

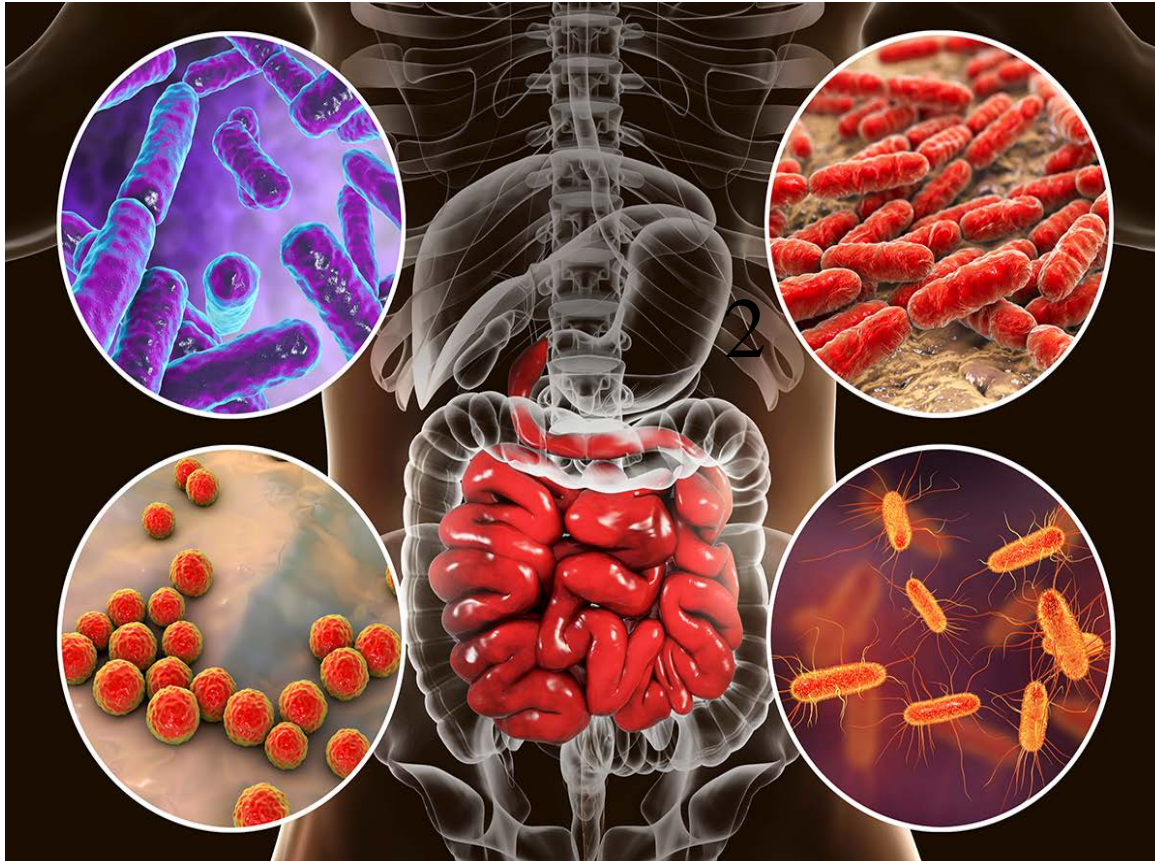
Создание биорезорбируемого бактериального терапевтического комплекса для коррекции микробиоты кишечника

А.В. Корель^{1,3}, А.Г. Самохин^{1,3}, Литвинова Е.А.^{1,5}, В.В. Павлов³,
В.О. Ткаченко⁴, В.А. Кузнецов², Д.В. Нестеров², А.В. Пестов²

- 1) Новосибирский Государственный Технический Университет, г. Новосибирск
- 2) Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, г. Екатеринбург
- 3) Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна, г. Новосибирск
- 4) Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, г. Новосибирск
- 5) Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины, г. Новосибирск



Микробиота кишечника человека представляет собой сложную, динамичную и пространственно неоднородную экосистему, населенную множеством микроорганизмов, взаимодействующих друг с другом и с человеком-хозяином, включая бактерии, грибы, археи и вирусы.



