

вирус — друг иммунитета?

Что мы знаем об иммуномодулирующем действии
бактериофагов?



Авторы: Ольга Ивановна Климова, канд. мед. наук, доц. кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института РУДН (Москва); Татьяна Витальевна Корицова, канд. мед. наук, врач высшей категории, «Medical on group» (Тюмень)

Копирайтинг: Олег Лищук

Глобальное и стремительное распространение лекарственной устойчивости микроорганизмов в последние годы **возродило интерес** медиков и биологов к **бактериофагам** — вирусам, поражающим бактерии, — как перспективному средству борьбы с инфекциями и потенциальной альтернативе антибиотикам. Соответственно, число **исследований**, посвящённых фагам, растёт в геометрической прогрессии, и немалая их доля посвящена активно изучаемому **иммуномодулирующему влиянию** этих биологических частиц.

Результаты подобных работ заставляют отходить от рассмотрения фагов как простых «пожирателей бактерий», — будучи наиболее распространёнными в природе биологическими объектами, они населяют все экосистемы, **сложно и разнообразно взаимодействуют** как с микро-, так и с макроорганизмами, эволюционируют совместно с ними. Подробности этих «взаимоотношений» пока мало изучены, но определённый багаж знаний накопить уже удалось.

Долгая история совместного существования бактериофагов и людей (а фагом человека, к слову, насчитывает более 10^{15} вирусных частиц¹) закономерно привела к формированию **синергии** — вирусы взаимодействуют со множеством структур человеческого организма. За 2013–2017 годы исследователи выяснили, что фаги взаимодействуют практически **со всеми звеньями противoinфекционной защиты** — от интенсивности секреции слизистых оболочек до рецепторов на тромбоцитах, — оказывая иммуномодулирующий эффект и существенно влияя на сценарий воспалительных реакций.

Фаги и слизь

Основное своё действие бактериофаги реализуют на **слизистых оболочках** — входных воротах для большинства патогенов. В ходе коэволюции с животными и людьми на оболочке вирусов появились

иммуноглобулиноподобные домены высокоантигенного наружного капсидного белка (highly antigenic outer capsid protein, НОС), способные взаимодействовать с кислыми гликановыми остатками основного гликопротеина слизи — **муцина**, обеспечивая **прочное прикрепление фагов** к секрету слизистых оболочек².

Моделирование в клеточной культуре показало, что бактериофаги, соединённые с поверхностным слоем слизи, «охотятся» на бактерии, формируют **первую линию антибактериальной обороны**. Постоянный контакт с бактериями, попадающими на слизистую оболочку, обеспечивает вирусы «пищей» — возможностью стабильной репликации², а уровень колонизации поверхности патогенными микроорганизмами при этом стабилен на невысоком уровне. Американские исследователи, применив метод эпифлуоресцентной микроскопии, продемонстрировали, что благодаря такой синергии соотношение фагов к бактериям на слизистых оболочках

в среднем в 4,4 раза выше, чем в окружающей их среде. Причём подобный механизм не зависит от локализации эпителия и присутствует **у всех видов животных**, продуцирующих слизь, — от актиний до человека².

Ещё одним подтверждением «взаимовыгодного сотрудничества» между бактериофагами и клетками слизистых оболочек служит то, что эти вирусы, в отличие от подавляющего большинства представителей микромира, могут свободно **перемещаться (квозь эпителиоциты)** (это явление называют транцитозом), распространяясь практически по всем органам и тканям³. При этом до сих пор не зафиксировано какого-либо вредоносного воздействия фагов на клетки макроорганизма, как и нежелательных регуляторных влияний.

Фаги и фагоциты

В нескольких экспериментах с участием лабораторных животных удалось смоделировать **синергию** фагоцитов и бактериофагов при борьбе с инфекциями. Например, после заражения мышей уропатогенными штаммами *Enterococcus faecalis* и *Pseudomonas aeruginosa* происходило вполне закономерное падение интенсивности внутриклеточного лизиса бактерий выделенными из селезёнки животных моноклеарными клетками: их функциональный ресурс быстро оказывался истощён. Внутрибрюшинное введение фагового лизата **восстанавливало** уровень этого показателя, а также сопровождалось значительным снижением числа патогенных микроорганизмов в печени, почках и мочевом пузыре инфицированных грызунов⁴.

