ilmiy-amaliy jurnal · ISSN 3093-8694

УДК 579.25:615.33

Абдурахманов Каршихон Холхуджаевич[1], Эргашева Дилбар Шерзод кизи[2],
[1] Заведующий кафедрой «Фундаментальные клинические науки» медицинского факультета Гулистанского государственного университета, кандидат медицинских наук, доцент.
[2]Alfraganus University, факультет лечебного дела и педиатрии, студентка 4-го курса.

БАКТЕРИОФАГИ КАК ПЛАТФОРМЫ ДОСТАВКИ CRISPR-Cas ДЛЯ БОРЬБЫ С АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ: СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Аннотация. Антибиотикорезистентность представляет собой одну из наиболее серьёзных проблем современной медицины, ограничивая эффективность традиционной антибактериальной терапии и обусловливая необходимость разработки альтернативных методов борьбы с устойчивыми бактериальными патогенами. Одним из перспективных направлений является применение бактериофагов в качестве биологических векторов для доставки программируемых генетических систем CRISPR-Cas в бактериальные клетки. Данный подход открывает возможности для направленного воздействия на гены антибиотикорезистентности и другие генетические элементы, определяющие устойчивый фенотип бактерий. В настоящем обзоре рассмотрены основные принципы фаг-опосредованной доставки CRISPR-Cas, современные направления инженерии бактериофагов, особенности выбора генетических мишеней и механизмы бактериальной противофаговой защиты.

Ключевые слова: бактериофаги, CRISPR-Cas, антибиотикорезистентность, антимикробная резистентность, мультирезистентные бактерии, фаговая инженерия, фаготерапия, CRISPRi, гены устойчивости, селективная антибактериальная терапия.

ANTIBIOTIKLARGA CHIDAMLI BAKTERIYALARGA QARSHI KURASHISHDA CRISPR-CAS TIZIMLARINI YETKAZIB BERISH PLATFORMASI SIFATIDA BAKTERIOFAGLAR: ZAMONAVIY YUTUQLAR VA ISTIQBOLLAR

Annotatsiya. Antibiotiklarga chidamlilik an’anaviy antibakterial davolash samaradorligini sezilarli darajada pasaytirib, chidamli bakteriyalarga qarshi selektiv ta’sir ko‘rsatish usullarini ishlab chiqish zaruratini yuzaga keltirmoqda. Ushbu yo‘nalishdagi istiqbolli yondashuvlardan biri bakteriofaglarni CRISPR-Cas tizimlari bilan birlashtirishdir. Bakteriofaglar biologik vektorlar vazifasini bajarib, dasturlashtiriladigan genetik komponentlarni bevosita bakteriya hujayralariga yetkazishi mumkin. Bu antibiotiklarga chidamlilikni belgilovchi genlar va boshqa genetik elementlarga maqsadli ta’sir ko‘rsatish imkoniyatini yaratadi. Mazkur maqolada CRISPR-Cas tizimlarini faglar vositasida yetkazib berish tamoyillari, faglar muhandisligining zamonaviy yondashuvlari, antibiotiklarga chidamlilik determinantlariga ta’sir ko‘rsatish imkoniyatlari hamda ushbu texnologiyaning asosiy cheklovlari tahlil qilingan.

Kalit so‘zlar: bakteriofaglar, CRISPR-Cas, antibiotiklarga chidamlilik, ko‘p dori vositalariga chidamli bakteriyalar, faglar muhandisligi, fagoterapiya, CRISPRi, antibiotiklarga chidamlilik genlari.

BACTERIOPHAGES AS DELIVERY PLATFORMS FOR CRISPR-CAS SYSTEMS AGAINST ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA: RECENT ADVANCES AND FUTURE PERSPECTIVES

Abstract. Antimicrobial resistance substantially reduces the effectiveness of conventional antibacterial therapy and highlights the need for selective strategies to target resistant bacteria. One promising approach is the combination of bacteriophages with CRISPR-Cas systems. Bacteriophages can function as biological vectors, delivering programmable genetic components directly into bacterial cells. This approach creates opportunities for targeted interference with genes and other genetic elements responsible for antibiotic resistance. This article reviews the principles of phage-mediated CRISPR-Cas delivery, current approaches to phage engineering, strategies for targeting antimicrobial resistance determinants, and the major limitations of this technology.