Микробиота здоровых людей состоит из постоянных и транзитных видов, относящихся более чем к 17 типам, включая Firmicutes (>70 %), Bacteroidetes (>30 %), протеобактерии (<5 %), актинобактерии (<2 %), Fusobacteria и Verrucomicrobia (<1 %)

(Belizário et al., 2018).

Наиболее частые причины изменения собственной микробиоты кишечника:

1. Многократное применение антибиотиков – возникновение устойчивых к антибиотикотерапии штаммов бактерий.
2. Бесконтрольное применение нестероидных противовоспалительных препаратов.
3. Пациенты, перенесшие хирургическое вмешательство или пребывающие в отделении реанимации:
 - Назначение антибиотиков;
 - Сопутствующая патология, такая как сахарный диабет;
 - Недостаток нутриентов в кишечнике вследствие парэнтерального питания.
4. Стресс.
5. Неправильное питание.
6. У возрастных пациентов с коморбидными состояниями (более одного заболевания одновременно) большое количество порой не сочетаемых препаратов, что может провоцировать побочные эффекты, затрагивающие микробиоту кишечника.

Нарушение гомеостаза кишечника хозяина

Как следствие нарушения
микробиоты кишечника:

Нарушение
проницаемости стенки
кишечника

Транслокация патогенных и
условнопатогенных бактерий

Инфекции области
хирургического вмешательства

Перипротезная инфекция

Проникновение через
кишечную стенку метаболитов

Запуск регуляторных
каскадных путей

Устойчивость к патогенам и
регуляция иммунных ответов

Хронические заболевания*

1. Болезнь Альгеймера (увеличение количества специфических провоспалительных бактерий, включая *Escherichia* и *Shigella*).
2. Болезнь Паркинсона (количество *Bifidobacterium*, *Pasteurella* и *Enterococcus* - возрастает, Количество *Brautella*, *Prevotella* и *Faecosoccus* снижается).
3. Аутизм 4. Ожирение 5. ВЗК (Болезнь Крона) 6. Гипертензия 7. Атеросклероз 8. Колоректальный рак 9. Сахарный диабет

*Yinwei Chen, Jinghua Zhou, Li Wang Role and Mechanism of Gut Microbiota in Hum Disease // Cell. Infect. Microbiol., 17 March 2021 | <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.6>

Решение проблемы нарушения микробиоты

Типирование микробиоты пациента

Санация кишечника

сорбенты

Преимущества:
Широко представлены на рынке
Недостатки:
Доставка к месту воздействия

антибиотик
и

Проблема:
Возникновение новых антибиотикорезистентных штаммов бактерий и аллергии

Фаготерапия

Преимущества:
1. Таргетное воздействие
2. Выводится полностью из организма при отсутствии субстрата
3. Отсутствие аллергии

Заселение кишечника «хорошими» бактериями

Пробиотики

Проблема
1. Приживаемость бактерий
2. Доставка терапевтического агента к месту воздействия:
А) свечи (вопрос: как влияет жировой наполнитель на пробиотики, невозможность доставить к месту действия и удержание внутри кишечника)
Б) капсулы (деградируют слишком рано)

Трансплантация кала от здоровых доноров

Преимущества:
разрешенная и применяемая клиническая процедура
Недостатки:
1. Отсутствие строгого протокола
2. Поиск «здорового» донора
3. Смертельные исходы
4. Способ доставки - не комфортно



Дизайн исследования хитозанпроизводных биodeградируемых образцов гелей (*in vitro*)

Синтезированы гелевые биорезорбируемые носители на основе хитозановых производных

