



Martinské centrum imunológie s.r.o., Mudroňova 12, 036 01 Martin

Martinské centrum imunológie, s.r.o.

v spolupráci so spoluriešiteľom **Centraleuropean Biotech Institute s.r.o.**

VÝSKUM NOVÝCH SYSTÉMOV PRE LOKÁLNE POUŽITIE

OBSAHUJÚCE ŠPECIFICKÉ BAKTERIÁLNE FÁGY

AKO ÚČINNÚ VYSOKO ŠPECIFICKÚ PROTILÁTKU

V OBLASTI DIAGNOSTIKY A LIEČBY AUTOIMUNITNÝCH OCHORENÍ

projekt základného výskumu

Poskytovateľ: Ministerstvo školstva, vedy, výskumu a športu SR, č.: 2018/14631:8-26C0

Trvanie projektu: 19.12.2018 - 9.12.2021

Zodpovedný riešiteľ: Doc. MUD. Daniela Kantárová, PhD.

Čoraz viac faktov nasvedčuje tomu, že sa ľudstvo dostalo do tzv. postantibiotickej éry. Svedčí pre to okrem iného celosvetovo narastajúca rezistencia na antibiotiká, ako aj skutočnosť, že na trh prichádza v posledných rokoch už neporovnateľne menej antibiotických prípravkov.

Výskyt infekčných chorôb (lokálnych, ako aj celkových) všeobecne prudko stúpa. So zvyšujúcou sa incidenciou sekundárnych imunodeficiencií a s nárastom rezistencie baktérií voči antibiotikám je liečba bakteriálnych infekcií stále väčším problémom. Jednou z alternatív liečby bakteriálnych infekcií antibiotikami môžu byť „prirodzené predátory“ – fágy, resp. bakteriofágy – teda organizmy, schopné prirodzene napádať a usmrcovať baktérie. Výhodou ich použitia v klinickej praxi je fakt, že bakteriofágy sú vysoko špecifické a infikujú len konkrétny bakteriálny kmeň, čím je chránená prirodzená mikroflóra organizmu. V neposlednom rade je príprava preparátov s obsahom





bakteriofágov lacnejšia aj vďaka ich schopnosti „self-amplifikácie“ a omnoho rýchlejšia ako vývoj nového antibiotika.

Liečba bakteriofágmi bola u človeka po prvýkrát použitá na začiatku 20. storočia (Twort FW. An investigation on the nature of the ultramicroscopic viruses. Lancet. 1915;186:1241-1243, d'Hérelle F. Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. C. R. Acad. Sci. Ser. D. 1917;165: 373-375). Prvých 5 fágových prípravkov bolo vyrobených vo Francúzsku proti rôznym infekciám: Bacté-coli-fágy, Bacté-rhino-fágy, Bacté-intesti-fágy, Bacté-pyo-fágy a Bacté-staphy-fágy. Ďalší rozvoj zabrzdiло objavenie Penicillium notatum a rozmach antibiotickej liečby. Vzhľadom na rozsah antibiotickej rezistencie nastáva v posledných rokoch renesancia záujmu o možnosti využitia bakteriofágov najmä v liečbe multirezistentných infekcií.

Možnosti, resp. výhody liečebného využitia bakteriofágov:

- baktérie nie sú v dlhodobom horizonte schopné vytvoriť rezistenciu voči bakteriofágom, nakoľko tieto rovnako podliehajú mutáciám,
- viažu sa na špecifický receptor len na povrchu konkrétneho bakteriálneho kmeňa (alebo úzkej skupiny kmeňov) – nenapádajú prirodzenú mikroflóru organizmu; pre likvidáciu jedného druhu baktérie je potrebný iba jeden druh fága,
- príprava a výroba bakteriofágových preparátov je efektívnejšia ako zavádzanie nových antibiotických prípravkov,
- fágy sú schopné počas procesu zabíjania baktérií zvýšiť svoj počet podľa aktuálnej bakteriálnej hustoty - auto-dosing, čím sami prispievajú k vytvoreniu účinnej dávky, po eliminácii hostiteľskej baktérie a zvládnutí infekcie sa bakteriofág vylúči lymfatickým systémom,
- fágy majú schopnosť sa replikovať – auto-amplifikácia – za vhodných okolností je teda potrebná aplikácia fágov len v jednej dávke,
- nevýhodou je nutnosť presnej identifikácie bakteriálneho kmeňa, voči ktorému má bakteriofág účinkovať,
- fágy ako proteínové štruktúry sú citlivé na známe faktory spôsobujúce denaturáciu bielkovín,
- fágy sú veľmi citlivé a pri chýbaní vhodných podmienok v prostredí veľmi rýchlo strácajú viabilitu.





