

Загадки устойчивости микроорганизмов к антибиотикам

Наверное, каждый практикующий врач задавался вопросом, почему мощные современные антибактериальные препараты, позволяющие легко справиться с острым микробно-воспалительным процессом, малоэффективны при хроническом заболевании. В лучшем случае антибиотикотерапия позволяет достичь ликвидации острой симптоматики, но не предупреждения рецидивов после воздействия провоцирующих факторов, способствующих ослаблению защитных сил организма. Ответ на этот вопрос – в способах существования бактерий.

Социальное поведение бактерий. Именно оно приводит к хроническим инфекционным заболеваниям

Достижения в микробиологии последних двух десятилетий показали, что бактерии для своего выживания так же, как и люди, широко используют преимущества, которые дает коллективное поведение. Бактериальный «язык общения» чрезвычайно богат и обеспечивается различными низкомолекулярными химическими соединениями, разнообразие которых вполне сравнимо со словарным запасом человека.

О роли социального поведения бактерий в возникновении хронических инфекционных заболеваний и методах борьбы с ними мы беседуем с директором НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, вице-президентом РАМН, академиком РАМН Александром Гинцбургом.

– Александр Леонидович, когда был открыт феномен социального поведения бактерий?

– Тот факт, что бактерии способны образовывать сложные сообщества, микробиологам известен давно. Было известно, что острые воспалительные заболевания слизистых оболочек (в основном мочеполовой и дыхательной системы) обусловлены бактериями, свободно плавающими в секретах организма

(микробным планктоном). Именно против этих бактерий направлено определение чувствительности к антибиотикам и т. д. Феномен же социального поведения бактерий («чувство кворума») был впервые обнаружен только около 25 лет назад. Но то, что 99% бактерий существуют в природных экосистемах в виде не свободно плавающих клеток, а специфически организованных, прикрепленных к субстрату биопленок, стало известно лишь в последнее десятилетие минувшего века благодаря развитию и применению новых микробиологических и молекулярно-биологических методов исследования. В составе биопленок бактерии объединены сложными межклеточными связями, поэтому такую популяцию микробов можно рассматривать как функциональный аналог многоклеточного организма (рис. 1).

Развитие биопленок – сложный, регулируемый и генетически запрограммированный процесс. Бактерии, организованные в бактериальные биопленки (ББП), образуют матрикс – полимерную оболочку, защищающую их от неблагоприятных факторов: защитных систем организма, антибиотиков и т. д. С наличием биопленок связана множественная лекарственная устойчивость к антибиотикам, которая в десятки, а то и в сотни раз выше, чем у микробного