В другой работе сравнивали защитные реакции на инфекцию обычных мышей и иммунодефицитной лабораторной линии с дефектами сигнального пути толл-подобных рецепторов, лимфоцитопений и нейтропений. У животных вызывали острое воспаление дыхательных путей, заражая их синегнойной палочкой, после чего начинали фаготерапию. Исследователи обнаружили, что ни бактериофаги, ни нейтрофилы в одиночку не в состоянии уничтожить столь агрессивный патоген, но их **совместное действие** успешно **купирует заболевание**⁵.

Моделирование показало, что в основе подобной синергии лежит способность фагов проникать в бактериальные биоплёнки и нарушать их целостность, препятствуя выработке сигнальных молекул «чувства кворума». В результате этого и вирусы, и иммунные клетки **получают доступ** к патогенам, эффективно их уничтожая⁶.

Фаги и лимфоциты

Человеческие Т-лимфоциты несут на своей поверхности рецепторы, к которым могут крепиться иммобилизованные фаги Т4 и HAP1 — подобные взаимодействия обеспечивают некоторые белки вирусных оболочек. Так, например, Т-клетки могут соединяться с вертексным капсидным белком (gp24), судя по всему, посредством мембранных интегринов семейств β1 и β3⁷.

В эксперименте *in vitro* Т-лимфоциты мыши, никогда не контактировавшей с фагом Felix-01 (инфицирующим сальмонеллу), проявляли слабый, но заметный **пролиферативный ответ** на этот вирус. Предварительное введение Felix-01 животному усиливало подобную реакцию. Эти данные указывают на то, что Т-клетки здорового индивида могут обладать **некоторой чувствительностью к бактериофагам**, причём она может усиливаться после контакта с соответствующим вирусом⁸.

[Фаги обладают способностью проникать в бактериальные биоплёнки и нарушать их целостность, препятствуя выработке сигнальных молекул «чувства кворума», благодаря чему они получают доступ к патогенам.]

Иммунологическое обследование людей, получавших препараты бактериофагов, показало, что вмешательство вызывает **преходящие колебания** активности и уровня Т-, В-, и НК-клеток в периферической крови: по окончании терапии иммунный статус пациентов практически не отличался от исходного⁷.

Авторы исследования на мышах продемонстрировали, что разные белки фагов **неодинаковы** по своим иммуно-

генным свойствам. Так, основной капсидный белок (gp23) и НОС вызывали гораздо более значимую продукцию иммуноглобулинов М и G, чем gp24; наименьшей была реакция В-лимфоцитов на малый наружный капсидный белок (small outer capsid protein, SOC)⁹. Наблюдения за животными и людьми, получающими препараты бактериофагов, показали, что пероральное назначение вирусов практически не вызывает синтеза антител к ним. При этом уровень гуморального ответа **не коррелирует** с результативностью лечения¹⁰.

В клиническом значении описанных взаимодействий фагов и лимфоцитов ещё только предстоит детально разобраться. Однако можно утверждать, что умеренно ингибирующее действие вирусов на Т-клетки позволяет им **«участвовать» с иммунной системой**, причём регуляторные Т-лимфоциты «следят» за тем, чтобы такая иммуносупрессия не стала чрезмерной¹¹.

Фаги и воспаление

Одна из наиболее интересных и многообещающих особенностей иммунотропного действия фагов — это их **противовоспалительный эффект**. В ходе фаготерапии значительно снижаются уровни С-реактивного белка (у некоторых пациентов — десятикратно), лейкоцитов и СОЭ. По мнению авторов,

у подобного явления как минимум **два механизма**: первый связан с непосредственной антибактериальной активностью, а второй — с прямым действием фагов на механизмы воспалительного процесса¹².

