

УДК 576.8

Е.С. ЖАВОРОНКОВА, студентка Фармацевтической химии (БФУ)
Е.Ю. ВАН, к.т.н., доцент (БФУ), г. Калининград

РАЗРАБОТКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПОКРЫТИЙ, СОДЕРЖАЩИХ БАКТЕРИОФАГИ, НА ОСНОВЕ БИОПОЛИМЕРОВ

Имплантируемые медицинские устройства из биоматериалов стали неотъемлемой частью нашей жизни; их использует более десятков миллионов пациентов по всему миру. Целью использования таких биоматериалов является восстановление или поддержание функции и формы определённой части тела человека. Инфекции, ассоциированные с биоматериалом, являются одной из основных причин отторжения имплантата. В результате их воздействия часто требуется полное удаление устройства, сложная обработка раны и длительный курс антибиотикотерапии. При этом, хотя антибиотики являются наиболее успешной формой лечения бактериальных инфекций в медицине, их эффективность постепенно снижается из-за устойчивых к антибиотикам возбудителей.

Устойчивость к антибиотикам, связанная с повышенной заболеваемостью и смертностью, а также увеличением затрат на лечение, считается одной из основных угроз для здоровья человека. [1] Кроме этого, растущее глобальное потребление антибиотиков способствует распространению устойчивости бактериальных возбудителей к противомикробным препаратам. Считается, что альтернативные антибактериальные агенты, такие как бактериофаги (также известные как «фаги»), могут обеспечить эффективность в борьбе с инфекциями.

Бактериофаги — это вирусы, которые заражают бактерии и используют бактериальные клетки в качестве ресурсов для своего размножения. Бактериофаги являются естественными врагами бактерий и поэтому являются эффективным оружием в борьбе с бактериальными инфекциями. Данная группа вирусов была открыта во втором десятилетии 20 века; об активности бактериофагов впервые сообщил Эрнест Ханкин в 1896 г. [2].

С функциональной точки зрения бактериофаги делятся на две группы: лизогенные и литические. Лизогенные бактериофаги заражают бактерии и живут в них, не нарушая функциональность и жизнеспособность бактериальной клетки; размножение литических бактериофагов, напротив, приводит к разрушению бактериальных клеток. [3] Существует ряд характерных признаков, которые обычно проверяются с целью оценки пригодности бактериофагов для терапии. Среди них —

способность предотвращать целевую бактериальную культуру или любое другое измерение вирулентности бактериофага; обязательный лизический рост или отсутствие лизогенного потенциала; способность к трансдукции (т.е. перенос фрагмента бактериальной ДНК); отбор гена токсина; круг хозяев [4].

В рассматриваемой нами технологии используются лизические бактериофаги *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Бактерии *S. aureus* являются одним из наиболее распространённых видов грамположительных бактерий, вызывающих инфекции кожи, мягких тканей, костей и суставов [5]. Чтобы максимизировать эффективность лечения бактериофагами, необходимо использовать транспортное средство для достижения очага инфекции. Методы доставки могут быть спроектированы таким образом, чтобы высвобождать бактериофаги либо в большом количестве с целью быстрого лечения местной инфекции, либо на низком, постоянном уровне для профилактического эффекта. Существует множество методов и процессов, которые можно использовать для стабилизации, иммобилизации и инкапсуляции бактериофагов. [6] Все возможные составы требуют оценки химических и физических нагрузок, с которыми могут столкнуться бактериофаги как при обработке, так и при хранении. Инактивация бактериофагов и длительное снижение титра бактериофагов при хранении крайне нежелательны.

При выборе метода иммобилизации необходимо с особым вниманием учитывать физические и химические свойства материала. Бактериофаги являются белковыми структурами, поэтому они чувствительны к факторам, денатурирующим белки, — включая воздействие органических растворителей, высоких температур, pH, ионной силы и др. Принципы доставки бактериофагов во многом аналогичны принципам доставки лекарств, биоматериалы для которых являются особенно разлагаемыми материалами и должны быть совместимы с системами организма. При лечении воспалений или инфекций носитель должен быть в состоянии противостоять как нормальному химическому составу организма, так и химическому составу установленного иммунного ответа, т.е. повышению температуры и снижению pH.

В ходе исследования были предложены многочисленные подходы: захват в нанопоры материала, включение в керамические/биополимерные композиты, иммобилизация на поверхности имплантата для эффективного добавления противомикробных препаратов к субстрату. [7] Керамика из гидроксиапатита (ГАп) и β -трикальцийфосфата (β -ТКФ) по своим структурным свойствам и химическому составу близка к минеральному компоненту кости, что позволяет использовать её в качестве заменителя кости в ортопедической и стоматологической хирургии. Керамика ГАп и β -ТКФ, содержащая захваченные антибиотики, сегодня стала коммерчески доступной; по ней было проведено множество исследований для

