.

Опыт СССР, Грузии и Польши показал, что для успешного применения бактериофагов нужны не только клиника, но и производственно-лабораторный участок, располагающий коллекцией фагов и специалистами, способными идентифицировать бактерии, подбирать и выделять бактериофаги для конкретного пациента.



НА ПУТИ К ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ФАГОТЕРАПИИ

В Новосибирском научном центре технологии персонализированного лечения бактериофагами развивает консорциум Института химической биологии фундаментальной медицины СО РАН и Центра новых медицинских технологий в содружестве с клиницистами из Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии им. Я. Л. Цивьяна и Дорожной клинической больницы.

В большой коллекции бактериофагов ИХБФМ СО РАН есть уникальные штаммы, способные бороться с недавно появившимися и уже получившими широкое распространение возбудителями больничных инфекций, такими как грамотрицательные бактерии *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* и др. Уже выделены и охарактеризованы фаги, обладающие литической активностью в отношении более широкого спектра бактериальных штаммов, в том числе антибиотикорезистентных, чем бактериофаги в коммерческих препаратах. К ним относятся бактериофаги синегнойной палочки, протеев, золотистого и эпидермального стафилококков, клебсиеллы, патогенных энтерококков. При расшифровке геномов наиболее перспективных бактериофагов выявлены штаммы, отличающиеся от известных ранее.

Совместно с клиницистами накоплен опыт применения бактериофагов для лечения инфекций, сопровождающих синдром диабетической стопы, остеомиелит и хирургические раневые инфекции. Есть случаи успешного излечения инфекций дыхательных путей, устойчивых к антибиотикам, а также инфекций мочеполовой сферы. Например,

Сотрудники лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск) В. В. Морозова и Ю. Н. Козлова титруют препарат бактериофага

ингаляциями синегнойного бактериофага была полностью вылечена шестимесячная девочка с врожденным пороком развития гортани, у которой после установки трахеотомической трубки развился тяжелый трахеобронхит. Его возбудителем оказался штамм синегнойной палочки, устойчивый практически ко всем антибиотикам, рекомендованным для лечения грудных детей. Девочку дважды в день в течение недели лечили препаратами бактериофага. После исчезновения синегнойной палочки и прекращения инфекции трахеотомическую трубку убрали, и сейчас ребенок здоров. Что касается лечения хронических антибиотикорезистентных инфекций мочевыводящих путей, то выяснилось, что для достижения успеха препарат следует вводить непосредственно в полость мочевого пузыря. Так удалось добиться положительного результата при лечении пациентки с длительным послеоперационным хроническим циститом, вызванным целым «букетом» антибиотикоустойчивых энтеробактерий. Был подобран комплекс специфических бактериофагов, который и вводился больной ежедневно в течение 10 дней, после чего анализы мочи показали отсутствие патогенной микрофлоры.

Самое масштабное на сегодня производство бактериофагов для применения в медицине располагается в Российской Федерации. Широкий спектр фаговых препаратов выпускает НПО «Микроген», мировой лидер в этой области. Терапевтические бактериофаги производятся также в Грузии, в Международном центре фаготерапии имени Г. Элиавы (Тбилиси), где расположено не только промышленное производство, но и клиника с обширной коллекцией бактериофагов. С этим центром в рамках программы медицинского туризма сотрудничают клиники стран Европы и США, где фаготерапия пока не признана официальной медициной. В Польше, в Центре фаготерапии при Институте иммунологии и экспериментальной терапии Польской академии наук препараты бактериофагов нарабатываются для экспериментального клинического применения при лечении пациентов, которым не помогают антибиотики

Но в таком случае имеет ли смысл масштабное производство фаговых препаратов? Ответ – да, потому что проблема узкой специфичности фагов частично решается производством фаговых коктейлей из нескольких (иногда десятков) разных фагов, поражающих разные штаммы целевого возбудителя. Ведь подобрать для больного нужный фаговый коктейль быстрее и проще, чем тестировать отдельные фаги из большой коллекции.

