Profilaktik tibbiyot va salomatlik – Профилактическая медицина и здоровье – Preventive Medicine and Health

Journal home page:
https://inscience.uz/index.php/preventive-medicine

Influence of dynamics of MTBC genome mutations on the formation of drug resistance in mycobacterial strains (a review)

Jalolitdin Sulton NAZAROV[1], Jamshid RAKHIMOV[2]

Bukhara State Medical Institute
Bukhara Regional Center for Phthisiology and Pulmonology

ARTICLE INFO

Article history:
Received November 2022
Received in revised form
10 December 2022
Accepted 25 December 2022
Available online
15 February 2023

Keywords:
Genetic mutations,
M. tuberculosis complex strains, isoniazid,
KatG enzyme,
XDR-TB,
MDR-TB.

ABSTRACT

According to modern studies it was found that in the nucleic acid loci of species belonging to the *M. tuberculosis* complex, mutations are most often found in all strains of seven structural genes KatG, inhA, kasA, ahpC, ndh, nat, and mshA [25]. It has been established, according to molecular genetic studies, that the KatG gene produces an enzyme similar to catalase and peroxidase. The effect of the KatG enzyme on the resistance of mycobacteria (in particular, *M. tuberculosis*) to the drug isoniazid was evaluated. The drug isoniazid serves as a "destroyer" of mycolic acids in the shell of microbacteria, the KatG enzyme produced by mycobacteria during the mutation of the KatG gene, due to its catalase and peroxidase activity, activates the prodrug isoniazid, which further has a destructive effect on the cell wall of the *M. tuberculosis* complex. This article discusses aspects of antibiotic resistance of mycobacteria under the influence of their genetic mutations.

2181-3663/© 2023 in Science LLC.
DOI: https://doi.org/10.47689/2181-3663-vol2-iss1-pp96-110
This is an open-access article under the Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.ru)

[1] Assistant, Bukhara State Medical Institute. E-mail: sultannazarov050@gmail.com
[2] Deputy director, Bukhara Regional Center for Phthisiology and Pulmonology. E-mail: jamshid.rakhimov.vfpm@mail.ru

MTBC genomlari mutatsiyasi dinamikasining mikobakterial shtamm(belgi)larda dorilarga chidamlilik paydo boʻlishiga ta'siri (adabiy sharh)

Kalit soʻzlar:
Genetik mutatsiyalar,
M. tuberculosis complex shtammlari,
izoniazid,
KatG fermenti,
KeDQ-TB (keng dori qarshilik),
Koʻ DQ-TB (koʻp dori qarshilik).

ANNOTATSIYA

Zamonaviy tadqiqotlarga koʻra, *M. tuberculosis* complex kiruvchi turlarning nuklein kislotasi lokusuda mutatsiyalar koʻpincha KatG, inhA, kasA, ahpC, ndh, nat va mshA yetti struktura genlarining barcha shtammlarida uchraydi [25]. Molekulyar genetik tadqiqotlarga koʻra, KatG geni katalaza va peroksidazaga oʻxshash ferment ishlab chiqarishi aniqlangan. KatG fermentining mikobakteriyalarning (xususan, *M. tuberculosis*) izoniazid preparatiga chidamliligiga ta'siri baholandi. Izoniazid preparati mikobakteriyalar qobig'ining mikolik kislotalarini "yoʻq qiluvchi" boʻlib xizmat qiladi, KatG genining mutatsiyasida mikobakteriyalar tomonidan ishlab chiqarilgan KatG fermenti, katalaza va peroksidaza faolligi tufayli izoniazidning oldingi dorisini faollashtiradi, bu esa keyinchalik halokatli ta'sirga ega. Ushbu maqolada mikobakteriyalarning genetik mutatsiyalari ta'sirida antibiotiklarga chidamliligi koʻrib chiqiladi.

Влияние динамики мутаций генома MTBC на образование лекарственной устойчивости микобактериальных штаммов (литературный обзор)

Ключевые слова:
Генетические мутации,
штаммы M. tuberculosis complex,
изониазид,
фермент KatG,
ШЛУ-ТБ,
МЛУ-ТБ.

АННОТАЦИЯ

По данным современных исследований обнаружено, что в локусах нуклеиновых кислот видов, относящихся к *M. tuberculosis* complex, чаще всего, мутации обнаруживаются во всех штаммов семи структурных генов KatG, inhA, kasA, ahpC, ndh, nat и mshA [25]. Установлено, согласно молекулярно-генетическим исследованиям, что ген KatG продуцирует фермент подобный каталазе и пероксидазе. Оценено влияние фермента KatG на устойчивость микобактерий (в частности, *M. tuberculosis*) к лекарству изониазиду. Препарат изониазид служит «разрушителем» миколовых кислот оболочки микробактерий, фермент KatG, вырабатываемый микобактериями в ходе мутации гена KatG благодаря своей каталазной и пероксидазной активности активирует пролекарство изониазид, которое в дальнейшем оказывает деструктивное влияние на клеточную стенку *M. tuberculosis* complex. В данной статье рассмотрены аспекты антибиотикорезистентности микобактерий под влиянием их генетических мутаций.

SUMMARY

After deciphering the *M. tuberculosis* genome in 1998, it became possible to use PCR as the basis for the detection of pathogenic mycobacteria in various diagnostic materials.

Based on PCR, it is possible to detect drug resistance to rifampicin, isoniazid and fluoroquinolones with sensitivity and specificity applicable to clinical trials. Antibiotic resistance of mycobacteria to antituberculous drugs is determined by sequencing DNA sequences after PCR amplification of the genes responsible for drug sensitivity. Mycobacteria are able to mutate by moving the IS6110 transposon sequence, which ensures the presence in the population of individuals with genes "turned off" from work. Thus, the resistance of individuals of mycobacteria to certain antibiotics arises. A feature of the *MTBC* genome is that its DNA has a large number of repetitive sequences, for example, IS elements. Due to this, using PCR technology, it is possible to diagnose the intraspecific variability of mycobacteria, since most of the IS elements, with the exception of the IS6110 element, are unchanged.

