

ЛІТЕРАТУРА

1. Лукьянчук И. И., Калинин Л. Г., Тучный В. П. Микроволновые технологии в фармации // Микроволновые технологии в народном хозяйстве. — К.; Одесса, 2000. — Вып. 2–3. — С. 143–147.
2. Sabrah Mahdi, Chumak I. G., Kochetov V. P. Investigation of medician plants drying wish application of thermal // Пищ. пром-сть. — 1997. — № 6. — С. 166.
3. Пат. США № 4720924, Кл. F 26 B 23/28. СВЧ-сушка для фармацевтических желатиновых капсул.
4. Изаков Ф. Я., Полевчек Н. Д., Жданов В. В. Нетрадиционные СВЧ-технологии для экологически чистого земледелия // Микроволновые технологии в народном хозяйстве. — Одесса: ОКФА, 1996 — С. 18–26.
5. Патент України 6 Н 0 5 В 6/64. Пристрій для обробки матеріалу НВЧ-опроміненням. — Бюл. № 6 від 11.10.1999.
6. Демьяненко В. Г., Демьяненко И. А. Влияние радиационной обработки лекарственного сырья на проницаемость клеточных мембран и диффузионный перенос веществ в клетке // Реализация научных достижений в практической фармации. — Харьков: Основа, 1991. — С. 75–77.
7. Лук'яничук І. І., Шевченко Д. Ю. Біотрофіл — біологічно активна домішка трансдермального застосування. — Фармацевт. журнал. — 2001. — № 6. — С. 91–93.
8. Лук'яничук І. І., Шевченко Д. Ю., Борисов Ю. О. Вилучення БАС зі свіжої рослинної сировини // Клін. фармація. — 2002. — Т. 6, № 3. — С. 47–48.
9. Лук'яничук І. І., Шевченко Д. Ю. Використання НВЧ-полів у технологіях м'яких лікарських форм // Вісн. фармації. — 2002. — № 2. — С. 30–31.

УДК 579.61:615.015.8

В. В. Ніколасвський, канд. біол. наук

МЕДИКАМЕНТОЗНА СТІЙКІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ: ВИНИКНЕННЯ, МЕХАНІЗМИ, ДІАГНОСТИКА, ПЕРСПЕКТИВИ

Одеський державний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 579.61:615.015.8

В. В. Николаевский

МЕДИКАМЕНТОЗНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ: ВОЗНИКНОВЕНИЕ, МЕХАНИЗМЫ, ДИАГНОСТИКА, ПЕРСПЕКТИВЫ

Одесский государственный медицинский университет, Одесса, Украина

Статья посвящена актуальным проблемам причин и механизмов возникновения лекарственной устойчивости у микроорганизмов, их молекулярно-генетическим основам и путям преодоления устойчивости. Приведены данные об основных классах антибиотиков, механизмах их действия и стратегиях, благодаря которым патогенные микроорганизмы оказываются недостижимыми для антибактериальных препаратов. Подробно рассмотрены молекулярные механизмы развития лекарственной устойчивости микроорганизмов на уровне генов. Перспективы преодоления антибиотикорезистентности патогенных бактерий рассмотрены с позиций геномики, на основе достижения которой становится возможным выявление новых мишеней действия антибиотиков и создание принципиально новых классов антибактериальных препаратов.

Ключевые слова: патогенные микроорганизмы, лекарственная устойчивость, антибактериальные препараты.

UDC 579.61:615.015.8

V. V. Nikolayevsky

DRUG RESISTANCE IN MICROORGANISMS: DEVELOPMENT, MECHANISMS, DIAGNOSIS AND PROSPECTS

The Odessa State Medical University, Odessa, Ukraine

The paper deals with the urgent problems of reasons and mechanisms of drug resistance in bacteria, its molecular genetic basis and directions of its control. Data on the main classes of antibiotics, mechanisms of its action and strategies of resistance development in microorganisms are given. Molecular basis of drug resistance development on the gene level are studied extensively. Main trends in antibiotic resistance control are discussed from the genomics point of view. It creates a basis for the further development of absolutely new classes of antibacterial drugs.

Key words: pathogenic microorganisms, drug resistance, antimicrobial drugs.

З давніх часів інфекційні хвороби були однією з головних причин смерті людини. Епідемії та пандемії чуми, віспи та інших захворювань вбивали населення не просто сотнями або тисячами — цілі міста та держави зникали після епі-

демій. «Біла смерть» — туберкульоз, або сухоти, протягом багатьох тисячоліть був практично невиліковним.

У 1929 р. англійський мікробіолог Ян Флемінг відкрив антибіотик — пеніцилін і заснував

таким чином нову еру антибіотикотерапії. У подальшому було відкрито інші класи антибактеріальних препаратів, наприклад, сульфаніламід, запропоновано ефективні протитуберкульозні засоби — ізоніазид, ПАСК тощо. У ті часи, та й значно пізніше здавалося, що протягом короткого часу всі інфекції буде знищено. Суспільство готувалося до повної перемоги над патогенними мікроорганізмами.

На жаль, тривожні факти не забарилися. Вже 1940 р., тобто всього через 2 роки після впровадження пеніциліну у клінічну практику, з'явилися повідомлення про виділення пеніцилін-резистентних штамів стафілокока [1]. Пеніцилін-резистентні штами пневмокока вперше зареєстровано 1967 р., на той час вони втратили чутливість до деяких інших антибіотиків, тобто перетворилися на мультирезистентні та розповсюджені у багатьох країнах [2].

Характерним прикладом швидко зростаючих останнім часом рівнів резистентності мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів (АБП) є ситуація з резистентним і полірезистентним туберкульозом. Протягом приблизно 20–30-річного періоду, починаючи з відкриття та широкого застосування таких ефективних протитуберкульозних засобів, як стрептоміцин, ізоніазид і піразинамід, у більшості розвинутих країн світу, включаючи колишній Радянський Союз, спостерігалось значне зниження захворюваності на туберкульоз, а розвитку медикаментозної стійкості майже не відмічалось. Більш того, на початку 80-х рр. у деяких країнах світу, за ініціативи ВООЗ, було висунуто тезу про повну ліквідацію туберкульозу.