Keywords: bacteriophages, CRISPR-Cas, antimicrobial resistance, multidrug-resistant bacteria, phage engineering, phage therapy, CRISPRi, antibiotic resistance genes.

ВВЕДЕНИЕ

Антимикробная резистентность является одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения, поскольку распространение устойчивых бактериальных штаммов снижает эффективность существующих лекарственных средств и усложняет лечение инфекционных заболеваний. Особенно серьёзную угрозу представляют мультирезистентные микроорганизмы, устойчивые к нескольким классам антибактериальных препаратов. В связи с этим возрастает интерес к разработке альтернативных и дополнительных методов воздействия на бактериальные патогены, основанных на принципах высокой специфичности и направленного генетического воздействия [1, 2].

Одним из таких направлений является использование бактериофагов — вирусов, инфицирующих бактериальные клетки. Благодаря способности распознавать определённые бактериальные структуры и доставлять генетический материал внутрь клетки бактериофаги рассматриваются не только как самостоятельные антибактериальные агенты, но и как потенциальные биологические векторы для переноса генетических конструкций [1, 3].

Другим перспективным инструментом является система CRISPR-Cas, позволяющая направленно воздействовать на определённые последовательности нуклеиновых кислот. Программируемый характер этой системы создаёт возможности для избирательного воздействия на генетические детерминанты антибиотикорезистентности, включая гены, кодирующие механизмы устойчивости к антибактериальным препаратам [4–6].

Объединение бактериофагов и CRISPR-Cas позволяет сочетать биологическую специфичность доставки с точностью генетического воздействия. При соответствующем выборе фагового вектора и молекулярной мишени такой подход потенциально способен обеспечивать направленное подавление определённых бактериальных популяций или воздействие на генетические механизмы устойчивости [1, 2].

Вместе с тем реализация данной технологии сопряжена с рядом ограничений, среди которых особое значение имеют специфичность взаимодействия фага с бактериальной клеткой, эффективность доставки генетической конструкции, механизмы противофаговой защиты бактерий и необходимость подтверждения безопасности применяемых систем.

Цель исследования — обобщить современные научные данные о применении бактериофагов в качестве платформ доставки CRISPR-Cas для воздействия на антибиотикорезистентные бактерии, охарактеризовать основные направления фаговой инженерии и определить перспективы и ограничения дальнейшего развития данной технологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено в форме теоретико-аналитического обзора научной литературы, посвящённой фаг-опосредованной доставке CRISPR-Cas, инженерии бактериофагов, применению CRISPR-систем для воздействия на генетические детерминанты антибиотикорезистентности и механизмам противофаговой защиты бактерий.

В соответствии с представленным корпусом источников в анализ включены 13 публикаций, отражающих основные направления развития рассматриваемой технологии. Среди них — обзорные и систематические обзоры по фаговой инженерии и применению CRISPR-Cas, исследования взаимодействия бактериофагов с системами бактериальной защиты, работы по персонализированной фаговой инженерии, моделированию CRISPRi и клиническому потенциалу фаготерапии.

Анализ литературы проводился по следующим направлениям:

Биологические основы фаг-опосредованной доставки генетических конструкций.

Современные подходы к инженерии бактериофагов.

Возможности воздействия CRISPR-Cas на генетические детерминанты антибиотикорезистентности.

Особенности применения CRISPRi для функционального подавления экспрессии генов.

Механизмы бактериальной противофаговой защиты и их значение для эффективности доставки.

Перспективы персонализированной антибактериальной терапии и основные препятствия клиническому внедрению технологии.

Материалы систематизировались по тематическим категориям, после чего проводилось сопоставление описанных в публикациях подходов, потенциальных преимуществ и ограничений.

Настоящая работа не является систематическим обзором в строгом методологическом смысле: отдельный воспроизводимый протокол поиска, критерии включения и исключения публикаций и формализованная оценка риска систематической ошибки не представлены. Собственные экспериментальные исследования и клинические испытания авторами не проводились. Поэтому выводы сформулированы на основе анализа опубликованных данных и не рассматриваются как самостоятельное экспериментальное подтверждение эффективности фаг-CRISPR-технологий.