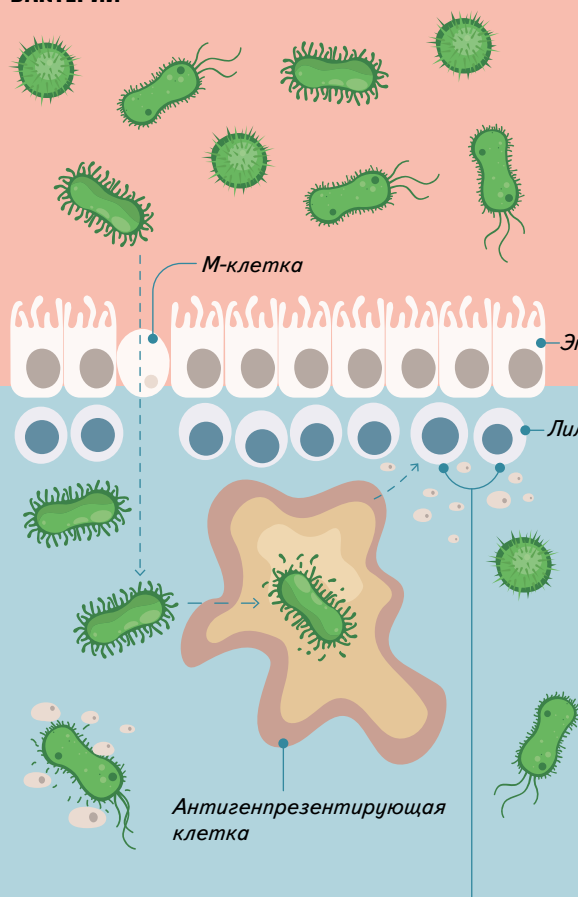
В предыдущих работах те же исследователи выяснили, что бактериофаги уменьшают клеточную инфильтрацию аллогенного кожного трансплантата у мышей (и замедляют его отторжение) и активацию ядерного фактора транскрипции NF-κB, запускающего экс-

НЕ НАДО, Я САМ!

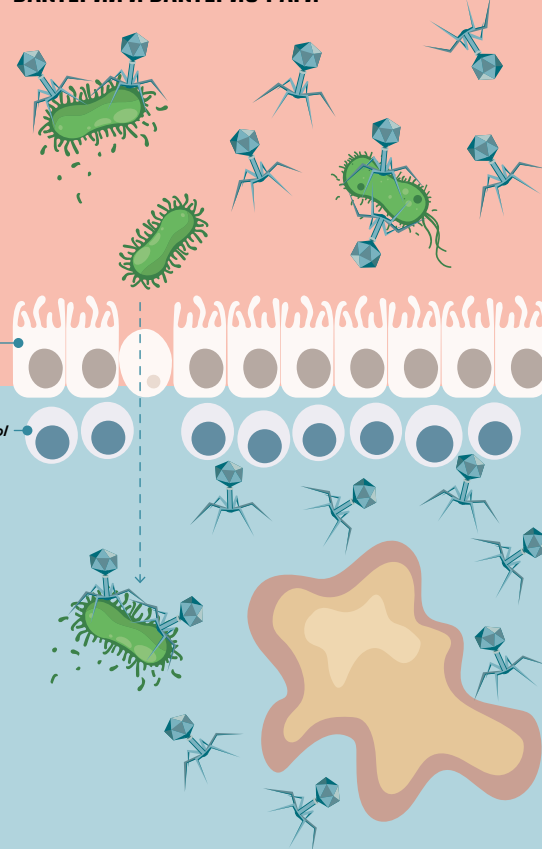
МОДУЛЯЦИЯ БАКТЕРИОФАГАМИ ЛОКАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА*



БАКТЕРИИ



БАКТЕРИИ И БАКТЕРИОФАГИ



Т-хелперы вырабатывают цитокины для активации адаптивного иммунного ответа

Интерлейкин-2
Интерферон- γ
Фактор некроза
опухоли α

Т-хелперы
1 типа Т-хелперы
2 типа

Интерлейкин-4
Интерлейкин-5
Интерлейкин-6
Интерлейкин-9
Интерлейкин-10
Интерлейкин-13

М-клетки (микроскладчатые клетки) — специализированные клетки слизистой оболочки. Способны пропускать через базальную мембрану микроорганизмы и частицы, где они вступают в контакт с Т-лимфоцитами.

