



Л.Д. Тодоріко<sup>1</sup>, В.І. Петренко<sup>2</sup>, М.М. Гришин<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Буковинський державний медичний університет, Чернівці

<sup>2</sup> Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ

<sup>3</sup> Кримський державний медичний університет імені С.І. Георгієвського, Сімферополь

## Резистентність мікобактерій туберкульозу: міфи та реальність

В огляді проаналізовано дослідження молекулярно-генетичних аспектів формування резистентності у хворих на туберкульоз з метою запобігання їй у разі застосування сучасних програм лікування. Акцентовано увагу на питаннях генетичних аспектів формування лікарської стійкості *M. tuberculosis* і вивченні ролі поліморфних варіантів генів системи метаболізму ксенобіотиків при туберкульозі легень для розуміння механізмів взаємодії в процесі реалізації спадкової інформації на рівні організму з метою підвищення ефективності лікування.

### Ключові слова

Мікобактерія туберкульозу, резистентність, молекулярно-генетичні аспекти, лікарсько-стійкий, мультирезистентний.

Туберкульоз (ТБ), зумовлений *Mycobacterium tuberculosis*, поширений у світі: у 2012 р. виявлено 8,8 млн нових випадків захворювання, 1,6 млн померли від цієї хвороби [18, 40]. Україна посідає друге місце після Російської Федерації серед країн Європейського регіону з проблемами мультирезистентного туберкульозу (МРТБ) і четверте — за його поширеністю серед вперше діагностованих хворих. Високий рівень первинної мультирезистентності, який перевищував 6,5 %, зареєстровано в Казахстані, Росії (Томська область), Узбекистані, Естонії, Ізраїлі, Китаї (провінції Ляонінг та Хенан), Латвії, Литві, Україні (Донецька область) [1, 11].

Крім звичайних різновидів туберкульозної інфекції (*Mycobacterium tuberculosis*), у світі швидко поширюються мутантні форми мікобактерій туберкульозу (МБТ), які є стійкими до дії багатьох основних антимікобактеріальних препаратів (АМБП): мультирезистентний (МРТБ, MDR) і з розширеною резистентністю туберкульоз (РРТБ, XDR). За оцінками ВООЗ, майже 500 тис. жителів планети інфіковано МРТБ, за якого стандартна терапія неефективна, а РРТБ, як зауважують спеціалісти [9, 29], стійкий прак-

тично до всіх відомих на сьогодні препаратів і має найвищий рівень смертності осіб працездатного віку — 85 %. Середня тривалість життя не ефективно лікованих хворих становить 2,9 року. Ймовірність успішного лікування зменшується з появою нових стійких штамів МБТ із тотальною резистентністю [5]. За даними ВООЗ, в Україні МРТБ мають 16 % хворих із уперше встановленим діагнозом ТБ (від 5 % у західних регіонах до 16 % у східних) і 44 % з рецидивом його [4, 7, 15].

Сукупність штамів МБТ, які циркулюють у популяції, характеризується значною варіабельністю з наявністю високо- і маловірулентних штамів, об'єднаних у різні сімейства на основі генетичних особливостей. Сучасні штами МБТ не здатні горизонтально переносити гени, але є дослідження, які засвідчили наявність рідкісних генних рекомбінацій [3, 22]. У більшості випадків еволюція *M. tuberculosis complex* відбувається шляхом делецій та дублікацій, що зумовлює клональний патерн еволюції збудника і в поєднанні з відсутністю рекомбінацій може спричинити патогенетичні особливості перебігу окремих штамів. Генетично різні штами МБТ стимулюють різні імунні відповіді (за рахунок переважання концентрації певних цитокінів), які визначають різницю не тільки в патогенезі, а й у клінічних

виявах хвороби. Загалом патогенність МБТ залежить від здатності виживати в макрофагах, які їх поглинули й індукували імунну відповідь гіперчутливості сповільненого типу [2, 33].

В Україні головну роль в етіології та епідеміології ТБ відіграє *M. tuberculosis* (понад 90 % випадків), значно рідше — *M. bovis* (3–5 %). Ці два види є основними збудниками хвороб. У жителів Африки туберкульозні ураження спричинює *M. africanum*. У разі зараження бичачим видом МБТ здебільшого розвиваються позалегеневі форми туберкульозу: лімфатичних вузлів, кісток і суглобів, сечостатевої системи, оболонки головного мозку. МБТ людського та бичачого видів можуть бути збудниками ТБ не тільки у людей, а й у великої рогатої худоби, кіз, свиней, рідше — в коней, собак, котів. На ТБ хворіють практично всі хребетні тварини. Поряд із типовими патогенними видами МБТ (*M. tuberculosis*, *M. bovis*) виділено й вивчено і умовно-патогенні атипові мікобактерії. За певних умов, особливо за зниження імунітету, можуть виникати в людини захворювання, подібні до ТБ, які об'єднують поняттям «мікобактеріози». Від збудників ТБ вони відрізняються виглядом колоній, швидкістю росту на поживних середовищах та медикаментозною чутливістю до антимікобактеріальних препаратів [2, 8, 9].