Resistance to anti-tuberculosis drugs arises precisely due to the activation or deactivation of genes due to the activity of IS elements. IS6110 repeats and their location on DNA, as well as the diversity of distances between certain restriction enzyme attack points (restriction sites) characterize a particular strain of *MTBC* when diagnosed by molecular genetic methods [34].

Strain or intraspecific identification of pathogenic mycobacteria, based on molecular genetic analysis, is of great practical importance for the control of tuberculosis in specific regions, which will allow in the future to effectively and, most importantly, quickly identify certain antibiotic-resistant strains of mycobacteria. Undoubtedly, this will be of great scientific and practical importance for the diagnosis, control, and treatment of tuberculosis infection.

ВВЕДЕНИЕ

Мировая статистика ВОЗ показывает, что туберкулез является ведущей причиной смертности среди бактериальных инфекций человека. Туберкулез и ВИЧ/СПИД остаются в десятке основных причин смертности во всех странах мира. Одна треть населения мира инфицирована *Mycobacterium tuberculosis*, основным этиологическим агентом туберкулеза, помимо девяти других видов микобактерий патогенных для человека.

Туберкулез легких, наиболее высококонтагиозная и распространенная форма туберкулеза, является опасной для жизни инфекцией. Кроме того, ситуация усугубляется тем, что повышенная восприимчивость к туберкулезу среди ВИЧ-инфицированных является еще одной серьезной проблемой здравоохранения во всем мире. За последние десятилетия заболеваемость туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) увеличилась во многих регионах, не только в развивающихся, но и в промышленно развитых странах.

Глобальное возрождение туберкулеза, а также появление новых штаммов с множественной лекарственной устойчивостью, делает чрезвычайно важным разработку новых противотуберкулезных препаратов новых протоколов для эффективной клинической диагностики пациентов с туберкулезной инфекцией.

В течение более 50 лет после появления рифампицина, медицинская фарм индустрия не произвела качественно новых противотуберкулезных препаратов, кроме рифабутина и рифапентина, в США и других странах [22]. Исследования микобактерий дорогое, медленное и сложное дело, требующее современных лабораторий оснащенных специализированным оборудованием, наличия вивария с моделями экспериментальных животных, которые точно имитируют человеческое заболевание туберкулезом (к примеру, мышей и крыс).

Время, затрачиваемое на разработку любого противотуберкулезного препарата очень длительное, учитывая, что скорость размножения у микобактерий самое медленное из всех микроорганизмов. Клинические испытания препарата требуют минимальной шестимесячной терапии с последующим периодом наблюдения в один год или более.

В связи с этим многие исследователи делают упор на увеличение знаний о различных микобактериальных генах вирулентности, которые помогут сконцентрировать новые лекарственные мишени для химиотерапии туберкулеза. На основе геномики и протеомики будет возможным в обозримом будущем разработка препаратов которые обеспечат эффективную доставку лекарственных средств к их мишеням in vivo.

К примеру японские исследователи д-р Изумикава, д-р Оно и д-р Коно рассмотрели полезность технологий на основе липосом и полимеров, которые обеспечивают эффективную доставку инкапсулированных лекарств в требуемых дозах в течение длительных периодов времени с помощью только одной инъекции. Это значительно снижает побочные действия препарата, а также позволяет в высокой степени точности направленно доставить лекарство в необходимые клетки и ткани пациента. Система доставки препаратов увеличивала и продлевала концентрацию антибактериальных веществ в крови и органах-мишенях и увеличивала продолжительность длительного высвобождения лекарства соответственно [22].

Иммуноадъювантная терапия (Complete Freund's Adjuvant) представляется многообещающей в улучшении результатов клинического контроля трудноизлечимых микобактериальных инфекций. Иммуноадъювантные агенты потенцируют антимикобактериальную активность макрофагов через пуринергические рецепторы P2 [22].

Другими исследователями было изучено состояние иммунотерапии в сочетании с антимикобактериальными препаратами на фоне микобактериальных инфекций. Необходимость разработки новых классов иммуномодуляторов, отличных от цитокинов IL-2, IL-12, IFNγ, GM-CSF и т.д.), сможет снизить тяжесть побочных эффектов антибиотикотерапии и нормализовать иммунную систему при туберкулёзной патологии. Целью иммунокорригирующей терапии является внедрение новых лекарств и схем лекарственной терапии для противотуберкулезного лечения [24].

Следует подчеркнуть что с начала 50-х годов XX века, с того самого момента когда начались клинические испытания препарата изониазида и середины 60-х годов XX века при изобретении препарата рифампицина многие штаммы патогенных микобактерий выработали к ним резистентность.

Тем не менее, изониазид, наряду с рифампицином и в настоящее время относится к препаратам первого ряда (то есть наиболее эффективным).

Механизм действия рифампицина связан с подавлением ДНК-зависимой РНК-полимеразы микроорганизмов, в отличие изониазида, действие которого направлено на угнетение синтеза миколовой кислоты в клеточной стенке микобактерий.

Миколовые кислоты являются исключительным компонентом клеточной стенки микобактерий, наличие данных кислот у *M. tuberculosis complex* делает их устойчивыми ко многим видам медикаментозного лечения. Так миколовые кислоты защищают бактерии от ферментативного расщепления, обезвоживания, химического и теплового воздействия, снижают эффективность антибиотиков. Но главное при этом то, что миколовые кислоты являются фактором вирулентности патогенных микобактерий. Благодаря миколовым кислотам образуется корд-фактор – главный фактор патогенности возбудителей туберкулеза, токсичный гликолипид, представляющий собой сложный эфир трегалозы и двух остатков миколовой кислоты [39].