ВЫВОД: Из-за уничтожения бактерий фагами Т-хелперы 1 и 2 типов **снижают продукцию цитокинов**, уменьшая выраженность воспаления. Эти вирусы также способны **напрямую контролировать** активность связанных с эпителием лимфоцитов.

* Górski A., Dąbrowska K., Międzybrodzki R. et al. Phages and immunomodulation // Future Microbiol. 2017 №12. P. 905—914. [PMID:28434234]

От теории к практике

Нет сомнения, что дальнейшие исследования принесут множество новых данных о механизмах взаимных влияний бактериофагов и элементов иммунной системы человека, что, вероятно, послужит разработке новых терапевтических методик, а возможно, и целых подходов. Однако медицинская практика остро нуждается в новых антибактериальных влияниях уже сейчас, и параллельно с лабораторными работами ведутся клинические испытания препаратов, содержащих бактериофаги.

Эффективность и безопасность комплексного средства с бактериофагами при эмпирической коррекции биоценоза гениталий изучили на базе кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института Российского университета дружбы народов. В состав гелевого препарата входит 40 видов фагов, подавляющих рост актуальных штаммов патогенных бактерий (*Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, а также представителей родов *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Campylobacter*, *Enterobacter*, *Haemophilus*, *Klebsiella*, *Proteus* и *Streptococcus*). В исследовании средство применяли по показанию «по назначению врача в других клинических ситуациях, при которых важно обеспечить высокую антибактериальную защиту и отсутствие побочных эффектов»¹³.

Были изучены данные о группе женщин репродуктивного возраста (18–40 лет) с клиническими проявлениями **генитального дисбиоза** (обильные выделения из половых путей, неприятный запах, диспареуния). Среди **критериев исключения** фигурировали беременность, перенесённые вульвовагиниты установленной специфической этиологии (гонорейной, хламидийной,

[Медицинская практика остро нуждается в новых антибактериальных влияниях уже сейчас, и параллельно с лабораторными работами ведутся клинические испытания препаратов, содержащих бактериофаги.]

трихомонадной, кандидозной), злокачественные новообразования; в соответствии с ними были исключены 12 из 72 участниц. Всех оставшихся участниц (n=60) обследовали по следующей программе:

- клиническая оценка симптомов и гинекологический осмотр — на каждом визите;
- pH-метрия вагинального секрета — трижды (в первый и третий дни эксперимента, а также после окончания лечения);
- микробиологическое исследование — дважды (до лечения и через 7 дней после его начала либо после дополнительной этиотропной терапии);
- анализ методом ПЦР на специфических возбудителей — однократно (до начала лечения);
- анализ методом ПЦР на облигатную анаэробную, факультативную аэробную микробиоту и лактобактерии — дважды (до и после лечения).

Пациенткам назначили **гелевый фагопрепарат наружно** (на слизистую оболочку преддверия влагалища) по 5 мл 2 раза в сутки (утром и вечером) на протяжении 7 дней.

На втором визите (через 5 дней после начала лечения) участницы отметили **улучшение самочувствия и качества жизни**; выделения из половых путей уменьшились, а зуд, жжение и боль в области наружных половых органов их практически не беспокоили. По итогам гинекологического осмотра и лабораторного обследования у 33 женщин диагностировали **бактериальный**

вагиноз — им дополнительно к фаготерапии назначили метронидазол по 2 г 1 раз в день на 2 дня. Остальным 27 пациенткам на фоне клинической картины **аэробного вульвовагинита** рекомендовали продолжить монотерапию гелем с бактериофагами. Поскольку эти вирусные частицы способны к активному перемещению по слизистым оболочкам и между эпителиоцитами, препарат наносили на вульву, откуда вирусы самостоятельно мигрировали во влагалище — область скопления бактерий.