Значного поширення у більшості регіонів світу набувають мікобактерії туберкульозу родини *Beijing*. Головною негативною характеристикою штамів родини *Beijing* є здатність їх до швидкого, порівняно з іншими родинами, формування лікарської стійкості [19]. У низці досліджень доведено, що МБТ родини *W-Beijing* мають медикаментозно-резистентні штами, а швидкість росту в культурі навіть більша, ніж у чутливих [33]. Загалом у штамів *Beijing* виявлено 41 специфічний однонуклеотидний поліморфізм (SNP), у тому числі й у генах, що беруть участь у процесах реплікації, репарації та рекомбінації й мають потенційний вплив на еволюцію і адаптацію представників цієї генетичної лінії [33].

У епідеміологічних дослідженнях важливе місце належить вивченню схильності людини до ТБ-інфекції. Людина володіє сильним природним опором до ТБ. Опірність протягом життя неоднакова, на захворюваність на ТБ впливають стать, вік, супутні хвороби, умови життя тощо. Існує генетично обумовлена стійкість до ТБ. Доведено зв'язок видової резистентності з генами імунної відповіді і головним комплексом гістосумісності HLA. Людина може бути схильна до ТБ за наявності на лейкоцитах периферичної крові таких HLA-антигенів, як DR<sub>2</sub>, B<sub>7</sub>, B<sub>14</sub> [14].

У вивченні еволюції патоморфозу ТБ легень, зокрема формування хіміорезистентності, важливими є дослідження поліморфізму відомих генів-кандидатів, а також пошук нових генів, білкові продукти яких беруть участь у патогенетичних механізмах розвитку захворювання [33].

Для відстеження процесу поширення туберкульозної інфекції в економічно розвинених країнах запроваджено метод генотипування збудника ТБ. Цьому сприяло відкриття поліморфних ділянок, повторюваних у ланцюжку нуклеотидів у ДНК *Mycobacterium tuberculosis*. Це надало можливості вивчити «молекулярні відбитки пальців» — генотипу збудника ТБ [32]. У зв'язку з перерахованим вище активного дослідження та вивчення вимагають молекулярно-генетичні аспекти формування резистентності МБТ.

Доведено, що особливостями імунної реакції при резистентному ТБ є висока, але швидкоплинна експресія ФНП-α та індукцйбельної ізоформи фермента синтетази монооксиду нітрогену (iNOS), що свідчить про ефективну активацію макрофагів на ранній стадії інфікування МБТ. Своєю чергою інтерферон-γ (ІФН-γ) у макрофагах, активованих і природних Т-кілерах індукує гени, білкові продукти яких здатні знищувати МБТ. Однак у більшості випадків при МРТБ ІФН-γ пізно й слабо продукується, що свідчить на користь швидкої інактивації макрофагів, які стимулюють Th1-підтип лімфоцитів. Таким чином, активація Th1-лімфоцитів є недостатньо ефективною для зупинки розмноження мікобактерій [37].

У різних штаммах *M. tuberculosis* виявлено експресію майже 527 генів (15 % загальної кількості обстежуваних). Інсерційна послідовність IS6110, що належить до IS3 транспозонів, є послідовністю, яку широко використовують як генетичний маркер, оскільки вона специфічна для штамів *M. tuberculosis* [4, 35]. Лабораторні дослідження свідчать, що виникнення резистентності в *M. tuberculosis* пов'язане з нуклеотидними змінами (мутаціями) у генах, які кодують різні ферменти, що безпосередньо взаємодіють з лікарськими препаратами [2, 21]. Наприклад, мутації гена *pro*, який кодує β-субодиницю РНК-полімерази, у 96 % випадків призводять до формування стійкості *M. tuberculosis* до рифампіцину. Мутації в гені *kat* зумовлюють заміщення окремих амінокислот у ферментах каталази й пероксидази, відповідальних за формування протіоксидантного захисту за розвитку запального оксидативного стресу. Нуклеотидні зміни в регуляторній і суміжній кодувальних ділянках локуса *inh* асоційовані з резистентністю окремих штамів МБТ до ізоніазиду. Нечутливість

*M. tuberculosis* до стрептоміцину (практично у 86 % наших хворих на ТБ) [16] пов'язана з мутацією в гені *rps*, котрий кодує S12 мітохондріальний білок, або з нуклеотидними змінами в гені *grs*, який кодує 16S РНК [3].

Антигенний склад змінених форм МБТ спрощується із втратою як мінімум 33,3–37,5 % АГ, асоційованих у більшості випадків із клітинною стінкою. Окремі дослідники довели, що змінені МБТ слабше індукують синтез антитіл. Ймовірно, ці особливості дають змогу уникнути контролю імунної системи і створюють передумови для персистенції МБТ в організмі. Трансформація МБТ у кислотностійкі форми супроводжується зниженням концентрації АГ у клітині, спрощенням антигенного складу зі збереженням не більше 62,6–66,7 % АГ, у тому числі специфічних для комплексу *M. bovis* – *M. tuberculosis* [38].

Як стверджує низка дослідників [6, 25], ТБ, як й інші інфекції, характеризується циклічним перебігом, що пов'язано з певною періодичністю розмноження, ступенем вірулентності і змінами імунітету у населення. У період мінімуму сонячної активності зменшуються захворюваність і смертність від ТБ, що пов'язують із впливом сонячної активності як на людину, так і на МБТ (космогеліофізичні чинники, зокрема 11-річний цикл активності ТБ-інфекції) [10].