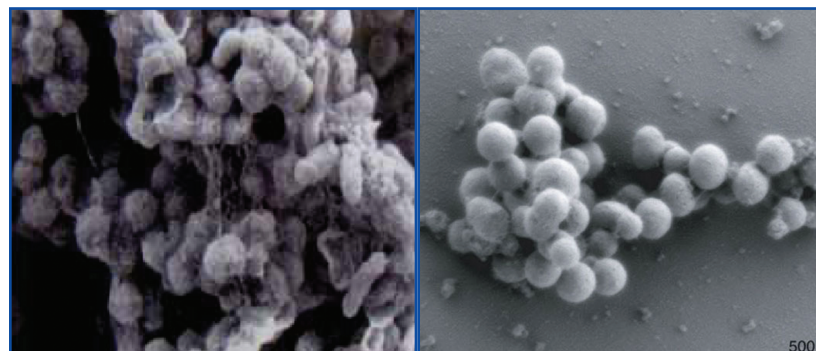


Рис. 1

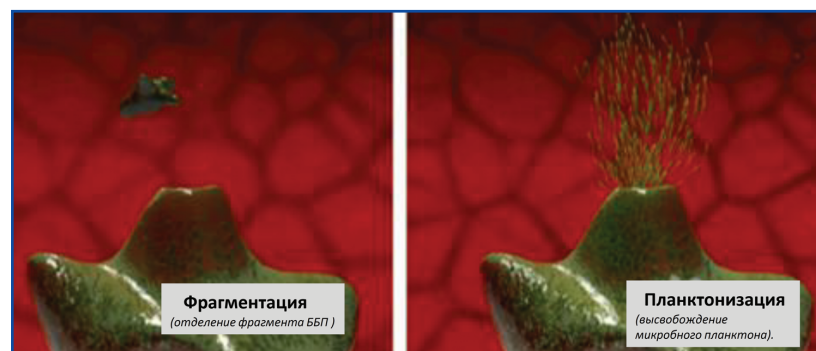


Рис. 2

планктона. Антибиотик уничтожает только свободно плавающий микробный планктон и поверхностно расположенные микробные тела ББП. Этого достаточно для купирования острой симптоматики, но недостаточно для полной эрадикации возбудителя. Восстановление ББП осуществляется за счет глубоких слоев бактерий после отмены антибактериальных препаратов. Поскольку антибактериальные препараты просто не могут проникнуть в глубокие слои бактерий, а время их применения ограничено, их использование может рассматриваться только как один из этапов лечения. Существуют и генетические факторы, ответственные за повышенную устойчивость бактерий к стрессовым факторам.

– С биопленками не может справиться и иммунная система организма?

– Да, в составе ББП бактерии длительно сохраняются в организме хозяина и становятся устойчивыми

к действию как гуморального, так и клеточного иммунитета. Поэтому наличие хронических инфекционных заболеваний определяется именно тем, что бактерии способны образовывать биопленки и, длительно персистируя, сохраняться в организме хозяина.

– В каких органах обычно формируются биопленки?

– В желудочно-кишечном тракте, на эндотелии сосудов, уретелии мочевыводящих путей, эпителиальных поверхностях легких и бронхов. Если это происходит в почках, то развивается хронический пиелонефрит, а если на поверхностях клапанов сердца, то это чревато ревматическими поражениями миокарда. Эти патологические процессы, постепенно развиваясь, сначала приводят к инвалидизации, а в ряде случаев могут сопровождаться летальным исходом. Наиболее часто врачам общей практики приходится сталкиваться с хроническим бронхитом, синуситом, отитом.

При хроническом тонзиллите, по данным некоторых авторов, ББП достигают таких размеров, что могут быть визуализированы невооруженным глазом в макропрепаратах удаленных миндалин.

Все известные сегодня хронические инфекционные заболевания на молекулярном уровне связаны с формированием биопленок. Когда на организм действуют факторы, подавляющие его защитные силы, активируется рост ББП; по достижении критической массы бактерий они начинают выбрасывать микробный планктон (планктонизация), вызывающий воспалительный ответ всей слизистой, с которой контактирует. Если планктону удастся закрепиться на другом участке слизистой и получить от нее питание, то возникает образование вторичных биопленок. Известен и другой механизм распространения инфекции, когда от ББП отделяются небольшие фрагменты и с помощью тока жидкости переносятся на другие поверхности. Происходит образование новых очагов биопленки (рис. 2).

Это полная аналогия метастазирования злокачественных клеток: есть первичный очаг, из которого распространяются метастазы. Оба процесса рано или поздно приводят к плачевным последствиям. В литературе последних лет приводятся исследования, доказывающие, что биопленки играют решающую роль при распространении такой опасной инфекции, как легионеллез. Когда в иммунологически нормальный организм человека проникают 1-2 легионеллы, это, как правило, инфекционного процесса не вызывает. А если легионеллы накапливаются в кондиционерах в виде биопленок и размножаются в виде их фрагментов, то при попадании в организм человека это защищает их от атаки иммунной системы.