Результат лечения оценивали при третьем визите пациенток, после завершения терапии. Выяснилось, что к этому моменту кислотность влагалищного содержимого нормализовалась (до показателей 4,0–4,4) у 88% из них, у остальных 12% она не превысила 4,7.

При этом **физиологическое содержание лактобактерий** наблюдали у 77% участниц, а клинически значимого титра облигатной анаэробной микробиоты не зарегистрировали ни у одной.

В ходе терапии ни одна из пациенток не отметила каких-либо нежелательных явлений, по параметру «удобство применения препарата» все участницы оценили его как хороший или отличный.

Полученные результаты позволили сделать вывод о **безопасности и широте спектра антибактериальных влияний** геля «Фагогин».

Поскольку средство **не угнетает лактобактерии**, вырабатывающие молочную кислоту, на фоне быстрой ликвидации клинических проявлений генитального дисбиоза одновременно **снижается pH** влагалищного содержимого, что поддерживает условия, благоприятные для нормализации микробиоценоза половых путей.

[Одна из наиболее интересных и многообещающих особенностей иммунотропного действия фагов — это их противовоспалительный эффект.]



© StatusPraesens

прессию провоспалительных цитокинов, хемокинов и молекул адгезии. Интересный эффект обнаружили у короткого фибриллярного хвостового белка *gr12*, обеспечивающего прикрепление фага Т4 к липополисахаридам клеточной стенки кишечной палочки. Рекомбинантный препарат *gr12* угнетал действие липополисахаридов (мощного стимулятора воспалительных реакций) *in vivo*, снижая концентрации циркулирующих ИЛ-1а (почти полностью) и ИЛ-6 (наполовину), а также инфильтрацию печени и селезёнки¹⁴.

При этом фаги и их поверхностные белки, несмотря на свою чужеродность по отношению к макроорганизму, не стимулируют продукцию медиаторов воспаления и активных форм кислорода — и даже уменьшают окислительный стресс, вызванный бактериями и эндотоксинами (потенциально это может принести пользу в терапии сепсиса). Очищенный фаг АЗР и продукты деградации лизированного им золотистого стафилококка не провоцируют дегрануляцию гранулоцитов и закономерного высвобождения агрессивных веществ (протеаз, гистамина, простагландинов и других) — в отличие от цельных *Staphylococcus aureus* и множества вирусов человека и животных¹⁵.

Кроме того, снижение продукции провоспалительных цитокинов и уменьшение вызываемого ими повреждения тканей наблюдали в ходе терапии фагами экспериментальных (в том числе сублетальных) инфекций, вызванных *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Cronobacter spp.* и другими возбудителями.

В 2016 году был описан ещё один механизм противовоспалительного действия бактериофагов. Наблюдения показали, что вирус *Pf4*, поражающий *P. aeruginosa*, подавляет рост и образование биоплёнок *Aspergillus fumigatus*. Выяснилось, что фаг локально нарушает метаболизм железа, связывая его и тем самым подавляя жизнедеятель-

[Фаги и их белки, несмотря на свою чужеродность по отношению к макроорганизму, не стимулируют продукцию медиаторов воспаления и активных форм кислорода и даже уменьшают окислительный стресс.]

ность гриба. Помимо этого умеренное снижение концентрации упомянутого элемента, не вызывая анемию, обладает рядом непосредственных иммуотропных эффектов¹⁶.

- умеренно снижает клеточный и гуморальный иммунитет, а также продукцию цитокинов;
- подавляет активацию Т-лимфоцитов и индуцированное воспалительное повреждение печени.

