

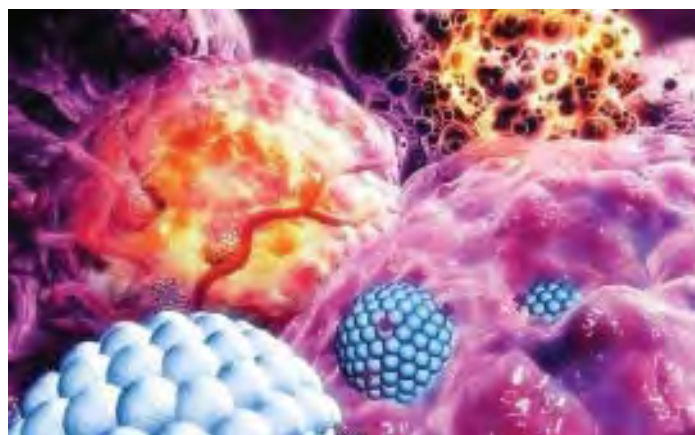
## О новых подходах к изучению антибиотикорезистентности и персистенции бактерий как основе для разработки эффективных средств лечения инфекций

**Х**орошо известны молекулярно-генетические механизмы, обеспечивающие устойчивость бактериальных клеток к воздействию антибиотиков: модификация мишени действия антибиотика, ферментативное разрушение антибиотика, активация эффлюксных насосов, уменьшение проницаемости клеточной стенки, активация метаболического шунта. Выявлены гены, обеспечивающие функционирование этих механизмов, которые, в свою очередь, могут быть использованы в эпидемиологии для природного маркирования штаммов из различных регионов.

Данные механизмы могут обеспечивать поли- и панрезистентность к антибиотикам отдельных клонов, способных к быстрому распространению среди людей. Для лечения таких инфекций используют в основном комбинации нескольких известных антибиотиков и их сочетания с антисептиками. Однако такие подходы становятся все менее действенными в связи с быстрой адаптацией возбудителей к новым условиям и возрастающей резистентностью штаммов к антисептикам.

К сожалению, перспективных средств, которые могут рассматриваться в качестве альтернативы антибиотикам, чрезвычайно мало, и они пока не нашли широкого применения в клинической практике. Ведутся разработки в отношении использования бактериоцинов – антимикробных пептидов бактериального происхождения, дефензинов – пептидов эукариот, узкоспецифичных бактериофагов, литических ферментов бактериофагов – эндолизинов (пептидогликангидролаз), фаговых деполимераз (разрушающих внеклеточный полисахаридный матрикс бактерий – биопленки), ингибиторов системы кворум сенсенс, препятствующих образованию биопленок и др. Особенно перспективным является использование для данных целей генетического редактирования CRISPR-Cas-системы, на основе которой уже созданы расы бактериофагов, способных избирательно уничтожать в организме человека клетки, несущие гены антибиотикорезистентности.

Для целенаправленного создания средств, противостоящих резистентности бактерий, необходимо обратиться к современным фундаментальным разработкам в области популяционной микробиологии, достижения которой в последние годы позволили выявить ряд механизмов, обеспечивающих адаптацию клеток к присутствию антибиотиков и противодействию другим стрессорным факторам, что позволяет



сохраняться всей или части популяции в таких условиях. Информация о тонких механизмах адаптации бактерий может быть использована для разработки новых средств и методов борьбы с резистентностью.

Стрессовое действие антибиотиков может индуцировать активацию ряда генов бактерий (для каждого антибиотика разных), которые могут способствовать выработке метаболитов, приводящих к переходу части популяции в дормантное состояние, части – в толерантное состояние или собственно резистентное состояние из-за закрепления мутаций. Переход в персистирующее состояние сопровождается существенным снижением обменных процессов в клетке, прекращением синтеза АТФ, остановкой роста и размножения, что не позволяет антибиотику воздействовать на искомую мишень, а части популяции переживать неблагоприятные для нее условия.

Уже разработаны несколько экспериментальных подходов для уничтожения персистеров без участия АТФ, заключающиеся в использовании ряда ферментов аутолиза клеток, воздействии лассомицина, выделенного из некультивируемых бактерий, применении пульс-дозирования антибиотика и антибактериального препарата тейксобактина, к которому нет резистентности у бактериальных клеток.

Один из способов адаптации клеток к стрессовым воздействиям известен как токсин-анатоксин система, состоящая из белков токсина и белков или малых РНК анатоксина, которые в норме существуют в виде неактивного комплекса. Стрессы (температурные, рН, осмотические, действие анти-

биотиков, токсических веществ, фагов, голодание и др.) приводят к разрушению анатоксина, увеличению количества свободного токсина, что способствует или гибели клетки, или переходу в дормантное состояние. Существует множество типов системы токсин-анатоксин, которые действуют на уровне мембран, подавляя синтез АТФ, расщепляют различные типы РНК, влияя на процесс трансляции, подавляют репликацию ДНК. На модели кишечной палочки выяснено, что увеличение синтеза токсина *HipA* приводит к увеличению числа персистирующих клеток, а удаление соответствующего гена – к их сокращению. Выявлены также многие механизмы формирования состояния персистенции. Кроме того, система токсин-анатоксин каким-то образом связана с интенсивностью образования бактериальными популяциями биопленок.