Представляется важным в свете вышеописанного подробное изучение генетических локусов микобактерий, ответственных за выработку антибиотикорезистентности к препаратам первого ряда, учитывая, что эти медикаменты, входят в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств. Изучение функциональной геномики патогенных микобактерий поможет решить ряд проблем, связанных с туберкулезом, начиная от превентивных мер по созданию эффективных вакцин до исцеления трудноизлечимых пациентов с туберкулезной инфекцией.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Научные публикации последних десятилетий подтверждают, что молекула изониазида активируется внутри клетки микобактерии под действием фермента KatG. Изониазид является пролекарством, требующим окислительной активации микобактериальным каталазо-пероксидазным ферментом katG. Наиболее распространенными причинами резистентности к изониазиду являются точечные мутации или делеция гена katG, который кодирует этот фермент [31].

Изоникотиновая кислота (производное изониазида) подвергается в организме ряду метаболических процессов, образуя аддукты с молекулой коферментом NAD+ действует как ингибитор энзима, участвующего в биосинтезе нуклеиновых кислот, а также, миколовых кислот, являющихся составляющими клеточной стенки *Mycobacterium tuberculosis* [40].

Существуют мнения различных научных исследований по поводу katG, так при изучении устойчивости к изониазиду было показано, что мутации на уровне katG приводят к высокому уровню резистентности, а inhA и ahpC – к низкому [15, 43, 44]. Молекула изониазида активируется внутри микробной клетки под действием фермента каталазы-пероксидазы (ген katG).

Устойчивость к изониазиду кодируется несколькими генами: katG – осуществляет контроль клеточной каталазно-пероксидазной активности; inhA – контроль синтеза миколовых кислот; kasA – контроль протеиновых взаимодействий. Устойчивость к рифампицину связывают с единственным геном rpoB, контролирующим процесс транскрипции (синтеза РНК). Изменения в гене KatG, кодирующем бактериальный фермент каталазу-пероксидазу, приводят к отсутствию активации и снижению эффективности изониазида [4].

Мутации в гене katG приводят к снижению активности фермента на 50%, являясь наиболее частой причиной резистентности к антибиотикам у микобактерий. Проведенные генетические исследования полностью объясняют связь между каталазной активностью микобактерий и их резистентностью к изониазиду [10].

Ученые Польши при изучении мутаций в гене katG у 46 музейных штаммов *Mycobacterium tuberculosis* устойчивых к изониазиду, обнаружили следующее. Наиболее частой мутацией была замена кодона 315, который был обнаружен у 74% штаммов МЛУ *Mycobacterium tuberculosis*. Исследователи пришли к выводу, что наличие мутаций у этого кодона может служить предсказывающим фактором резистентности к изониазиду. Авторы указывают, что среди 16 обнаруженных мутаций на уровне нуклеотидной последовательности katG 87,5% привели к изменению аминокислот в полипептидной цепи KatG [26].

Кроме того, в большинстве других научных публикаций отмечаются мутации в кодоне 315 гена katG. Около 95% всех мутаций katG 315 составляет случаи замены аминокислот, серина на треонин [35].

Мутации в katG связаны с широким диапазоном устойчивости к изониазиду от среднего до высокого уровня, выше обычно тестируемых концентраций 0,2 и 1 мг/л в твердой, 0,1 и 0,4 мг/л в жидкой питательной среде. Говоря о молекулярных механизмах, многие авторы утверждают, что дополнительно к мутациям katG, устойчивость к изониазиду возникает в результате мутаций в промоторной области inhA. Данный феномен приводит к гипер экспрессии мишени изониазида (InhA), что требует более высоких доз препарата для достижения полного ингибирования. Результаты большинства исследований показывают, что мутации последовательности нуклеотидов ДНК узнаваемые РНК-полимеразой, иначе промотор inhA имеют тенденцию приводить к низкому уровню фенотипической устойчивости, а также придают устойчивость к туберкулостатическим синтетическим препаратам этионамиду и протионамиду [17, 41].

В ходе сравнительного анализа полных геномных последовательностей были выявлены различия между штаммами *M. tuberculosis* complex на уровне одиночных нуклеотидов, так называемый однонуклеотидный полиморфизм (Single-Nucleotide Polymorphism-SNP) и более протяженных фрагментов нуклеиновых кислот, полиморфизмы больших последовательностей (Large-sequence polymorphisms-LSP). Генетические маркеры SNP и LSP могут применяться в качестве анализа для семейство-специфического типирования и изучения мутаций, ведущих к формированию лекарственной устойчивости у микобактерий [19].

Практика фтизиатрии показывает, что клинические проявления туберкулеза во многом зависят от генотипа микобактерии, иначе штамма. Так, ярким примером на сегодняшний день является генетическое семейство (генотип) микобактерий Beijing. Штаммы генотипа Beijing впервые были обнаружены у пациентов с туберкулезной инфекцией в предместье Пекина, отсюда и название штамма. К сожалению, на сегодняшний день штамм Beijing является убиквитарным генотипом *M. tuberculosis*, что вызывает большие трудности в лечении инфекции, так как клинические проявления туберкулеза, вызванного указанным генотипом, крайне неблагоприятны [27, 32, 33].

