

## РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЁЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ, АКТИВНЫХ В ОТНОШЕНИИ ШТАММОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

© 2019 г. В.Н. Даниленко

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия*

*E-mail: valerid@vigg.ru*

Поступила в редакцию 05.02.2019 г.

Поступила после доработки 06.02.2019 г.

Принята к публикации 20.02.2019 г.

Оценивая угрозы, связанные с 12 наиболее опасными инфекционными заболеваниями, Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рассматривает в качестве наиболее приоритетной проблемы борьбу с отличающимися множественной/широкой лекарственной устойчивостью (МЛУ/ШЛУ) формами возбудителя туберкулёза – *Mycobacterium tuberculosis*. Количество случаев заболеваний, обусловленных МЛУ/ШЛУ формами возбудителя, постоянно растёт как во всём мире, так и в России, несмотря на достигнутые в нашей стране определённые успехи по сокращению смертности от туберкулёза. Положение усугубляется ухудшением иммунного статуса населения, что вызвано распространением ВИЧ-инфекции, гепатитов, диабета II типа, депрессий и другими факторами, в частности ростом интенсивности миграционных процессов. Предлагаемое в статье решение предполагает комплексный междисциплинарный подход, включающий разработку: во-первых, диагностических наборов на основе принципиально новых технологий, которые позволят выявлять весь спектр генов, ответственных за развитие лекарственной устойчивости, а также эпидемиологически опасные мутантные линии туберкулёза как в клинических, так и в полевых условиях, обеспечивая контроль реальной эпидемиологической ситуации в конкретных регионах России; во-вторых, антибиотиков с новым механизмом действия, активных в отношении МЛУ/ШЛУ штаммов возбудителя, в том числе ингибирующих вирулентность; в-третьих, генно-инженерных вакцин, при создании которых будут учтены существующий негативный мировой опыт и новые научные подходы, в том числе предложенные в России; в-четвёртых, нового класса адъювантов для вакцин на основе сформированной в России коллекции пробиотических штаммов лактобактерий и бифидобактерий с селективными иммуномодулирующими свойствами. Реализация этих задач предполагается в рамках работы консорциума "МЛУ/ШЛУ Туберкулёз", который объединил лучших специалистов – генетиков, микробиологов, иммунологов, биоинформатиков, медицинских химиков и клиницистов 15 институтов, принадлежащих к четырём ведомствам (Министерство науки и высшего образования РФ, Министерство здравоохранения РФ, Роспотребнадзор, Федеральное медико-биологическое агентство).

*Ключевые слова:* *Mycobacterium tuberculosis*, множественная лекарственная устойчивость, МЛУ/ШЛУ, диагностика, антибиотики, вакцины, адъюванты.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-5873895427-435>

Распространение форм возбудителей бактериальных инфекционных заболеваний с множественной/широкой лекарственной устойчивостью (МЛУ/ШЛУ) – нарастающая глобальная угроза [1]. Неспособность крупнейших фармацевтических компаний и специализированных государственных структур найти адекватный ответ путём создания новых лекарственных

средств и технологий, активных в отношении возбудителей с множественной и широкой лекарственной устойчивостью, заставило ООН обратиться к руководству государств всего мира с призывом объединить усилия в этой области и сделать данную проблему одним из приоритетных направлений деятельности Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). Согласно оценкам ВОЗ, среди 12 наиболее опасных инфекционных нозологий формы возбудителя туберкулёза – *Mycobacterium tuberculosis* – с множественной и широкой лекарственной устойчивостью

ДАНИЛЕНКО Валерий Николаевич – доктор биологических наук, заведующий отделом генетических основ биотехнологии ФГБУН ИОГен им. Н.И. Вавилова РАН.

