

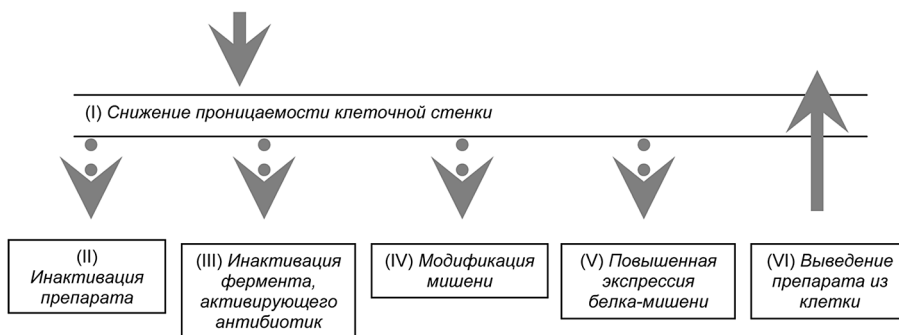
Е. Н. Черняева

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

Введение

Приобретенная лекарственная устойчивость микобактерий туберкулезного комплекса (МБТ) является одной из серьезнейших проблем, препятствующей борьбе с распространением туберкулеза (ТБ) в мире. Используемые при лечении ТБ противотуберкулезные препараты (ПТП) разделяют на две группы: так называемые **препараты первого ряда** (основные) и **препараты второго ряда** (резервные). К ПТП первого ряда относятся изониазид, рифампицин, пиразинамид, этамбутол, стрептомицин. Их назначают в виде отдельных или комбинированных лекарственных форм. К резервным препаратам относятся протионамид (этионамид), канамицин, амикацин, капреомицин, циклосерин, рифабутин, пара-аминосалициловая кислота и фторхинолоны. ПТП второго ряда имеют более высокую стоимость, их назначают при лечении ТБ, обладающего лекарственной устойчивостью к препаратам первого ряда.

Формирование лекарственной устойчивости бактерий может быть обусловлено различными механизмами. В целом можно выделить шесть биохимических механизмов формирования лекарственной устойчивости в бактериальной клетке (рисунок): (I) снижение проницаемости клеточной стенки для препарата; (II) ферментативная инактивация препарата; (III) инактивация фермента, приводящего антибиотик в активную форму; (IV) модификация мишени препарата; (V) повышенная экспрессия белка-мишени лекарственного препарата; (VI) усиленное выведение препарата из бактериальной клетки [1]. Данные механизмы резистентности к препаратам могут проявляться в качестве природных свойств бактериальной клетки, а также возникать в результате селективного действия антибактериальных препаратов.



Механизмы формирования лекарственной устойчивости микобактерий туберкулезного комплекса

Природная лекарственная устойчивость характеризуется отсутствием у бактерий мишени действия антибиотика или недоступностью мишени вследствие первично-низкой проницаемости или ферментативной инактивации. При наличии у бактерий природной устойчивости антибиотики клинически неэффективны. Природная резистентность является постоянным видовым признаком микроорганизмов и легко прогнозируется. Природная устойчивость бактерий к некоторым препаратам не является результатом возникших генетических изменений. Под приобретенной устойчивостью понимают свойство отдельных штаммов бактерий сохранять жизнеспособность при тех концентрациях антибиотиков, которые подавляют основную часть микробной популяции. Формирование резистентности во всех случаях обусловлено генетически, а именно изменением нуклеотидной последовательности бактериальных генов или изменением уровня экспрессии собственных генов.

Микобактерии туберкулезного комплекса обладают природной устойчивостью к некоторым препаратам благодаря наличию гидрофобной клеточной стенки, которая является естественным барьером для проникновения некоторых антибиотиков [2, 3]. Наличие β -лактамазы обеспечивает устойчивость многих видов микобактерий к β -лактамным антибиотикам [4–6]. Помимо естественных механизмов резистентности, штаммы *M. tuberculosis* способны формировать лекарственную устойчивость к противотуберкулезным препаратам в результате возникновения спонтанных мутаций в бактериальных генах [7].

Образование лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза связано с нарушением режима противотуберкулезной терапии. В отличие от других видов бактерий, транспозоны и плазмиды не играют роли в формировании лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* [7], несмотря на наличие этих механизмов резистентности у других видов микобактерий [8, 9].

В данной работе описаны механизмы формирования лекарственной устойчивости к основным противотуберкулезным препаратам, а также молекулярные маркеры резистентности, обнаруженные у микобактерий туберкулезного комплекса.

Механизмы формирования устойчивости к изониазиду

Изониазид (INH) является самым эффективным и специфичным противотуберкулезным препаратом [10]. При противотуберкулезной терапии его применяют вместе с рифампицином практически во всех схемах лечения [11]. МБТ крайне чувствительны к INH при минимальной ингибирующей концентрации (МИК) 0,01–0,25 мкг/мл [12]. Под действием изониазида бактерии *M. tuberculosis* теряют кислотоустойчивые свойства, которые связаны с наличием на их поверхности миколовых кислот. Воздействие препарата направлено на ингибирование синтеза миколовых кислот — важнейшего компонента клеточной стенки микобактерий. INH проявляет свое действие против активных микобактерий в присутствии кислорода. Препарат не активен в анаэробных условиях в отношении бактерий, находящихся в латентном состоянии [13]. Действие INH наиболее очевидно при температуре 37 °С и крайне ограничено при температуре 4 °С [14], что связано с необходимостью ферментативной активации INH в бактериальной клетке. Сам по себе INH является предшественником действующего вещества, которое активируется внутри бактериальной клетки ферментом каталазой-пероксидазой (KatG) [15–19].

Известно несколько внутриклеточных мишеней данного препарата — комплекс ферментов, участвующих в синтезе миколовых кислот. Мутации в генах, кодирующих эти белки (*inhA*, *acrM* и *kasA*) могут вызывать устойчивость к ИН (таблица). Однако многие исследования показали, что 60–90% изониазид-резистентных штаммов имеют мутации в гене каталазы-пероксидазы *katG*, которая переводит ИН в активную форму, а не является мишенью препарата. В 1952 г. был изолирован штамм микобактерии, устойчивый к изониазиду, у которого также была недостаточна каталазная активность [20]. Спустя почти 50 лет было обнаружено, что многие изониазид-устойчивые изоляты имеют мутацию в гене *katG* [15]. При этом трансформация бактерий, резистентных к изониазиду, плазмидой, содержащей ген *katG* от дикого типа МБТ, восстанавливала чувствительность к изониазиду [15]. Таким образом, подтвердилось предположение о том, что каталаза-пероксидаза является активатором изониазида, а не его мишенью [21].