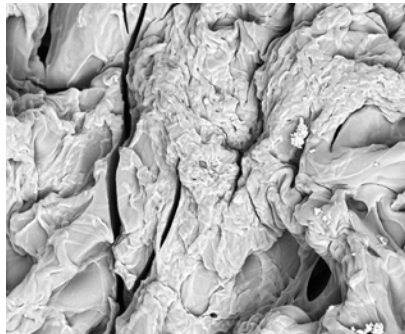


Сухие образцы



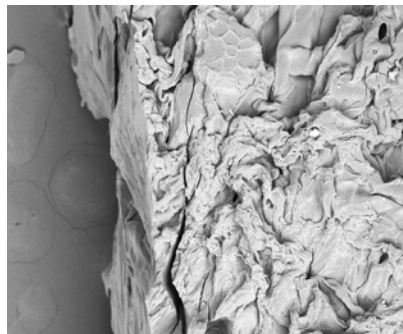
Набухшие образцы

Общий вид образцов (макроскопически) и рельеф их поверхности (сканирующая электронная микроскопия)



TM-1000_2572

D8.8 x600 100 um



TM-1000_2573

D8.8 x150 500 um

Подобраны условия стерилизации с минимальной потерей свойств гелей-носителей

Патент RU 2756421 от 29.12.2020 «Способ радиационной стерилизации биоразлагаемых гидрогелей на основе хитозана», авторы: Самохин А.Г., Корель А.В., Кузнецов В.А., Ткаченко В.О., Брызгин А. А., Землякова Е.О., Пестов А.В. Опубликовано: 30.09.2021 Бюл. № 28

Определена динамика набухания образцов гелей при комнатной температуре

Запущен в работу *in vitro* тест на цитотоксичность (окраска кальцеином АМ, 7-АДД методом проточной цитометрии)

ПЕРСПЕКТИВЫ

Эксперименты *in vitro*

1. Набор статистических данных по: разгрузке бактериофагов/бактерий из гелей в условиях модельного ЖКТ.
2. Изучение адгезивных свойств гелей.
3. Определение острой цитотоксичности геле.
4. Определение стимуляции роста бактерий.
5. Продуктами биodeградации гелей.

Доработка гелевых носителей с учетом результатов испытаний

Будут получены опытные образцы биоразлагаемых, нетоксичных гелевых носителей, способных доставлять терапевтические агенты к месту применения (кишечник)

Эксперименты *in vivo*

1. Иммунизация мышей фагами для получения антител для визуализации прохождения через ЖКТ животного гелей, нагруженных бактериофагами;
2. Получение безмикробных мышей для моделирования ВЗК;
3. Определение цитотоксичности образцов;
4. Проведение экспериментов по разгрузке терапевтических агентов (бактериофаги, бактерии);
5. Скрининг микробиоты пациентов с нарушением микробиоты;
6. Создание модельной линии мышей с микробиотой пациентов с ВЗК;
7. Моделирование прохождения и терапевтической разгрузкой агентов (бактериофагов и бактерий).

НАШИ НАУЧНЫЕ ПАРТНЕРЫ

ИОС УрО РАН (г. Екатеринбург) - создание и синтез полимерных материалов

ИХБФМ СО РАН (г. Новосибирск) - наработка и подбор бактериофагов

ФГБУ ННИИТО (г. Новосибирск) - бактериологический компонент работ

НИИНМ (г. Новосибирск) - клеточные и аналитические работы

НИИКИ (г. Новосибирск) - иммунологические исследования

**СПАСИБО ЗА
ВНИМАНИЕ**



Разработана *in vitro* модель желудочно-кишечного тракта, имитирующая водородный показатель желудка и кишечника мыши