Бактерии способны формировать биопленки не только на биологических поверхностях, но и на дереве, пластмассе, металле. При транспортировке нефти биопленки представляют собой большую технологическую проблему, также вызывает трудности образование ББП на хирургическом инструментарии, эндоскопах. Возникновение многих хронических инфекций, как теперь установлено, обусловлено способностью бактерий расти в виде биопленок на медицинском имплантируемом оборудовании (линзах, катетерах, искусственных клапанах сердца).

Из-за устойчивости бактерий в составе биопленок стерилизация очень часто эффекта не дает, приходится использовать одноразовые инструменты. С биопленками, образующимися на поверхностях стен, полов, кроватей, тесно связана и проблема внутрибольничных инфекций — так гигиеническая проблема превращается в молекулярно-биологическую. Чрезвычайно трудно уничтожить эти биопленки в родильных домах — порой для этого приходится проводить чуть ли не капитальный ремонт, поскольку ни УФО, ни дезсредства не обеспечивают полного уничтожения потенциально опасных бактерий. Впрочем, биопленки приносят не только вред. Когда их формирует нормальная микрофлора желудочно-кишечного тракта, такие биопленки хорошо и надежно защищают наши слизистые от повреждающих агентов.

— Каковы молекулярные механизмы, с помощью которых бактерии образуют биопленки?

— Биопленки могут формироваться только после достижения бактериями определенной плотности — от 1 до 10 млн в 1 мл. Бактерии выделяют высокоспецифичные соединения — сигнальные

молекулы (автоиндукторы); причем автоиндукторы, которые выделяют, например, патогенные кишечные палочки, не распознаются сальмонеллами. Именно эти молекулы и служат «языком» общения бактерий, регулируют их социальное поведение. В зависимости от плотности популяции с помощью регуляторных белков они экспрессируют гены, которые запускают синтез полисахаридов, образующих капсулы на поверхности этой бактериальной массы. Таким образом формируются биопленки. Под электронным микроскопом видны целые сооружения и водные каналы, через которые происходит приток питательных веществ к бактериям и отток продуктов их метаболизма. Внутри этой структуры есть даже дифференцировка клеток — в клетках по поверхности биопленок работает один набор генов, в клетках глубоких слоев — другой (рис. 3).

Это опять же полный аналог опухолевых образований, только формируется эта структура не из эукариотических, а из прокариотических клеток. В этом и состоит



Рис. 3



Рис. 4

социальное поведение бактерий: ради выживания они собираются в сообщество, где ряд функций выполняют вместе, и в то же время происходит распределение обязанностей. Это похоже на социальное поведение насекомых (пчел, муравьев).

Могут формироваться и сложные сообщества, которые состоят из бактерий разных видов. В одну биопленку объединяются не только грамотрицательные и грамположительные микроорганизмы, но даже бактерии и простейшие. В этих случаях работают те же принципы, только автоиндукторы имеют более широкую специфичность (рис. 4).

— Каковы другие механизмы социального поведения бактерий, помимо биопленок?

— Социальным поведением регулируются репликация, переход из некультивируемого состояния в культивируемое, ряд других процессов, которые требуют выживания бактерий в неблагоприятных условиях. Эволюционно это один из наиболее древних механизмов, способствующих выживанию в стрессовых условиях внешней среды. А встреча в нашем организме с факторами иммунной защиты — как раз стрессовая ситуация, к которой бактерии научились адаптироваться. Иммунитет сыграл селективную роль, способствуя отбору бактерий, способных ему противостоять. На каждый наш ход бактерии отвечают своим, как в шахматной партии.

— Такое впечатление, что бактерии научились социальному поведению еще до появления людей на нашей планете...

— Это действительно так, и люди стали во многом случайными объектами для атаки бактерий,

ведь последним по большому счету все равно где паразитировать — на биологических или небιологических поверхностях. Для глубокого понимания этих процессов важно знать, как бактерии существуют в сапрофитном состоянии, независимо от организма человека и теплокровных животных. Возможно, те механизмы, которые у них эволюционно сформировались в процессе свободной жизнедеятельности, перекочевали на макроорганизмы. И.И. Мечников, изучавший фагоцитоз на амебах, был абсолютно прав: это прекрасная модель! Ее мы используем на современном уровне в наших исследованиях.