Каталаза-пероксидаза (кф 1.11.1.6) является бифункциональным ферментом, обладающим как каталазной, так и пероксидазной активностью. В бактериальной клетке фермент выполняет протективную функцию, защищая от токсичных молекул, несущих гидропероксидные и гидроксильные радикалы, которые присутствуют в анаэробном окружении. В различных бактериях каталаза-пероксидаза может быть гомодимерным или гомотетрамерным белком с молекулярным весом одной субъединицы 80 кД. Полипептидная цепь каждой субъединицы содержит 2 домена, по 40 кД каждый, которые, как предполагается, являются результатом генных дупликаций [22]. Анализ аминокислотной последовательности показал наличие гем-связывающего мотива в N-концевом участке белка.

Устойчивость к изониазиду — одна из основных проблем, возникающих при лечении ТБ и в наши дни. Мутация в гене *katG*, приводящая к замене S315, происходящая у подавляющего большинства резистентных к изониазиду штаммов МБТ, приводит к увеличению МИК препарата в 200 раз. Замена серина в 315-м положении может происходить на аспарагин, изолейцин, аргинин или глицин, однако наиболее частыми являются мутации, приводящие к замене серина на треонин.

Влияние мутации S315T на механизм формирования устойчивости к ИН анализировали многие исследователи [17, 23–26]. Считается, что замена S315T может приводить к конформационным изменениям ИН-связывающего кармана и снижению аффинности фермента к субстрату, однако не к полному блокированию субстрат-связывающего кармана. Замена S на другие аминокислоты (кроме G) также приводит к стерическим изменениям, снижающим аффинность фермента к ИН. Замена S315G приводит к более крупным конформационным изменениям фермента, которые также могут влиять на аффинность и ориентацию ИН в активном центре фермента. Кроме того, возможно, что замена влияет не столько на аффинность, сколько на способность формировать интермедиаты, необходимые для окисления ИН и его активации [26].

Изучение изониазид-устойчивых клинических изолятов показало, что, как правило, они устойчивы и к этионамиду даже при условии, что пациенты ранее никогда не принимали этого препарата [27]. Было показано, что перенос гена *inhA* от резистентного штамма к чувствительному дает ему устойчивость к изониазиду [28]. Также было показано, что как мутация гена *inhA*, так и сверхэкспрессия нормального гена *inhA* формирует устойчивость и к изониазиду, и к этионамиду. Продукт гена *ahpC*, возможно, участвует

в процессах детоксикации изониазида и поддерживает вирулентность микобактерии при недостаточной активности *katG*. В настоящее время также показана роль гена *kasA* в процессах, связанных с устойчивостью к изониазиду [29].

Механизмы устойчивости к рифампицину

Рифампицин (RIF) используется для лечения ТБ с 1967 г. и является компонентом краткосрочных курсов лечения [11, 30]. Препарат является производным рифамицина и обладает широким спектром действия. Он оказывает бактериостатическое, а в высоких концентрациях — бактерицидное действие. Помимо бактерицидного эффекта на метаболически-активные МБТ, рифампицин проявляет стерилизующую активность по отношению к бактериям с пониженной активностью. Введение рифампицина в схемы лечения ТБ позволило сократить сроки противотуберкулезной терапии с 12–18 до 9 месяцев [31]. Устойчивость к рифампицину чаще всего встречается вместе с устойчивостью к изониазиду, такую форму заболевания называют ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) [32].

Механизм действия RIF связан с ингибированием бактериальной ДНК-зависимой РНК-полимеразы (кф 2.7.7.6). РНК-полимераза — это олигомерный фермент, коровая структура которого сформирована пятью полипептидными цепями ($\alpha 2\beta\beta'\omega$), ассоциирующимися с σ -субъединицей для специфической инициации транскрипции [33, 34]. Мутации, приводящие к появлению устойчивости к RIF, как правило, возникают в гене *rpoB*, кодирующем β -субъединицу РНК-полимеразы (см. таблицу). Данный механизм формирования лекарственной устойчивости был показан как у *E. coli*, так и у *M. tuberculosis* [35].

Анализ RIF-устойчивых клинических изолятов по всему миру показал наличие мутаций в небольшом регионе размером 81 п.о. гена *rpoB* у 95–98% всех изолятов [36, 37].

Миссенс-мутации в 531-м и 526-м кодонах встречаются чаще остальных (до 70% случаев устойчивости) и обуславливают устойчивость к высоким концентрациям рифампицина — более 100 мкг/мл [7]. Мутации в кодонах 511, 516, 518 и 522 ассоциированы с резистентностью к низким концентрациям рифампицина и рифапентина, однако штаммы, несущие данные мутации, чувствительны к другим производным рифамицина [38, 39]. Помимо часто встречающихся мутаций, короткая варибельная область гена *rpoB* может содержать большое количество редких мутаций [37]. Менее 5% рифампицин-устойчивых образцов имеют редкие мутации за пределами короткой варибельной области гена *rpoB* в кодонах 381, 679, 687 [37]. Изоляты МБТ устойчивые к RIF могут иметь мутацию в 176-м кодоне гена *rpoB* [40–42].

Механизмы устойчивости к пиразинамиду

Пиразинамид (PZA) является производным никотинамида и используется для лечения туберкулеза с 1952 г. В наши дни PZA является важным противотуберкулезным препаратом первого ряда, позволившим сократить сроки лечения ТБ с 9–12 до 6 месяцев [31]. Данный препарат обладает стерилизующим эффектом, который он оказывает на популяцию латентных микобактерий [11]. PZA является единственным ПТП, не проявляющим активности в стандартных условиях культивирования микобактерий *in vitro* [43]. Однако PZA активен при кислых значениях pH среды, МИК PZA 16–50 мкг/мл при

Механизмы формирования устойчивости штаммов микобактерий туберкулезного комплекса к противотуберкулезным препаратам

Название препарата	Клеточная мишень	Активация препарата	Механизмы лекарственной устойчивости
Изониазид	Комплекс ферментов, участвующих в синтезе миколовых кислот (InhA, AspM и KasA)	Осуществляет катализа-пероксидаза (KatG)	Мутации в генах <i>katG</i> , <i>inhA</i> , <i>aspM</i> , <i>kasA</i> Гиперэкспрессия <i>ahpC</i>
Рифампицин	β -субъединица РНК-полимеразы (RpoB)	Нет данных	Мутации в гене <i>rpoB</i>
Пиразинамид	Нет данных	Осуществляет никотинаминидазы (PncA)	Мутации в гене <i>pncA</i>
Этамбутол	Ферменты, участвующие в синтезе арабиногалактана и dTDP-рамнозы	Нет данных	Мутации в генах <i>embB</i> , <i>embA</i> , межгенной области <i>embC-embA</i> , <i>embR</i> , <i>Rv0340</i> , <i>rmlD</i> и <i>rmlA2</i>
Стрептомицин	Рибосомальный белок S12 и 16S рРНК	То же	Мутации в генах <i>rpsL</i> , <i>rrs</i> , <i>gidB</i> Эффлюксное выведение препарата
Канамицин и амикацин	16S рРНК	»	Мутации в гене <i>rrs</i>
Капреомицин и виомицин	16S рРНК, 23S рРНК	»	Мутации в генах <i>tlyA</i> и <i>rrs</i>
Этионамид	Фермент, участвующий в синтезе миколовых кислот (InhA)	Осуществляет монооксигеназа (Rv3854c, EtaA, EthA)	Мутации в гене <i>etaA</i> Гиперэкспрессия <i>EtaR</i> (Rv3855)
Фторхинолоны	A и B субъединицы ДНК-гиразы	Нет данных	Мутации в генах <i>gyrA</i> и <i>gyrB</i> Гиперэкспрессия <i>MfpA</i> Эффлюксное выведение препарата