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Биологические основы фаг-опосредованной доставки CRISPR-Cas

Бактериофаги распознают восприимчивые бактериальные клетки и доставляют в них генетический материал, а CRISPR-Cas обеспечивает направленное воздействие на выбранные последовательности [1, 2].

Эффективность технологии зависит от успешности доставки, восприимчивости бактерии и функциональности генетической конструкции. Ограниченный спектр хозяев остаётся одним из основных препятствий практического применения [1, 3, 6].

2. CRISPR-Cas как инструмент воздействия на антибиотикорезистентность

CRISPR-Cas позволяет направленно воздействовать на гены устойчивости к антибиотикам и генетические элементы, участвующие в её распространении [4–6]. Это создаёт предпосылки для разработки селективных антибактериальных подходов.

Однако результат зависит от механизма резистентности, особенностей бактериального штамма и эффективности доставки. Поэтому выбор CRISPR-системы должен соответствовать конкретной генетической мишени.

3. Воздействие на генетические детерминанты устойчивости

Фаг-CRISPR-платформы потенциально позволяют воздействовать на гены антибиотикорезистентности и повышать чувствительность бактерий к отдельным препаратам [4–7]. Особый интерес представляет борьба с мультирезистентными кишечными патогенами.

При этом необходимо учитывать спектр хозяев фага, возможное воздействие на непатогенные бактерии и стабильность генетической конструкции. Эффективность таких подходов требует экспериментального подтверждения.

4. Фаговая инженерия и персонализированные подходы

Фаговая инженерия позволяет изменять свойства бактериофагов и адаптировать их к определённым терапевтическим задачам [1, 3]. Персонализированный подход предполагает подбор фагового вектора с учётом характеристик конкретного бактериального изолята [8].

Однако такая стратегия требует идентификации возбудителя, проверки восприимчивости к фагу и оценки безопасности модифицированной конструкции.

5. Противофаговая защита бактерий

Бактерии обладают механизмами защиты, препятствующими фаговой инфекции и функционированию доставляемого генетического материала [3, 9]. Особое значение имеют бактериальные системы CRISPR-Cas и подавляющие их активность anti-CRISPR-белки.

Qin et al. исследовали инженерные фаги с anti-CRISPR-компонентами против антибиотикорезистентной Pseudomonas aeruginosa [10]. При этом подавление бактериальной защиты следует отличать от доставки CRISPR-Cas для воздействия на гены устойчивости.

6. Потенциал CRISPRi

CRISPR interference (CRISPRi) позволяет подавлять экспрессию выбранного гена без обязательного разрыва ДНК, что представляет интерес для воздействия на гены антибиотикорезистентности [6].

Cimolato et al. предложили модель фаг-опосредованной CRISPRi-системы [11]. Однако модельные результаты требуют экспериментальной проверки и не подтверждают клиническую эффективность технологии.

7. Клинический потенциал и ограничения технологии

Фаготерапия рассматривается как перспективное направление борьбы с инфекциями, вызванными антибиотикорезистентными бактериями. Однако результаты традиционной фаготерапии нельзя напрямую переносить на инженерные фаги, доставляющие CRISPR-Cas.

Основные ограничения технологии включают узкий спектр хозяев, вариабельную эффективность доставки, противофаговую защиту бактерий, риск развития фагорезистентности, возможное воздействие на микробиоту и недостаточность клинических данных.

Таким образом, фаг-CRISPR-платформы представляют перспективное направление селективной антибактериальной терапии. Для их клинического применения необходимы дальнейшие исследования безопасности, эффективности доставки и терапевтических результатов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ научной литературы показывает, что фаг-опосредованная доставка CRISPR-Cas представляет собой перспективную технологическую платформу, объединяющую биологическую специфичность бактериофагов и

программируемое генетическое воздействие. Потенциальная ценность такого подхода определяется возможностью направлять генетические компоненты в бактериальные клетки и воздействовать на заранее выбранные последовательности [1, 2].

Важным преимуществом технологии является возможность разработки стратегий, ориентированных на конкретные механизмы антибиотикорезистентности. Однако достижение такого эффекта зависит от множества взаимосвязанных факторов. Необходимо обеспечить взаимодействие фага с целевой бактерией, доставку функциональной генетической конструкции и реализацию предусмотренного механизма воздействия.