Але з середини 80-х та початку 90-х років відмічено значне зростання захворюваності на туберкульоз і кількості резистентних і полірезистентних штамів мікобактерій, частка яких на цей час досягла високих показників. Спалахи мультирезистентного туберкульозу (спричиненого мікобактеріями, резистентними водночас до головних протитуберкульозних препаратів — ізоніазиду та рифампіцину) відмічаються у більшості країн світу [3; 4]. Але якщо у країнах Західної Європи та США рівні резистентності поки що залишаються досить низь-

кими (менше 1–3 %), то у країнах Східної Європи, Балтії, СНД вони дуже великі і становлять серед вперше виявлених хворих не менш ніж 10–12 %, а серед хронічних — більше 40 % [5; 6]. Слід наголосити, що реальна ситуація з розповсюдженням стійких до АБП штамів мікобактерій у країнах СНД, і зокрема в Україні, невідома (за окремими оцінками, їх частка становить 15–40 %).

Розповсюдження резистентних штамів мікроорганізмів свідчить про наявність багатьох небезпечних факторів, які суспільство тільки починає з'ясовувати. По-перше, інфекції, спричинені медикаментозно стійкими штамми бактерій, потребують тривалого лікування, госпіталізації хворого, збільшується час перебування в стаціонарі, погіршується прогноз. При неефективності препаратів вибору, які звичайно призначаються, лікарі змушені застосовувати препарати другого-третього ряду, що є більш дорогими, не завжди безпечними й менш доступними. Все це збільшує прямі та побічні економічні витрати і ризик розповсюдження резистентних штамів.

Цікавим прикладом є зниження чутливості гонококів до пеніциліну протягом 55 років його застосування (табл. 1). Внаслідок виникнення та швидкого розповсюдження стійких до АБП штамів гонокока протягом 25 років дозу пеніциліну довелося збільшити у 10 разів, а ще через 25 років — повністю відмовитися від застосування цього препарату внаслідок збільшення частки пеніцилін-резистентних штамів до 80–90 % [7].

Ще більш важкою є ситуація щодо лікування хворих на туберкульоз, інфікованих резистентними штамми мікобактерій. Як відомо, спектр протитуберкульозних препаратів нині обмежений 8–10 препаратами. Виникнення стійкості навіть до одного, тим більше до 2–3 препаратів, що спостерігається у нашій країні [8], різко обмежує можливості лікаря у виборі засобів терапії та погіршує прогноз щодо одужання, особливо при поєднанні туберкульозу з ВІЛ-інфекцією. Для лікування хворих, інфікованих мультирезистентними штамми мікобактерій, ВООЗ ухвалила спеціальну стратегію DOTS + (Directly Observed Therapy). Офі-

Таблиця 1

Зниження чутливості гонококів до пеніциліну (дані по Росії)

Роки	Діагноз	Рекомендована терапія
1945	Гостра гонорея	Пеніцилін 300 000 ОД одноразово
1970	Той самий	Пеніцилін 3 000 000 ОД сумарно за спеціальною схемою
1998	»	Пеніцилін не рекомендується внаслідок низької ефективності. Препаратом вибору є цефтриаксон 250 мг внутрішньом'язово одноразово

ційно заявлено, що вартість лікування таких хворих перевищує стандартну більш ніж у 100 разів [5], тривалість становить не менше 2 років, при цьому ефективність лікування, на жаль, є невисокою.

Ще однією загрозливою небезпекою є можливість виникнення штамів мікроорганізмів, наприклад, стафілококів, стійких до всіх відомих сьогодні класів АБП, тому вони спричинюють захворювання, які неможливо вилікувати. Цей сценарій розвитку подій, на жаль, сьогодні є реальним — вже доведено гіпотетичну можливість перенесення генів стійкості щодо ванкоміцину від ентерококів до метицилін-стійких штамів *Staphylococcus aureus* [9]. Потрібна розробка принципово нової стратегії боротьби з патогенними мікроорганізмами.

Протягом останніх десятиріч на фармацевтичному ринку кожні 10–15 років з'являлися нові групи або класи АБП, за допомогою яких вдавалося стримати наступ резистентних мікроорганізмів. На жаль, ситуація така, що сьогодні існує лише один принципово новий клас антибактеріальних препаратів — оксазолідини, один з представників якого — лінезолід — нещодавно було схвалено для клінічних іспитів у США [10]. Інформації про його клінічні властивості та ефективність поки що недостатньо. Розробка й клінічна апробація нових груп АБП може тривати 10, 15 або й більше років. Тому досконале вивчення причин і механізмів виникнення та розповсюдження резистентності мікроорганізмів до існуючих АБП набуває сьогодні особливого значення.

Класи антибіотиків та механізми їх дії

Більшість антибіотиків є натуральними продуктами, які виробляються певними видами бактерій або грибів або їх похідними. Пеніциліни та цефалоспорины продукуються грибами, інші — стрептоміцин, еритроміцин, тетрациклін і ванкоміцин — актиноміцетами. Пізніше були створені напівсинтетичні антибіотики класу β-лактамів (пеніциліни та цефалоспорины 2-го і 3-го покоління), а також цілком синтетичні еритроміцини 2-го покоління — кларитроміцин і азитроміцин. Наприкінці ХХ ст. лише один клінічно важливий клас антибактеріальних препаратів — фторхінолони (наприклад ципрофлоксацин) містить повністю синтетичні препарати.

Незважаючи на відносну різноманітність антибіотиків (а особливо, на велику кількість комерційних назв препаратів, з якою стикаються у повсякденному житті лікарі та пацієнти), існують три головні мішені дії АБП у бактеріальній клітині (рис. 1):

- синтез компонентів клітинної стінки;
- синтез бактеріальних білків;
- реплікація та репарація бактеріальної ДНК.