pH 5,5 или 100 мкг/мл при pH 6,0 [44]. Значение pH среды является важнейшим фактором, влияющим на активность PZA. Данный препарат действует на микобактерии, находящиеся в макрофагах, и для определения устойчивости *in vitro* необходимо создать кислую среду, которая негативно сказывается на росте микобактерий. Действие PZA на бактерии происходит после его активации, а именно после его превращения в пиразиноновую кислоту (POA). Активация PZA обеспечивается ферментом никотинаминидазой (кф 3.5.1.19), который имеет сродство к PZA из-за его структурной гомологии с никотинамидом [45]. Благодаря участию в реакции превращения PZA в POA, никотинаминидазу микобактерий также называют пиразинаминидазой [45].

Устойчивые к PZA клинические изоляты *M. tuberculosis* обычно характеризуются пониженной активностью пиразинаминидазы [45]. Множество исследований показало, что мутации в гене *pncA*, кодирующем данный фермент, ассоциированы с возникновением устойчивости к пиразинамиду [46–57]. До сих пор не было обнаружено штаммов МБТ, резистентных к POA [53]. Устойчивость к PZA, как правило, вызывается

точечными мутациями и делециями, распределенными по структурной части гена *prnA* или в области его промотора. Мутации в гене *prnA*, ассоциированные с резистентностью к PZA, крайне разнообразны и могут встречаться на всей протяженности гена, тем не менее некоторые исследователи выделяют три относительно консервативных региона, мутации в которых формируются чаще: PncA 3–17, 61–85 и 132–142 [46, 48, 57]. Мутации в этих регионах приводят к изменениям конформации активного сайта фермента. Большое разнообразие мутаций в гене *prnA* является уникальным механизмом формирования устойчивости к PZA. Устойчивость к другим ПТП, как правило, не обусловлена таким широким спектром мутаций в генах, связанных с резистентностью.

Природной устойчивостью к пиразинамиду обладают штаммы *M. bovis*, у которых обнаружена точечная мутация C → G в 169-м кодоне, являющаяся видоспецифическим признаком [46, 58].

До сих пор не ясно, что является мишенью активированной формы пиразинамида. Однако, возможно, мутации в гене, кодирующем белок-мишень, достаточно редки и ответственны за случаи устойчивости, когда мутации в гене *prnA* отсутствуют.

Механизмы формирования устойчивости к этамбутолу

Этамбутол (ЕМВ) используется для лечения туберкулеза с 1966 г. Он применяется в курсах краткосрочного лечения в регионах, где достаточно часто встречается устойчивость к одному из стандартных противотуберкулезных препаратов [11]. Препарат эффективен против активно растущих бактерий в концентрации 1–5 мкг/мл [59], но не проявляет активности против бактерий, находящихся в латентном состоянии [60]. ЕМВ ингибирует синтез арабиногалактана — важнейшего компонента клеточной стенки микобактерий. Мишенью препарата является арабинозил-трансфераза (EmbV (кф 2.4.2.34)) — фермент, вовлеченный в синтез арабиногалактана [61, 62]. Синтез арабиногалактана связан с генным кластером *embCAB*. Белки Emb A, B и C имеют сходную последовательность (идентичность 65%) и являются интегральными мембранными протеинами, обладающими двенадцатью трансмембранными доменами [62]. Показано, что EmbC участвует в синтезе липоарабиноманна [63], в то время как белки EmbA и EmbB вовлечены в формирование терминального гексаарабинофуранозидного мотива в процессе синтеза арабиногалактана [64]. Вместе с тем точный механизм ингибирования EmbV этамбутолом до сих пор неизвестен. Механизм формирования устойчивости микобактерий к данному ПТП ассоциирован с точечными мутациями в опероне *embCAB* [65, 66], кодирующем арабинозил-трансферазы, необходимые для синтеза компонентов клеточной стенки. Одна из основных мутаций, ассоциированная с резистентностью к ЕМВ, приводит к замене М306 в гене *embB* [64, 66]. Мутации в гене *embB* приводят к формированию устойчивости к высоким концентрациям ЕМВ, однако обнаруживаются эти мутации только у 70% резистентных штаммов [65].

Недавние исследования российских штаммов *M. tuberculosis* показали, что мутации М306 встречаются также у бактерий, чувствительных к ЕМВ [67]. Таким образом, было выявлено, что наличие замены М306 не является надежным молекулярно-генетическим маркером устойчивости к ЕМВ.

В исследовании С. Рамасвами и соавторов [66] показано, что устойчивые к ЕМВ изоляты, помимо мутаций в генах *embB* и *embA*, могут также нести дополнительные мутации в межгенной области *embC-embA* [66]. Мутации в данной межгенной области,

по-видимому, играют вторичную компенсаторную роль при формировании устойчивости. Помимо локуса *embCAB*, мутации, ассоциированные с устойчивостью к ЕМВ, были обнаружены в генах *embR*, *Rv0340*, *rmlD* и *rmlA2* [66]. Более 20% устойчивых к ЕМВ изолятов не имели мутаций ни в одной из проанализированных областей генома [66]. Таким образом, очевидна актуальность дальнейших исследований для обнаружения надежных генетических маркеров лекарственной устойчивости к ЕМВ.

Механизмы формирования устойчивости к стрептомицину

Стрептомицин (SM), аминогликозидный антибиотик, был первым препаратом, который стали использовать для лечения ТБ в 1944 г. В первое время при лечении ТБ он применялся в качестве единственного препарата, что привело к возникновению множества случаев лекарственной устойчивости. Действие SM направлено на ингибирование синтеза белка микобактерий. Препарат связывается с 30S субъединицей рибосомы, приводя к ошибкам в процессе трансляции [68]. SM эффективен против активно растущих микобактерий при нейтральных или щелочных значениях pH среды при МИК препарата 2–8 мкг/мл [59], но не способен воздействовать на нерастущие бактерии [31]. Устойчивость к SM, как правило, возникает в результате мутаций в генах рибосомального белка S12 (*rpsL*) и 16S рибосомальной РНК (*rrs*). Эти мутации в *rrs* и *rpsL* были обнаружены у 20–50% устойчивых к SM изолятов [69–71]. Чаще всего в 43-м кодоне *rpsL* обнаруживается мутация, приводящая к замене лизина на аргинин и ответственная за устойчивость к высоким концентрациям SM. Мутации в кодоне 88-м также встречаются довольно часто. Мутации в гене *rrs* возникают в области петли 16S рРНК неподалеку от 530-го и 915-го нуклеотидов [69–71]. Около 75% устойчивых к SM штаммов МБТ обладают мутациями в генах *rpsL* и *rrs*. Остальные 20–30% случаев устойчивости к низким дозам аминогликозида обеспечиваются иными биологическими механизмами. В недавних исследованиях было показано, что мутации в гене *gidB*, кодирующем 7-метилгуанозин (m(7)G) метилтрансферазу, могут вызывать устойчивость к SM [72, 73]. Кроме того, некоторые случаи устойчивости к низким дозам SM могут объясняться усилением вывода препарата из клетки, так как при ингибировании эффлюксного насоса повышалась чувствительность бактерий к антибиотику [73].