CIELE PROJEKTU:

Riešenie vedecko-výskumnej úlohy je zamerané na výskum nového nosiča, resp. aplikačného systému pre lokálne použitie, ktorý bude obsahovať bakteriofágy ako účinnú vysoko špecifickú terapeutickú modalitu. Cieľom výskumu je nájsť nosič, v ktorom budú bakteriofágy dostatočne dlho prežívať a uchovávať si svoju aktivitu. Zároveň je predmetom základného výskumu aj zvolenie vhodnej kombinácie bakteriofágov v jednom nosiči.

Výskum vhodného nosiča ako aj vhodnej kombinácie bakteriofágov je realizovaný so zameraním na využitie formou špecifickej lokálnej liečby napr. u pacientov s autoimunitným ochorením s kožnými komplikáciami v zmysle kožných defektov, ktoré sú v súčasnosti často liečené dlhodobou antibiotickou liečbou s celým spektrom nežiadúcich účinkov.

AKTUÁLNA SÚHRNNÁ INFORMÁCIA O RIEŠENÍ PROJEKTU:

V rámci riešenia projektu bol v jeho počiatkových fázach zrealizovaný literárny prehľad o súčasnom stav poznatkov vo viacerých oblastiach:

1. Analyzované boli preklinické a klinické štúdie s použitím rôznych liekových foriem obsahujúcich bakteriofágy a zároveň existujúce, resp. zamietnuté registrácie rôznych liekových foriem obsahujúcich bakteriofágy.
2. Zhodnotený bol výskyt, resp. zastúpenie jednotlivých bakteriálnych kmeňov v chronických ranách v rámci registrov SR.
3. Analyzované boli existujúce nosiče s dôrazom na využitie xerogélov a alkogélov, následne boli zosumarizované existujúce požiadavky pre reologické meranie, kvalitatívne a kvantitatívne metodiky hodnotiace fyzikálne, chemické a biologické vlastnosti aktívnej substancie vehikula obsahujúcej bakteriofágy.
4. Vytvorený bol protokol s inklúznymi a exklúznymi kritériami pre zaradenie pacientov, cieľom ktorého bolo kreovanie súboru pacientov s autoimunitnými chorobami s kožnými komplikáciami v zmysle infikovaných kožných defektov, pre ktorých by bol skúmaný nosič s vhodným bakteriofágovým zložením alternatívou dlhodobej celkovej antibiotickej liečby;





zosumarizované boli aj vhodné laboratórne imunologické vyšetrenia, ktoré by mali zhodnotiť základný imunostatus týchto pacientov.

V ďalšom priebehu boli zadefinované bakteriálne kmene, ktoré budú ďalej používané v rámci výskumu a prebiehalo testovanie jednotlivých foriem gélov za účelom výberu najvhodnejšieho vehikula.

Podľa prvých výsledkov laboratórneho testovania boli vybrané najvhodnejšie typy nosičov a vytvorená aktívna substancia s obsahom bakteriofágov (s použitím bakteriofága špecifického k *Staphylococcus aureus*) a bola podaná žiadosť o udelenie patentu. Boli vykonané testy zamerané na cytotoxicitu na špecifických bunkových líniiach. Aktuálne pravidelne prebieha testovanie prežívania bakteriofágov v nosiči, reologických, fyzikálnych, chemických a biologických vlastností aktívnej substancie. Po ukončení tejto fázy výskum pokračuje s použitím ďalších bakteriálnych kmeňov (*Proteus mirabilis* a *Klebsiella pneumoniae*), resp. ich kombináciou.

Problematika projektu bola doteraz aktívne prezentovaná na 5 domácich a 3 zahraničných odborných podujatiach.