1. Антибіотики, що впливають на синтез компонентів клітинної стінки

Порушення певних етапів синтезу компонентів клітинної стінки бактерій є головним механізмом дії β-лактамів і ванкоміцину. Як відомо, однією з найважливіших складових частин стінки бактеріальної клітини є пептидоглікани, які зумовлюють її міцність і запобігають ушкодженню клітини. Пеніциліни та цефалоспорины діють як псевдосубстрати й ацетилюють активні центри транспептидаз — ферментів, необхідних для нормального зв'язування пептидних ланцюгів під час формування пептидогліканового шару. Це призводить до зниження «стійкості» стінки та можливості руйнування клітини осмотичним тиском.

Головною мішенню ванкоміцину, навпаки, є не ферменти, а власне субстрат — пептидні ланцюги. Ванкоміцин запобігає їх зв'язуванню з ферментами, блокуючи таким чином зв'язки пептидогліканів. Внаслідок дії на обидва компоненти ферментативних реакцій синтезу компонентів клітинної стінки бактерій, β-лактами та ванкоміцин є синергістами і посилюють дію один одного.

2. Антибіотики, що порушують певні етапи біосинтезу білка

Біосинтез білка — дуже складний процес, у багатьох стадіях якого беруть участь численні ферменти. Різні етапи біосинтезу білка є багатоступінчастою мішенню для кількох різних груп антибіотиків, головні серед яких — макроліди (еритроміцин), тетрацикліни й аміноглікозиди. Найпершим представником аміноглікозидів був стрептоміцин, нині найбільш широко використовуються деякі напівсинтетичні аміноглікозиди, наприклад канаміцин.

Слід наголосити, що біосинтез білка є «вдалою» мішенню для створення та впровадження нових перспективних класів антибактеріальних препаратів якраз завдяки складності та багатоступінчатості цього процесу. Зокрема, на порушення біосинтезу білків спрямована дія оксазолідинів — нового класу протимікробних препаратів, який було вперше впроваджено у США на початку 2000 р.

3. Антибіотики, що порушують процеси реплікації та репарації ДНК

Фторхінолони, наприклад ципрофлоксацин, є цілком синтетичними антибіотичними речовинами, які порушують процеси реплікації та репарації ДНК шляхом формування стійких комплексів зі специфічними ферментами — ДНК-

гіразами. Гірази, або топоізомерази, є ферментами, що забезпечують розкручування подвійної спіралі ДНК перед редуплікацією шляхом утворення одно- або дволанцюгових розривів. Комплекси ДНК-гіраз із молекулами фторхінолонів є нездатними до відновлення нормальної структури ДНК, що призводить до нагромадження дволанцюгових розривів у ній та загибелі клітини. Головними мішенями фторхінолонів є гірази (топоізомерази) II та IV типів.

Слід наголосити, що всі вищезазначені класи антибактеріальних препаратів використовують суттєву різницю між структурою та біохімією про- і еукаріотичних клітин, забезпечуючи таким чином селективну дію. Вони слабо або зовсім не ушкоджують еукаріотичні клітини макроорганізму.

Механізми розвитку резистентності до антибактеріальних препаратів

Якщо новий антибактеріальний препарат набув широкого застосування, то його дні перелічені. Треба цілком погодитися зі словами відомого фармаколога Леві про те, що головним питанням є не власне розвиток лікарської стійкості, а коли — раніше або пізніше — ми будемо його спостерігати [11]. Відомо, що клінічно значуща резистентність, як правило, з'являється протягом місяців або років з моменту впровадження нового препарату у широке застосування.

Як було зазначено вище, перші повідомлення про виділення стійких до пеніциліну стафілококів були зареєстровані в середині 40-х років минулого віку, тобто за 2–3 роки після початку широкого застосування. Це є типовим для розвитку резистентності, за який відповідає лише один ген. Проте у формуванні резистентності до ванкоміцину беруть участь п'ять генів, тому перші ванкоміцин-резистентні штами стафілококів були виділені у 1987 р., за 29 років після впровадження цього препарату у клініку [12].

Швидкому розвитку та розповсюдженню резистентності серед мікроорганізмів сприяють деякі специфічні фактори генетики та біохімії бактерій:

- велика кількість бактерій, що беруть участь в інфікуванні макроорганізму;
- дуже швидке розмноження шляхом прямого поділу;
- наявність лише однієї хромосоми та, внаслідок цього, безпосередній фенотиповий прояв мутацій;
- локалізація генів, що відповідають за розвиток резистентності, частіше за все на позахромосомних одиницях спадковості — плазмідах та їх незалежне саморепродукування;
- трансформація бактерій — швидке перенесення спадкової інформації між бактеріальними клітинами за допомогою плазмід;

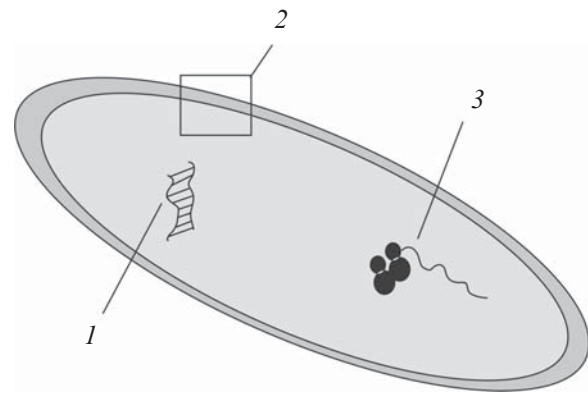


Рис 1. Головні механізми дії антибактеріальних препаратів та їх мішені у бактеріальній клітині: 1 — препарати, що порушують синтез та репарацію нуклеїнових кислот; 2 — препарати, що порушують синтез компонентів клітинної стінки; 3 — препарати, що порушують структуру рибосом і РНК та етапи біосинтезу білка

— рекомбінація генів, у тому числі між плазмідами та бактеріальною ДНК, за допомогою стрибаючих елементів — транспозонів.