Механизмы формирования устойчивости к канамицину, амикацину и капреомицину

Канамицин (KM) и его производное амикацин (AMK), как и стрептомицин ингибируют синтез белка в результате модификации рибосомы в области 16S рРНК. Мутации в 1400-й позиции гена 16S рРНК (*rrs*) вызывают устойчивость к высоким дозам KM и AMK [74, 75]. Капреомицин (CPM) — это полипептидный антибиотик, устойчивость к которому ассоциирована с геном *tlyA*, кодирующим рРНК-метилтрансферазу [76]. Данный фермент участвует в модификации нуклеотидов C1409 в 16S рРНК и C1920 в 23S рРНК [77]. Случаи перекрестной устойчивости были обнаружены между KM, AMK, CPM и виомицином (VM). Штаммы устойчивые одновременно к CPM и VM могут иметь мутации в гене *tlyA*, а также замену C1402T или G1484T в гене *rrs*. Штаммы устойчивые только к CPM могут иметь мутацию F1401G в гене *rrs* [76]. Данная

мутация может приводить к появлению резистентности не только к СРМ, но и к КМ. Замены С1402Т и G1484Т в гене *rrs* ассоциированы с устойчивостью к СРМ, КМ и VM [76]. Устойчивые к SM штаммы обычно остаются чувствительными к КМ и АМК.

Механизмы формирования устойчивости к этионамиду

Этионамид (ЕТА) является противотуберкулезным препаратом второго ряда и используется для лечения ТБ с множественной лекарственной устойчивостью. Минимальная ингибирующая концентрация ЕТА для *M. tuberculosis* составляет 0,6–2,55 мкг/мл [59]. Подобно INH и PZA, ЕТА является пролекарством. Препарат активируется монооксигеназой (Rv3854c), которую также называют *EtaA* [78] или *EthA* [79]. Мишенью препарата является *InhA* — белок, участвующий в синтезе миколовых кислот. Данный механизм действия объясняет случаи перекрестной устойчивости INH и ЕТА. *EtaA* или *EthA* является FAD-содержащим ферментом, осуществляющим окисление ЕТА до соответствующего S-оксида, который в дальнейшем окисляется ферментом *EtaA* до 2-этил-4-амидопиридина, предположительно через нестабильный дважды окисленный сульфидный интермедиат [80]. В результате активации формируется 4-пиридилметанол, который имеет сходную с INH структуру [78–80]. Устойчивые к ЕТА штаммы *M. tuberculosis* обычно имеют мутации в гене *etaA*. *EtaA* негативно регулируется *EtaR* (Rv3855), гиперэкспрессия этого гена вызывает устойчивость к ЕТА [78–79]. Мутации в гене, кодирующем *InhA*, также могут приводить к формированию устойчивости к данному препарату.

Механизмы формирования устойчивости к фторхинолонам

Фторхинолоны являются антибиотиками широкого спектра действия, активными против *M. tuberculosis*. Они оказывают бактерицидное действие, ингибируя активность микобактериальной ДНК-гиразы. ДНК-гираза является топоизомеразой типа II (КФ 5.99.1.3.), изменяющей топологическое состояние кольцевой ДНК, внося двунитевые разрывы в молекулу ДНК и проводя сквозь них другой двунитевой сегмент [81]. Вследствие этого происходит снятие напряжения в суперспирализованной кольцевой молекуле ДНК, возникающего в репликационной вилке в результате расплетания двойной спирали ДНК в ходе репликации.

ДНК-гираза представляет собой тетрамерный белок, состоящий из субъединиц двух типов — А и В, которые кодируются генами *gyrA* и *gyrB* соответственно. Изучение механизмов связывания хинолонов с гиразой показало, что хинолоны обладают высокой аффинностью не к самому ферменту, а к молекулам ДНК [82]. При этом связывание препарата происходит с одноцепочечной ДНК, которая формируется при взаимодействии с ДНК-гиразой [83–85]. Образование тройного комплекса ДНК-фермент-фторхинолон приводит к нарушению процесса репликации бактериальной ДНК и гибели клетки. Участок фермента, в котором происходит связывание ДНК и фторхинолонов, получил название «*хинолон-связывающего кармана*» (quinolone-binding pocket), в формирование которого вовлечены обе субъединицы фермента. Обнаружено, что мутации в коротких областях генов *gyrA* и *gyrB*, кодирующих субъединицы фермента, приводят к формированию устойчивости к фторхинолонам у *M. tuberculosis* [86]. Участки генов *gyrA* и *gyrB*, в которых происходят мутации, ассоциированные с лекарственной устойчивостью, называют регионами, определяющими устойчивость к хинолонам (QRDR — Quinolone Resistance Determining Region).

Формирование устойчивости к фторхинолонам также может происходить в результате повышенной экспрессии белка MfrA, члена семейства белков, несущих пентапептидные повторы. Этот белок способен связываться с гиразой и ингибировать ее активность. Кристаллографический анализ структуры MfrA показал сходство белка с В-формой ДНК. Таким образом, предполагается, что MfrA взаимодействует с гиразой, мимикрируя своей структурой под молекулу ДНК, и не позволяет препарату связываться с ДНК и активным центром фермента [87].

Помимо описанных механизмов, в формировании устойчивости к фторхинолонам, важную роль может играть усиленное выведение препарата из клетки. В работе М. Сингх и соавторов [88] было показано, что ингибирование эффлюксного насоса бактериальной клетки может снизить уровень МИК для офлоксацин-устойчивых изолятов.

Заключение

В настоящее время в мире отмечается стремительный рост числа случаев ТБ с одновременной устойчивостью к лекарственным препаратам первого ряда: изониазиду и рифампицину [89, 90]. Такой вариант устойчивости принято называть множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). В отличие от МЛУ-ТБ, для туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ), кроме резистентности к изониазиду и рифампицину (МЛУ), характерна резистентность к лекарственным препаратам второго ряда: к одному из инъекционных препаратов — капреомицину, канамицину, амикацину — и любому из препаратов фторхинолонового ряда [91].