Доведено, що розвиток ТБ-процесу залежить від низки медико-біологічних і соціальних чинників [12]. Виникнення стійкості до протитуберкульозних препаратів (ПТП) – закономірне явище, основний біологічний закон, вияв пристосування видів до навколишнього середовища.

Аналіз літературних джерел [9, 13, 15, 39] дає підстави стверджувати, що існує ціла плеяда теорій щодо формування та сутності лікарської стійкості МБТ.

Теорія адаптації припускає зміни властивостей мікроорганізму, що адекватні змінам навколишнього середовища. Відповідно до цієї теорії, розвиток лікарської стійкості МБТ вважають виявом однієї з форм мінливості бактеріальної клітини під впливом антимікобактеріальних препаратів [6, 17]. Тобто виникнення стійкості МБТ до ПТП зумовлено самим лікуванням, оскільки співвідношення популяцій чутливих і стійких форм МБТ становить 90 і 10 % відповідно, але в процесі лікування, у разі неправильної схеми хіміотерапії, значна кількість чутливих МБТ гине, через що порушується співвідношення в мікробній популяції і кількість стійких МБТ перевищує таку чутливих.

За теорією спонтанних мутацій [14, 23], у популяції МБТ існують стійкі мутанти. При

цьому ПТП можуть виконувати роль чинника подальшої селекції резистентних видів або, на думку деяких дослідників, мутантів. Однак високою частотою спонтанного мутагенезу не завжди можна пояснити швидкість поширення мутацій, що сприяє розвитку резистентності збудників до ПТП.

Численні дослідження свідчать про можливість генетичної транслокації мутантних генів від однієї клітини до іншої і навіть міжродового обміну генетичною інформацією. Такий шлях поширення генетичної інформації описаний щодо бактерій, але для *M. tuberculosis* і деяких субштамів *E. coli* визначено лише непрямі ознаки міжродового передавання генів, що кодують резистентність до лікарських препаратів [36].

Окремі зарубіжні дослідники стверджують, що причиною виникнення і поширення резистентних до ПТП штамів є природні біохімічні та генетичні механізми життєдіяльності бактеріальної клітини, і обговорюють шляхи поширення генетичної інформації, яка призводить до розвитку стійкості МБТ [34]. Із 3,8–4,2 тис. генів МБТ понад половина забезпечує синтез клітинної стінки і в несприятливих умовах змінює її структуру й переводить обмінні процеси на шляхи дублювання. Це у більшості випадків пояснює існування морфологічно змінених форм МБТ, які розглядають як закономірні стадії життєвого циклу.

Результати аналізу низки досліджень [4, 19, 22] дають змогу припустити, що трансформація форми і структури клітинної стінки супроводжується змінами антигенного складу, їх спостерігали під час імунолюмінесцентної індикації L-форм МБТ. За допомогою туберкуліну, виготовленого з L-форм *M. bovis*, виявлено значно більше тварин із латентною туберкульозною інфекцією, ніж у разі використання препарату з «бацилярного» штаму. Ймовірно, персистенція змінених (трансформованих) форм МБТ індукує імунну відповідь, що відрізняється від реакції на комплекс антигенів (АГ) *M. tuberculosis*, хоча фактично невідомо, наскільки значна різниця їхнього антигенного складу.

Одним із важливих видів мінливості МБТ є формування L-форм [38]. L-форми характеризуються зниженим рівнем метаболізму, ослабленою вірулентністю. Залишаючись життєздатними, вони можуть тривалий час індукувати протитуберкульозний імунітет і відрізняються різними функціональними і морфологічними змінами. Виявлено, що трансформація МБТ у L-форми підсилюється за тривалого застосування антимікобактеріальної терапії й впливу інших чинників, що порушують їхній ріст і роз-

множення, утворення клітинної мембрани [10, 27]. Встановлено, що в мокротинні «абацилярних» хворих із деструктивними формами ТБ можуть міститися L-форми МБТ, здатні за відповідних умов реверсувати (модифікуватися) у паличкоподібний варіант, тим самим зумовлюючи реактивацію туберкульозного процесу. Отже, «абацилювання» каверн таких хворих ще не означає їхньої стерилізації стосовно МБТ.

Нові відкриття у генетиці ТБ зумовлені різноманітністю властивостей згаданого мікроорганізму, що визначається її хромосомою [2, 37]. Геном *M. tuberculosis complex* дуже консервативний. Його представники мають гомології ДНК у межах 85–100 %, тоді як ДНК інших представників цього роду гомологічних *M. tuberculosis* — лише в межах 5–29 %. Геном *M. tuberculosis* менший, ніж у інших мікобактерій. У класичного збудника ТБ людини, *M. tuberculosis*, більше генів, ніж у *M. africanum* і *M. bovis*, які втратили частину генетичного матеріалу в процесі еволюції [28].

У 1998 р. опубліковано нуклеотидну послідовність хромосоми штаму H37Rv *M. tuberculosis*, що є музейним «класичним». Хромосоми є тороїдальними структурами — понад 4000 генів, що кодують білки, плюс 60, що кодують функціональні компоненти РНК: унікальний рибосомальний РНК-оперон, 16S РНК, який бере участь у деградації білків із нетиповою матричною РНК, 45 транспортних РНК (тРНК), до 100 ліпопротеїнів [19].