Вищезазначені особливості стосуються не всіх груп хвороботворних бактерій. Дуже специфічними є механізми розвитку резистентності у мікобактерій — збудників туберкульозу та мікобактеріозів, що пов'язано головним чином з особливостями будови їх клітинної стінки та повільним ростом і розмноженням. На відміну від більшості мікроорганізмів, гени, що визначають стійкість мікобактерій до протитуберкульозних препаратів (їх до цього часу описано близько п'ятнадцяти), локалізовані на бактеріальній хромосомі, а не в плазмідах або інших позахромосомних одиницях. Тому для мікобактерій трансформація, тобто перенесення генетичної інформації між бактеріальними клітинами, менш характерна, ніж для інших мікроорганізмів. Розвиток та розповсюдження медикаментозно стійких мікобактерій здійснюється головним чином за рахунок селекції стійких мікроорганізмів.

Відомо, що для прокаріот характерним є досить високий фоновий рівень спонтанних мутацій (у середньому 1 на 1 000 000 клітин). Таким чином, популяція з 100 млн мікроорганізмів налічуватиме тисячі мутантних локусів. Якщо хоча б один з них зумовить резистентність до призначеного антибіотика, його носій отримає значну перевагу перед іншими (чутливими) мікроорганізмами і в подальшому домінуватиме у популяції мікроорганізмів. При недосконалому проведенні антибактеріальної терапії (неадекватні дози, дострокове припинення курсу та ін.) розповсюдження резистентного штаму практично гарантовано.

Таким чином, головним механізмом виникнення резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів є спонтанні мутації з

подальшою селекцією медикаментозно стійких мікроорганізмів за умов недосконалої антибіотикотерапії.

Стратегії розвитку резистентності до АБП у мікроорганізмів

На цей час відомі три головні стратегії розвитку резистентності мікроорганізмів до АБП.

1. Створення умов, за яких антибіотики або інші АБП не проходять крізь клітинну стінку бактерій або терміново видаляються з клітини

Природно, що ефективна дія антибіотика можлива тільки за умов нагромадження достатньої його кількості у безпосередній близькості від мішені. Це особливо стосується тих АБП, що впливають на процеси, які відбуваються у цитоплазмі, наприклад, на біосинтез білків (макроліди, тетрациклін) або репарацію ДНК (фторхінолони). Причиною виникнення резистентності до цих препаратів найчастіше є масивний синтез специфічних мембранних білків, які виконують роль насосів, що терміново видаляють за межі бактеріальної клітини антибіотика, таким чином повністю запобігаючи проникненню антибіотика у клітину або підтримуючи його внутрішньоклітинну концентрацію на відносно низькому неефективному рівні (рис. 2, *а*). Цікаво, що такі ж білки є звичайною складовою частиною мембран мікроорганізмів — продуцентів антибіотиків, виконують бар'єрну функцію та запобігають ушкодженню самої клітини.

Механізм видалення антибактеріальних препаратів є головною причиною виникнення резистентності до тетрациклінів, а також складовою частиною механізмів розвитку стійкості до макролідів і фторхінолонів (головним чином серед пневмококів). Для останніх, поряд з вищевикладеним, клінічне значення мають й інші механізми резистентності.

2. Порушення хімічної структури антибіотиків

Механізм запобігання проникненню антибіотика у клітину (див. вище) є досить ефективним, але він залишає незмінною саму структуру молекули АБП. Іншою важливою стратегією протидії бактерій є порушення хімічної будови молекул АБП, що призводить до інактивації їх активних центрів.

Класичним прикладом інактивації молекул антибіотика є гідроліз β -лактамного кільця пеніцилінів і цефалоспоринів β -лактамазами, що виробляються резистентними бактеріями. Результатом гідролізу є розрив кільця з утворенням пеніциліноєвої кислоти, яка не має антимікробної активності (рис. 2, *б*). Налічуються

десятки різних видів лактамаз, а їхня активність дуже висока: одна молекула лактамази порушує 1000 молекул пеніциліну за 1 с. Таким чином, якщо одною бактеріальною клітиною синтезується 100 000 молекул β -лактамаз, тільки за одну 1 с вони інактивують 100 млн молекул пеніциліну. Аналогічна стратегія спостерігається також і при розвитку резистентності до макролідів й аміноглікозидів, але інактивація здійснюється за рахунок просторових змін структури їх молекул під дією трансфераз, що робить неможливим приєднання молекул макролідів до рибосом. Швидкому розповсюдженню резистентності сприяє локалізація генів трансфераз на плазмідах.

Слід мати на увазі, що, на відміну від інших бактерій, у мікобактерій туберкульозу резистентність до стрептоміцину не пов'язана з інактивацією препарату і виникає за рахунок дії плазмідних генів стійкості (плазмідні резистентності у мікобактерій відсутні). Стійкість до стрептоміцину у цих мікроорганізмів зумовлена трансформацією мішені препарату — 16S РНК мікобактерій. Мутації у єдиній копії гена 16S РНК призводять до порушення її структури, внаслідок чого неможливе приєднання антибіотика до мішені.

Синтез специфічних ферментів, які порушують хімічну структуру і таким чином інактивують АБП, є майже універсальною стратегією мікроорганізмів, що спричинює резистентність до більшості антибіотиків. Саме таким є механізм виникнення резистентності майже усіх мікроорганізмів до аміноглікозидів, а також стійкості стафілококів до пеніциліну та макролідів.

3. Зміна структури клітинної мішені, на яку спрямована дія АБП

Третя стратегія базується на перепрограмуванні, маскуванні або заміні мішені, на яку спрямована дія антибіотика. Конкретні механізми виникнення стійкості до різних антибіотиків у різних груп бактерій дуже відрізняються. Наприклад, розвиток резистентності до пеніциліну та інших АБП, які впливають на структуру клітинної стінки, базується на синтезі білків іншої структури, що беруть участь у будові клітинної стінки, але не зв'язуються з молекулами антибіотика.