Согласно эпидемиологическим данным Всемирной организации здравоохранения в 2008 г. 3,6% случаев ТБ обладали МЛУ. Распространенность случаев ШЛУ среди изолятов *M. tuberculosis* варьирует в различных регионах. Так, в странах бывшего Советского Союза около 10% случаев МЛУ-ТБ были отнесены к ШЛУ-ТБ. В странах Западной и Восточной Европы этот показатель варьирует от 0 до 23,7%, однако уровень распространенности штаммов МБТ с МЛУ в них значительно ниже, а случаи ШЛУ-ТБ единичны [92]. В России наметилась тенденция увеличения частоты выявления штаммов МБТ, обладающих МЛУ, среди общей популяции впервые выявленных больных ТБ. Общее число зарегистрированных случаев МЛУ-ТБ с 1999 по 2009 г. увеличилось с 8,6 до 20,5 на 100 тыс. населения [93].

Лечение МЛУ-ТБ ресурсоемко, и программы лечения для регионов с высоким уровнем заболеваемости включают комбинацию препаратов второго ряда, которые являются более дорогостоящими, токсичными и менее эффективными. Лечение ШЛУ-ТБ крайне затруднено отсутствием достаточного количества эффективных противотуберкулезных препаратов.

На сегодняшний день самым быстрым способом определения устойчивости к ПТП является метод анализа мутаций, ассоциированных с лекарственной резистентностью. Однако, как показывают исследования, частота мутаций, участвующих в формировании устойчивости, может варьировать в различных регионах. Для эффективного применения молекулярно-биологических методов диагностики лекарственной устойчивости необходимо знать частоту мутаций, связанных с резистентностью к препаратам, в конкретном регионе в данный момент времени. Кроме того, недостаток этого подхода заключается в том, что не всегда возможно точно определить отсутствие устойчивости, поскольку зачастую известна только часть мутаций, вовлеченных в механизм

возникновения лекарственной резистентности. В связи с этим наличие лекарственной чувствительности микобактерий к противотуберкулезным препаратам необходимо подтверждать традиционными микробиологическими методами.

Литература

1. Wade M. M., Zhang Y. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* // Front. Biosci. 2004. Vol. 9. P. 975–994.
2. Somoskovi A., Parsons L. M., Salfinger M. The molecular basis of resistance to isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis* // Respir. Res. 2001. Vol. 2(3). P. 164–168.
3. Jarlier V., Nikaido H. Mycobacterial cell wall: structure and role in natural resistance to antibiotics // FEMS Microbiol. Lett. 1994. Vol. 123(1–2). P. 11–18.
4. Kwon H. H., Tomioka H., Saito H. Distribution and characterization of beta-lactamases of mycobacteria and related organisms // Tuber. Lung Dis. 1995. Vol. 76(2). P. 141–148.
5. Contribution of beta-lactamases to beta-lactam susceptibilities of susceptible and multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates / C. Segura, M. Salvadó, I. Collado, J. Chaves, A. Coira // Antimicrob. Agents Chemother. 1998. Vol. 42(6). P. 1524–1526.
6. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence / S. T. Cole, R. Brosch, J. Parkhill, T. Garnier, C. Churcher, D. Harris, S. V. Gordon, K. Eiglmeier, S. Gas, C. E. Barry 3rd, F. Tekaia, K. Badcock, D. Basham, D. Brown, T. Chillingworth, R. Connor, R. Davies, K. Devlin, T. Feltwell, S. Gentles, N. Hamlin, S. Holroyd, T. Hornsby, K. Jagels, A. Krogh, J. McLean, S. Moule, L. Murphy, K. Oliver, J. Osborne, M. A. Quail, M. A. Rajandream, J. Rogers, S. Rutter, K. Seeger, J. Skelton, R. Squares, S. Squares, J. E. Sulston, K. Taylor, S. Whitehead, B. G. Barrell // Nature. 1998. Vol. 393(6685). P. 537–544.
7. Zhang Y., Yew W. W. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* // Int. J. Tuberc. Lung Dis. 2009. Vol. 13(11). P. 1320–1330.
8. Crawford J. T., Cave M. D., Bates J. H. Characterization of plasmids from strains of *Mycobacterium avium-intracellulare* // Rev. Infect. Dis. 1981. Vol. 3(5). P. 949–952.
9. Transposition of an antibiotic resistance element in mycobacteria / C. Martin, J. Timm, J. Raugier, R. Gomez-Lus, J. Davies, B. Gicque // Nature. 1990. Vol. 345(6277). P. 739–743.
10. Site-directed mutagenesis of the *katG* gene of *Mycobacterium tuberculosis*: effects on catalase-peroxidase activities and isoniazid resistance / D. A. Rouse, J. A. DeVito, Z. Li, H. Byer, S. L. Morris // Mol. Microbiol. 1996. Vol. 22(3). P. 583–592.
11. Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children / J. B. Jr. Bass, L. S. Farer, P. C. Hopewell, R. O'Brien, R. F. Jacobs, F. Ruben, D. E. Jr. Snider, G. Thornton // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1994. Vol. 149(5). P. 1359–1374.
12. Youatt J. A review of the action of isoniazid // Am. Rev. Respir. Dis. 1969. Vol. 99(5). P. 729–749.
13. Mitchison D. A., Selkon J. B. The bactericidal activities of antituberculous drugs // Am. Rev. Tuberc. 1956. Vol. 74(2). Pt. 2. P. 109–116; discussion. P. 116–123.
14. Barclay W., Koch-Weser D., Ebert R. H. Mode of action of isoniazid. II // Am. Rev. Tuberc. 1954. Vol. 70(5). P. 784–792.
15. The catalase-peroxidase gene and isoniazid resistance of *Mycobacterium tuberculosis* / Y. Zhang, B. Heym, B. Allen, D. Young, S. Cole // Nature. 1992. Vol. 358(6387). P. 591–593.
16. Magliozzo R., Marcinkeviciene J. Evidence for isoniazid oxidation by oxyferrous mycobacterial catalase-peroxidase // J. Am. Chem. Society. 1996. Vol. 118(45). P. 11303–11304.
17. Wengenack N. L., Rusnak F. Evidence for isoniazid-dependent free radical generation catalyzed by *Mycobacterium tuberculosis* KatG and the isoniazid-resistant mutant KatG(S315T) // Biochemistry. 2001. Vol. 40(30). P. 8990–8996.
18. Lei B., Wei C. J., Tu S. C. Action mechanism of antitubercular isoniazid. Activation by *Mycobacterium tuberculosis* KatG, isolation, and characterization of InhA inhibitor // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275(4). P. 2520–2526.