(МЛУ/ШЛУ-ТБ) требуют самого пристального внимания. В 2017 г. в мире число заболевших туберкулёзом составило 10,5 млн человек, число умерших приблизилось к 2 млн [1]. В России при определённых успехах по снижению смертности от туберкулёза количество случаев заболеваний, обусловленных МЛУ/ШЛУ формами возбудителя, постоянно растёт, аналогичная тенденция характерна и для мира в целом [2–4]. Интенсивное применение антибиотиков, изменение иммунного статуса населения (вызванное, в частности, распространением ВИЧ-инфекции, гепатитов, диабета II типа, депрессий и т. д.), трансформация условий жизни, стрессы и интенсивная миграция населения [5] выступают теми селективными факторами, которые приводят к отбору и появлению новых мутантных форм *M. tuberculosis*, отягощённых МЛУ/ШЛУ-фенотипом и адаптированных к различным группам населения. В разных регионах — в Африке (ЮАР), Азии (Китай, Иран, Казахстан), Европе (Россия, Румыния, Швеция) — обнаружены "молодые" сублинии *M. tuberculosis*. Они агрессивно захватывают всё новые территории и представляют опасность прежде всего для групп населения с пониженным иммунитетом, в том числе для детей. Как правило, все эти эпидемиологически опасные сублинии характеризуются МЛУ/ШЛУ устойчивостью [5, 6]. Увеличение числа случаев потери трудоспособности и рост смертности в связи с быстрым распространением МЛУ/ШЛУ возбудителя туберкулёза и угрозами, которые он несёт для групп населения с пониженным иммунитетом, в скором будущем могут стать социально опасным явлением.

Борьба с МЛУ и ШЛУ-ТБ осложняется тем, что мировое научное сообщество на современном уровне знаний не может объяснить генетические механизмы и причины необычно высокой частоты возникновения описанных эпидемиологически опасных форм туберкулёза. Системные научные проблемы возникли в мире и при создании генно-инженерных вакцин и адъювантов к ним. За последние 40 лет удалось создать лишь один новый противотуберкулёзный антибиотик — бекваклин, однако, хотя он лишь недавно был внедрён в медицинскую практику, уже обнаружены лекарственно устойчивые к нему штаммы [7]. Имеющиеся сегодня в мире диагностикумы, в том числе в нашей стране, тоже не отвечают существующим вызовам и задачам.

Из сказанного становится очевидным, что проблемы в этой области науки и медицинской практики носят междисциплинарный и комплексный характер, требуя взаимосвязанных исследований и разработок, проводимых

единой командой учёных, которые представляют разные дисциплины и направления — генетику, медицинскую микробиологию, иммунологию, химию, физику электронных систем, биоинформатику, медицину. Такой консорциум, состоящий из 15 профильных организаций, был создан в России в апреле 2017 г. и получил название "МЛУ/ШЛУ Туберкулёз". Консорциум объединяет лучших специалистов четырёх ведомств — Министерства науки и высшего образования РФ, Министерства здравоохранения РФ, Роспотребнадзора и Федерального медико-биологического агентства. В течение первых полутора лет работы консорциум подготовил комплексный план научных исследований (КПНИ) МЛУ/ШЛУ форм туберкулёза. Цель проекта — разработка комплексного подхода к борьбе с туберкулёзом, вызванным штаммами МЛУ и ШЛУ-ТБ. В 2017 г. была принята Стратегия предупреждения распространения антибиотикорезистентности в Российской Федерации на период до 2030 года. Одна из прописанных в документе задач — изучение механизмов возникновения антимикробной резистентности и разработка противомикробных препаратов и альтернативных методов, технологий и средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных заболеваний человека, животных и растений. Именно на решение этой задачи направлен проект. Такое решение предполагает разработку:

- диагностикумов для выявления инфекций *M. tuberculosis* и генотипического определения их лекарственной устойчивости возбудителя, для чего потребуется создать новую технологическую платформу, которая будет включать систему для экспресс-скрининга присутствия *M. tuberculosis* в биологических образцах людей при использовании системы бинарных дезоксирибозимных сенсоров, а также систему молекулярной экспресс-диагностики *M. tuberculosis* с МЛУ/ШЛУ в клинических образцах с использованием технологии "лаборатории на чипе";
  - противотуберкулёзных антибиотиков нового механизма действия, в том числе ингибирующих вирулентность возбудителя;
  - новых генно-инженерных вакцин, в том числе на основе вирусоподобных частиц и мукозального действия;
  - адъювантов на основе штаммов лактобацилл и бифидобактерий с селективной иммуномодулирующей активностью для использования с интраназальной противотуберкулёзной вакциной.
- Эволюция, классификация и идентификация эпидемиологически опасных линий возбудителя туберкулёза *M. tuberculosis*.** Сегодня классификация *M. tuberculosis* выделяет 7 основных линий и несколько десятков сублиний [8], интенсив-