История открытия представителей семейства Beijing, первоначально известного как W-штамм, начинается с 90-х годов XX века. Генетическая линия Beijing на сегодняшний день привлекает наибольшее внимание исследователей во всем мире. Штамм Beijing обладает уникальным генотипом, в связи, с чем в процессе эволюции он приобрел лекарственную устойчивость. Характерная особенность генетического семейства Beijing – повсеместная широкая распространенность, наряду с высокой вирулентностью. Наибольшая частота встречаемости штаммов M. tuberculosis вариант Beijing зафиксирована в странах Юго-Восточной Азии – 43,1% (Китай, Индонезия, Япония, Вьетнам), наименьшая – в Южной Америке – 0,65% (Бразилия, Аргентина). Для Европы характерен низкий уровень распространенности генотипа Beijing – 7,1%. Россия по данному показателю занимает первое место среди европейских стран [8, 28].

В структуре популяции возбудителей туберкулеза в России доля штаммов Beijing по различным данным составляет от 50 до 80%. На территории Санкт-Петербурга к генетическому семейству Beijing принадлежит 81,2% изученных штаммов [3]. Кроме выраженной лекарственной устойчивости, штамм обладает уникальными свойствами, которые позволили ему распространиться по всему миру. Этими свойствами являются: способность «ускользать» от БЦЖ-вакцинирования; относительно быстро приобретать устойчивость к противотуберкулезным препаратам [8, 9].

Согласно базе данных SITVIT WEB, крупнейшей в мире базе данных маркеров генотипирования микобактерий туберкулеза, штаммы генотипа Beijing характеризуются сполиготипом SIT 1 (Spoligotype International Type). Данный сполиготип определяется наличием в DR локусе 9 из 43 спейсеров, участков некодирующей ДНК – с 35 по 43 [21, 29].

Представителей данного генотипа делят на атипичные или «древние» и типичные или «современные» штаммы, при этом, спецификой современных штаммов считается делеция RD150 и/или RD142, а также наличие повторяющегося элемента IS6110 в области NTF [18].

Повышенный интерес к генотипу Beijing связан с тем, что он обладает способностью к быстрому распространению, имеет быстро прогрессирующее течение, вызывает диссеминированные формы туберкулеза. Также штамм Beijing приводит к активному бактериовыделению у пациентов наряду с трудным излечением, так как обладает свойством высокой мутации, именно среди штаммов генотипа Beijing чаще всего встречаются ШЛУ и МЛУ.

Российские исследователи в своих публикациях сообщает, что в Южной Америке, Болгарии и Румынии, были обнаружены некоренные изоляты генотипа Beijing BL7 (MIT 642) и S (MIT 256). Данные изоляты сохранили эпидемическую значимость на обширной территории Северной Азии и прилежащих к ней регионов Евроазиатского континента, а также, усилили свою роль в формировании высоких уровней распространенности МЛУ [6].

На территории Российской Федерации был проведен клинико-эпидемиологический анализ 85 случаев туберкулеза легких с ШЛУ *Mycobacterium tuberculosis*. Установлена принадлежность их штаммов к 7 сполиготипам генетических семейств: Beijing (81,2%), LAM (14,1%) и Ural (4,7%). Среди обследованных больных, инфицированных штаммами *Mycobacterium tuberculosis*

Beijing, преобладали мужчины со склонностью к вредным привычкам. Местами инфицирования были не только квартирные, но и пенитенциарные очаги. Данную группу характеризовали разнообразие клинических форм поражения легких с преобладанием фиброзно-кавернозного туберкулеза и значительная доля пациентов с отрывами от лечения [3].

Распространение генотипа Beijing в Европе характеризуется существенным разнообразием числа обнаруживаемых штаммов данного генетического семейства. Для РФ, Украины, Казахстана, Узбекистана, стран Центральной Азии, Прибалтики и Закавказья доля генотипа Beijing составила примерно 50%. В то же время, в Польше, Финляндии, Болгарии, Турции его доля не превышала 10%. Неравномерное распространение генотипа Beijing в ряде европейских стран является проявлением, ассоциированных только с определенными странами, факторов [12, 13].

Среди штаммов, циркулирующих на территории Беларуси, наиболее часто мутации наблюдались в гене katG – в кодоне 315. Одновременно, в изолятах *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от пациентов, мутации, приводящие к множественной лекарственной устойчивости также, чаще выявлялись в 315-м кодоне гена katG, реже в 15-м и 8-м кодонах гена inhA [16].

Проведенные молекулярно-генетические исследования методом VNTR-типирования изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от 46 больных туберкулезом легких, проживающих в г. Астана (Казахстан) показали преобладание среди выделенных изолятов до 70% генотипа Beijing. В ходе исследования было идентифицировано 23 различных генетических профиля, с определением мутаций в 315-м кодоне гена KatG и в 531-м кодоне гена rpoB с амплификацией фрагмента, содержащий 315-м кодоне гена katG, и фрагмент, содержащий 531-й кодон гена rpoB. В выборке встречались как устойчивые, так и чувствительные к противотуберкулезным препаратам изоляты семейства Beijing, а также, не было показано ассоциации данного семейства с лекарственной устойчивостью, что говорит об индивидуальных особенностях данных изолятов, циркулирующих на конкретной территории [5].

Результаты специалистов из Казахстана показали, что среди изолятов преобладала мутация в 531 кодоне Ser→Leu rpoB гена (87,4%) и в 315 кодоне Ser→Thr katG гена (97%), обуславливающих устойчивость к рифампицину и изониазиду. Более 80% штаммов *Mycobacterium tuberculosis* с МЛУ были отнесены к наиболее вирулентному и широко распространенному в мире генотипу Beijing [2].