19. Chouchane S., Lippai I., Magliozzo R. S. Catalase-peroxidase (*Mycobacterium tuberculosis* KatG) catalysis and isoniazid activation // *Biochemistry*. 2000. Vol. 39(32). P. 9975–9983.
20. Middlebrook G. INH resistance and catalase activity of the tubercle bacilli // *Am. Rev. Tuberc.* 1954. Vol. 69. P. 471–472.
21. Winder F. The antibacterial action of streptomycin, isoniazid, and PAS. *Chemotherapy of tuberculosis*. London: Butterworths, 1964. P. 111–149.
22. Welinder K. G. Bacterial catalase-peroxidases are gene duplicated members of the plant peroxidase superfamily // *Biochim. Biophys. Acta*. 1991. Vol. 1080(3). P. 215–220.
23. Conformational differences in *Mycobacterium tuberculosis* catalase-peroxidase KatG and its S315T mutant revealed by resonance Raman spectroscopy / S. Kapetanaki, S. Chouchane, S. Giroto, S. Yu, R. S. Magliozzo, J. P. M. Schelvis // *Biochemistry*. 2003. Vol. 42(13). P. 3835–3845.
24. Use of site-directed mutagenesis to probe the structure, function and isoniazid activation of the catalase/peroxidase, KatG, from *Mycobacterium tuberculosis* / B. Saint-Joanis, H. Souchon, M. Wilming, K. Johnsson, P. M. Alzar, S. T. Cole // *Biochem. J*. 1999. Vol. 338(3). P. 753–760.
25. Yu S., Giroto S., Lee C., Magliozzo R. S. Reduced affinity for Isoniazid in the S315T mutant of *Mycobacterium tuberculosis* KatG is a key factor in antibiotic resistance // *J. Biol. Chem*. 2003. Vol. 278(17). P. 14769–14775.
26. Ghiladi R. A., Cabelli D. E., Ortiz de Montellano P. R. Superoxide reactivity of KatG: insights into isoniazid resistance pathways in TB // *J. Am. Chem. Soc*. 2004. Vol. 126(15). P. 4772–4773.
27. Lefford M. J. The ethionamide sensitivity of British pre-treatment strains of *Mycobacterium tuberculosis* // *Tubercle*. 1966. Vol. 47(2). P. 198–206.
28. *inhA*, a gene encoding a target for isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis* / A. Banerjee, E. Dubnau, A. Quemard, V. Balasubramanian, K. S. Um, T. Wilson, D. Collins, de G. Lisle, W. R. Jr. Jacobs // *Science*. 1994. Vol. 263(5144). P. 227–230.
29. Inhibition of a *Mycobacterium tuberculosis* beta-ketoacyl ACP synthase by isoniazid / K. Mdluli, R. A. Slayden, Y. Zhu, S. Ramaswamy, X. Pan, D. Mead, D. D. Crane, J. M. Musser, C. E. Barry 3rd // *Science*. 1998. Vol. 280(5369). P. 1607–1610.
30. Mitchison D. A., Nunn A. J. Influence of initial drug resistance on the response to short-course chemotherapy of pulmonary tuberculosis // *Am. Rev. Respir. Dis*. 1986. Vol. 133(3). P. 423–430.
31. Mitchison D. A. The action of antituberculosis drugs in short-course chemotherapy // *Tubercle*. 1985. Vol. 66(3). P. 219–225.
32. Improved outcomes for patients with multidrug-resistant tuberculosis / G. S. Turett, E. E. Telzak, L. V. Torian, S. Blum, D. Alland, I. Weisfuse, B. A. Fazal // *Clin. Infect. Dis*. 1995. Vol. 21(5). P. 1238–1244.
33. Cramer P. Multisubunit RNA polymerases // *Curr. Opin. Struct. Biol*. 2002. Vol. 12(1). P. 89–97.
34. Murakami K. S., Darst S. A. Bacterial RNA polymerases: the whole story // *Curr. Opin. Struct. Biol*. 2003. Vol. 13(1). P. 31–39.
35. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial rna polymerase / E. A. Campbell, N. Korzhova, A. Mustaev, K. Murakami, S. Nair, A. Goldfarb, S. A. Darst // *Cell*. 2001. Vol. 104(6). P. 901–912.
36. Characterization of rifampin-resistance in pathogenic mycobacteria / D. L. Williams, C. Waguespack, K. Eisenach, J. T. Crawford, F. Portaels, M. Salfinger, C. M. Nolan, C. Abe, V. Sticht-Groh, T. P. Gillis // *Antimicrob. Agents Chemother*. 1994. Vol. 38(10). P. 2380–2386.
37. Rifampicin resistance and mutation of the *rpoB* gene in *Mycobacterium tuberculosis* / H. Taniguchi, H. Aramaki, Y. Nikaido, Y. Mizuguchi, M. Nakamura, T. Koga, S. Yoshida // *FEMS Microbiol. Lett*. 1996. Vol. 144(1). P. 103–108.
38. Comparative antimycobacterial activities of rifampin, rifapentine, and KRM-1648 against a collection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates with known *rpoB* mutations / S. L. Moghazeh, X. Pan, T. Arain, C. K. Stover, J. M. Musser, B. N. Kreiswirth // *Antimicrob. Agents Chemother*. 1996. Vol. 40(11). P. 2655–2657.
39. Contribution of *rpoB* mutations to development of rifamycin cross-resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / D. L. Williams, L. Spring, L. Collins, L. P. Miller, L. B. Heifets, P. R. Gangadharam, P. T. Gillis // *Antimicrob. Agents Chemother*. 1998. Vol. 42(7). P. 1853–1857.