Особливість геному *M. tuberculosis complex* — велика кількість повторюваних послідовностей ДНК. Так, у хромосомі *M. tuberculosis* H37Rv нараховують до 56 копій IS-елементів, які забезпечують ДНК-поліморфізм МБТ (цю особливість використовують у ПЛР-діагностиці). Більшість із них, за винятком елемента IS6110, незмінні. У складі хромосоми різних штамів МБТ зазвичай міститься від 5 до 20 копій IS6110, однак зустрічаються штами, що не мають цього елемента. Різницю щодо кількості копій і локалізації на хромосомі цих генетичних елементів використовують для диференціації штамів МБТ у молекулярній епідеміології.

Найдосконаліші схеми генотипування мікобактерій засновано на виявленні геномного поліморфізму, зумовленого елементом IS6110. Характерно, що дивергенція виду *M. tuberculosis* відбувається, як правило, за рахунок рекомбінацій між копіями елемента IS6110, які фланкують різні гени [10]. Застосування генотипування у клінічно-епідеміологічних дослідженнях є визначальним тоді, коли потрібно розрізнити первинну і вторинну (набуту) медикаментозну резистентність.

Якщо генотипові зразки МБТ до і під час лікування збігаються, то це свідчить про формування стійкості у процесі лікування. Причини цього можуть бути різні, а саме:

- біологічні — недостатня концентрація препарату, індивідуальні особливості організму (швидкість інактивації препарату є індивідуальною); супутні захворювання, що перешкоджають утворенню адекватної концентрації препарату в крові й осередку туберкульозного ураження;
- зумовлені поведінкою і психологічними особливостями пацієнта (контакт із хворим на МРТБ, нерегулярний прийом ліків, дострокове припинення прийому препаратів, перерви у лікуванні, погана переносність ліків);
- зумовлені захворюванням — у разі зміни доз препаратів за великої кількості МБТ у ділянках ураженої тканини може змінюватися рН, а це перешкоджає активній дії лікарської речовини; монотерапія; недостатня доза або тривалість лікування; застосування препаратів з перехресною резистентністю; неправильний режим лікування, невідповідність доз препаратів;
- організаційні прорахунки і неадекватне фінансування протитуберкульозної програми та інших зацікавлених відомств; брак належного асортименту і недостатня кількість лікарських засобів (неповноцінний режим хіміотерапії), неправильне збереження препаратів.

Якщо «молекулярні відбитки пальців» є різними, тоді це свідчить про повторне інфікування (реінфекцію) іншим штамом, що потребує корекції протитуберкульозного лікування.

Також застосування генотипування може допомогти у клінічно-епідеміологічних дослідженнях, коли треба вирішити питання генезу рецидиву: це результат активізації мікобактерій, що вже були в організмі людини, або інфікування новим штамом [10, 35]. Також цей метод дає змогу виявити лабораторну кросконтамінацію.

Фактично від самого початку застосування антибіотикотерапії виник феномен лікарської стійкості. Особливість його в тому, що МБТ не має плазмід, а популяційну стійкість мікроорганізмів до антимікробних препаратів традиційно описували в мікробній клітині наявністю R-плазмід (від англ. resistance — стійкість). Однак, попри цей факт, вказували на появу або зникнення лікарської стійкості в одного штаму МБТ. З'ясувалося, що за активацію або дезактивацію генів, які відповідають за резистентність, відповідають IS-послідовності [35].

За словами молекулярного генетика Ервіна Шурпа, МБТ (*Mycobacterium tuberculosis*) зара-



жений кожний третій житель планети, але лише 5–10 % з його носіїв можуть захворіти на ТБ. Іншим якось вдається утримувати хворобу в «сплячому» стані. Учені зупинили погляд на гені NRAMP1, який має стосунок до багатьох хвороб. Встановлено, що варіанти (алелі) гена NRAMP1 контролюють швидкість розвитку ТБ, а також те, чи розвинеться ця хвороба взагалі. Ервін Шурр вказує на те, що він уперше зіштовхується з тим, що ген може керувати часом від моменту зараження до початку хвороби (робота опублікована у виданні *Proceedings of the National Academy of Science*, 2011 р.).

Нещодавно вчені з Техаського університету встановили точну причину того, що інфікування *Mycobacterium tuberculosis* не завжди призводить до розвитку ТБ. Доти вважали, що винна в цьому спадкова схильність. Вивчаючи генотип двох груп пацієнтів із Мексики та Кореї, американські вчені дійшли висновку, що наявність мутації в гені, розташованому на 17-й хромосомі, збільшує сприйнятливості до ТБ у п'ять разів. Якщо змінюється лише один-єдиний нуклеотид у гені, одразу збільшується продукція білка MCP-1 (він залучає клітини імунної системи до зон запалення). Мутантний людський моноцитарний хемоатрактантний білок (MCP-1) має більшу спорідненість щодо зв'язування з глікозаміногліканами (GAG) і пониженою активністю відносно трансмембранних, зв'язаних із G-білком рецепторів (GPCR), порівняно з білком MCP-1 дикого типу. Характеризується тим, що MCP-1 білок модифікований, зі збереженням структури, шляхом вставки принаймні одного основного і/або електрондонорного амінокислотного залишку або заміщення щонайменше двох амінокислотних залишків двома основними і/або електрондонорними амінокислотними залишками, причому вказаний білок уміщує амінокислотну послідовність за такою загальною формулою: (M)<sub>n</sub>Q(PDAINA(Z1))<sub>m</sub>VTCC(X1)NFTN(Z2)(Z3)I(X2)V(X3)RLASYRRITSSKCPKEAVIFKTI(X4) AKEICADPKQ KWVQDSMDHL DKQ TQTPKT.