Дуже цікавими є процеси маскування мішені, на яку спрямована дія тетрациклінів і макролідів, що порушують процеси біосинтезу білків. Виявилось, що в стійких до цих препаратів штаммах бактерій присутні специфічні ферменти, які зв'язуються з рибосомами або модифікують їх складові частини (зокрема, 23S РНК), маскуючи їх, таким чином, від ушкодження антибіотиками. Цікаво відмітити, що ці

речовини є звичайним компонентом цитоплазми продуцентів еритроміцину та інших макролідів і захищають їх від власної «хімічної зброї».

Трансформація клітинної мішені є головним механізмом розвитку резистентності до більшості протитуберкульозних препаратів у мікобактерій. Наприклад, розвиток резистентності до одного з найбільш ефективних протитуберкульозних препаратів — рифампіцину — здійснюється за рахунок виникнення мутацій у гені *rpoB*, що кодує β -субодиницю ферменту РНК-полімерази — головну мішень препарату. Наявність мутацій визначає експресію ферменту зміненої конформації, що призводить до неможливості зв'язування рифампіцину з мішенню і внаслідок цього — до розвитку резистентності.

4. Відсутність активації препарату *in vivo*

Цей досить специфічний механізм розвитку резистентності є характерним головним чином для мікобактерій. Справа в тому, що деякі протитуберкульозні препарати (у першу чергу ізоніазид, етіонамід і піразинамід) є так званими проліками, які власної антибактеріальної активності не мають. Потрапляючи в організм людини, вони активуються специфічними ферментами мікобактерій (каталаз-пероксидазами або амідазами), перетворюючись на високо-ефективні антибактеріальні сполуки.

Розвиток резистентності мікобактерій до ізоніазиду та етіонаміду (у 70 % випадків), а також до піразинаміду (у 60 % випадків) зумовлений мутаціями у генах, відповідальних за синтез цих ферментів-активаторів. Продукти мутантних генів є дефектними білками, не здатними до каталізу перетворення проліків, які залишаються неактивними проти мікобактерій.

Узагальнена інформація щодо механізмів розвитку резистентності до основних груп АБП наведена у табл. 2.

Існують також і деякі інші механізми та стратегії розвитку резистентності у хвороботворних бактерій. Але, незважаючи на різноманітність механізмів, головними подіями у розвитку резистентності є:

— виникнення мутації та її фенотиповий прояв, синтез відповідних білків, ферментів та ін., які тим чи іншим чином захищають мікроорганізм від ушкодження;

— селекція стійких до застосованих АБП мікроорганізмів, їх швидке розмноження за відсутності конкуренції з боку інших штамів (за умов недосконалості терапії, тобто недостатня доза, дострокове припинення лікування тощо);

— швидке розповсюдження лікарсько-стійких штамів завдяки вищевикладеним особливостям будови, генетики та розмноження бактерій, особливо в умовах стаціонарних.

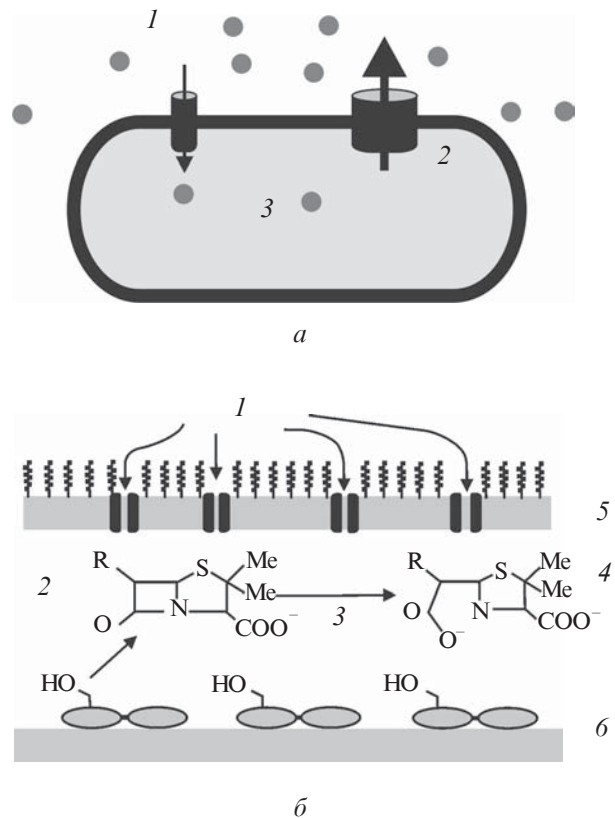


Рис. 2. Механізми розвитку медикаментозної стійкості у мікроорганізмів: *a* — видалення АБП за межі клітини (1 — нагромадження препарату у зовнішньому середовищі (поза клітиною); 2 — білок-насос, що видаляє препарат; 3 — концентрація препарату усередині клітини недостатня для його ефектної дії); *b* — інактивація препарату на прикладі інактивації пеніциліну (1 — пеніцилін у зовнішньому середовищі; 2 — молекула пеніциліну (β -лактамне кільце не пошкоджено); 3 — дія пеніцилінази; 4 — розрив кільця та утворення неактивної пеніцилінової кислоти; 5, 6 — зовнішня та внутрішня мембрани клітинної стінки мікроорганізму)

Молекулярно-генетична діагностика медикаментозної стійкості мікроорганізмів

Сьогодні спостерігається швидке розповсюдження лікарсько-стійких штамів мікроорганізмів, тому надзвичайно важливою є своєчасна, точна й ефективна діагностика резистентності штаму, виділеного від хворого. Це надає лікареві цінну інформацію щодо вибору оптимального режиму терапії, дозування препаратів, і нерідко є важливим у прогнозуванні тяжкості та перебігу хвороби.

