

УДК 579.69

ЖАВОРОНКОВА Е.С., студентка Фармацевтической химии (БФУ им. И
Канта), ВАН Е.Ю., к.т.н., доцент (БФУ им. И Канта)
Научный руководитель ВАН Е.Ю., к.т.н., доцент (БФУ им. И. Канта)
г. Калининград

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПОКРЫТИЯ НА ОСНОВЕ БИОПОЛИМЕРОВ

Биоплёнка — это совокупность микроорганизмов на живых или неживых поверхностях, которые образуются, когда микробные клетки связываются друг с другом. Биоплёнки имеют инфекционную природу: примерно 65% всех микробных инфекций и 80% всех хронических инфекций связаны с биоплёнками. Биоплёнки могут образовываться после инфицирования биоматериалов различными бактериями, включая инфекционные агенты, приобретённые в больнице, а также нормальную микрофлору и бактерии с множественной лекарственной устойчивостью. Биоплёнки защищают бактерии от антимикробных препаратов и иммунной системы хозяина, препятствуя лечению инфекций, вызванных биоматериалами. Таким образом, образование биоплёнок является проблемой в области медицины из-за повышенной толерантности бактерий и устойчивости к лекарствам и антибиотикам, а также способности противостоять иммунной системе человека [1-3].

Хотя антибиотики по-прежнему считаются наиболее успешной формой лечения инфекций в медицине, их эффективность снижается из-за преобладания устойчивых к антибиотикам патогенов, а именно — резистентности к противомикробным препаратам.

Устойчивость к противомикробным препаратам, которая связана с повышением заболеваемости и смертности, а также с увеличением затрат на лечение, считается одной из основных угроз для здоровья человека во всём мире [4]. Устойчивость к противомикробным препаратам может быть вызвана генетическими изменениями (мутациями) или горизонтальным переносом этих генов. Принято считать, что развитие устойчивости к противомикробным препаратам создаёт огромную нагрузку на метаболизм бактерий, делая устойчивые бактерии менее конкурентноспособными, чем их восприимчивые партнёры. Это предположение основано на том факте, что мутации, вызывающие устойчивость, происходят в генах, которые имеют решающее значение для физиологии бактерий. Изменения активности этих генов могут изменить метаболизм всей клетки [5]. Растущее глобальное применение антибиотиков способствует распространению устойчивости к противомикробным препаратам. Чрезмерное употребление антибиотиков вызывает опасения как по поводу системной токсичности, так и по поводу повышения антибиотикорезистентности микроорганизмов. На антибиотикорезистентные инфекции приходится до 33 000 смертей в год в Европе [6], а также 35 000 смертей и более двух миллионов инфекций в США

[7]. Таким образом считается, что такие альтернативные агенты, как бактериофаги (фаги), могут обеспечить эффективность в борьбе с инфекциями.

Неэффективность антибиотиков в уничтожении бактерий заставила учёных искать альтернативные биологические методы предотвращения и лечения инфекций. Один из таких подходов — использование бактериофагов против болезнетворных бактерий. Бактериофаги — это вирусы, которые заражают бактерии и используют бактериальные клетки в качестве ресурсов для репликации. Бактериофаги — естественные враги бактерий; следовательно, они являются эффективным оружием в борьбе с бактериальными инфекциями. Фактически, бактериофаги были открыты во втором десятилетии 20 века. Эрнест Ханкин впервые сообщил об активности бактериофагов в 1896 году. В настоящее время в окружающей среде содержится в десять раз больше бактериофагов, чем бактерий (примерно 10^{32}); уже обнаружено более 5500 различных бактериофагов. Генетическая информация бактериофага кодируется двухцепочечной дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК), двухцепочечной рибонуклеиновой кислотой (РНК), а также одноцепочечной ДНК и одноцепочечной РНК. Более 90% бактериофагов представляют собой большие геномы двухцепочечной ДНК, расположенные в головках с икосаэдрической симметрией с хвостами разной длины. Эти бактериофаги принадлежат к трём основным морфологическим группам: *Myoviridae* (с длинными твёрдыми контрактивными хвостами), *Siphoviridae* (с длинными гибкими неконтактными хвостами) и *Podoviridae* (с короткими неконтактными хвостами) (см. рис. 1) [8].