Учеными Восточной Сибири был проведён биоинформационный поиск, разработан дизайн праймеров и TaqMan зондов для выявления ДНК *Mycobacterium tuberculosis* субтипов CC1 и CC2-W148 генотипа Beijing, а также генотипа Ural в различных изолятах методом ПЦР в реальном времени. Полученные результаты свидетельствовали о возможности использования генотипирования *Mycobacterium tuberculosis* и пациента для раннего прогноза развития МЛУ/ШЛУ и других осложнений на этапах первичного обследования впервые выявленных больных [14].

В настоящее время развитие методов полногеномного секвенирования и сравнительной геномики способствует активизации усилий в решении сформулированных задач. Данные методы позволяют оценить, как микроэволюционные изменения в геноме, приводящие, к примеру, к развитию

лекарственной устойчивости, так и изучить макроэволюцию *Mycobacterium tuberculosis*, что является весьма актуальным в связи с появлением штаммов, характеризующих популяционную успешность [36, 37].

Среди 140 Beijing-штаммов, полученных от больных туберкулёзом в Иркутской области, отмечен более высокий уровень первичной лекарственной устойчивости, чем среди представителей других генетических семейств [7].

Распространенность туберкулеза с ШЛУ *Mycobacterium tuberculosis* в Омской области составляла 13,6 на 100 тыс. населения. Среди больных ШЛУ преобладали лица молодого возраста 25–44 лет (63,2%), мужчины (80,9%), лица, не имеющие официального трудоустройства (75,6%), с давностью заболевания более 3 лет (57,0%), страдающие туберкулезом легких (69,2%), коинфицированные ВИЧ (31,8%). У 10,1% больных ШЛУ выявлена одновременная устойчивость к семи противотуберкулезным препаратам основного и резервного ряда. Сделан вывод о необходимости оптимизации подходов к организации дополнительных мероприятий по профилактике лекарственно-устойчивого туберкулеза. Показатель распространенности туберкулеза составлял 269,2 на 100 тыс. населения. Для сравнения в Центральноафриканской Республике на 100 тысяч человек выявлено 540 случаев заболевания туберкулезом, данные на 2018 год. Популяция *Mycobacterium tuberculosis* с МЛУ гетерогенна и представлена штаммами различных генетических семейств – Beijing, LAM, S, Haarlem, Uganda. [9].

Научными сотрудниками Центрального научно-исследовательского института туберкулёза, была определена частота встречаемости изониазид-резистентного туберкулёза (ИР-ТБ) в современной популяции, которая характеризовала фенотипическую чувствительность и генетические детерминанты устойчивости к изониазиду представителей этой группы *Mycobacterium tuberculosis* на репрезентативном материале. Частота ИР-ТБ составила 12% от всех выявленных случаев туберкулеза. Изониазид резистентные штаммы *Mycobacterium tuberculosis* complex были как монорезистентными к изониазиду (45%), так и полирезистентными (устойчивыми к 2-6 противотуберкулезным препаратам), а устойчивость к изониазиду была обусловлена мутациями в гене katG, приводящими к высокому уровню резистентности. На основании анализа научных наблюдений подчеркивается важность разработки новых простых молекулярных тестов для определения устойчивости одновременно к рифампицину и изониазиду [1].

В исследованиях западносибирских ученых, включавших в себя выборку из 82 пациентов старше 18 лет с впервые выявленным туберкулезом легких в фазе распада, наблюдения показали следующее. В группе пациентов с эффективным курсом химиотерапии чаще встречались носители аллеля G и генотипа T/G в локусе rs6707530 гена FN1. При этом генотип T/T и аллель T доминировали среди пациентов с сохранением деструкции легочной ткани после интенсивной фазы химиотерапии [11].

В 1998 году по инициативе ВОЗ в центральноазиатских странах реализовывалась программа DOTS, основанная на стратегии лечения туберкулеза под непосредственным наблюдением. Аббревиатура DOTS с английского (Directly Observed Treatment Short-course) означала строго контролируемое лечение коротким курсом химиотерапии. Стратегия DOTS охватывала три региона к югу от

Аральского моря, осуществлялась организацией гуманитарной медицинской помощи Médecins Sans Frontières и была завершена в 2003 году. В Республике Каракалпакстан, Хорезмской области Узбекистана и Дашогузском велаяте в Туркменистане к 2002 году более 8000 пациентов были зарегистрированы и проходили лечение в соответствии с DOTS [30].

Результаты лекарственной устойчивости к 5 препаратам первого ряда показали, что в Каракалпакстане штаммы 52% новых пациентов и 20% пациентов, проходивших повторное лечение, были полностью чувствительны ко всем 5 препаратам первого ряда. В Дашогузе штаммы от 70% новых пациентов и 38% пациентов, проходивших повторное лечение, были чувствительны к 5 препаратам первой линии. Наиболее заметная монорезистентность была отмечена к стрептомицину в обоих регионах (у 11% пациентов Каракалпакстане и у 14% пациентов из Дашогуза). Самый высокий уровень лекарственной устойчивости обнаружен к стрептомицину – 58% всех пациентов в Каракалпакстане и 37% пациентов в Дашогузе. Также наблюдалась большая устойчивость к изониазиду: 53% пациентов в Каракалпакстане и 31% в Дашогузе были инфицированы резистентными штаммами. Устойчивость к рифампицину была тесно связана с МЛУ. Эти исследования показали высокие показатели МЛУ в регионах двух стран Центральной Азии [23].

Региональные исследования в Республике Узбекистан показали, что распространенность МЛУ туберкулеза среди впервые выявленных больных составила 23%, а среди рецидивов 62%. Результаты стратегии DOTS показали неэффективность терапии препаратами первой линии среди некоторых пациентов. В 2002 году проведены исследования по лекарственной устойчивости региональных штаммов. Высокий уровень туберкулеза с МЛУ выявлен в Каракалпакстане, где 13% пациентов, которые никогда не лечились от туберкулеза, были инфицированы штаммом с МЛУ [20].