Загальноприйняті бактеріологічні методи визначення лікарської стійкості, які головним чином базуються на культивуванні мікроорганізмів на рідких або щільних поживних середовищах з певними концентраціями антибіотиків або з використанням дисків з антибіотиками. Усі ці методи відомі під загальною назвою «антибіотикограма».

Останнім часом значно ширше використовуються молекулярно-генетичні методи визначення резистентності. До їх важливих переваг належать дуже висока чутливість, точність, можливість прогнозування розвитку стійкості та значне скорочення часу дослідження. Виграш часу при застосуванні молекулярних методів є особливо важливим, наприклад, при визначенні резистентності мікобактерій туберкульозу,

тому що дозволяє своєчасно почати адекватну терапію і запобігти зростанню резистентності (пацієнту не призначають препарат, до якого бактерії є резистентними).

Розуміння молекулярних механізмів розвитку резистентності дозволило значно розширити спектр молекулярних методів її визначення. Незважаючи на існуючу різноманітність підходів, майже всі молекулярні методи базують-

Таблиця 2

Механізми антибактеріальної дії та виникнення резистентності до головних класів антибактеріальних препаратів (на основі даних, наведених у [1; 13; 14; 15])

АБП	Механізм дії	Клітинна мішень	Механізм розвитку резистентності	Ген(и), які відповідають за розвиток резистентності та їх локалізація
β-лактами	Блокування утворення хімічних зв'язків у пептидоглікановому шарі клітинної стінки	Транспептидази	Утворення β-лактамаз Маскування мішені шляхом утворення мутантних транспептидаз	<i>Tet, oxa, pse</i> та інші плазмідні гени; <i>MecA</i> , хромосома
Ванкоміцин	Порушення конформації ланцюгів пептидогліканів	Пептидоглікани	Трансформація мішені	<i>VanA-VanE</i>
Макроліди	Блокування синтезу білків	Пептидилтрансферази, активні центри рибосоми	Модифікація (метилування) рибосомних РНК Видалення антибіотика з клітини	<i>Erm</i> <i>Mef, msr, vga, lmrA</i>
Тетрацикліни	Блокування синтезу білків	Пептидилтрансферази	Видалення антибіотика з клітини	<i>TetA-tetE, tetG, tetH</i> , плазміди
Аміноглікозиди	Блокування синтезу білків	Пептидилтрансферази	Порушення структури антибіотика Трансформація мішені (у мікобактерій туберкульозу)	<i>Aac, aph</i> у складі транспозонів на хромосомі; <i>Ant</i> , плазміда; <i>Rrs, rpsL</i> , хромосома
Оксазолідини	Блокування синтезу білків	Пептидилтрансферази	Невідомий	—
Фторхінолони	Блокування реплікації ДНК	ДНК-гірази (топоізомерази)	Маскування мішені завдяки мутаціям	<i>GyrA</i> , хромосома
Ізоніазид, етіонамід	Інгібування синтезу міколових кислот — компонентів клітинної стінки	Еноіл-редуктаза	Відсутність активації препарату або трансформація мішені	<i>KatG, InhA, ahpC</i> , хромосома
Рифампіцин	Блокування синтезу білків	РНК-полімераза	Трансформація мішені	<i>RpoB</i> , хромосома
Піразинамід	Блокування реплікації ДНК?	Невідома	Відсутність активації препарату	<i>PncA</i> , хромосома
Етамбутол	Порушення синтезу компонентів клітинної стінки	Арабінозилтрансферази	Трансформація мішені	<i>EmbB</i> , хромосома

ся на визначенні мутацій у генах, що відповідають за розвиток резистентності (див. табл. 2). Абсолютна більшість цих методів ґрунтується на використанні полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), за допомогою якої здійснюється ампліфікація фрагментів вищезазначених генів. Виявлення мутацій у цих фрагментах і візуалізація результатів здійснюються за рахунок використання гібридизації з ДНК-зондами, поміченими маркерними молекулами. Подальшим розвитком молекулярних технологій є розробка ДНК-чипів різної густини, що дозволяє проводити одночасно велику кількість аналізів. Універсальним методом визначення мутацій є секвенування фрагментів генів стійкості.

Більш докладно інформацію щодо використання молекулярних методів для визначення лікарської стійкості наведено в роботах [13–16].

Перспективи: створення нових класів антибактеріальних препаратів і способи запобігання розвитку резистентності

Як було зазначено вище, антибактеріальні препарати, що використовуються у клінічній практиці, мають обмежений термін застосування, тому що раніше або пізніше (для багатьох з них — вже сьогодні) розвиватиметься резистентність. Тому завдяки знанням механізмів виникнення резистентності нині досить активно здійснюється робота зі створення нових класів АБП, які, можливо, будуть вільні від певних недоліків існуючих препаратів.

У 70–90-х роках минулого століття головною стратегією оновлення арсеналу АБП був синтез похідних існуючих класів антибіотиків, який майже або зовсім не торкався активного центра АБП. Класичним прикладом є створення кількох поколінь цефалоспоринів, основою яких залишалося β -лактамане кільце. Очевидно, що такий підхід може бути ефективним тільки тимчасово, тому що β -лактамази — головні фактори резистентності мікроорганізмів до цефалоспоринів і пеніцилінів — майже однаково ефективні проти усіх β -лактамів.

З'ясування молекулярних механізмів розвитку стійкості бактерій до АБП дозволило визначити кілька пріоритетних напрямків роботи у боротьбі з лікарсько-стійкими мікроорганізмами.

1. Створення комбінованих препаратів

Одним з нових підходів до розв'язання проблеми резистентності є створення комбінованих препаратів, до складу яких входять власне антибіотик або інший АБП і речовина, яка протидіє механізмам, за рахунок яких мікроби інактивують АБП. Сьогодні вже застосовуються або проходять клінічні дослідження декілька таких препаратів, одним з яких є комбінації амокса-

циліну (одного з β -лактамів) з клавулановою кислотою. Ця речовина, яка є продуктом життєдіяльності *Streptomyces spp.*, не має індивідуальної антибіотичної активності, але є кращим субстратом для пеніцилінази та інших лактамаз, ніж β -лактами. Таким чином, при застосуванні комбінованого препарату проти продукуючих β -лактамази, тобто резистентних штамів, клавуланова кислота зв'язуватиме ці ферменти, а власне антибіотик залишатиметься активним. Аналогічні підходи застосовуються і для створення комбінованих препаратів на основі тетрациклінів й еритроміцинів.

