

# МЕХАНИЗМЫ АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА

Савинова А. А., Усанина Л. В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия (614000, Пермь, ул. Петропавловская, 26), e-mail: [usanina1997@mail.ru](mailto:usanina1997@mail.ru)

Туберкулез – опасное инфекционное заболевание человека и животных, вызываемое микобактериями туберкулеза (*Mycobacterium tuberculosis*) или, как их еще называют, палочками Коха. Заболевание в основном поражает легкие, реже другие органы, и имеет воздушно-капельный путь передачи. Носит глобальный характер, так как ежегодная заболеваемость составляет 10 миллионов человек во всем мире. Смертность колеблется в пределах 1,5 миллионов людей в год. Значительную роль в эпидемиологии заболевания играет резистентность микобактерий туберкулеза к антибактериальным препаратам. Именно с этим и связаны трудности лечения туберкулеза. Повсеместное распространение лекарственно-устойчивых микобактерий туберкулеза (МБТ) по сравнению с лекарственно-чувствительными и генетически однородными представителями этого штамма позволяет выделить определенные механизмы устойчивости МБТ к противотуберкулезным препаратам основного (рифампицин, изониазид, этамбутол, стрептомицин, пиразинамид) и резервного (этионамид, канамицин, фторхинолоны, цикloserин, виомицин, амикацин) рядов. В данной статье рассмотрены классификации лекарственной устойчивости МБТ, особое внимание уделяется штаммам с множественной и широкой лекарственной устойчивостью, противотуберкулезные препараты и их точки приложения относительно возбудителя. А также в подробностях приведены механизмы антибиотикорезистентности микобактерий туберкулеза к лекарствам.

**Ключевые слова:** микобактерия туберкулеза, лекарственная устойчивость, противотуберкулезные препараты.

## MECHANISMS OF ANTIBIOTIC-RESISTANCE OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Savinova A. A., Usanina L. V.

Perm state medical University named after Academician E. A. Wagner, Perm, Russia e-mail: [usanina1997@mail.ru](mailto:usanina1997@mail.ru)

Tuberculosis is a dangerous infectious disease of humans and animals caused by mycobacteria tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) or, as they are also called, Koch chopsticks. The disease mainly affects the lungs, less often other organs, and has an airborne transmission route. It is of global character, since the annual incidence is 10 million people worldwide. Mortality varies between 1.5 million people per year. A significant role in the epidemiology of the disease is the resistance of mycobacteria tuberculosis to antibacterial drugs. This is the reason for the difficulties of treating tuberculosis. The widespread distribution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* (MBT) in comparison with drug-sensitive and genetically homogeneous representatives of this strain allows us to identify certain mechanisms of MBT resistance to anti-tuberculosis drugs of primary (rifampicin, isoniazid, ethambutol, streptomycin, pyrazinamide) and reserve (ethionamide, kanamycin, fluoroquinolones, cycloserine, viomycin, amikacin) series. This article examines the classification of drug resistance of the MBT, special attention is given to strains with multiple and broad drug resistance, antituberculous drugs and their application points relative to the pathogen. Particular attention is paid to the mechanisms of antibiotic resistance of mycobacterium tuberculosis to drugs.

**Key words:** mycobacterium tuberculosis, drug resistance, antituberculous drugs.

Микобактериями туберкулеза в ходе эволюционного развития были выработаны механизмы защиты от факторов внешней среды, такие как толстая клеточная стенка, богатые метаболические возможности, которые способны обезвреживать многие клеточные токсины и вещества (альдегиды, перекиси), повреждающие клеточную стенку, также можно упомянуть способность к трансформации (переход в L-форму, образование доминантных клеток) [8].

Выделяют несколько классификаций лекарственной устойчивости микобактерии туберкулеза:

I. По чувствительности к противотуберкулезным препаратам [6, 8]

*Истинная генетическая устойчивость* – это видовой признак микроорганизмов, который связан с отсутствием точки приложения антибиотика с МБТ, ее недоступностью из-за плохой проницаемости клеточной стенки или разрушения ферментами.

МБТ обладают истинной генетической устойчивостью ко многим неспецифическим антимикробным препаратам, относящимся к семействам пенициллинов,  $\beta$ -лактамов, макролидов, карбапенемов, цефалоспоринов, тетрациклинов. Однако чувствительны к аминогликозидам (стрептомицин, канамицин, амикацин), полипептидам (капреомицин), рифампицинам (рифампицин, рифабутин) и фторхинолонам (ципрофлоксацин, ломефлоксацин, офлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин, спарфлоксацин) [5].

*Приобретенная лекарственная устойчивость* МБТ проявляется в возможности размножаться при воздействии на них противотуберкулезных препаратов по средствам развития точечных мутаций [7] в хромосомах и формировании новых генов, контролирующих синтез новых белков-ферментов, разрушающих или инактивирующие конкретные противотуберкулезные препараты. Приобретенную лекарственную устойчивость подразделяют на первичную и вторичную. *Первичная ЛУ* определяется у больных, заразившихся лекарственно-устойчивыми МБТ. Эти пациенты ранее не принимали противотуберкулезные препараты [6]. *Вторичная ЛУ* развивается в процессе самого лечения больного туберкулезом. Устойчивость МБТ развивается через 3-6 месяцев с начала лечения [6].