MCP-1 (моноцитарний хемотоксичний протеїн) — дуже важлива ланка первинної імунної відповіді на попадання *M. tuberculosis* в організм, але якщо він виробляється в надмірних кількостях, зменшується продукція іншого чинника імунітету — інтерлейкіну-12 (ІЛ-12). А він потрібен для активізації імунних клітин, які прибули до інфікованої зони для боротьби з бактеріями. На сьогодні це найбільше відкриття в генетиці ТБ [30]. Вчені сподіваються, що воно відіграє певну роль у боротьбі з цією небезпеч-

ною хворобою, поширення якої останнім часом набуває загрозливих масштабів.

Міжнародна група вчених зі США і Південної Африки оголосила про успішне завершення робіт із розшифровки генома збудника ТБ [33]. Дослідники здобули інформацію про генетичну структуру як звичайної, сприйнятливої до ліків бактерії, так і її різновиду, що має множинну лікарську стійкість (multi-drug resistant, MDR), а також збудника найнебезпечнішої форми хвороби — ТБ з широкою лікарською стійкістю (extensively drug resistant, XDR). Учені з Інституту Броада (Broad Institute), Гарвардської школи охорони здоров'я в США і Медичної школи Нельсона Мандели (ЮАР) вивчали геном штаму XDR-ТБ, що призвів до втрати понад 50 людських життів під час спалаху в південно-африканській провінції Квазулу-Натал (KwaZulu-Natal). Для розшифрування чотирьох мільйонів пар нуклеотидів генома *Mycobacterium tuberculosis* використовували особливу технологію секвестрування ДНК, що дає змогу одночасно «читати» сотні мільйонів нуклеотидів ДНК. Учені з'ясували, що лікарсько-стійкі і чутливі до ліків бактерії, з погляду генетики, відрізняються незначно, їм удалося виявити лише кілька дюжин невеликих змін ДНК. Деякі з них стосувалися генів, роль яких у розвитку лікарської стійкості відома; інші зміни виявлено в нових, маловивчених генах [33].

МБТ за природою нечутливі до багатьох антибіотиків. Головна причина стійкості закодована в структурі генома туберкульозної палички. Ця властивість передусім пов'язана з тим, що високогідрофобна клітинна поверхня служить своєрідним фізичним бар'єром для терапевтичних агентів і антибіотиків. Повідомляють також, що культури форм МБТ не завжди містять специфічний для *M. tuberculosis complex* інсерційний елемент IS6110 і деякі інші, що призводить до відсутності синтезу відповідних білків [3].

Лабораторні дослідження засвідчили, що резистентність у МБТ пов'язана з нуклеотидними змінами (мутаціями) у генах, які кодують різні ферменти, котрі безпосередньо взаємодіють із лікарськими засобами. Наприклад, мутації гена *rpo*, що кодує бета-субодиницю РНК-полімерази (у фрагменті завдовжки 81 пара нуклеотидів), у 96 % випадків призводять до стійкості *M. tuberculosis* до рифампіцину. Мутації в гені *kat* спричинюють заміну деяких амінокислот у ферментах каталазі й пероксидазі, які відповідають за формування протиокисдантного захисту в оксидативному стресі. Нуклеотидні заміни в регуляторній і суміжній кодуючих ділянках локусу *inh* асоційовані з резистентністю деяких

штамів мікобактерій до ізоніазиду. Нечутливість *M. tuberculosis* до стрептоміцину пов'язана з мутацією у гені *rps*, що кодує S12 мітохондріальний білок, або з нуклеотидними змінами в гені *rrs*, який кодує 16S РНК.

Антигенний склад змінених форм МБТ спрощується із втратою як мінімум 33,3–7,5 % АГ, переважно асоційованих з клітинною стінкою. Понад те, змінені МБТ відносно слабше індують синтез антитіл. Ймовірно, ці особливості дають змогу уникати контролю імунної системи і сприяють персистенції їх у організмі. Трансформація МБТ у кислотностійкої форми супроводжується зниженням концентрації АГ у клітині, спрощенням антигенного складу зі збереженням не більше 62,6–66,7 % АГ, у тому числі специфічних для комплексу *M. bovis* – *M. tuberculosis* [4].

Підґрунтям значного збільшення кількості випадків первинної лікарської стійкості МБТ може бути широке застосування нечисленних антибіотиків, що їх можна використовувати у фтизіатрії для лікування хвороб нетуберкульозної етіології. У зв'язку з цим особливу стурбованість зумовлюють рекомендації призначати один із протитуберкульозних препаратів (ПТП) — рифампіцин як препарат I ряду — під час лікування так званих проблемних інфекцій, спричинених грампозитивними організмами. Актуальним залишається питання раціонального застосування препаратів II ряду — респіраторних фторхінолонів [15, 20, 27].