Несмотря на еще недостаточную изученность этой системы у бактерий, уже предпринимаются попытки использовать эффект апоптоза, возникающий при высвобождении токсина для борьбы с резистентными и персистирующими клетками. Для этого необходимо создать соединения, активирующие токсин, или генно-инженерный токсин, который, однако, будет иметь узкую направленность против одного вида или рода бактерий. В фундаментальных исследованиях по данной проблеме уже просматриваются выраженные аспекты практического применения для лечения инфекционных болезней.

Персистенция клеток как реакция адаптации может также быть инициирована такими факторами, как воздействие антибиотиком, окислительный стресс (образование активных форм кислорода), недостаток факторов роста (в основном аминокислот), SOS-ответ на повреждение ДНК (способствует отбору резистентных форм), активация *groS* регулона, способствующая увеличению устойчивости клеток к стрессам. Детальное исследование этих механизмов может привести к разработке методологии борьбы как с персистерными клетками, так и в целом с резистентными к антибиотикам клонами.

В настоящий период накапливается информация о природе персистенции бактериальных клеток под влиянием различных факторов. Но сейчас уже ясно, что природа персистенции очень многообразна и выделить один или даже несколько механизмов не представляется возможным. Для некоторых бактерий выяснено, что в активно растущей популяции количество персистеров может составлять в среднем  $10^{-5}$  клеток, что вполне достаточно для сохранения популяции в условиях воздействия антибиотиков и возобновления роста и метаболизма после исключения антибиотика. Этот факт имеет существенное клиническое значение при анализе причин возникновения хронических форм инфекционных болезней.

Представленная информация важна не только для исследователей, занимающихся проблемой антибиотикорезистентности бактерий, но и для практических бактериологов и инфекционистов, так как понимание глубинных механизмов устойчивости возбудителей дает возможность оценить многообразие связанных между собой функций отдельных

клеток и микробной популяции в целом, позволяющих сохранять жизнеспособность отдельных видов бактерий в постоянно меняющихся условиях существования в агрессивных средах в том числе создаваемых человеком.

Необходимо бы обратить внимание бактериологов на два очень полных и профессиональных обзора по данной тематике, опубликованных в последнее время: А.Г.Ткаченко. Стрессорные ответы бактериальных клеток как механизм развития толерантности к антибиотикам. Прикладная биохимия и микробиология. 2018. Т. 54. №2. С. 110–133; К.М.Климина, Е.У.Полуэктова, В.Н.Даниленко. Бактериальные системы токсин-анатоксин: свойства, функциональное значение, возможности использования. Там же. 2017. Т. 53. № 5. С. 449-461.

В отношении персистирующих форм бактерий, остающихся жизнеспособными в результате воздействия антибиотиками и представляющих собой форму переживания, есть некоторые соображения или сомнения, касающиеся возбудителей бактериальных особо опасных инфекций (I–II групп патогенности). Концепция дормантности подразумевает универсальный механизм (или несколько механизмов) сохранения части популяции в условиях давления антибиотика. Однако такое явление практически никогда не наблюдалось при лечении особо опасных инфекций, например, чумы, сибирской язвы, туляремии, холеры. Лечение этих инфекционных болезней всегда подразумевало полную элиминацию возбудителя из организма человека, и рецидивы заболеваний наблюдались крайне редко, а для некоторых инфекций не наблюдались вовсе. На мой взгляд, даже эти редкие случаи были связаны не с переживанием бактерий в организме, а дефектами в тактике лечения. Если бы механизм дормантности работал в данном случае, то достаточно было сохраниться в организме человека или животного бактериям в заражающей дозе (а это, например, для чумы – 2–4 микробных клетки), чего было бы достаточно для рецидива заболевания. Однако такие случаи не наблюдались при лечении людей и в многочисленных опытах на животных. Сложно предположить, что для возбудителей особо опасных и, например, госпитальных инфекций существуют разные механизмы переживания под давлением антибиотиков – у одних есть персистенция, у других нет. Этот вопрос остается открытым и нуждается в обсуждении и экспериментальном подтверждении. Проблема имеет выраженное значение для обеспечения биологической безопасности, так как возможное сохранение вирулентных клеток высококонтагиозных возбудителей в организме человека чревато эпидемиологическими осложнениями и потребует особой, ориентированной на данный эффект тактики элиминации патогена из организма.

И.А.Дятлов

Директор ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»  
Роспотребнадзора, академик РАН,  
доктор медицинских наук, профессор