И все же не надо думать, что бактериофаги полностью заменят антибиотики – эти препараты дополняют друг друга, и применяться они должны в разных ситуациях. Когда больной находится в тяжелом состоянии, и есть уверенность, что причиной служит бактериальная инфекция, времени на эксперименты и подбор препаратов нет. Единственно правильное решение в этой ситуации – антибиотик широкого спектра действия.

Но в ситуации хронической инфекции или инфекции, вызванной бактериями со множественной устойчивостью к антибиотикам, предпочтение следует отдавать бактериофагу. В случае таких затяжных болезней, как отит, у врача есть время, чтобы использовать фаговый коктейль или специально подобрать фаг. Или же, когда после операции больной поражается антибиотикоустойчивым бактериальным штаммом, и его состояние быстро ухудшается, фаготерапия может стать единственным спасением.

Богатый опыт применения бактериофагов в клинической практике, накопленный за последние столетия, свидетельствует о перспективности фаговых медицинских технологий. Дальнейшая работа специалистов из множества компаний, работающих сегодня в этой области, и применение методов синтетической биологии обязательно приведут к созданию препаратов с несравненно большей эффективностью по сравнению с современными фаговыми коктейлями.

Однако имеется ряд причин, не связанных с наукой, которые тормозят прогресс создания и производства «медицинских» бактериофагов. Дело в том, что вирусы бактерий легко и просто размножить, что открывает широкие возможности контрафактного производства, ущемляющего экономические интересы добросовестного производителя. Пока не решен и вопрос о том, какие требования должны предъявляться к фагам как к терапевтическим препаратам. Ясно только то, что они должны отличаться от требований к синтетическим лекарственным веществам. Геномы бактериофагов разнообразны, а при персонализированном подходе они вообще должны подбираться индивидуально.

Тем не менее биотехнологи, также как ученые и медики, надеются, что безвредные и эффективные препараты все же займут свое законное место в арсенале терапии инфекционных заболеваний.

Литература

Алешкин А. В. *Бактериофаги в инфекционной патологии: прошлое, настоящее и будущее // Лекции по исследованию и применению бактериофагов*. 2016. Ульяновск. С. 11–51.

Бактериофаги: биология и применение. 2012. М.: «Научный мир». Ред.: Э. Каттер и А. Сулаквелидзе.

Козлова Ю. Н., Репин В. Е., Амищенко В. В., Власов В. В. и др. *Штамм бактериофага Pseudomonas aeruginosa, используемый в качестве основы для приготовления асептического средства против синегнойной палочки. // Патент РФ №2455355*. 2012.

Козлова Ю. Н., Морозова В. В., Тикунова Н. В. и др. *Штамм бактериофага Staphylococcus aureus SA20, обеспечивающий разрушение биопленок, образуемых бактериями рода Staphylococcus // Патент РФ № 2565824*. 2015.

Морозова В. В., Козлова Ю. Н., Тикунова Н. В. и др. *Штамм бактериофага Citrobacter freundii CF17, способный лизировать патогенные штаммы Citrobacter freundii // Патент РФ № 2565559*. 2015.

Тикунова Н. В., Морозова В. В. *Фаговый дисплей на основе нитчатых бактериофагов: применение для отбора рекомбинантных антител // Acta Naturae*. 2009. № 3. С. 6–15.

Тикунова Н. В., Власов В. В. *Бактериофаги – враги наших врагов // Наука из первых рук*. 2013. № 2(50). С. 58–69.

Górski A. et al. *Phages targeting infected tissues: novel approach to phage therapy // Future Microbiol*. 2015. V. 10. P. 199–204.

Międzybrodzki R. et al. *Clinical aspects of phage therapy // Adv. Virus. Res*. 2012. V. 83. P. 73–121.

В публикации использованы иллюстрации из книги «Лечение ран бактериофагом» (М.: НАРКОМЗДРАВ СССР, МЕДГИЗ. 1941. 57 с.)