В последнее два десятилетия «Врачи без границ» (MSF) оказывают поддержку международной программе по борьбе с туберкулезом, в том числе и на территории Республики Узбекистан, в целях улучшения надзора, профилактики и ухода за больными туберкулезом. Модель оказания помощи ориентирована на ускоренную диагностику туберкулеза и выявление лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* complex, что позволяет применять эффективные схемы лечения. Долгосрочные инвестиции в лабораторные услуги позволили создать региональную лабораторию, в которой проводятся фенотипические и генотипические диагностические тесты [38].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В современном мире микроорганизмы, в частности микобактерии приобретают все большую устойчивость к лекарственным препаратам. Резистентность к антимикробным препаратам у микобактерий не связана с R-плазмидами. Именно спонтанные мутации в геноме туберкулеза могут изменять белки, которые являются мишенью лекарств, делая бактерии устойчивыми к лекарствам. Антибиотикоустойчивый туберкулез называется МЛУ-ТБ (множественно-лекарственно-устойчивая форма туберкулеза), данные микобактерии устойчивы к лечению противотуберкулезными препаратами первого ряда: изониазида и рифампицина. Резистентность к одному препарату –

общее явление, вот почему лечение обычно проводится с помощью более одного лекарства. Туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) устойчив также к препаратам второго ряда. Обычно туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью можно вылечить с помощью длительного лечения препаратами второго ряда, но они дороже, чем препараты первого ряда, и имеют больше побочных эффектов. Лечение и прогноз МЛУ-ТБ гораздо больше похожи на лечение рака, чем на прогноз инфекции. Смертность от МЛУ-ТБ при лечении составляет около 15% [42].

Почти каждый четвертый человек в мире заражен бактериями туберкулеза. Люди заболевают туберкулезом только тогда, когда бактерии становятся активными. Бактерии становятся активными в результате чего-либо, что может снизить иммунитет человека. Как ни парадоксально, но антибиотики также влияют на снижение иммунитета, своей токсичностью, угнетением нормальной микрофлоры и т.д. Афоризм канадского врача Уильяма Ослера гласит: – «Начинающий врач выписывает по двадцать лекарств для каждой болезни; опытный врач – одно лекарство на двадцать болезней». К сожалению, это правило невозможно применить к туберкулезной инфекции, благодаря генетическим мутациям микобактерий, которые делают их малоуязвимыми к противотуберкулезным препаратам.

Современные молекулярно-генетические методы типирования *Mycobacterium tuberculosis* complex позволяют увидеть, штаммы, представляющие наибольшую опасность. Данные по Республике Узбекистан, показывают, что региональные штаммы в данном аспекте мало изучены и требует проведения более развернутых исследований. Существующие научные публикации в основном охватывают клинические аспекты и диагностику туберкулеза в регионе. Повышение уровня резистентности штаммов туберкулеза угрожает усложнить существующие подходы глобального общественного здравоохранения к борьбе с туберкулезом.

ВЫВОДЫ

Лекарственная устойчивость микобактерий у больных туберкулезом резко снижает эффективность лечения и приводит к появлению хронических и неизлечимых форм, а в ряде случаев к летальным исходам. Множественная лекарственная устойчивость, как минимум к изониазиду и рифампицину, основным и самым активным противотуберкулезным препаратам, является причиной тяжело протекающей формой туберкулезной инфекции. Лечение пациентов с МЛУ-ТБ имеет, помимо чисто клинического и эпидемиологического значения, также экономическую значимость, так как лечение подобных больных обходится намного дороже. Устойчивые штаммы *МТВС* уже присутствуют в популяции, тем самым передача таких патогенов с множественной лекарственной устойчивостью, может передаваться напрямую от инфицированного человека к неинфицированному. В этом случае у ранее не болевшего туберкулезом человека развивается новый случай МЛУ-ТБ, иначе называемым первичным МЛУ-ТБ.

Возрастающий уровень резистентности штаммов микобактерий туберкулеза угрожает усложнить нынешние глобальные подходы общественного здравоохранения к борьбе с этой инфекцией. Разрабатываются новые лекарства для лечения широко устойчивых форм, но потребуются значительные улучшения

в выявлении, диагностике и лечении. Особое внимание тут следует обратить на открытие новых генетически-молекулярных мишеней МТВС, которые необходимо будет тщательно изучить для преодоления проблем лекарственной устойчивости и безошибочной диагностики.

Существует несколько способов предотвращения лекарственной устойчивости МТВС, и в первую очередь это быстрая диагностика и правильно составленное лечение туберкулеза. Одним из самых серьезных факторов риска лекарственно-устойчивого туберкулеза являются проблемы с лечением и диагностикой, особенно в развивающихся странах. Если туберкулез будет выявлен и вылечен в ближайшее время, лекарственной устойчивости можно избежать. Несомненную помощь при постановке диагноза и терапии этого коварного недуга окажут молекулярно-генетические методы, благодаря которым можно будет произвести раннюю своевременную диагностику и назначить эффективную схему лечения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ:

1. Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Ларионова Е.Е., Андриевская И.Ю., Черноусова Л.Н., Эргешов А. Изониазид-резистентные Mycobacterium tuberculosis: частота выявления, спектры резистентности и генетические детерминанты устойчивости // Вестник РГМУ. – 2020. – №1. – С. 22–28.

2. Ахметова А.Ж. Молекулярная характеристика мультирезистентных штаммов M. tuberculosis, циркулирующих на территории Казахстана. Наука и Здравоохранение, 2019, 5 (Т.21), стр. 45–52.