повышения эффективности и времени удерживания антибиотиков. [8] Обширная экспериментальная работа продемонстрировала, что микропористая биокерамика ГАп и β -ТКФ может использоваться в качестве субстрата для локальной системы доставки лекарств с целью предотвращения инфекций, ассоциированных с биоматериалом. Имеются также исследования, направленные на загрузку бактериофагов непосредственно в биокерамику для наблюдения за их антибактериальной активностью в отношении бактериальных штаммов *E. coli*. В этих исследованиях был сделан вывод, что бактериофаги сохраняют свою активность при взаимодействии с керамикой, а количество и продолжительность их выделения зависят от состава и пористости керамики. [8]

Сообщается, что инкапсуляция бактериофагов в полимерные матрицы увеличивает срок годности и хранения последних для обеспечения воспроизводимых дозировок, эффективной доставки, а также контролируемого или замедленного высвобождения в целевом очаге инфекции. В данном исследовании биополимерами для иммобилизации бактериофагов являются альгинат и хитозан. Альгинат — это полисахарид, получаемый из бурых водорослей. Второй биополимер, который мы планируем использовать для иммобилизации противомикробных препаратов — хитозан, который, как и альгинат, является полисахаридом. Он известен тем, что быстро реагирует на изменения в окружающей среде. Биополимер хитозана особенно чувствителен к pH, так как растворяется в кислой среде. Оба биополимера успешно используются для заживления ран, тканевой инженерии и доставки лекарств, что делает их отличными кандидатами для доставки противомикробных препаратов. [9]

Контроль физических, химических и биохимических свойств поверхности является одним из наиболее важных процессов при разработке материалов имплантатов, так как первое взаимодействие инородного тела (имплантата) с биологической средой происходит на границе раздела, что создаёт наибольший риск инфекций. Таким образом, необходимо исследовать поверхности с хорошими антибактериальными свойствами и превосходной способностью интеграции с тканями. В настоящее время в основном используются три стратегии подготовки антибактериальных поверхностей:

- 1) поверхности, препятствующие адгезии бактерий и образованию биоплёнки;
- 2) антибактериальные поверхности, убивающие бактерии при контакте или высвобождении антибактериальных средств;
- 3) поверхности, которые выполняют двойную функцию: убивают бактерии и противодействуют их адгезии или убивают и высвобождают связанные бактерии [10].

Предлагаются различные стратегии для производства биоматериалов, способных предотвратить прикрепление и колонизацию бактерий на поверхности. [11] В антибактериальных поверхностных технологиях могут использоваться металлы (серебро, цинк, медь, цирконий и др.), неметаллические элементы (селен), органические вещества (антибиотики, антиинфекционные пептиды, хитозан и др.) и их комбинации [12].

Такие подложки для регенерации кости, как высокопористая биокерамика, представляют собой идеальный субстрат для доставки длительно действующих бактерицидных доз антибиотиков к месту повреждения. Этот процесс достигается путём изменения характеристик высвобождения лекарственного средства посредством инкапсуляции в разлагаемых матрицах. Матрицы, высвобождающие антибиотики, используются в качестве покрытий для ортопедических имплантатов, подверженных инфекции. Для лечения инфицированных костных дефектов в клинике обычно используют антибиотики, такие как тетрациклин и ванкомицин. [11]

Основные преимущества описанной технологии, направленной на разработку альтернативной стратегии изготовления костных подложек для придания регулируемых antimикробных свойств, основаны на следующих предположениях:

- 1) замена антибиотиков альтернативными противомикробными препаратами, такими как бактериофаги, снижает как распространённость инфекций в месте имплантации, так и интенсивность развития устойчивых к антибиотикам бактерий;
- 2) локальная доставка бактериофагов максимизирует их эффект там, где они необходимы, снижает потенциальную системную токсичность, а также повышает их своевременность и экономическую эффективность.

Список литературы:

1. Blair et al., *Nat. Rev. Microbiol.*, Vol. 13, No. 1, pp. 42-51, 2015.
2. Orlova, *Bacteriophages and their structural organisation*. InTech, 2012, pp. 3-10.
3. Qadir et al., *Brazilian J. Pharm. Sci.*, Vol. 54, No. 1, pp. 1-9, 2018.
4. Ковязина Н.А., Лукин П. С., Функнер Е.В. и др. Подходы к конструированию полимерных раневых покрытий с бактериофагами // Медицинский альманах. 2013. №2 (26), с. 72-74.
5. Bachir et al., *Battle Against Microb. Pathog. Basic Sci.*, Vol. 2, pp. 637-648, 2015.
6. Malik et al., *Adv. Colloid Interface Sci.*, Vol. 249, pp. 100-133, 2017.
7. Dastjerdi et al., *Coll Surf B*, Vol. 79, p. 5, 2010.

8. Meurice et al., *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, Vol. 23, No. 10, pp. 2445-2452, 2012.
9. Augst et al., *Macromol. Biosci.*, Vol. 6, pp. 623-633, 2006.
10. Katsikogianni et al., *Handb. Bioceram. Biocomposites*, pp. 1-28, 2014.
11. Balagna et al., *J. Biomater. Appl.*, Vol. 25, No. 6, pp. 595-617, 2011.
12. Gallo et al., *Int. J. Mol. Sci.*, Vol. 15, pp. 13849-13880, 2014.