2. Розробка нових класів антибактеріальних препаратів

Вище відзначалося, що сьогодні, за винятком оксазолідинів, принципово нові класи АБП відсутні. Оксазолідини є першою за три останні десятиріччя принципово новою групою АБП широкого спектра дії. Їх активність спрямована на порушення синтезу бактеріальних білків шляхом утворення хімічних зв'язків з рибосомами. Вони, як і фторхінолони, є цілком синтетичними речовинами. Перший представник оксазолідинів — лінезолід — з успіхом застосовано для лікування інфекцій, спричинених мультирезистентними штамми стафілококів у США. Втім, слід наголосити, що поки що недостатньо інформації про результати широкого клінічного застосування цього препарату.

3. Пошук інших мішеней для дії АБП

Отже, два напрямки, є найбільш перспективними в боротьбі з експансією лікарсько-стійких мікроорганізмів. Очевидно, що в недалекому майбутньому може виникнути потреба в кардинальному розв'язанні проблеми розповсюдження резистентних мікроорганізмів, одним із шляхів якого є пошук нових мішеней дії АБП.

Сьогодні у розпорядженні вчених є дуже потужний інструмент, який дозволяє розв'язувати досить складні завдання, — геноміка, тобто наука про будову генома, набір, функції та взаємне розташування генів у хромосомі. Нині повністю розшифровані геноми таких важливих патогенів, як золотистого та деяких інших видів стафілокока, збудника туберкульозу людини, холерного вібріону, синьогнійної палички та ін. Близька до закінчення й робота з розшифрування геному одного з головних продуцентів антибіотиків — *Streptomyces coelicolor* та інших актиноміцетів. Як же передбачається здійснювати роботу з пошуку нових мішеней дії АБП?

Бактеріальна хромосома у своєму складі містить тисячі генів, функції багатьох з яких вже відомі. Перелік генів, що зумовлюють віру-

лентність або кодують життєво важливі функції патогенних бактерій, обмежений двоматривою сотнями. Білкові продукти власне цих генів і є можливими мішенями майбутніх антибіотиків. З другого боку, подібним чином буде проаналізовано також і геном продуцентів антибіотиків, при цьому відбиратимуться гени, що відповідають за синтез найбільш активних антибіотичних речовин. Подальший скринінг складатиметься з взаємного підбору активних речовин і мішеней за допомогою комп'ютерних програм, випробувань *in vitro*, а потім *in vivo* на тваринах. Застосування такого підходу, можливо, допоможе значно розширити існуючий досить вузький перелік бактеріальних мішеней для дії нових АБП. Аналогічно може бути перевірено й активність мільйонів штучно синтезованих речовин з передбаченою антимикробною активністю.

4. Як продовжити термін ефективного застосування антибіотика?

Розвиток резистентності до АБП є природним процесом, пов'язаним з певними особливостями будови та життєдіяльності бактерій і тому йому неможливо запобігти. Як не дивно, і це не є секретом, суспільство, і медичні працівники не в останню чергу, роблять все для скорочення життя антибіотиків.

Відомо, що одним із головних факторів, який призводить до виникнення та подальшого швидкого розповсюдження резистентності, є нерациональне застосування АБП. Воно полягає у такому:

— невиправдане призначення антибіотиків при вірусних або інших інфекціях (частіше за все при респіраторних захворюваннях), які спричинені принципово нечутливими до них мікроорганізмами. За даними ВООЗ, у розвинутих країнах антибіотики у відкритому продажі відсутні, проте близько 50 % усіх антибіотиків призначається при вірусних захворюваннях, тобто абсолютно невиправдано. Це проблема кваліфікації та совісті лікарів;

— самолікування за допомогою «модних», «універсальних», сильнодіючих АБП, частіше за все при респіраторних інфекціях або захворюваннях, що передаються статевим шляхом, при цьому їх застосування без кваліфікованої медичної допомоги є або невиправданим, або тривалість курсу є недостатньою (зникнення симптомів ще не свідчить про знищення усіх патогенних мікроорганізмів). Це є проблемою країн, в яких згідно з законодавством антибіотики формально продаються за рецептом лікаря, але реально є у відкритому продажі. До цих країн належить і Україна;

— недостатня тривалість курсу лікування, його дострокове припинення, що створює дуже

сприятливі умови для швидкого розвитку резистентності. Яскравим прикладом такого сценарію є розвиток резистентності мікобактерій туберкульозу до антимикобактеріальних препаратів — тривалість лікування (півроку та більше) потребує від хворого і лікаря витримки та дисципліни. Це проблема головним чином власне хворих, їх родичів і медичних працівників.

Для запобігання розвитку резистентності доцільно додержуватися таких принципів:

1. Завжди дуже уважно оцінювати необхідність призначення антибіотиків.

2. Застосовувати АБП циклами, краще періодично змінювати класи антибіотиків (а не препаратів у межах одного класу).

3. Застосовувати синергічні комбінації антибіотиків.