3. Васильева Н.Р., Вязовая А.А., Журавлев В.Ю., Соловьева Н.С., Мокроусов И.В., Нарвская О.В. Генотипы штаммов Mycobacterium tuberculosis с широкой лекарственной устойчивостью и клинико-эпидемиологические особенности туберкулеза легких // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, – № 2. – С. 179–183.

4. Воробьева О.А. Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза – современные взгляды на проблему // Сибирский медицинский журнал. – Иркутск. – 2008. – № 2. – С. 5-8.

5. Дымова М.А. Молекулярно-генетическая характеристика изолятов M. tuberculosis у больных туберкулезом легких г. Астана. Бюллетень СО РАМН, Том 31, № 1, 2011 г. – С. 107–112.

6. Жданова С.Н., Огарков О.Б., Лац А.А., Зарбуев А.Н., Бадлеева М.В., Унтанова Л.С., Савилов Е.Д. Выявление убиквитарных и эндемичных генотипов Mycobacterium tuberculosis на территории Республики Бурятии // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2014. – №2. – С. 12–16.

7. Лац А.А., Жданов С.Н., Огарков О.Б., Алексеева С.И. Лекарственная устойчивость различных генотипов Mycobacterium tuberculosis у больных туберкулёзом в Иркутской области // Известия Иркутского государственного университета. – Серия «Биология. Экология». – 2011. Т. 4, – № 4. – С. 58–62.

8. Нарвская О.В. Геномный полиморфизм Mycobacterium tuberculosis и его значение в эпидемическом процессе: автореферат диссертации д-ра мед. наук / О.В. Нарвская. – СПб.: СПб НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, 2003. – 35 с.

9. Пасечник О.А., Зимогляд А.А., Ярусова И.В., Витрив С.В., Блох А.И. Туберкулез с множественной и широкой лекарственной устойчивостью в Омской области: основные тенденции и характеристики // ТМЖ, 2018, – № 4. – С. 95–100.

10. Савинова А.А., Усанина Л.В. Механизмы антибиотикоустойчивости микобактерий туберкулеза // Международный студенческий научный вестник. – 2017. – № 6.; URL: http://www.eduherald.ru/ru/article/view?id=17955.

11. Самсонов К.Ю., Мордык А.В., Ароян А.Р., Батищева Т.Л., Иванова О.Г. Репарация легочной ткани при впервые выявленном туберкулезе легких как генетически детерминированный процесс // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2020. – Т. 98, – № 8. – С. 7–13.

12. Синьков В.В. Диссертация «Молекулярно-эпидемиологический анализ экспериментальных данных на примере генотипа «Пекин» (Beijing) Mycobacterium tuberculosis» 2012 г. Россия. http://medical-diss.com/medicina/molekulyarno-epidemiologicheskiy-analiz-eksperimentalnyh-dannyh-na-primere-genotipa-pekin-beijing-mycobacterium-tuberculo#ixzz6NRYZQ9Zb.

13. Суркова Л.К., Слизень В.В., Залуцкая О.М. Молекулярно-генетические особенности возбудителя туберкулеза: связь с распространенностью, течением и исходом заболевания. Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. 2016. – № 4. – С. 114–125.

14. Хромова П.А., Огарков О.Б., Жданова С.Н., Синьков В.В., Моисеева Е.Я., Цыренова Т.А., Кощеев М.Е., Зоркальцева Е.Ю., Савилов Е.Д. Выявление высокотрансмиссивных генотипов возбудителя в клиническом материале для прогноза неблагоприятного течения туберкулёза. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62(10): 622–627.

15. Bodmer T., Zurcher G., Im boden P. et al. Mutation position and type of substitution in the beta-subunit of the RNA polymerase influence in vitro activity of rifamycins in rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis // J. Antimicrobial Chemotherapy. – 1995 – Vol. 35 – PP. 345–348.

16. Bostanabad Z.S. KatG mutations in isoniazid-resistant strains of Mycobacterium tuberculosis isolates from Belarusian patients // Tuberk. Toraks. – 2007. – Vol. 55, N 3. – PP. 231–237.

17. Böttger E. C. In Antituberculosis Chemotherapy Vol. 40 (eds P.R. Donald & P.D. van Helden) Ch. 14, 128–144 (Karger, 2011).

18. Brossier F., Sola C., Millot, G., et al. Comparison of a semiautomated commercial repetitive-sequence-based PCR method with spoligotyping, 24-locus mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem-repeat typing, and restriction fragment length polymorphism-based analysis of IS6110 for Mycobacterium tuberculosis typing // J Clin Microbiol. 2014. – Vol. 52. – № 11. – PP. 4082–4086. DOI: 4010.1128/JCM.02226-02214. Epub 02014 Sep 02210.

19. Coll F.; Phelan J.; Hill-Cawthorne G.A.; Nair M.B.; Mallard K.; Ali S.; Abdallah, A.M.; Alghamdi, S.; Alsomali, M.; Ahmed, A.; et al. Genome-wide analysis of multi-and extensively drug-resistant Mycobacterium tuberculosis. Nat. Genet. 2018, 50, 307.

20. Cox H.S. The Beijing genotype and drug resistant tuberculosis in the Aral Sea region of Central Asia. Respir Res. 2005; 6: 134.

21. Demay C., Liens B., Burguiere T., Hill V., Couvin D., et al. SITVITWEB--a publicly available international multimarker database for studying Mycobacterium tuberculosis genetic diversity and molecular epidemiology // Infect Genet Evol. 2012. – Vol. 12. – № 4. PP. 755–766. DOI: 710.1016/j.meegid.2012.1002.1004. Epub 2012 Feb 1017.

22. Haruaki Tomioka, Kenji Namba Development of antituberculous drugs: current status and future prospects // National library of medicine (National Center for Biotechnology Information). – 2006. – № 81 (12). – PP. 753–74.