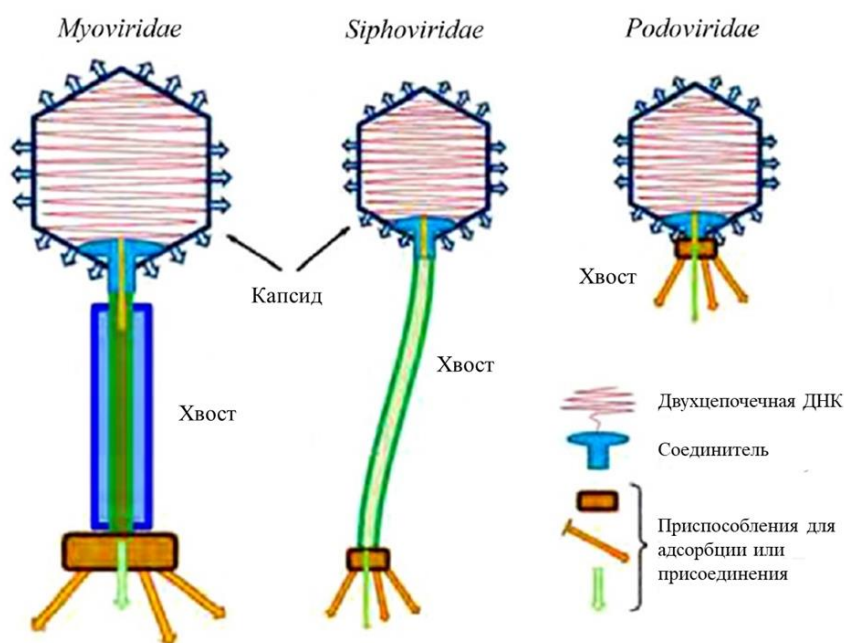


Рисунок 1. Семейства хвостатых фагов [8]

Взаимодействие между бактериофагом и бактерией схематично показано на рисунке 2.



Рисунок 2. Взаимодействие бактериофагов и бактерий [9]

В научной литературе описаны различные методы терапии бактериофагами. Преимущества и недостатки этих методов кратко пересказаны в таблице 1.

Таблица 1. Преимущества и недостатки терапии бактериофагами

Вид терапии	Преимущества	Недостатки
Парентерально ¹ (в обход пищеварительного тракта)	Распределение и абсорбция бактериофагов по всему телу; высокая биодоступность; высокая концентрация бактериофагов в целевом участке	Перемещение бактериофагов из одной части тела в другую может значительно задержать эффективное лечение
Орально (проглатывая)	Подходит для лечения желудочно-кишечных и (в редких случаях) системных инфекций	Бактериофаги должны выдерживать условия желудочно-кишечного тракта; возможна инаktivация бактериофагов в кислой среде желудка; дополнительно следует применять антациды ²
Локальное введение	Подходит для лечения открытых ран и кожных заболеваний; низкие потери при абсорбции и распределении; высокая концентрация	Эффективность терапии зависит от концентрации бактериофагов; длительному лечению инфекции способствует высокий титр бактериофагов

¹ Парентерально – инъекции в кожу, подкожные инъекции, внутримышечные инъекции, внутривенное введение.

² Антациды – продукты, нейтрализующие кислоту желудка (например, карбонат или бикарбонат кальция).

	бактериофагов в целевом участке	
Введение через уши	Удобное и эффективное лечение отита (воспаление уха)	Ограниченное применение
Дентальное введение	Подавляет рост бактерий в каналах	Ограниченное применение
Ингаляции	Эффективное лечение лёгочных инфекций	Ограниченное применение
Закапывание	Прямое введение бактериофагов в место инъекции снижает потерю бактериофагов	Эффективность зависит от дальности действия

Исследования, найденные нами в источниках, описывают иммобилизацию бактериофагов в различных биополимерных матрицах. Наиболее важные технологические параметры, использованные в этих исследованиях, кратко изложены в таблице 2. Подчеркнём, что краткое изложение не является исчерпывающим: оно перечисляет лишь часть широкой области исследований и потенциальных применений материалов, модифицированных бактериофагами.

