

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

РЕФЕРАТ - ПРЕЗЕНТАЦИЯ

«Разработка новых стратегий борьбы с инфекционными заболеваниями на основе применения антимикробных пептидов»

Болатчиев Альберт Добаевич, кандидат медицинских наук,
ассистент кафедры клинической фармакологии с курсом
дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО
Ставропольский государственный медицинский университет
Минздрава России

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Прогрессирующее нарастание антибиотикорезистентности является глобальной угрозой человечеству, что отражено в международных документах Всемирной организации здравоохранения. В Российской Федерации также принят ряд важнейших решений, направленных на обеспечение биологической безопасности страны, в том числе в связи с распространением антимикробной резистентности (Указ Президента Российской Федерации от 11.03.2019 № 97 "Об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу"; Распоряжение Правительства Российской Федерации от 30.03.2019 № 604-р "Об утверждении Плана мероприятий на 2019-2024 годы по реализации Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года").

Особенно ярко проблема антибиотикорезистентности проявляется при хроническом течении инфекционного процесса, например, у пациентов с синдромом диабетической стопы (СДС). Это связано с тем, что инфицированные язвы плохо поддаются лечению системными противомикробными средствами ввиду низкой чувствительности к препаратам, а также иммунодефицита и нарушений микроциркуляции при сахарном диабете. Попытки усилить эффективность системной антибактериальной терапии с помощью местных противомикробных средств не всегда результативны. В связи с этим фармакотерапия СДС требует комплексного подхода с использованием системных антибактериальных средств и применением противомикробных препаратов местного действия. При этом выбор средств терапии системного и местного действия должен опираться на результаты мониторинга состава микроорганизмов, выделяемых из язвенно-некротических очагов, а также данные чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Таким образом, очевидна острая необходимость в поиске новых подходов к лечению СДС за счет разработки новых антибактериальных препаратов. Перспективными кандидатами на эту роль являются антимикробные пептиды – дефензины, обладающие широким спектром антибактериальной, противогрибковой и противовирусной активности, к которым у бактерий не формируется резистентность.

В связи с этим представлялось важным исследовать состав и чувствительность микроорганизмов к антибактериальным средствам при СДС, а также оценить фармакологические свойства дефензинов и на их основе разработать лекарственные препараты для противомикробной терапии.

Практическая ценность работы

Снижение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам приводит к увеличению продолжительности лечения, увеличению летальности, а также финансовых затрат. Рациональная антибиотикотерапия обеспечивается путем постоянного мониторинга изменений состава и антибиотикочувствительности патогенов, а научная разработанность данной проблемы в большинстве регионов России остается недостаточно высокой, что связано с отсутствием данных по локальной антибиотикорезистентности у пациентов с СДС.

Рост антибиотикорезистентности определяет высокую потребность в новых противомикробных препаратах. Однако за последние 10 лет на фармацевтический рынок было выведено всего лишь несколько новых антимикробных средств.

Предшествующие попытки разработать антибиотики на основе антимикробных пептидов либо потерпели неудачу в связи с быстрым разрушением пептидов ферментами, либо так и не были выпущены на фармацевтический рынок в связи с дороговизной производства.

Спектр противомикробной активности дефензинов достаточно изучен, однако не полностью исследован характер их бактерицидного действия на микроорганизмы, а также недостаточно данных по их эффективности при совместном применении с бета-лактамами

антибиотиками. Остается нерешенной проблема быстрой деградации дефензинов, что снижает их продолжительность действия.

Цели работы

1. Разработать новые подходы к лечению инфекционных болезней, особенно антибиотикорезистентных инфекций.
2. Разработать новые противомикробные лекарственные препараты на основе антимикробных пептидов (дефензинов человека).

Научная новизна работы

Впервые за последние 10 лет исследованы данные состава и антибиотикочувствительности микроорганизмов, выделенных у пациентов с СДС. Необходимость изучения локальных и региональных данных определяется значительными отличиями в составе патогенов и их чувствительности к противомикробным препаратам в разных регионах и лечебных учреждениях. По сравнению с локальными данными десятилетней давности, показано, что ведущим микроорганизмом при СДС по-прежнему является золотистый стафилококк, однако доля метициллин-резистентных штаммов увеличилась до 42,5%.

Впервые у пациентов с СДС исследованы уровни антимикробных пептидов HNP-1 и hBD-1 в крови до и после проведенного лечения. Установлено, что уровень дефензинов при СДС недостаточно высок для обеспечения адекватного иммунного ответа.

Впервые с помощью методов компьютерной химии показана возможность взаимодействия дефензинов с пептидогликаном, что ведет к разрушению клеточной стенки. Исследован механизм бактерицидного действия дефензинов на золотистый стафилококк в сравнении с бета-лактамым антибиотиком цефотаксимом с помощью высокоразрешающей атомно-силовой микроскопии.