Особый интерес вызывает работа бельгийских исследователей, изучивших действие пяти различных бактериофагов на 12 связанных с иммунитетом генов в моноцитах периферической крови человека. Реакция организма на действие разных фагов оказалась сопоставимой, но основной находкой стало выраженное подавление экспрессии толл-подобных рецепторов 4-го типа (TLR4) и мембранного CD14⁺.

Именно эти молекулы при контакте с микробными ЛПС запускают секрецию провоспалительных цитокинов. Кроме того, вирусы индуцировали синтез противовоспалительных интерлейкинов семейства ИЛ-10, обладающих противовоспалительными и тканепротективными свойствами, а также супрессора-3 цитокиновых сигнальных систем (SOCS3)¹⁷.

Фаги и тромбоциты

Исследования последних лет показали, что тромбоциты — не только важнейшее звено свёртывающей системы, но и важный модулятор иммунного ответа, принимающий участие в активации воспаления, реакции отторжения транс-

плантата и патогенезе аутоиммунных заболеваний¹⁸.

Предположительно, центральную роль в данном эффекте играют производимые этими форменными элементами крови микропузырьки (экзосомы), содержащие впечатляющий ассортимент цитокинов, ферментов, РНК и факторов транскрипции¹⁹.

Мембранные интегрин $\beta 3$ циркулирующих тромбоцитов могут связываться с Т-фагами, причём в присутствии коллагена этот процесс заметно усиливается. В свою очередь бактериофаг Т4, например, подавляет связывание тромбоцитов с фибриногеном, а также ингибирует агрегацию кровяных пластинок под действием тромбина *in vitro*⁷. Возможно, описанные взаимодействия послужат основой для перспективных терапевтических разработок.



Несмотря на то что исследования в области терапевтического применения «вирусов бактерий» только начинают принимать достойный размах, уже сейчас можно сказать, что в норме бактериофаги выполняют важную роль в тонкой настройке противoinфекционной защиты. Важно, что эти частицы действуют не автономно, а в тесном контакте со многими элементами иммунной системы, поддерживая баланс микробиоты и подавляя патогенную микрофлору.

Судя по всему, в условиях снижения эффективности всех известных антибиотиков именно в этом направлении в будущем можно ждать наиболее перспективных разработок, позволяющих если не контролировать микромир (как когда-то мечталось человечеству после открытия пенициллина), то хотя бы поддерживать с ним вооружённый нейтралитет. **SP**

[Вирусы индуцировали синтез противовоспалительных интерлейкинов семейства ИЛ-10, обладающих противовоспалительными и тканепротективными свойствами, а также супрессора-3 цитокиновых сигнальных систем.]

Библиографию см. на с. 148—151.

КАЗАНЬ
15-17 НОЯБРЯ
2018 года

VI ОБЩЕРОССИЙСКИЙ СЕМИНАР
«РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РОССИИ:
КАЗАНСКИЕ ЧТЕНИЯ»
Korston Hotel & Mall Kazan



ЧТО В НАУЧНОЙ ПРОГРАММЕ:

Материнская и младенческая смертность: можно ли управлять показателями? • Преждевременные роды: проблема тысячелетия • Опыт внедрения стационарзамещающих технологий: успехи и проблемы • Клинические протоколы оказания неотложной помощи в акушерстве и гинекологии: повышаем эффективность их работы • Эндокринная гинекология: просто о сложном • Акушерская и гинекологическая агрессия: пути преодоления • Онкология репродуктивных органов: роль акушера-гинеколога • Вагинальные инфекции: как правильно лечить женщин? • Непрерывное образование врачей: от традиций к инновациям

А ТАКЖЕ ШКОЛЫ:

- «Презклампсия: управлять управляемым»
- «Преодоление акушерских кровотечений»
- «Эндокринная гинекология»



Тел.: +7 (499) 346 3902; e-mail: info@praesens.ru. Сайт: praesens.ru;
группа ВКонтакте: vk.com/praesens; группа в Фейсбуке: facebook.com/stpraesens;
профиль в Инстаграме: instagram.com/statuspraesens

Только для медицинских работников



МАРС

StatusPraesens
Profimedia