II. По спонтанности возникновения мутаций (спонтанные и индуцированные)

В большой и активно размножающейся микобактериальной популяции всегда имеется небольшое количество лекарственно-устойчивых спонтанных мутантов в соотношениях:

1 клетка-мутант на  $10^{-8}$  устойчивых к рифампицину;

1 клетка-мутант на  $10^{-5...-6}$  устойчивых к изониазиду, этамбутолу, стрептомицину, канамицину, фторхинолонам;

1 клетка-мутант на  $10^{-3}$  устойчивых к пиперазину, этионамиду, капреомицину и циклосерину.

С учётом того что в каверне величина микобактериальной популяции составляет  $10^{-8...-11}$ , там имеются мутанты ко всем противотуберкулезным препаратам; в очагах и осумкованных казеозных фокусах эта величина составляет  $10^{-2...-5}$ . Спонтанные мутации устойчивы только к одному препарату (*спонтанная или эндогенная ЛУ*) [6].

При *экзогенной (индуцированной) ЛУ* происходит естественный отбор в пользу мутантов с естественной ЛУ к противотуберкулезным препаратам. В дальнейшем это приводит к изменению в геноме, что приводит к увеличению бактериальной популяции с лекарственно-устойчивыми микобактериями. Этому способствует проведение неадекватной химиотерапии, при этом пациенту назначается неправильный режим, несбалансированное сочетание и дозы противотуберкулезных лекарственных средств [6].

По эпидемиологической классификации ВОЗ (2008) МБТ могут быть:

- *монорезистентными* (МР) – к одному противотуберкулезному препарату;
- *полирезистентными* (ПР) – к двум и более противотуберкулезным препаратам, но не к сочетанию изониазида и рифампицина;

- *множественно лекарственно-устойчивыми* (МЛУ) – как минимум к сочетанию изониазида и рифампицина. Такие больные обладают высокой эпидемиологической опасностью вследствие высокой вирулентности и контагиозности, длительного периода бактериовыделения. К группам повышенного риска относятся ВИЧ-инфицированные больные и ранее неправильно лечившиеся пациенты с туберкулезом [4]. При анализе заболеваемости туберкулезом среди ВИЧ-инфицированных г. Краснокамска была выявлена МЛУ у 60% больных с впервые выявленным туберкулезом [1].

- *широко лекарственно-устойчивыми* (ШЛУ) – как минимум к сочетанию изониазида, рифампицина, фторхинолонов и инъекционных препаратов (канамицина, амикацина, капреомицина). Так как ШЛУ проявляет ЛУ к препаратам I ряда, а противотуберкулезные препараты II ряда не обладают выраженным антибактериальным действием, то можно утверждать, что такие штаммы опасны для жизни пациентов [4].

Генетические основы резистентности ко многим антибиотикам изучены недостаточно хорошо. По имеющимся данным в приобретении лекарственно-устойчивого фенотипа МБТ плазмиды и транспозоны особой роли не играют. Причиной возникновения лекарственно-устойчивых штаммов являются точечные мутации [7] и небольшие инсерции/делеции в геноме микроорганизма [2, 3].

Выделяют следующие механизмы лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза [8]: инактивация антибиотика ферментами, (например,  $\beta$ -лактамазами); изменение мишени (в результате мутации соответствующего участка генома происходит модификация белковой структуры); избыточное образование мишени, которое приводит к нарушению соотношения агент-мишень, в результате чего высвобождаются белки, необходимые для жизнедеятельности бактерии; выведение лекарственного вещества из бактериальной клетки (эффлюкс) по средствам включения стрессорных механизмов защиты;

уменьшение проницаемости клеточной стенки, вследствие чего антибиотик не может проникнуть внутрь бактерии; появление дополнительного (обходного) пути обмена веществ.

Помимо прямого воздействия на метаболизм микробных клеток многие антибактериальные препараты (бензилпенициллин, стрептомицин, рифампицин) и другие неблагоприятные факторы (биоциды иммунной системы) приводят к появлению изменённых форм микобактерий (протопласты, L-формы), а также переводят клетки в дормантное состояние: интенсивность обмена клетки снижается и бактерия становится невосприимчивой к действию антибиотика [8].

Выделяют основные противотуберкулезные препараты I ряда: рифампицин, изониазид, этамбутол, стрептомицин, пипразинамид. Препараты II ряда являются резервными и используются для лечения полирезистентного туберкулеза, к ним относятся: этионамид, циклосерин, канамицин, виомицин, амикацин и др. [3, 5]

Механизм *рифампицина* основан на взаимодействии с  $\beta$ -субъединицей РНК-полимеразы (ген *rpoB*), в результате чего происходит ингибирование инициации транскрипции. МБТ устойчивы к рифампицину благодаря мутации в фрагменте  $\beta$ -субъединицы (27 кодонов – 507-533) этого фермента (более 95% штаммов). При мутации в кодонах 526 (36%) и 531 (43%) [3, 10] обнаруживают высокий уровень резистентности к антибиотику, в то время как, в кодонах 511, 516, 518 и 522 – низкий. У 4% штаммов механизм резистентности неизвестен, так как они не несут мутаций в данном гене [3, 6].