23. Hasker E., Ходжиханов М., Юрасова С.et al. Практика назначения противотуберкулезных препаратов в Узбекистане. Международный журнал «Туберкулез и легочные заболевания». том 2, № 1 2011 г., стр. 135–142.

24. Jacobs A.J. et al Antibodies and tuberculosis // Tuberculosis. – 2016. – № 1 (12). – PP. 102–113.

25. Jagielski T. Identification and analysis of mutations in the katG gene in multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis clinical isolates. Pneumonologia i alergologia polska 81, 298–307 (2013).

26. Jagielski T. Mutation profiling for detection of isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis clinical isolates // J Antimicrob Chemother 2015; 70: 3214–3221. DOI:10.1093/jac/dkv253 Advance Access publication 25 August 2015

27. Kelley C.L., Rouse D.A., Morris S.L. 1997. Analysis of ahpC gene mutations in isoniazid-resistant clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis. Anti-microb. Agents Chemother. 41: 2057–2058.

28. Kumar G. Whole cell & culture filtrate proteins from prevalent genotypes of Mycobacterium tuberculosis provoke better antibody & T cell – 2012. – Vol. 135. – PP. 745–755.

29. Liu L., Jiang F., Chen L., et al. The impact of combined gene mutations in inhA and ahpC genes on high levels of isoniazid resistance amongst katG non-315 in multidrug-resistant tuberculosis isolates from China // Emerg Microbes Infect. 2018. – №7 (1). – P. 183. DOI: 10.1038/s41426-018-0184-0.

30. Merker Matthias. Compensatory evolution drives multidrug-resistant tuberculosis in Central Asia. Running title: Evolution of MDR-TB in Central Asia. Research Article bioRxiv preprint first posted online May. 31, 2018; doi: http://dx.doi.org/ 10.1101/334599.

31. Migliori G.B., Zumla A. Extensively Drug-Resistant Tuberculosis (XDR-TB) // Infectious Diseases. – 4th edition. – 2017. – № 2. – P. 1264-1276.

32. Mokrousov I. Penitentiary population of Mycobacterium tuberculosis in Kyrgyzstan: exceptionally high prevalence of the Beijing genotype and its Russia-specific subtype. Infect Genet Evol. 2009;9(6):1400–5.

33. Musser J.M., Kapur V., Williams D.L., Kreiswirth B.N., van Soolingen D., van Embden J.D. 1996. Characterization of the catalase-peroxidase gene (katG) and inhA locus in isoniazid-resistant and -susceptible strains of Mycobacterium tuberculosis by automated DNA sequencing: restricted ar-ray of mutations associated with drug resistance. J. Infect. Dis. 173:196–202.

34. Reyes A. et al IS-seq: a novel high throughput survey of in vivo IS6110 transposition in multiple Mycobacterium tuberculosis genomes // Bio Med central Genomics. – Great Britain, 2012. – P. 1-15.

35. Seifert M., Catanzaro D., Catanzaro A., Timothy C. Rodwel Genetic Mutations Associated with Isoniazid Resistance in Mycobacterium tuberculosis: A Systematic Review. PLOS ONE | DOI: 10.1371/journal.pone. 0119628 March 23, 2015.

36. Shitikov E., Ilina E., Chernousova L., Borovskaya A., Rukin I., Afanas'ev M., Smirnova T., Vorobyeva A., Larionova E., Andreevskaya S., Kostrzewa M., Govorun V. Mass spectrometry based methods for the discrimination and typing of mycobacteria // Infect Genet Evol. 2012. – Vol. 12. – №4. – PP. 838–845.

37. Shitikov E.A., Bespyatykh J.A., Ischenko D.S., Alexeev D.G., Karpova I.Y., Kostryukova E.S., Isaeva Y.D., Nosova E.Y., Mokrousov I.V., Vyazovaya A.A., Narvskaya O.V., Vishnevsky B.I., Otten T.F., Zhuravlev V.Y., Yablonsky P.K., Ilina E.N., Govorun V.M. Unusual large-scale chromosomal rearrangements in Mycobacterium tuberculosis Beijing B0/W148 cluster isolates // PLoS One. 2014. – Vol. 9 – № 1. – P. e84971.

38. Shitikov E., Vyazovaya A., Malakhova M., Guliaev A., Bespyatykh J., Proshina E., Pasechnik O., Mokrousov I. Simple assay to detect Central Asia Outbreak clade of Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype // J. Clin. Microbiol. – 2019. – May 1. pii: JCM.00215-19.

39. Takayama K., Wang C., Besra G.S. Pathway to Synthesis and Processing of Mycolic Acids in Mycobacterium tuberculosis // Clinical Microbiology Reviews: journal. – 2005. – Vol. 18, – No. 1. – PP. 81–101.

40. Timmins G.S., Deretic V. Mechanisms of action of isoniazid. Mol. Microbiol. 2006; 62: – PP. 1220–1227.

41. Vilcheze C. & Jacobs W.R. Jr. Resistance to isoniazid and ethionamide in Mycobacterium tuberculosis: genes, mutations, and causalities. Microbiology Spectrum 2, MGM2-0014-2013, https://doi.org/10.1128/ microbiolspec.MGM2-0014-2013 (2014).

42. WHO Global tuberculosis report 2019 – www.who.int/publications/i/ item/9789241565714

43. Zhang Y., Heym B., Allen B. et al. The catalase-peroxidase gene and isoniazid resistance of Mycobacterium tuberculosis // Nature. – 1992 – Vol. 358 – PP. 591–593.

44. Zhang Y., Yew W.W. Mechanism s of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis / / Int. J. Tuberculosis Lung Dis. – 2009 – Vol. 13, – № 11 – PP. 1320–1330.