Таблица 2. Методы иммобилизации бактериофагов в полимерных матрицах

№ п/п	Название бактериофага	Происхождение	Состав продукта
1	<i>Escherichia coli</i> (E. coli) бактериофаг ZCEC5	Бактериофаги выделены из проб окружающей среды и сточных вод, адаптированы, очищены и размножены против <i>E. coli</i> O157:P7 (NCTC 12900)	Покрытые полимерные шарики
2	<i>S. aureus</i> бактериофаг К	Коммерческий бактериофаг К, размноженные против <i>S. aureus</i> Newbould 305	Микрочастицы карбоната кальция с бактериофагом К, инкапсулированные в альгинатные микросферы
3	Стафилококковый бактериофаг Team 1	Коммерческий бактериофаг Team 1 сконцентрирован, очищен, обработан при помощи ультрацентрифуги,	Микрошарики альгинатного геля диаметром 0,5 мм и макрошарики диаметром 2 мм

		диализован и хранится при 4 °C	
4	Коктейль бактериофаго в: <i>Salmonella</i> бактериофаг φ135 и <i>E. coli</i> бактериофаг EC4	Бактериофаги <i>Salmonella</i> φ135 и <i>E. coli</i> vB_EcoS-EC4 (EC4) выделены из сточных вод	Na-альгинатные плёнки с инкапсулированными фагами и (2E)-3- фенилпроп-2-еналом (коричный альдегид, CNMA)
5	<i>E. coli</i> бактериофаг UFV AREG1	Бактериофаг выделен из сточных вод коровника	Ca-альгинатные микрокапсулы, содержащие бактериофаги UFV- AREG1 как добавку к гелю пропиленгликоля

Биополимеры — это полимеры, производимые живыми организмами; в свою очередь, полисахариды — это биополимеры, образованные из моносахаридов. В зависимости от функции они делятся на структурные, накопительные и гелеобразующие полисахариды. Благодаря такому превосходному свойству, как способность к биологическому разложению, полисахариды считаются уникальными материалами для медицинских применений, в том числе для разработки систем доставки лекарств.

Хитозан — это линейный катионный полисахарид с характерной антимикробной активностью, полученный из природного хитина путём деацетилирования (см. рис. 3). Хитозан представляет собой частично или полностью N-деацетилированное производное хитина, химически состоящее из единиц N-ацетилглюкозамина и глюкозамина, связанного β(1,4)гликозидными связями.

Молекула хитозана имеет первичные аминогруппы, которые обеспечивают положительный заряд в кислой среде (pK_a около 6,3) и антимикробные свойства против широкого спектра микроорганизмов. Механизм основан на электростатическом взаимодействии между положительно заряженным хитозаном и отрицательно заряженной мембраной микроорганизма.

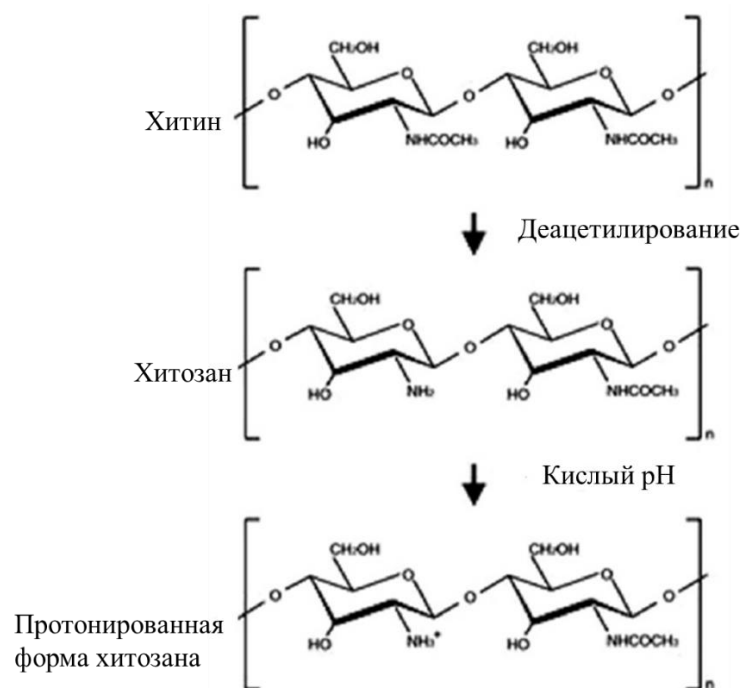


Рисунок 3. Структура хитина, хитозана и протонированного хитозана [8]

На антимикробную активность сильно влияют структурные свойства хитозана (такие как молекулярная масса или степень деацетилирования), а также условия окружающей среды (pH, температура, ионная сила). В условиях нейтрального pH активность и растворимость его биоцида снижаются. При этом по сравнению с другими антибактериальными полимерами хитозан обладает рядом преимуществ благодаря своему естественному происхождению, биоразлагаемости, биосовместимости и нетоксичности для клеток млекопитающих [8].