При этом биологическая специфичность фага не исключает ограничений, связанных с различиями между бактериальными штаммами. Изменение рецепторов, развитие противофаговой защиты и другие механизмы адаптации могут снижать эффективность доставки [3, 9].

Важное значение имеет правильный выбор CRISPR-платформы. CRISPR-Cas9 и CRISPRi отличаются механизмами действия и потенциальными областями применения. Поэтому их нельзя рассматривать как полностью взаимозаменяемые инструменты: выбор конкретной системы должен соответствовать характеру генетической мишени и поставленной исследовательской задаче [5, 6].

Персонализированная фаговая инженерия потенциально позволяет учитывать индивидуальные характеристики бактериального изолята. Однако такой подход требует развитой диагностической базы, стандартизированных процедур оценки восприимчивости к фагам и надёжных методов контроля инженерных конструкций [8].

Отдельное направление дальнейших исследований связано с комбинированным применением фаговых технологий и традиционных антибактериальных препаратов. Теоретически воздействие на отдельные генетические детерминанты резистентности может создавать предпосылки для изменения чувствительности бактерий к антибиотикам. Вместе с тем подобный эффект зависит от конкретного механизма устойчивости и требует самостоятельной экспериментальной проверки.

Необходимо также учитывать различия между доказательствами, полученными в модельных системах, лабораторных исследованиях, доклинических экспериментах и клинических наблюдениях. Наличие перспективных результатов на одном этапе не гарантирует аналогичной эффективности на последующих этапах разработки.

В целом существующие данные позволяют рассматривать фаг-CRISPR-платформы как перспективное направление точной антибактериальной тера-

пии. Однако их клиническое применение требует дальнейшего изучения эффективности доставки, спектра действия, стабильности конструкций, безопасности и возможных механизмов формирования устойчивости.

Дополнительное значение имеет оценка влияния фаг-CRISPR-платформ на микробиом. Несмотря на потенциальную селективность бактериофагов, необходимо учитывать возможность воздействия на непатогенные микроорганизмы и изменения структуры микробного сообщества. Особенно актуальна эта проблема при разработке подходов к лечению кишечных инфекций, где сохранение баланса микробиоты имеет важное биологическое значение [1, 7]. Поэтому оценка специфичности воздействия должна включать не только анализ целевого патогена, но и изучение возможных изменений в окружающем микробном сообществе.

Перспективным направлением остаётся совершенствование методов оценки эффективности фаг-CRISPR-конструкций. Для комплексной характеристики технологии необходимо учитывать эффективность доставки генетического материала, выраженность воздействия на целевую последовательность, стабильность конструкции и возможность повторного возникновения антибиотикорезистентности. Использование взаимодополняющих экспериментальных и вычислительных методов позволит лучше понять взаимодействие между фагом, бактериальной клеткой и CRISPR-системой, а также определить ограничения конкретных конструкций [6, 11].

Важным условием дальнейшего развития технологии является стандартизация исследований. Сопоставимость результатов, воспроизводимость экспериментальных данных и единые подходы к оценке безопасности необходимы для перехода от лабораторных разработок к доклиническим и клиническим исследованиям. Таким образом, дальнейший прогресс фаг-CRISPR-платформ будет определяться не только совершенствованием генетических инструментов, но и комплексной оценкой их биологической эффективности, безопасности и практической применимости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бактериофаги представляют собой перспективную платформу для доставки CRISPR-Cas к антибиотикорезистентным бактериям благодаря способности распознавать определённые бактериальные клетки и переносить в них генетический материал. Сочетание специфичности фагов с программируемым воздействием CRISPR-Cas создаёт предпосылки для разработки селективных методов борьбы с мультирезистентными патогенами.

Анализ литературы позволяет сформулировать следующие выводы.

Фаг-опосредованная доставка является одним из перспективных подходов к преодолению проблемы переноса генетических компонентов CRISPR-

систем в бактериальные клетки. Вместе с тем эффективность доставки зависит от биологических свойств фага и восприимчивости целевого микроорганизма.

CRISPR-Cas открывает возможности направленного воздействия на генетические детерминанты антибиотикорезистентности. Однако изменение или подавление отдельных генов не гарантирует полного устранения устойчивого фенотипа, поскольку резистентность может определяться несколькими механизмами.

Фаговая инженерия и персонализированные подходы способны расширить потенциальные возможности технологии. Их практическая реализация требует подтверждения функциональности конструкций, оценки специфичности и стандартизации методов контроля качества.