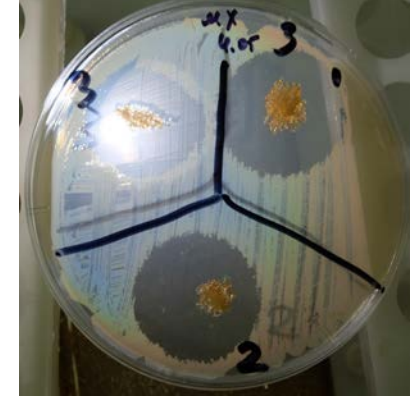
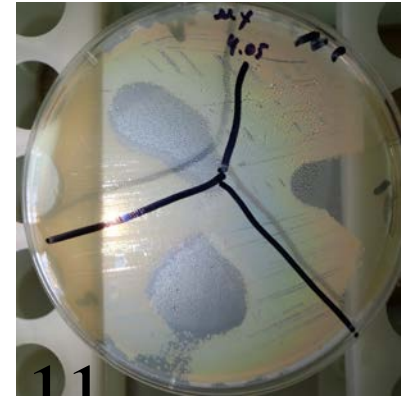


Проведен скрининг по определению динамики разгрузки фаговых частиц из разработанных гелевых носителей в условиях кислого, нормального и щелочного pH, а также в условиях *in vitro*, моделирующих водородный показатель среды желудочно-кишечного тракта мышей

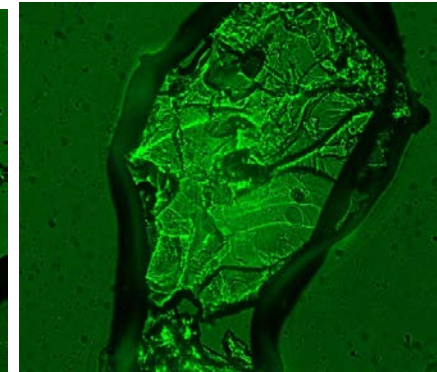
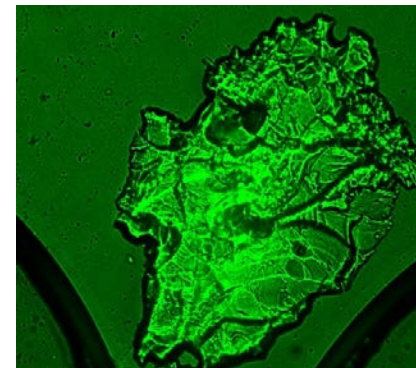
Произведена проверка терапевтической активности выгружаемых фаговых частиц из разработанных гелевых носителей

Определен количественный выход бактериофагов из разработанных гелевых носителей

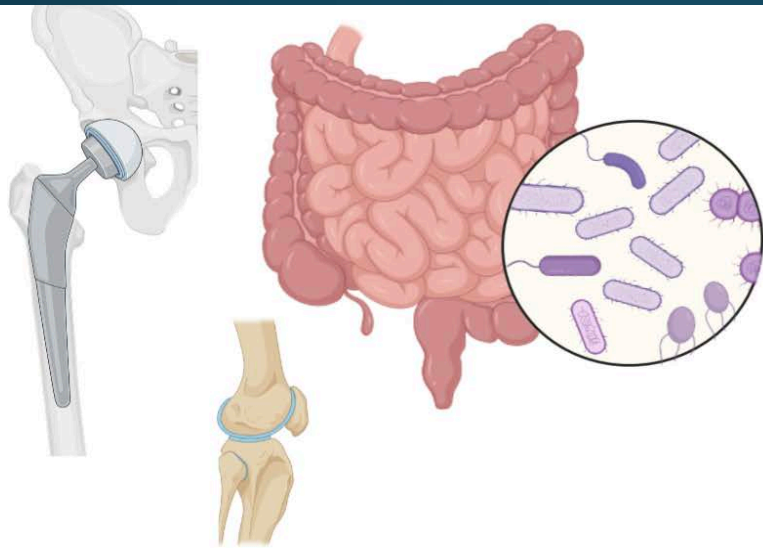
Осуществлена визуализация динамики выхода бактерий, окрашенных прижизненным флуоресцентным красителем из разработанных гелевых носителей