Впервые показана выраженная противомикробная активность HNP-1 и hBD-1 в отношении метициллин-резистентных клинических штаммов золотистого стафилококка, а также других бактериальных возбудителей.

Впервые в отношении клинических штаммов золотистого стафилококка исследована антимикробная активность дефензинов HNP-1 и hBD-1 при совместном применении с цефотаксимом.

Впервые были разработаны лекарственные препараты для наружного применения, содержащие дефензины HNP-1 и hBD-1, инкапсулированные в кремнийорганические наноконтейнеры.

Впервые была показана способность дефензинов HNP-1 и hBD-1, инкапсулированных в кремнийорганические наноконтейнеры, ускорять заживление ран, инфицированных золотистым стафилококком (в сравнении с нативным нисомальным гелем и мазью «Левомеколь»).

ВЫВОДЫ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ РАБОТЫ

1. У госпитализированных пациентов с синдромом диабетической стопы чаще всего из гнойно-некротических очагов выделяются штаммы золотистого стафилококка (36,9% в монокультуре, 48% в микробных ассоциациях). Несколько реже выделяются *Enterococcus spp.*, *P. aeruginosa* и *Enterobacteriaceae spp.*, включая *K. pneumoniae* и *K. aerogenes*.

2. Доля метициллин-резистентных штаммов золотистого стафилококка (MRSA) составляет 42,5%. Отмечается низкий уровень чувствительности грамотрицательных бактерий к цефалоспорином и карбапенемам.

3. У пациентов с синдромом диабетической стопы уровень антимикробного пептида HNP-1 в крови достоверно снижается на фоне хирургического лечения и/или фармакотерапии: 15 (11,1; 18,8) нг/мл до лечения и 10,9 (6,5; 12,4) нг/мл – перед выпиской ($p=0,0022$), однако не достигает значений дефензинов у здоровых лиц. Аналогичная тенденция наблюдается и при исследовании уровня hBD-1: до лечения – 42,4 (34,9; 62,8) нг/мл и 33,4 (20,5; 42,1) нг/мл – после лечения ($p=0,0035$).

4. Один из механизмов бактерицидного действия дефензинов, основан на взаимодействии с пептидогликаном. Дефензины приводят к гибели клеток золотистого

стафилококка за счет создания линейных разрывов в клеточной стенке. Бета-лактамы вызывают изменения среднеквадратичной «шероховатости» клеточной стенки в виде выпячиваний на поверхности *S. aureus*.

5. Минимальная подавляющая концентрация α -дефензина-1 в отношении клинических штаммов MSSA и MRSA (выделенных у пациентов с синдромом диабетической стопы) одинакова и составляет 1 мкг/мл. Минимальная подавляющая концентрация β -дефензина-1 в отношении данных микроорганизмов составляет 0,5 мкг/мл. При совместном использовании дефензина (HNP-1 или hBD-1) с цефотаксимом против MSSA противомикробный эффект данных веществ аддитивно складывается. Аналогичная картина наблюдается при комбинации дефензинов между собой в отношении MSSA.

6. Наиболее эффективным из всех исследованных препаратов является ниосомальный гель, содержащий HNP-1 в концентрации 2 мкг/мл, который ускоряет заживление инфицированных золотистым стафилококком ран у крыс в первые 5 дней лечения. Ниосомальный гель с hBD-1 (1 мкг/мл) и «Левомеколь» одинаково эффективны – ускоряют заживление инфицированных ран в промежутке с 6 по 12 день лечения.

7. Антимикробные пептиды из класса дефензинов являются перспективными кандидатами на роль оригинальных противомикробных препаратов. Кроме того, дефензины увеличивают эффективность антибиотиков, используемых в клинической практике, что позволит преодолеть антибиотикорезистентность.

АНАЛОГИ

Ключевыми конкурентными преимуществами создаваемых лекарственных препаратов является:

1. Высокий уровень безопасности - т.к. основой разрабатываемых препаратов являются природные антимикробные пептиды.
2. Высокая эффективность – за счет выраженного противомикробного действия.
3. Низкая стоимость производства по сравнению с аналогами (нативными антимикробными пептидами).
4. Отсутствие снижения эффективности с течением времени – к антимикробным пептидам бактерии не вырабатывают устойчивость.
5. Возможность применения разработанной технологии для разработки новых противоопухолевых препаратов (т.к. некоторые антимикробные пептиды обладают и выраженной противоопухолевой активностью).

Прямых и косвенных аналогов в России нет, в том числе и по результатам патентного поиска.

Косвенные аналоги в мире:

1. Компания Defensin Therapeutics.

Занимается изучением возможностей практического применения антимикробных пептидов. Однако в настоящее время нет никаких опубликованных результатов и патентов. В настоящее время занимается исследованиями в данной области.
<https://www.defensintherapeutics.com/>

2. NEUPREX

Препарат на основе антимикробных пептидов для лечения менингококцемии (проходит III фазу клинических испытаний).