– Какими методами можно выявить биопленки?

– Разными, начиная с электронно-микроскопических и заканчивая микробиологическими. При изучении структуры биопленок используется серьезная дорогостоящая аппаратура, микроскопы последнего поколения. Для тестирования способности бактерий формировать биопленки есть методы, позволяющие количественно оценить ее в течение 1-2 суток. По этому критерию можно также отбирать эубиотики.

– Всем ли бактериям присуща способность образовывать биопленки?

– По мере накопления знаний об экологии патогенных бактерий приходим к выводу, что это явление всеобщее. Конечно, есть классические объекты типа *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, вызывающие тяжелые заболевания бронхов и легких. Они очень хорошо научились колонизировать на бронхах, прекрасно образуя биопленки, что приводит к летальному исходу при муковисцидозе, кистозном фиброзе.

– Какие новые методы борьбы с инфекциями, ассоциированными с образованием ББП, может предложить современная наука?

– Пока препаратов, которые можно рекомендовать к практическому использованию, не существует, но есть понимание, как их создавать. Исходя из того что ученые, в частности сотрудники нашего института, хорошо изучили механизмы формирования биопленок, сейчас активно идут поиски методов их разрушения. Это наиболее серьезный радикальный подход к лечению хронических инфекционных заболеваний. Других методов на сегодняшний день не существует: антибиотики бессильны, а остальные средства — лишь симптоматические.

Одно из возможных решений этой проблемы — поиск антипатогенных препаратов, которые в отличие от антимикробных, вызывающих гибель или подавление роста бактерий, обладали бы способностью снижать либо блокировать их вирулентность, в результате чего с инфекцией смогла бы справиться иммунная система организма. Мишенями таких антипатогенных лекарственных средств могут стать системы регуляции бактерий, контролирующие экспрессию факторов вирулентности. Открытие системы коммуникации бактерий (системы QS), контролирующей важные стадии инфекционных процессов, включая образование факторов вирулентности и биопленок, позволило вплотную подойти к этой цели. Используются разные стратегии, связанные с прерыванием цепи событий в процессе работы системы QS, включая подавление образования автоиндукторов, распространения и восприятия их сигналов. Появились сообщения о веществах, способных ингибировать синтез автоиндукторов. Например, для *P. aeruginosa* в качестве

таких ингибиторов названы различные аналоги S-аденозилметионина, определенные макролидные антибиотики, применяемые в субминимальных концентрациях (в том числе эритромицин). Из окружающей среды выделены бактерии, способные вызывать деградацию молекул автоиндукторов или метаболизировать их.

– Можно ли количественно оценить, скольким больным понадобятся эти препараты?

– Могу сказать только, что методы, которые будут позволять разрушать биопленки, спасут миллионы жизней и позволят сэкономить огромные материальные средства. Но статистических исследований по распространению поражения биопленками никто не проводил, даже на Западе этим пока не занимаются. Думаю, что органы здравоохранения начнут регистрировать эти заболевания только тогда, когда появятся средства, которые позволят бороться с биопленками.

– И сколько осталось ждать, по Вашим прогнозам?

– Думаю, не очень долго. На это направлены очень большие силы за рубежом, но и мы стараемся не отставать. Крупным фармацевтическим компаниями выгодно как можно скорее начать производство этих препаратов, так как речь идет о лечении хронических заболеваний. Интерес к разработке новых видов антибиотиков пропал потому, что к ним уже через 3-4 года вырабатывается резистентность. Гораздо выгоднее создавать противоопухолевые, гипотензивные средства, которые необходимо принимать длительно. Препараты, которые будут разрушать биопленки, как раз из этого числа. ■

Медицинская газета, 2006, № 62