Отже, виникнення медикаментозної стійкості у мікроорганізмів та її розповсюдження є сьогодні неминучою платою за їх використання. Антибіотики врятували й врятують багато людських життів. Подолання медикаментозної стійкості мікроорганізмів є загальною проблемою науковців і лікарів, і, не в останню чергу, власне пацієнтів. Тільки спираючись на знання про механізми виникнення стійкості до ліків, використовуючи принципово нові технології їх створення та призначення можна перемогти в боротьбі з хвороботворними мікроорганізмами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Walsh C. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance // *Nature*. — 2000. — Vol. 406. — P. 775-781.
2. Prevalence of antibiotic resistance and serotypes in pneumococci in England and Wales: results of observational surveys in 1990 and 1995 / A. P. Johnson, D. C. E. Speller, R. C. George et al // *Br. Med. J.* — 1996. — Vol. 312. — P. 1454-1456.
3. Spread of strain W, a highly drug-resistant strain of *Mycobacterium tuberculosis*, across the United States / T. Agerton, S. E. Valway, R. J. Blinkhorn, K. L. Shilkret et al. // *Clin. Infect. Dis.* — 1999. — Vol. 29. — P. 85-92.
4. An outbreak of multi-drug resistant tuberculosis in a London teaching hospital / A. S. Breathnach, A. De Ruiter, G. M. C. Holdsworth, N. T. Bateman et al. // *J. Hosp. Infect.* — 1998. — Vol. 39. — P. 111-117.
5. World Health Organization, International Union Against Tuberculosis. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. — Geneva, Switzerland, 2000.
6. Espinal M. A. The global situation of MDR-TB // *Tuberculosis*. — 2003. — Vol. 83. — P. 44-51.
7. Лечение и профилактика гонореи: Метод. рекомендации / Минздрав РФ. — М., 1993. — 24 с.
8. Ситуація з мультирезистентного та полірезистентного туберкульозу в м. Києві / О. А. Журило, Л. В. Турченко, М. Т. Клименко та ін. // *Укр. пульмонолог. журнал*. — 2002. — № 3. — С. 36-39.
9. Яковлев С. В. Линезолид — первый препарат нового класса антимикробных средств оксазолидинонов: перспективы лечения грамположительных инфекций // *Инфекции и антимикроб. терапия*. — 2001. — Т. 3, № 6.

10. Chien J. W., Kucia M. L., Salata R. A. Use of linezolid, a oxazolidinone, in the treatment of multidrug-resistant gram-positive bacterial infections // *Clin. Infect. Dis.* — 2000. — Vol. 30. — P. 146-151.

11. Levy S. B. The challenge of antibiotic resistance // *Sci Am.* — 1998. — Vol. 275. — P. 46-53.

12. Bacterial resistance to vancomycin: five genes and one missing hydrogen bond tell the story / C. Walsh, S. Fisher, S. Park et al. // *Chem. Biol.* — 1996. — Vol. 3. — P. 21-28.

13. Fluit A. C., Visser M. R., Schmitz F. -J. Molecular detection of antimicrobial resistance // *Clin. Microbiol. Reviews.* — 2001. — Vol. 14. — P. 836-871.

14. Rattan A., Kalia A., Ahmad N. Multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis: molecular perspectives // *Emerg. Infect. Dis.* — 1998. — Vol. 4. — P. 195-209.

15. Musser J. M. Antimicrobial agent resistance in Mycobacteria: molecular genetic insights // *Clin. Microbiol. Reviews.* — 1995. — Vol. 8. — P. 496-514.

16. Николаевский В. В., Бажора Ю. И. Выявление лекарственной устойчивости микобактерий молекулярно-генетическими методами // *Буков. мед. вісник.* — 2003. — № 3. — С. 137-144.

УДК 616.211-002+616.216-002

С. М. Пухлик, д-р мед. наук, проф.

РОЛЬ И ХАРАКТЕР ВОСПАЛЕНИЯ С ПОЗИЦИИ КЛИНИЦИСТА-РИНОЛОГА

Одесский государственный медицинский университет, Одесса, Украина

УДК 616.211-002+616.216-002

С. М. Пухлик

РОЛЬ І ХАРАКТЕР ЗАПАЛЕННЯ З ПОЗИЦІЇ КЛІНІЦИСТА-РИНОЛОГА

Одеський державний медичний університет, Одеса, Україна

У роботі відображено сучасні уявлення про два типи запалення, що трапляються в ринології — бактеріального й алергійного. Описано діагностичні підходи для виявлення характеру запалення, і відповідно, лікування. Висловлено необхідність інтеграції наукових пошуків чітких диференціальних підходів характеру запалення дихальних шляхів.

Ключові слова: ринологія, запалення, диференційний підхід.

UDC 616.211-002+616.216-002

S. M. Pukhlik

THE ROLE AND CHARACTER OF INFLAMMATION FROM THE CLINICAL-RHINOLOGIST'S POINT OF VIEW

The Odessa State Medical University, Odessa, Ukraine

The modern representations about two types of inflammation in a rhinology — bacterial and allergic are reflected in the submitted work. Diagnostic approaches for revealing character of an inflammation, and accordingly, treatment are described. Necessity of integration of scientific searches of precise differential approaches of character of an respiratory ways inflammation is stated.

Key words: rhinology, inflammation, differential approach.

Наиболее распространенными среди заболеваний носа и околоносовых пазух являются две группы — аллергические и инфекционные воспалительные процессы. Примерно 10–12 млн человек в Украине страдают этими заболеваниями. В этой публикации автор хотел бы в свете последних достижений науки прояснить их специфику и отличия.

Сегодня стратегия лечения и определение фенотипа заболевания исходят из нашего понимания характера воспаления. Практические врачи лишены четких клинических и общепринятых лабораторных тестов для дифференцировки инфекционного и аллергического воспаления. Что же современная наука может предложить в связи с этим? Чем отличаются эти

формы воспаления? Эти вопросы беспокоят не только врачей-оториноларингологов, но и пульмонологов, аллергологов, педиатров, терапевтов.

Аллергический риносинусит, независимо от степени его тяжести, — это хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей. Из чего складывается этот воспалительный процесс? Конечно, должен быть аллерген, должна произойти сенсибилизация, должны появиться дендритические (антигеннесущие) клетки. Первая клетка, которая начинает формировать сигналы заболевания, — эпителиальная. Какие это сигналы? В первую очередь, фактор некроза опухоли, экспрессия цитокинов, таких как интерлейкин-8, интерлейкин-1.