40. Heep M., Rieger U., Beck D., Lehn N. Mutations in the beginning of the *rpoB* gene can induce resistance to rifamycins in both *Helicobacter pylori* and *Mycobacterium tuberculosis* // Antimicrob. Agents Chemother. 2000. Vol. 44(4). P. 1075–1077.
41. Newly developed primers for comprehensive amplification of the *rpoB* gene and detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / L. Rigouts, O. Nolasco, de P. Rijk, E. Nduwamahoro, Van A. Deun, A. Ramsay, J. Arevalo, F. Portaels // J. Clin. Microbiol. 2007. Vol. 45(1). P. 252–254.
42. Rapid identification of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates by *rpoB* gene scanning using high-resolution melting curve PCR analysis / A. T. Pietzka, A. Indra, A. Stöger, J. Zenzinger, M. Konrad, P. Hasenberger, F. Allerberger, W. Ruppitsch // J. Antimicrob. Chemother. 2009. Vol. 63(6). P. 1121–1127.
43. Tarshis M. S., Weed W. A. Jr. Lack of significant in vitro sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide on three different solid media // Am. Rev. Tuberc. 1953. Vol. 67(3). P. 391–395.
44. McDermott W., Tompsett R. Activation of pyrazinamide and nicotinamide in acidic environments in vitro // Am. Rev. Tuberc. 1954. Vol. 70(4). P. 748–754.
45. Konno K., Feldmann F. M., McDermott W. Pyrazinamide susceptibility and amidase activity of tubercle bacilli // Am. Rev. Respir. Dis. 1967. Vol. 95(3). P. 461–469.
46. Characterization of *pncA* mutations in pyrazinamide-resistant *Mycobacterium tuberculosis* / A. Scorpio, P. Lindholm-Levy, L. Heifets, R. Gilman, S. Siddiqi, M. Cynamon, Y. Zhang // Antimicrob. Agents Chemother. 1997. Vol. 41(3). P. 540–543.
47. *pncA* mutations in pyrazinamide-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from northwestern Russia / H. J. Marttila, M. Marjamäki, E. Vyshnevskaya, B. I. Vyshnevskiy, T. F. Otten, A. V. Vasilyef, M. K. Viljanen // Antimicrob. Agents Chemother. 1999. Vol. 43(7). P. 1764–1766.
48. Lemaitre N., Sougakoff W., Truffot-Pernot C., Jarlier V. Characterization of new mutations in pyrazinamide-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* and identification of conserved regions important for the catalytic activity of the pyrazinamidase PncA // Antimicrob. Agents Chemother. 1999. Vol. 43(7). P. 1761–1763.
49. Mutations associated with pyrazinamide resistance in *pncA* of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms / S. Sreevatsan, X. Pan, Y. Zhang, B. N. Kreiswirth, J. M. Musser // Antimicrob. Agents Chemother. 1997. Vol. 41(3). P. 636–640.
50. *pncA* mutations as a major mechanism of pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: spread of a monoresistant strain in Quebec, Canada / S. J. Cheng, L. Thibert, T. Sanchez, L. Heifets, Y. Zhang // Antimicrob. Agents Chemother. 2000. Vol. 44(3). P. 528–532.
51. Mutation in *pncA* is a major mechanism of pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / K. Hirano, M. Takahashi, Y. Kazumi, Y. Fukasawa, C. Abe // Tuber. Lung Dis. 1997. Vol. 78(2). P. 117–22.
52. Sachais B. S., Nachamkindagger I. I., Mills J. K., Leonard D. G. Novel *pncA* Mutations in Pyrazinamide-Resistant Isolates of *Mycobacterium tuberculosis* // Mol. Diagn. 1998. Vol. 3(4). P. 229–231.
53. Relationship between pyrazinamide resistance, loss of pyrazinamidase activity, and mutations in the *pncA* locus in multidrug-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* / M. Mestdagh, P. A. Fonteyne, L. Realini, R. Rossau, G. Jannes, W. Mijs, De K. A. Smet, F. Portaels, Van den E. Eeckhout // Antimicrob. Agents Chemother. 1999. Vol. 43(9). P. 2317–2319.
54. Molecular characterization of *pncA* gene mutations in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from China / L. Hou, D. Osei-Hyiaman, Z. Zhang, B. Wang, A. Yang, K. Kano // Epidemiol. Infect. 2000. Vol. 124(2). P. 227–232.
55. Phenotypic characterization of *pncA* mutants of *Mycobacterium tuberculosis* / G. P. Morlock, J. T. Crawford, W. R. Butler, S. E. Brim, D. Sikes, G. H. Mazurek, C. L. Woodley, R. C. Cooksey // Antimicrob. Agents Chemother. 2000. Vol. 44(9). P. 2291–2295.
56. Pyrazinamide-monoresistant *Mycobacterium tuberculosis* in the United States / M. M. Hanan, E. P. Desmond, G. P. Morlock, G. H. Mazurek, J. T. Crawford. // J. Clin. Microbiol. 2001. Vol. 39(2). P. 647–650.

57. *pncA* mutations in clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Korea / S. K. Park, J. Y. Lee, C. L. Chang, M. K. Lee, H. C. Son, C. M. Kim, H. J. Jang, H. K. Park, S. H. Jeong // BMC Infect. Dis. 2001. Vol. 1. P. 4.
58. Scorpio A., Zhang Y. Mutations in *pncA*, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus // Nat. Med. 1996. Vol. 2(6). P. 662–667.
59. Inderlied M., Salfinger M. Antimycobacterial agents and susceptibility tests // Manual of clinical microbiology / ed. by P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, R. H. Tenover. 7th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1999. P. 1601–1623.
60. Gangadharam P. R., Pratt P. F., Perumal V. K., Iseman M. D. The effects of exposure time, drug concentration, and temperature on the activity of ethambutol versus *Mycobacterium tuberculosis* // Am. Rev. Respir. Dis. 1990. Vol. 141(6). P. 1478–1482.
61. The *embAB* genes of *Mycobacterium avium* encode an arabinosyl transferase involved in cell wall arabinan biosynthesis that is the target for the antimycobacterial drug ethambutol / A. E. Belanger, G. S. Besra, M. E. Ford, K. Mikusová, J. T. Belisle, P. J. Brennan, J. M. Inamine // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. Vol. 93(21). P. 11919–11924.
62. The *emb* operon, a gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* involved in resistance to ethambutol / A. Telenti, W. J. Philipp, S. Sreevatsan, C. Bernasconi, K. E. Stockbauer, B. Wiele, J. M. Musser, W. R. Jr. Jacobs // Nat. Med. 1997. Vol. 3(5). P. 567–570.
63. The *Emb* proteins of mycobacteria direct arabinosylation of lipoarabinomannan and arabinogalactan via an N-terminal recognition region and a C-terminal synthetic region / N. Zhang, J. B. Torrelles, M. R. McNeil, V. E. Escuyer, K.-H. Khoo, P. J. Brennan, D. Chatterjee // Mol. Microbiol. 2003. Vol. 50(1). P. 69–76.
64. The role of the *embA* and *embB* gene products in the biosynthesis of the terminal hexaarabinofuranosyl motif of *Mycobacterium smegmatis* arabinogalactan / V. E. Escuyer, M. A. Lety, J. B. Torrelles, K.-H. Khoo, J. B. Tang, C. D. Rithner, C. Frehel, M. R. McNeil, P. J. Brennan, D. Chatterjee // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276(52). P. 48854–48862.
65. Ethambutol resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: critical role of *embB* mutations / S. Sreevatsan, K. E. Stockbauer, X. Pan, B. N. Kreiswirth, S. L. Moghazeh, W. R. Jr. Jacobs, A. Telenti, J. M. Musser // Antimicrob. Agents Chemother. 1997. Vol. 41(8). P. 1677–1681.
66. Molecular genetic analysis of nucleotide polymorphisms associated with ethambutol resistance in human isolates of *Mycobacterium tuberculosis* / S. V. Ramaswamy, A. G. Amin, S. Göksel, C. E. Stager, S. J. Dou, El. H. Sahly, S. L. Moghazeh, B. N. Kreiswirth, J. M. Musser // Antimicrob. Agents Chemother. 2000. Vol. 44(2). P. 326–336.
67. Mokrousov I., Otten T., Vyshnevskiy B., Narvskaya O. Detection of *embB306* mutations in ethambutol-susceptible clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from Northwestern Russia: implications for genotypic resistance testing // J. Clin. Microbiol. 2002. Vol. 40(10). P. 3810–3813.
68. Garvin R. T., Biswas D. K., Gorini L. The effects of streptomycin or dihydrostreptomycin binding to 16S RNA or to 30S ribosomal subunits // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1974. Vol. 71(10). P. 3814–3818.
69. Kenney T. J., Churchward G. Cloning and sequence analysis of the *rpsL* and *rpsG* genes of *Mycobacterium smegmatis* and characterization of mutations causing resistance to streptomycin // J. Bacteriol. 1994. Vol. 176(19). P. 6153–6156.
70. Characterization of *rpsL* and *rrs* mutations in streptomycin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from diverse geographic localities / S. Sreevatsan, X. Pan, K. E. Stockbauer, D. L. Williams, B. N. Kreiswirth, J. M. Musser // Antimicrob. Agents Chemother. 1996. Vol. 40(4). P. 1024–1026.
71. Characterization of streptomycin resistance mechanisms among *Mycobacterium tuberculosis* isolates from patients in New York City / R. C. Cooksey, G. P. Morlock, A. McQueen, S. E. Glickman, J. T. Crawford // Antimicrob. Agents Chemother. 1996. Vol. 40(5). P. 1186–1188.
72. Loss of a conserved 7-methylguanosine modification in 16S rRNA confers low-level streptomycin resistance in bacteria / S. Okamoto, A. Tamaru, C. Nakajima, K. Nishimura, Y. Tanaka, S. Tokuyama, Y. Suzuki, K. Ochi // Mol. Microbiol. 2007. Vol. 63(4). P. 1096–1106.