На думку багатьох дослідників [24, 26, 31], через розмаїття чинників (демографічні, соціально-економічні, недостатня увага до проблеми боротьби з ТБ у багатьох країнах, епідемія ВІЛ-інфекції) значно зростає кількість хворих із абактеріальними формами ТБ легень, причому багато з цих пацієнтів не буде виявлено й залишаться без лікування. Навіть під час терапії ТБ нераціональний вибір лікарських засобів і слабкий контроль за прийомом їх призведуть до збільшення кількості хворих, які виділяють резистентні МБТ.

На нашу думку, яка збігається з поглядом багатьох дослідників [4, 10, 16, 22], основними механізмами розвитку лікарської стійкості (ЛС) є неадекватна або помилково вибрана схема лікування, яка спричинює домінування ЛС штаму (відбувається селекція значимо стійких штамів). Хворі, в яких розвинулася ЛС до одного препарату, у подальшому більше схильні до набуття стійкості до інших засобів (ефект ампліфікації ЛС) [19]. Як стверджують окремі автори [2, 19], ймовірність передачі стійких штамів аналогічна ступеню передачі чутливих штамів.

Отже, основна причина феномену ЛС — людський чинник. Все перераховане вище підтверджують результати пілотного наукового дослідження, проведеного Національним інститутом фтизіатрії та пульмонології ім. Ф.Г. Яновського та Ілінойським університетом (США), які засвідчили, що тільки 12,8 % хворих на ТБ лікували згідно зі стандартами, визначеними наказами МОЗ; 71,1 % пацієнтів призначили неправильний режим лікування; 31,6 % самостійно перервали лікування [1, 34].

У рамках реалізації загальнодержавної програми протидії ТБ передбачено закупівлю обладнання для молекулярно-генетичної діагностики. Новітня молекулярна платформа Xpert MTB/RIF, яка пройшла апробацію в країнах із низьким і середнім рівнями економічного розвитку, визнана тестом першого ряду для осіб із підозрою на МРТБ або ВІЛ-асоційований ТБ і для подальшого дослідження негативних мазків мокротиння інших пацієнтів [23]. Для впровадження Xpert MTB/RIF на теренах нашої держави не потрібні ні тривала підготовка медичного персоналу, ні сучасні лабораторії, ні новітні методи біологічного захисту, цей метод надзвичайно перспективний.

Основні недоліки традиційної прямої мікроскопії мазка (низька чутливість і специфічність), а також культурального дослідження (велика тривалість отримання результату) подолано у новому методі, відомому як мікроскопічний метод виявлення медикаментозної чутливості [11].

Перспективні окремі генетичні дослідження, в яких намагаються використовувати експресію генів хазяїна в клітинах крові хворих на ТБ для визначення гена, специфічного для цієї недуги, який згодом можна було б застосувати для створення діагностичного тесту і, можливо, диференціації стадій захворювання. Встановлено набір із чотирьох генів, які, можливо, допоможуть диференціювати пацієнтів із активною формою ТБ, осіб із латентною інфекцією і тих, хто раніше отримував антимікобактеріальну терапію, а також набір із трьох різних генів, за допомогою якого можна відрізнити пацієнтів із активним ТБ від інфікованих і здорових [4]. Альтернативним методом є вивчення генної експресії в клітинах, що вперше стимулюються специфічними антигенами МТБ. За цим методом можна відрізнити осіб із латентною туберкульозною інфекцією від пацієнтів із активним ТБ, визначивши експресію лише трьох генів.

Окремі дослідники встановили, що співвідношення між експресією рівнів ІЛ-4 і його варіантом сплайсингу ІЛ-4d2 корелює з фазою захворювання, а зміни згаданого показника можуть

бути ознакою змін у мікробному навантаженні [5, 33].

Оскільки система метаболізму ксенобіотиків бере участь як у захисті організму від наслідків розвитку запальних реакцій при ТБ, так і в метаболізмі більшості ПТП, украй цікавим є вивчення активності ферментів, які входять до цієї групи. За результатами багатьох досліджень, поліморфізм глутатіон-S-трансферази (GST), зокрема гомозиготних делецій (*null*-алель) GSTM1 і GSTT1, є однією з причин підвищеної чутливості до пошкоджувальної дії чинників середовища, що оточує, з ураженням бронхолегеневої системи. Засвідчено роль поліморфних варіантів генів GST у формуванні резистентності МБТ [2, 4].

Підбиваючи підсумок, слід зазначити, що науковці активно досліджують молекулярно-генетичні аспекти формування резистентності у хворих на ТБ з метою запобігання їй у разі застосування сучасних програм лікування. Продовжують вивчати та оцінювати ефективність методик для діагностики та лікування чутливого і хіміорезистентного ТБ. Актуальним залишається питання щодо генетичних аспектів формування лікарської стійкості *M. tuberculosis* і вивчення ролі поліморфних варіантів генів системи метаболізму ксенобіотиків при ТБ легень для розуміння механізмів взаємодії у процесі реалізації спадкової інформації на організмовому рівні з метою підвищення ефективності лікування.