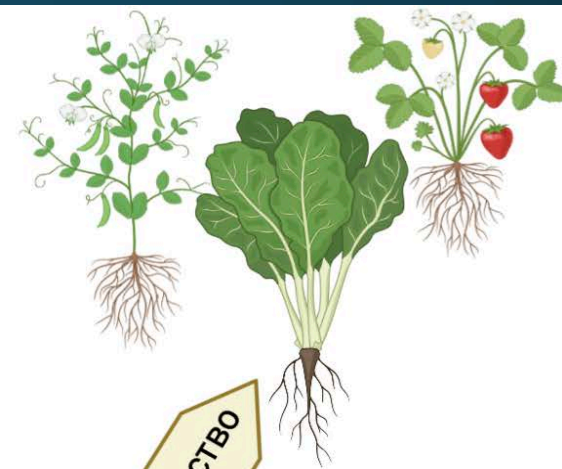
Литические свойства транспортированного в геле стафилококкового бактериофага



Трансплантируемые бактериальные клетки, окрашенные прижизненным флуоресцентным красителем внутри геля

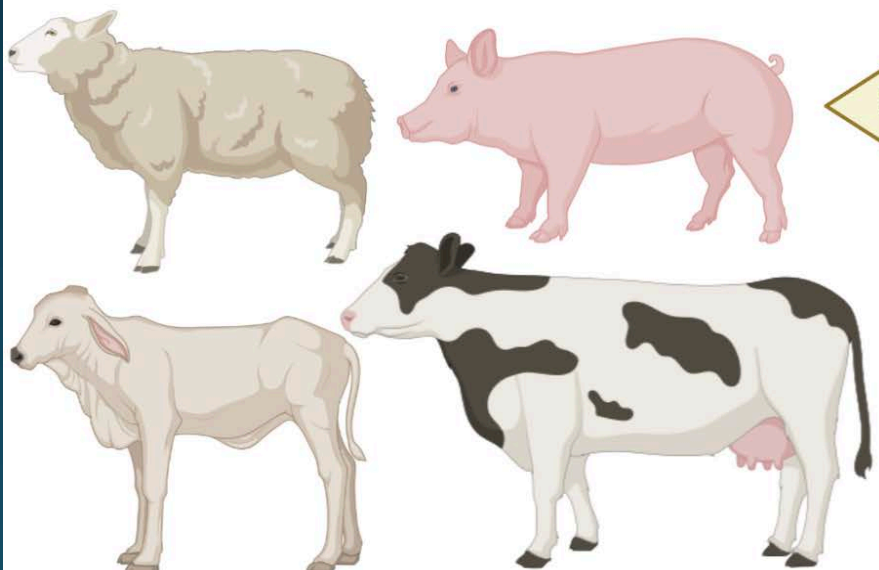


Медицина



Растениеводство

Животноводство



АНТИБИОТИКИ



СПОСОБЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ

- АЛЬТЕРНАТИВА АНТИБИОТИКАМ, НАПРИМЕР
БАКТЕРИОФАГИ
- ПОДСЕЛЕНИЕ НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ
- СОЗДАНИЕ БЛАГОПРИЯНЫХ УСЛОВИЯ ДЛЯ
ПОДДЕРЖАНИЯ СОБСТВЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ

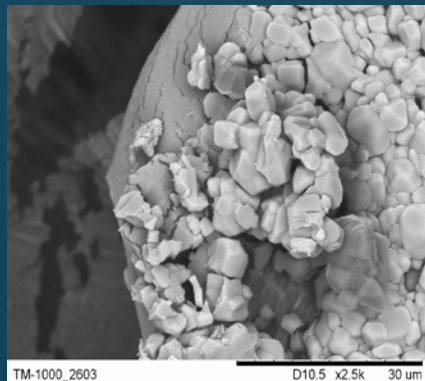
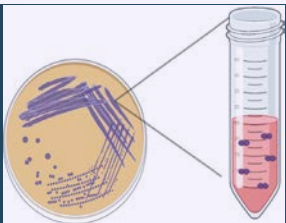
ХОЗЯИНА