Альгинат — это линейный анионный полисахарид (см. рис. 4).

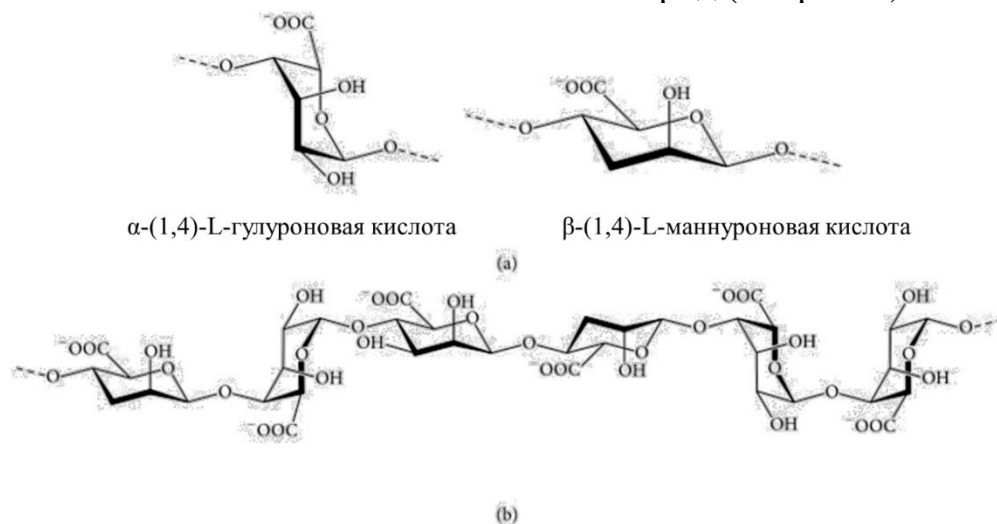


Рисунок 4. Структура альгината: мономеры (a), конформация цепи (b).

Его получают из морских водорослей. Молекула альгината содержит остатки β -D-маннуроната и α -L-гулуроната, связанных 1,4-гликозидными связями. Этот полимер обладает биосовместимостью. Большинство

исследований с использованием материалов на основе альгината сосредоточено на введении в последний лекарственных или антибактериальных средств без химической реакции. Общим для всех исследований является приготовление микрокапсул для образования комплексов между анионным альгинатом и катионными полисахаридами с характерными антимикробными свойствами (например, хитозаном). Кроме того, на основе альгината готовятся плёнки; в их числе — лекарственные или антимикробные препараты.

Список литературы:

1. J.D.Caplin, A.J.Garcia. Implantable antimicrobial biomaterials for local drug delivery in bone infection models. *Acta Biomater.*, 2019, 93, 2-11.
2. C.Yue, B.Zhao, R.Kuijer, H.C.van der Mei, H.J.Busscher, E.T.J.Rochford. The implant infection paradox: why do some succeed when others fail? Opinion and discussion paper. *Eur. Cell. Mat.*, 2015, 29, 303-313.
3. A.S.Jamal, M.U.Tasneem, T.Hussein. Bacterial biofilm: its composition, formation and role in human infections. *Res. Rev. J. Microbiol. Biotechnol.*, 2015, 4(3), 1-14.
4. J.M.A.Blair, M.A.Webber, A.J.Baylay, D.O.Ogbolu, L.J.V.Piddock. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2015, 13(1), 42-51.
5. J.L.Martinez, A.Fajardo, L.Garmendia, A.Hernandez, J.F.Linares, L.Martinez-Solano, M.B.Sanchez. A global view of antibiotic resistance, *FEMS Microbiol. Rev.*, 2009, 33(1), 44-65.
6. European Commission/ EU Action on Antimicrobial Resistance/ Internets: https://ec.europa.eu/health/amr/antimicrobial-resistance_en
7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC)/ More People in the United States Dying from Antibiotic-Resistant Infections than Previously Estimate/ internets: <https://www.cdc.gov/media/releases/2019/p1113-antibiotic-resistant.html>
8. E.V.Orlova. Bacteriophages and their structural organisation. *Bacteriophages*, 2012, 3-30.
9. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644617302970>