## Список літератури

- Александріна Т.А. Особливості епідемії туберкульозу в Україні // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.— 2012.— № 2.— С. 7–13.
- Антоненко П.Б., Кресюк В.Й., Бажора Ю.І. та ін. Генотипування *Mycobacterium tuberculosis* за шістьма локусами // Укр. пульмонол. журн.— 2010.— № 3.— С. 15–18.
- Асмолов О.К., Чеснокова М.М., Бабурина О.А., Лобанов О.К. Характеристика *M. tuberculosis* родини Beijing // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.— 2013.— № 4.— С. 92–95.
- Бажора Ю.М. и др. Молекулярно-генетические механизмы туберкулезной инфекции.— Одесса: Одесский государственный медицинский университет, 2005.— 259 с.
- Варченко Ю.А. Вплив інтерферону на динаміку закриття порожнин розпаду у хворих з інфільтративним вперше діагностованим туберкульозом легень // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.— 2013.— № 1.— С. 26–29.
- Дзюблик Я.О. Антибіотикорезистентність збудників інфекцій дихальних шляхів: огляд результатів дослідження SOAR та перспективи мікробіологічного моніторингу в Україні // Укр. пульмонол. журн.— 2010.— № 3.— С. 33–35.
- Закон України № 4565-VI від 22.03.2012 «Про протидію захворюванню на туберкульоз».
- Карачунський М.А. Молекулярная эпидемиология туберкулеза // Пробл. туб. и болезней легких.— 2007.— № 4.— С. 3–7.
- Мельник В.М., Приходько А.М., Ареф'єва Л.В. Історія виникнення і розвитку хіміорезистентного туберкульозу // Укр. пульмонол. журн.— 2012.— № 2.— С. 59–61.
- Москаленко В.Ф., Петренко В.І., Радиш Г.В. Досягнення та перспективи розвитку фтизіатрії // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.— 2013.— № 1.— С. 5–13.
- Наказ МОЗ України від 21.12.2012 № 1091 «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Туберкульоз».
- Плиева С.Л., Сельцовський П.П. Особенности ранних и поздних рецидивов туберкулеза органов дыхания // Пробл. туб. и болезней легких.— 2011.— № 6.— С. 23–27.
- Радиш Г.В. Потенційний прорив у лікуванні хіміорезистентного туберкульозу // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.— 2012.— № 23.— С. 106–107.
- Тодоріко Л.Д. Молекулярно-генетичні аспекти формування резистентності мікобактерій туберкульозу // Клінічна імунол. Алергол. Інфектол.— 2013.— № 4.— С. 7–11.
- Тодоріко Л.Д., Єременчук І.В. Оптимізація стандартного режиму хіміотерапії при лікуванні хворих на мультирезистентний туберкульоз легень // Укр. пульмонол. журн.— 2012.— № 1.— С. 8–12.
- Тодоріко Л.Д., Підвербецька О.В., Бойко А.В. Поширеність та клінічно-імунологічні особливості поєднання туберкульозу та ВІЛ/СНІДу на Буковині // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.— 2012.— № 2.— С. 90–98.
- Фещенко Ю.І., Гуменюк М.І., Денисов О.С. Антибіотикорезистентність мікроорганізмів: стан проблеми та шляхи її вирішення // Укр. хіміотер. журн.— 2011.— № 1–2.— С. 4–10.
- Центр медичної статистики МОЗ України. Туберкульоз в Україні (аналітично-статистичний довідник за 2000–2012 роки) / За ред. О.К. ТолстANOва.— К., 2013.— 122 с.
- Черноусова Л.Н., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г. и др. Свойства штаммов *M. tuberculosis* кластера W // Пробл. туб. и болезней легких.— 2008.— № 10.— С. 45–49.
- Чорноус В.А., Грозав А.М., Тодоріко Л.Д., Вовк М.В. Синтез и биологическое действие тиосемикарбазонов 4-хлор-1Н-имидазол-5-карбальдегидов // Хим.-фарм. журн.— 2013.— Т. 47, № 10.— С. 71–73.
- Actor J.K., Hunter R., Jagannath C. Immunopathology of tuberculosis // Molecular pathology of lung diseases.— New York: Springer New York, 2008.— P. 419–428.
- Caws M., Thwaites G., Dunstan S. et al. The influence of host and bacterial genotype on the development of disseminated disease with *Mycobacterium tuberculosis* // PLoS Pathog.— 2008.— Vol. 4.— P. 450–457.
- Crane M., Iser D., Lewin S.R. Human immunodeficiency virus infection and the liver // World J. Hepatol.— 2012.— Vol. 4, N 3.— P. 91–98.
- Ejele O.A. A comparative study of CD4 positive lymphocyte count and the ESR of HIV sero-positive patients at University of Port Harcourt Teaching Hospital // Pmjumu Pioneer Med. J. Umuahia.— 2012.— Vol. 2, N 1.— P. 13–21.
- Ho M.M., Southern J., Kang H. et al. WHO Informal Consultation on standardization and evaluation of BCG vaccines Geneva // Switzerland 22–23 September 2009.— Vaccine 2010.— Vol. 28 (43)— P. 6945–6950.
- Idh J., Mckonnen M., Abate E. et al. Resistance to First-Line Anti-TB Drugs Is Associated with Reduced Nitric Oxide Susceptibility in *Mycobacterium tuberculosis* // PLoSOne.— 2012.— Vol. 7, N 6.— P. 39891.
- Ieremenchuk I., Todoriko L. Characteristic heterocyclic compounds and their effect on *mycobacterium tuberculosis* // Укр. журн. гематології та трансфузіології.— 2012.— № 4.— С. 473.
- Kleinnijenhuis J., Oosting M., Joosten L.A.B. et al. Innate Immune Recognition of *Mycobacterium tuberculosis* // Clin. Dev. Immunol.— 2011: [Електронний ресурс].— Режим доступу до документа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3095423>.