*Изониазид* является пролекарством. Молекула препарата активируется внутри микробной клетки под действием фермента каталазы-пероксидазы (ген *katG*). Мутации в гене *katG* (в положении 315) приводят к снижению активности фермента примерно на 50%. Также ферменты, участвующие в метаболизме миколевой кислоты (основной компонент клеточной стенки МБТ), являются мишенями для активированного изониазида: ацетилированный белок-носитель (ген *acrM*), синтетаза (ген *kasA*) и редуктаза (ген *inhA*) белка-носителя. Мутации, возникшие в этих генах, вызывают устойчивость, связанную с гиперпродукцией мишеней. Уровень устойчивости при этом ниже, чем при мутации в гене *katG* [3, 10].

О механизмах действия *пиразинамида* известно мало. Он также является пролекарством. Пиразинамид по средствам пассивной диффузии проникает в бактериальную клетку, где под действием фермента пиразинамидазы переходит в активную форму – пиразиноевую кислоту (ген *ppsA*), которая блокирует ферменты биосинтеза жирных кислот. 72% изолятов, устойчивых к пиразинамиду, имеют мутации в гене *ppsA*. У пиразинамидоустойчивых МБТ выявляют также отсутствие АТФ-зависимого транспорта этого препарата в клетку [3, 6].

*Стрептомицин* приводит к ингибированию синтеза белка, связываясь с 16S рРНК (rrs). Мутации, ассоциированные с устойчивостью к стрептомицину, идентифицированы в генах, кодирующих 16S РНК (rrs) и белок малой рибосомной субъединицы 12S (rpsL). Есть данные о мутации, которая ведет к повышению устойчивости МБТ к стрептомицину – эти штаммы плохо растут, пока в их питательную среду не добавит данный антибиотик (стрептомицинзависимые штаммы) [6].

*Этамбутол* осуществляет свое влияние через белок embB (арабинозилотрансфераза), принимающий участие в синтезе структурных элементов клеточной стенки МБТ. Устойчивость к этому препарату появляется вследствие точечной мутации в 306-м кодоне [10].

*Этионамид (протионамид)* также способствует появлению мутаций в гене inhA, поэтому резистентность к этионамиду иногда возникает вместе с резистентностью к изониазиду, так как эти препараты имеют общего предшественника – никотинамид. Этионамид является пролекарством и для его активирования необходим фермент, который в настоящее время еще не установлен [3, 6].

*Канамицин (амикацин)* вызывает мутации в 16S рРНК (1400 позиция) – замена аденина на гуанин [6].

*Фторхинолоны* вызывают мутации в генах gyrA и gyrB ДНК-гиразы. Вследствие этого нарушается процесс репликации ДНК [9].

Представленная информация призвана способствовать формированию целенаправленной деятельности для контроля лекарственной устойчивости в интересах совершенствования лечебно-профилактических мероприятий у больных туберкулезом.

### ***Список используемой литературы***

1. Баженов И.Л., Канина А.О., Тукачёва О.В., Быкова Л.П., Годовалов А.П. Анализ заболеваемости туберкулезом среди ВИЧ-инфицированных города Краснокамска // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 8. – С. 91-92.
2. Годовалов А.П., Быкова Л.П., Ожгибесов Г.П. Значение грибов рода candida при воспалительных заболеваниях дыхательных путей // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2008. – Т. 82. – № 7. – С. 10-12.
3. Дубилей С. А., Игнатова А. Н., Шемякин И. Г. Молекулярно-генетические методы идентификации лекарственной устойчивости Mycobacterium tuberculosis // Молекулярная генетика микробиологии и вирусологии. – 2005. – №1. – С. 3-4

4. Комиссарова О., Абдуллаев Р., Ерёхин В. Обширная лекарственная устойчивость микобактерий туберкулёза – глобальная угроза для человечества // Врач. – 2010. – № 5. – С. 25.
5. Медников Б. Л. Лекарственная устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* // Пульмонология. – 2005. – №2. – С. 5-8.
6. Мишин В. Ю., Завражнов С. П., Митронин А. В., Григорьев Ю. Г. Фтизиатрия: учебник для медицинских вузов. – 2-е изд., испр. и доп. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – С. 51-52, 188-193.
7. Степаншин Ю. Г., Степаншина В. П., Шемякин И. Г. Молекулярные механизмы устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* к лекарственным препаратам // Антибиотики и Химиотер. – 1999. – № 4. – С. 39-43
8. Фтизиатрия: нац. руководство / под ред. М. И. Перельмана. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – С. 84 – 91.
9. Cambau E., Jarlier V. Resistance to quinolones in mycobacteria/ Res. Microbiol. – 1996. – Vol. 147. – P. 52-59.
10. Ramaswamy S., Musser J. M. // Tuberc. Lung Dis. – 1998. – Vol. 79. – P. 3-29.