РЕШЕНИЕ:

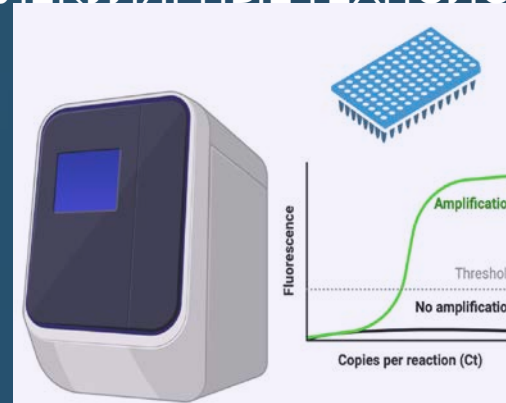
БИОРАЗЛОГАЕМЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ
МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА

ПОДХОДЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ

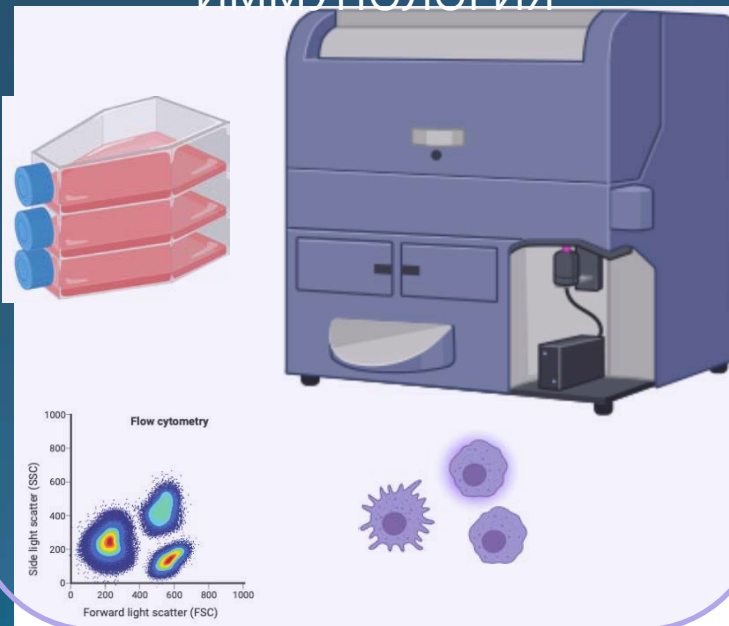
МИКРОБИОЛОГИЯ



МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ



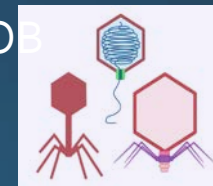
КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИЯ



БЕЗМИКРОБНЫЕ



ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ И НАНОРАЗМЕРНЫХ ОБЪЕКТОВ



Основные мировые научные конкуренты

По химической секции:

НИДЕРЛАНДЫ Department of Biomedical Engineering, University Medical Center Groningen

США Massachusetts General Hospital Cancer Center and Center for Regenerative Medicine, Harvard Stem Cell Institute, Department of Chemistry, Texas A&M University

ШВЕЦИЯ Department of Chemistry, Chemical-Biological Center, Umeå University

КИТАЙ State Key Laboratory of Chemical Engineering, Department of Chemical and Biological Engineering, Zhejiang University, Hangzhou

По фаговой и бактериальной терапевтической секции:

БРИТАНИЯ Department of Biomedical Engineering, University of Cambridge

Коммерческие капсулы с пребиотиками



До эксперимента



После 30 минут в кислом растворе при 37 °C