29. Kozlov R. Current and future issues in resistance of respiratory pathogens: is the horizon still bright // 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Disease.— Vienna, Austria, 10–13 April, 2010.— P. 173.
30. Kruuner A., Yates M.D., Drobniewski F.A. Evaluation of MGIT 960-based antimicrobial testing and determination of critical concentrations of first- and second-line antimicrobial drugs with drug-resistant clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis* // J. Clin. Microbiol.— 2006.— N 44.— P. 811–818.
31. Miller T.I. Metabolic abnormalities and viral replication are associated with biomarkers of vascular dysfunction in HIV-infected children // HIV Med.— 2012.— N 5.— P. 264–275.
32. Mi-Sun Koo, Subbian S., Kaplan G. Strain specific transcriptional response in *Mycobacterium tuberculosis* infected macrophages // Cell Communication and Signaling.— 2012.— N 10.— P. 2.
33. Moreland N.J., Charlier C., Dingley A.J. et al. Phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing Strains Constructed from Polymorphisms in Genes Involved in DNA Replication. Recombination and Repair // PLoS One.— 2011.— Vol. 6, N 1: [Електронний ресурс].— Режим доступу до документа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0016020>.
34. Moreland N.J., Charlier C., Dingley A.J. et al. Making sense of a missense mutation: characterization of MutT2, a Nudix hydrolase from *Mycobacterium tuberculosis*, and the G58R mutant encoded in W-Beijing strains of *M. Tuberculosis* // Biochemistry.— 2009.— Vol. 8.— P. 699–708.
35. Parida S.K., Kaufmann S.H.E. Novel tuberculosis vaccines on the horizon // Curr. Opin. Immunol.— 2010.— Vol. 22 (3).— P. 374–384.
36. Ralph A.P., Anstey N.M., Kelly P.M. Tuberculosis into the 2010-s: Is the glass half full? // CID.— 2009.— Vol. 49.— P. 574–583.
37. Rocha-Ramirez L.M., Estrada-Garcia I., Lopez-Marin L.M. et al. *Mycobacterium tuberculosis* lipids regulate cytokines, TLR-2/4 and MHC class II expression in human macrophages // Tuberculosis.— 2008.— Vol. 88.— P. 212–220.
38. Thais C.A., S.H.E. Kaufmann Toward novel vaccines against tuberculosis: current hopes and obstacles // Yale Journal of Biology and Medicine.— 2010.— Vol. 83.— P. 209–215.
39. Todoriko L.D., Ieremenchuk I.V., Shapovalov V.P. et al. Perfection of chemoresistance pulmonary tuberculosis treatment program in patients with functional insufficiency small bowel // «European Innovation Convention». Proceedings of the 1-st International scientific conference (20–21 December, 2013). «East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH. Vienna.— 2013.— P. 73–75.
40. World Health Organization. Global Tuberculosis Control report. WHO report.— 2012.— Geneva, Switzerland.— 273 p.

Л.Д. Тодорико<sup>1</sup>, В.И. Петренко<sup>2</sup>, Н.М. Гришин<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Буковинський державний медичний університет, Чернівці

<sup>2</sup>Національний медичний університет імені А.А. Богомольця, Київ

<sup>3</sup>Кримський державний медичний університет імені С.І. Георгієвського, Сімферополь

## Резистентність мікобактерій туберкульозу: міфи і реальність

В огляді приведено аналіз досліджень молекулярно-генетических аспектів формування резистентності у хворих туберкульозом в цілях запобігання її виникненню при використанні сучасних програм лікування. Акцентовується увага на питаннях генетических аспектів формування лікарської стійкості *M. tuberculosis* і вивченні ролі поліморфних варіантів генів системи метаболізму ксенобіотиків при туберкульозі легких для розуміння механізмів взаємодії в процесі реалізації наслідкової інформації на організмічному рівні для підвищення ефективності лікування.

**Ключові слова:** мікобактерії туберкульозу, резистентність, молекулярно-генетическі аспекти, лікарсько-стійкий, мультирезистентний.

L.D. Todoriko<sup>1</sup>, V.I. Petrenko<sup>2</sup>, M.M. Grishin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

<sup>2</sup>Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

<sup>3</sup>Crimea State Medical University named after S.I. Georgievsky, Simferopol, Ukraine

## Resistance of *Mycobacterium tuberculosis*: myths and reality

Analysis of the most advanced research on molecular genetic aspects of the development of resistance in tuberculosis patients is reviewed in order to avoid its emergence in application of contemporary treatment programs. Issues of genetic aspects of the *M. tuberculosis* drug resistance development and study of the role of polymorphic genes variants of xenobiotics system metabolism for understanding the mechanisms of interaction in hereditary information realization at the organismal level aiming improve the efficiency of tuberculosis treatment are emphasized.

**Key words:** *Mycobacterium tuberculosis*, molecular genetic aspects, drug resistance, multidrug resistance.

### Контактна інформація:

Тодоріко Лілія Дмитрівна, д. мед. н., проф., лікар вищої категорії, зав. кафедри фізіотерії та пульмонології 58002, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. E-mail: [mutia2@rambler.ru](mailto:mutia2@rambler.ru)

Стаття надійшла до редакції 2 січня 2014 р.