

АНТИБИОТИКОТЕРАПИЯ ДАЙДЖЕСТ

Применение ингибиторов ангиогенеза в терапии туберкулеза

В глобальной структуре смертности от инфекционных заболеваний туберкулез является одной из ведущих причин, уступая по частоте только ВИЧ-инфекции. Для современной терапии туберкулезной инфекции характерны высокая длительность, токсичность и недостаточная эффективность в отношении мультирезистентных штаммов, что обуславливает актуальность разработки новых терапевтических методов.

Как известно, при туберкулезе и других инфекционных заболеваниях иммунные клетки способны формировать миниатюрные кластеры вокруг бактерий, или гранулемы, предотвращая их дальнейшее распространение. Однако после инфицирования эффективность такой защитной реакции ограничена. Со временем инфекция так или иначе преодолевает защитный барьер и распространяется по всему организму.

Группа ученых из США и Новой Зеландии выяснила, что прорастание новых кровеносных сосудов в гранулемы способствует доставке кислорода к бактериям и таким образом обеспечивает их жизнедеятельность внутри гранулемы. Кроме того, благодаря процессу ангиогенеза бактерии через некоторое время покидают гранулемы через новые кровеносные сосуды. В исследовании изучалась гипотеза, согласно которой утвержденные Управлением по контролю за продуктами питания и лекарственными средствами США (FDA) ингибиторы ангиогенеза, применяющиеся в терапии онкопатологии, при туберкулезе могут предотвращать высвобождение инфекции из гранулем.

Для обоснования предложенной гипотезы был проведен ряд экспериментов с использованием пресноводных рыб вида данио-рерио, инфицированных бактериями туберкулеза. Поскольку до наступления зрелости тело данио-рерио остается прозрачным, исследователи смогли детально изучить процесс ангиогенеза в сформированных гранулемах с помощью маркировки отдельных элементов (бактерий, иммунных клеток и кровеносных сосудов) флуоресцентным красителем. После инфицирования рыб бактерии быстро окружались иммунными клетками, которые формировали хорошо организованные гранулемы. В последующие дни вокруг и внутри гранул происходило образование сети новых кровеносных сосудов, которые функционировали идентично нормальным сосудам. После добавления в воду, в которой содержались данио-рерио, ингибиторов ангиогенеза семаксиниба и пазопаниба образование новых сосудов приостанавливалось, что приводило к снижению количества бактерий, а также препятствовало их высвобождению из гранул. Важно отметить, что выживаемость рыб, инфицированных туберкулезом, под действием пазопаниба возросла в 3 раза. Кроме того, ингибиторы ангиогенеза повышали эффективность рифампицина, который применяется в качестве терапии 1-й линии при туберкулезе.

На основании результатов исследования можно сделать вывод о том, что ограничение кровоснабжения гранул при туберкулезе может значительно ослабить возбудителя и сделать его более легкой целью для иммунной системы и противомикробных препаратов.

Oehlers S.H. et al. Interception of host angiogenic signalling limits mycobacterial growth. Nature 2014, Nov 24.

Использование методов визуализации для прогнозирования эффективности антибиотикотерапии

В условиях глобального повышения заболеваемости мультирезистентным туберкулезом возрастает необходимость поиска новых методов терапии. В свою очередь, важным условием появления новых препаратов является наличие достаточно точных методов оценки их клинической эффективности. Однако стандартные микробиологические методы оценки имеют ряд недостатков в прогнозировании отдаленных терапевтических эффектов. Анализ образцов мокроты может давать недостаточно достоверные результаты, а также ограничивает возможности точного прогнозирования терапевтического ответа пациентов и вероятности рецидивов заболевания.

Метод позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), который традиционно используется для диагностики онкопатологии, позволяет оценить функционирование органов и тканей в организме человека. Ранее было показано, что на основании показателей ПЭТ можно прогнозировать эффективность противомикробной терапии у ВИЧ-инфицированных пациентов с мультирезистентным туберкулезом. Однако в комбинации с компьютерной томографией (КТ) ПЭТ может предоставить более полную картину изучаемого феномена. В двух отдельных исследованиях ученые из США продемонстрировали возможность комбинированного применения ПЭТ и КТ с целью мониторинга эффективности антибиотикотерапии в эксперименте на животных и с участием пациентов с туберкулезом.

В рамках первого исследования у макаков, которые получали два типа антибиотиков, отслеживали изменения результатов ПЭТ/КТ, а также определяли количество выживших возбудителей стандартным методом оценки эффективности лечения туберкулеза. Подобный подход был использован у людей, инфицированных туберкулезом, которые принимали один из противомикробных препаратов. Как выяснилось, результаты ПЭТ/КТ у людей были сопоставимы с таковыми у животных на протяжении всего курса лечения.

Во втором исследовании с участием пациентов с туберкулезом было отмечено, что ранние изменения в показателях ПЭТ/КТ (за 2 мес терапии) позволяют более точно прогнозировать состояние пациентов через 30 мес, чем традиционные микробиологические методы изучения образцов мокроты. На основании представленных данных можно сделать вывод о том, что технология комбинированного использования ПЭТ и КТ может применяться в клинических исследованиях эффективности новых противомикробных препаратов или диагностических методов с целью прогнозирования

отделенных эффектов избранного курса лечения. Потенциально это позволит сократить длительность исследования и снизить финансовые затраты.