Противофаговая защита бактерий остаётся одним из ключевых ограничений эффективности доставки. Изучение взаимодействия фагов с бактериальными системами защиты необходимо для дальнейшего совершенствования данной платформы.

CRISPRi представляет дополнительный исследовательский интерес благодаря возможности функционального подавления экспрессии генов. Вместе с тем модельные результаты и теоретические предположения требуют экспериментального подтверждения.

Клиническая трансляция фаг-CRISPR-технологий предполагает дальнейшее изучение безопасности, эффективности, спектра действия, стабильности генетических конструкций и взаимодействия с микробиотой.

Таким образом, фаг-опосредованная доставка CRISPR-Cas является перспективным, но пока развивающимся направлением селективной антибактериальной терапии. Дальнейшие исследования должны быть направлены на повышение эффективности доставки, расширение спектра бактериальных хозяев, изучение механизмов устойчивости и получение надёжных доклинических и клинических доказательств безопасности и эффективности технологии.

Список литературы:

1. Khambhati K., Bhattacharjee G., Gohil N., Dhanoa G. K., Sagona A. P., Mani I., Bui N. L., Chu D. T., Karapurkar J. K., Jang S. H., Chung H. Y., Maurya R., Alzahrani K. J., Ramakrishna S., Singh V. Phage engineering and phage-assisted CRISPR-Cas delivery to combat multidrug-resistant pathogens // *Bioengineering & Translational Medicine*. 2023. Vol. 8, No. 2. Article e10381. DOI: 10.1002/btm2.10381.

2. Yeh T. K., Jean S. S., Lee Y. L., Lu M. C., Ko W. C., Lin H. J., Liu P. Y., Hsueh P. R. Bacteriophages and phage-delivered CRISPR-Cas system as antibacterial therapy // *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2022. Vol. 59, No. 1. Article 106475. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106475.

3. Usman S. S., Uba A. I., Christina E. Bacteriophage genome engineering for phage therapy to combat bacterial antimicrobial resistance as an alternative to antibiotics // *Molecular Biology Reports*. 2023. Vol. 50, No. 8. P. 7055–7067. DOI: 10.1007/s11033-023-08557-4.

4. Zhang R., Zhou Q., Huang S., Zhang N., Sun D. Advancements in CRISPR-Cas-based strategies for combating antimicrobial resistance // *Microbiological Research*. 2025. Vol. 298. Article 128232. DOI: 10.1016/j.micres.2025.128232.

5. Almeida de Souza H. C., Panzenhagen P., Dos Santos A. M. P., Portes A. B., Fidelis J., Conte-Junior C. A. Unravelling the advances of CRISPR-Cas9 as a precise antimicrobial therapy: A systematic review // *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2025. Vol. 42. P. 51–60. DOI: 10.1016/j.jgar.2025.02.002.

6. Almeida de Souza H. C., Panzenhagen P., Portes A. B., Dos Santos A. M. P., Fidelis J., Conte-Junior C. A. CRISPR-Cas systems in combating antimicrobial resistance: which system to choose? A systematic review // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2025. Vol. 41, No. 10. Article 381. DOI: 10.1007/s11274-025-04608-z.

7. Nath A., Bhattacharjee R., Nandi A., Sinha A., Kar S., Manoharan N., Mitra S., Mojumdar A., Panda P. K., Patro S., Dutt A., Ahuja R., Verma S. K., Suar M. Phage delivered CRISPR-Cas system to combat multidrug-resistant pathogens in gut microbiome // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022. Vol. 151. Article 113122. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113122.

8. Chaudhary N., Sharma K., Kaur H., Prajapati S., Mohan B., Taneja N. CRISPR-Cas-assisted phage engineering for personalized antibacterial treatments // *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2025. Vol. 53. Article 100771. DOI: 10.1016/j.ijmm.2024.100771.

9. Ceballos-Garzon A., Muñoz A. B., Plata J. D., Sanchez-Quitian Z. A., Ramos-Vivas J. Phages, anti-CRISPR proteins, and drug-resistant bacteria: what do we know about this triad? // *Pathogens and Disease*. 2022. Vol. 80, No. 1. Article ftac039. DOI: 10.1093/femspd/ftac039.