73. Identification of mutations related to streptomycin resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* and possible involvement of efflux mechanism / F.S. Spies, da P.E. A. Silva, M. O. Ribeiro, M. L. Rossetti, A. Zaha // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008. Vol. 52(8). P. 2947–2949.
74. Mechanism of resistance to amikacin and kanamycin in *Mycobacterium tuberculosis* / G. J. Alangaden, B. N. Kreiswirth, A. Aouad, M. Khetarpal, F. R. Igno, S. L. Moghazeh, E. K. Manavathu, S. A. Lerner // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1998. Vol. 42(5). P. 1295–1297.
75. Detection of kanamycin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* by identifying mutations in the 16S rRNA gene / Y. Suzuki, C. Katsukawa, A. Tamaru, C. Abe, M. Makino, Y. Mizuguchi, H. Taniguchi // *J. Clin. Microbiol.* 1998. Vol. 36(5). P. 1220–1225.
76. Maus C. E., Plikaytis B. B., Shinnick T. M. Mutation of *tlyA* confers capreomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005. Vol. 49(2). P. 571–577.
77. Johansen S. K., Maus C. E., Plikaytis B. B., Douthwaite S. Capreomycin binds across the ribosomal subunit interface using *tlyA*-encoded 2'-O-methylations in 16S and 23S rRNAs // *Mol. Cell.* 2006. Vol. 23(2). P. 173–182.
78. Ethionamide activation and sensitivity in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* / A. E. DeBarber, K. Mdluli, M. Bosman, L. G. Bekker, C. E. Barry 3rd // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97(17). P. 9677–9682.
79. Activation of the pro-drug ethionamide is regulated in mycobacteria / A. R. Baulard, J. C. Betts, J. Engohang-Ndong, S. Quan, R. A. McAdam, P. J. Brennan, C. Loch, G. S. Besra // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275(36). P. 28326–28331.
80. Vannelli T. A., Dykman A., Ortiz de Montellano P. R. The antituberculosis drug ethionamide is activated by a flavoprotein monooxygenase // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277(15). P. 12824–12829.
81. Champoux J. J. DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism // *Annu. Rev. Biochem.* 2001. Vol. 70. P. 369–413.
82. Shen L. L., Pernet A. G. Mechanism of inhibition of DNA gyrase by analogues of nalidixic acid: the target of the drugs is DNA // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1985. Vol. 82(2). P. 307–311.
83. Shen L. L., Kohlbrenner W. E., Weigl D., Baranowski J. Mechanism of quinolone inhibition of DNA gyrase. Appearance of unique norfloxacin binding sites in enzyme-DNA complexes // *J. Biol. Chem.* 1989. Vol. 264(5). P. 2973–2978.
84. Shen L. L., Baranowski J., Pernet A. G. Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: specificity and cooperativity of drug binding to DNA // *Biochemistry.* 1989. Vol. 28(9). P. 3879–3885.
85. Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: a cooperative drug-DNA binding model / L. L. Shen, L. A. Mitscher, P. N. Sharma, T. J. O'Donnell, D. W. Chu, C. S. Cooper, T. Rosen, A. G. Pernet // *Biochemistry.* 1989. Vol. 28(9). P. 3886–3894.
86. Cloning and nucleotide sequence of *Mycobacterium tuberculosis gyrA* and *gyrB* genes and detection of quinolone resistance mutations / H. E. Takiff, L. Salazar, C. Guerrero, W. Philipp, W. M. Huang, B. Kreiswirth, S. T. Cole, W. R. Jr. Jacobs, A. Telenti // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994. Vol. 38(4). P. 773–780.
87. A fluoroquinolone resistance protein from *Mycobacterium tuberculosis* that mimics DNA / S. S. Hegde, M. W. Vetting, S. L. Roderick, L. A. Mitchenall, A. Maxwell, H. E. Takiff, J. S. Blanchard // *Science.* 2005. Vol. 308(5727). P. 1480–1483.
88. Effect of efflux pump inhibitors on drug susceptibility of ofloxacin resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates / M. Singh, G. P. S. Jadaun, Ramdas, K. Srivastava, V. Chauhan, R. Mishra, K. Gupta, S. Nair, D. S. Chauhan, V. D. Sharma, K. Venkatesan, V. M. Katoch // *Indian J. Med. Res.* 2011. Vol. 133(5). P. 535–540.
89. Global incidence of multidrug-resistant tuberculosis / M. Zignol, M. S. Hosseini, A. Wright, van C. L. Weezenbeek, P. Nunn, C. J. Watt, B. G. Williams, C. Dye // *J. Infect. Dis.* 2006. Vol. 194(4). P. 479–485.
90. Epidemiology of antituberculosis drug resistance (the Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance): an updated analysis / M. A. Aziz, A. Wright, A. Laszlo, De A. Muynck, F. Por-

taels, Van A. Deun, C. Wells, P. Nunn, L. Blanc, M. Raviglione // *Lancet*. 2006. Vol. 368(9553). P. 2142–2154.

91. Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to second-line drugs — worldwide, 2000–2004 // *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2006. Vol. 55(11). P. 301–305.

92. Migliori G. B., D'Arcy Richardson M., Sotgiu G., Lange C. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in the West Europe and United States: epidemiology, surveillance, and control // *Clin. Chest Med.* 2009. Vol. 30(4). P. 637–665.

93. The new profile of drug-resistant tuberculosis in Russia [Электронный ресурс]. NCBI bookshelf. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK62461/> (дата обращения: ноябрь, 2011 г.)

Статья поступила в редакцию 15 декабря 2011 г.