Coleman M.T. et al. PET/CT imaging reveals a therapeutic response to oxazolidinones in macaques and humans with tuberculosis. Science Translational Medicine, 2014; 6 (265).

Chen R.Y. et al. PET/CT imaging correlates with treatment outcome in patients with multidrug-resistant tuberculosis. Science Translational Medicine, 2014; 6 (265).

Продолжение разработки новых противомикробных препаратов селективного действия

Исследователи из Рокфеллеровского университета (г. Нью-Йорк, США) продолжают работу над созданием нового антибиотика, который сможет выборочно воздействовать на патогенные бактерии, содержащие гены резистентности, не затрагивая другие микроорганизмы. В ходе экспериментов ученым удалось настроить бактериальный фермент Cas9 таким образом, чтобы он воздействовал на определенную последовательность ДНК и уничтожал ее. Такой селективный подход позволяет оставлять нормальный микробиом человека интактным, контролировать резистентность патогенных микроорганизмов и таким образом предотвращать развитие вторичных инфекций. При лечении тяжелых инфекционных заболеваний толстого кишечника новый селективный антибиотик сможет значительно снизить риск развития резистентной инфекции Clostridium difficile, связанный с пролонгированными курсами приема классических противомикробных препаратов.

Фермент Cas9 является компонентом противовирусного иммунитета бактерии, известного как CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats). Иммунная система CRISPR содержит уникальные генетические последовательности, которые соответствуют таковым вирусам. CRISPR-ассоциированные ферменты, включая Cas9, используют эти генетические последовательности для разрушения агрессивных вирусов, инфицирующих бактериальную клетку. Исследователям удалось перепрограммировать фермент Cas9 на определенные компоненты бактериальной клетки и фактически запустить аутоиммунную реакцию. Такой эффект был достигнут с помощью искусственного изменения генетических последовательностей и внедрения их в бактериальную клетку. В зависимости от локализации мишени Cas9 способен к эрадикации отдельных генов или к уничтожению всей бактериальной клетки. Таким образом, в некоторых случаях Cas9 может предотвратить развитие резистентности.

В ходе первых экспериментов было проведено изучение эффективности Cas9 против S. aureus, резистентного к канамицину. Терапия с использованием Cas9, мишенью которого стал ген резистентности к канамицину, уничтожила большинство резистентных S. aureus, не затронув при этом бактерии, чувствительные к антибиотику.

Следует отметить, что селективная противомикробная терапия – только одна из возможных точек приложения данного подхода. На втором этапе исследования действие Cas9 было направлено на плазмиды потенциально смертельного штамма мультирезистентного золотистого стафилококка. Уничтожение плазмид с помощью Cas9 привело к появлению чувствительности метициллинрезистентного золотистого стафилококка к тетрациклину. Более того, другие штаммы стафилококка под действием Cas9 приобрели иммунитет к получению резистентных плазмид. На завершающем этапе исследования действие Cas9 испытали в эксперименте на животных. Как выяснилось, Cas9 способен селективно уничтожать резистентную к канамицину стафилококковую инфекцию на коже мышей.

Результаты работы представляются многообещающими, однако ученым предстоит создать эффективные способы доставки Cas9. В ходе вышеописанных экспериментов для доставки Cas9 использовались вирусы, способные инфицировать бактериальную клетку. Вместе с тем такие вирусы могут внедряться только в некоторые типы клеток. Таким образом, чтобы данная концептуальная технология реализовалась как новый класс антибиотиков, необходимо разработать универсальный метод доставки препарата.

Следует также отметить, что, помимо высокого потенциала в борьбе с резистентными бактериями, новая технология может быть использована с целью углубленного изучения микробиома. Поскольку в организме человека присутствует огромное количество различных микробных ассоциаций, исключение отдельных микроорганизмов с помощью селективного действия Cas9 позволит более точно определить функции каждого из них.

Rockefeller University. Programmable antibiotic harnesses an enzyme to attack drug-resistant microbes. ScienceDaily, 5 October 2014.

Изучение защитных механизмов E. coli при инфекциях мочевыводящих путей

Кишечная палочка является одной из наиболее распространенных причин инфекции мочевыводящих путей. Серьезной проблемой здравоохранения в настоящее время является развитие у E. coli резистентности к существующим противомикробным препаратам. При этом механизм, благодаря которому этой бактерии удается выживать в мочевыводящих путях, на сегодня недостаточно изучен. В ходе недавней работы специалистом из Мичиганского университета (г. Энн Арбор, США) удалось выявить гены, которые способствуют жизнедеятельности E. coli в неблагоприятной среде.

Исследователи провели скрининг генома E. coli. Вместо ожидаемых факторов вирулентности были обнаружены гены, которые защищают бактерию от токсического действия ионов металлов, что способно повышать выживаемость микроорганизма в мочевыводящих путях. По мнению авторов исследования, данные защитные механизмы, а также другие генетические факторы, повышающие выживаемость бактерий, могут быть использованы в качестве терапевтических мишеней при создании новых препаратов.

Subashchandrabose S. et al. Host-specific induction of Escherichia coli fitness genes during human urinary tract infection. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Dec 8.

Подготовил **Игорь Кравченко**