Наши преимущества: лечение нашими препаратами будет значительно дешевле за счет более длительной продолжительности действия и за счет использования не полных антимикробных пептидов, а лишь их фармакологически активных фрагментов.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18465627/>

3. Locilex

Препарат на основе антимикробного пептида, выделенного из кожи лягушки. Наши преимущества: лечение нашими препаратами будет значительно дешевле за счет более длительной продолжительности действия и за счет использования не полных антимикробных

пептидов, а лишь их фармакологически активных фрагментов. Препарат проходит клинические испытания на пациентах с синдромом диабетической стопы (для наружного применения). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2726618/>

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ РАЗРАБОТОК И ПЕРСПЕКТИВЫ КОММЕРЦИАЛИЗАЦИИ

В данной отрасли можно выделить следующие тренды:

1. Резистентность микробов к антибиотикам стремительно растет.
2. Численность населения мира увеличивается и, таким образом, растет количество пациентов, нуждающихся в приёме безопасных и эффективных препаратов. Заболеваемость тяжелыми инфекционными болезнями будет увеличиваться с каждым годом.
3. Неуклонно растет государственное финансирование в области разработки новых противомикробных средств (особенно в США и Западной Европе).
4. К 2024 году объем рынка антибиотиков будет составлять 57 миллиардов долларов США. в 2015 году объем данного рынка оценивался в 39,8 миллиардов долларов США.
5. Наибольшие объемы потребления антибиотиков составляют (и будут составлять) страны азиатско-тихоокеанского региона.
6. Всемирная организация здравоохранения бьет тревогу в связи с растущей устойчивостью бактерий к большинству антимикробных препаратов.

Только на основании вышеперечисленных фактов можно сделать вывод о том, что ключевым трендом в рассматриваемой отрасли является потребность в эффективных и безопасных противомикробных средствах. Причем, крайне важно, чтобы к новым антибиотикам не формировалась резистентность с течением времени. Модифицированные антимикробные пептиды полностью отвечают данным требованиям и вызовам времени.

Коммерческая составляющая проекта может быть полностью реализована в России.

Внедрение результатов проекта - т.е. масштабное применение разработанных антибактериальных препаратов – может быть и должно осуществляться повсеместно. Основными конечными потребителями являются пациенты, страдающие тяжелыми бактериальными инфекциями, вызванными микроорганизмами, устойчивыми к современным антибиотикам.

По прогнозам, наибольшие объемы потребления антибиотиков будут составлять страны азиатско-тихоокеанского региона.

Ориентировочный расчет прибыли для разработанных антибиотиков при их системном введении (внутримышечно).

На сегодняшний день 700 000 человек каждый год умирает от инфекций не чувствительных к антибиотикам. К 2050 году эта цифра достигнет 10 миллионов каждый год.

Ключевая фундаментальная цель проекта – спасти этим пациентам жизнь.

Пусть из 700 000 человек наше лечение получит лишь 30% – около 200 000 человек.

Ориентировочная стоимость одного курса лечения нашими препаратами составит 70 000 рублей.

$200\,000 \times 70\,000 = 14\,000\,000\,000$ рублей – это минимальный доход в год (после внедрения разработанных препаратов на мировой фармацевтический рынок).

Ориентировочный расчет прибыли для разработанных антибиотиков при их местном применении.

В РФ число пациентов, страдающих синдромом диабетической стопы, составляет около 8 000 000 человек.

Данное заболевание требует тщательного наблюдения и контроля, поскольку риск ампутаций нижних конечностей составляет 50% в год. В этой связи данные пациенты вынуждены

постоянно обрабатывать язвенные/трофические дефекты различными препаратами для наружного применения, но, как было указано ранее, эффективность этих препаратов снижается за счет роста устойчивости микроорганизмов.

Бизнес-модель проекта ориентирована на b2b2c-сегмент – т.е. поставка препаратов в аптечные сети, которые, в свою очередь, будут продавать препараты пациентам.

Кроме того, очень важно распространение информации среди специалистов здравоохранения (различными способами путем повышения их информированности о преимуществах и эффективности применения разработанных инновационных гелей) с целью увеличения количества назначений наших препаратов врачами. Для этого планируется постоянное участие в конференциях и симпозиумах.

Расчет прибыли за счет продаж одного (!) разработанного геля по России среди пациентов с синдромом диабетической стопы выглядит следующим образом.

Самым пессимистичным сценарием является охват доли рынка в 7-10% - т.е. каждый год нашими препаратами будут пользоваться около 800 000 человек.

При ориентировочной стоимости 1 упаковки геля ~2000 руб., годовой доход оценивается в **160 000 000 рублей**.

Важно отметить, что синдром диабетической стопы – это хроническое заболевание, т.е. оно требует постоянного применения средств для наружного применения.

Более того, наши препараты помимо синдрома диабетической стопы, будут предназначены для лечения инфицированных ран, ожогов, трофических язв.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "А. Л. Власов". The signature is stylized with a large, sweeping initial letter.