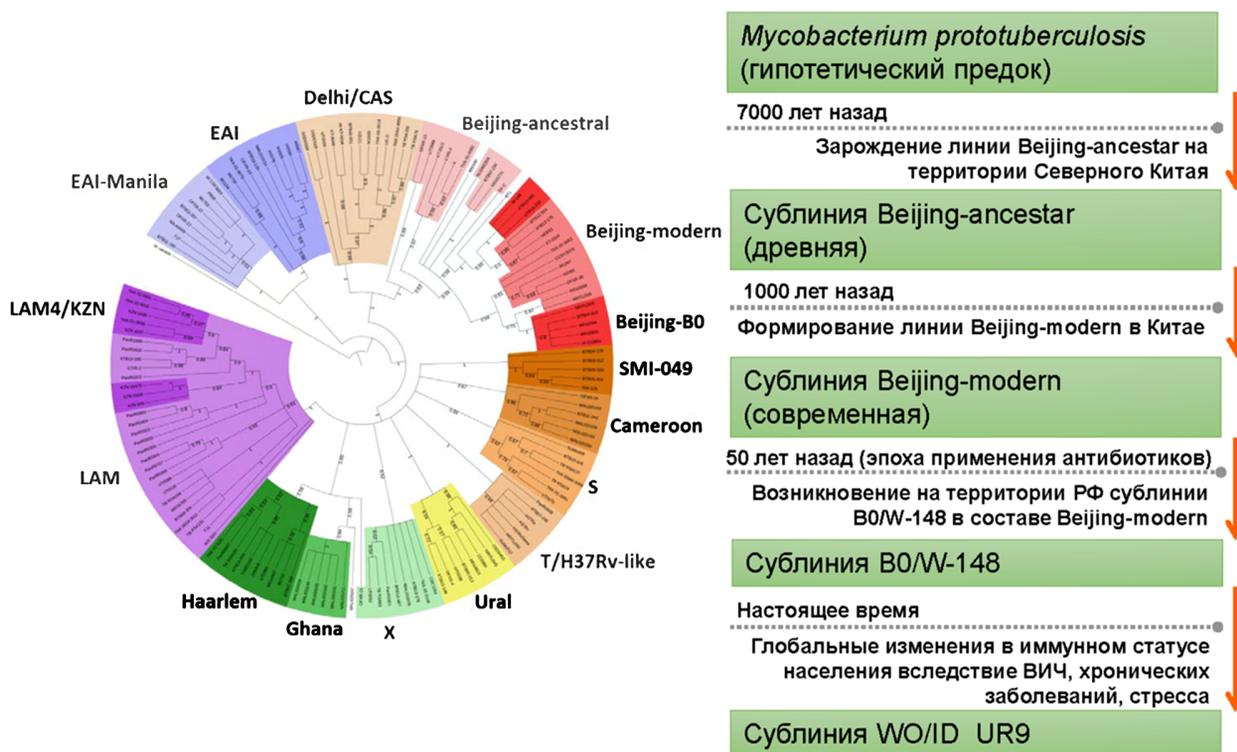


Рис. 1. Классификация *M. tuberculosis* на различные линии и сублинии и эволюция линии Beijing

но распространяющихся и эволюционирующих на разных континентах. Основные линии и сублинии *M. tuberculosis* и пример эволюции одной из линий Beijing представлены на рисунке 1. Около 50 лет назад на территории России появилась сублиния B0/W-148 [9], почти все представители которой являются МЛУ-штаммами. Данная сублиния интенсивно распространяется по значительной части территории России – Сибири, Уралу, Поволжью. Возникает вопрос, в чём причина такой её "успешности", ответственны ли за это только фенотип устойчивости и ряд используемых в регионе антибиотиков или имеются и другие факторы отбора?

Мы попытались ответить на перечисленные вопросы, изучая возникновение SNP-мутаций, ассоциированных с группами пациентов с нарушенным иммунологическим статусом – иммунодефицитом (ИД) [10–12]. Удалось обнаружить сублинию, представленную 12 штаммами с мутацией поликетид синтазы I – *rks15*, которая приводит к образованию одной рамки считывания двух генов и синтезу гликопептида с иммуномодулирующей активностью. Эта сублиния, обозначенная WO/ID UR9, чётко ассоциируется с группой пациентов с ИД.

Ранее подобные мутации были обнаружены у ряда штаммов линий EAI, Beijing, Delhi-Central-Asian [13]. Авторы задавались вопросом: какой селективный фактор у независимых линий на раз-

ных континентах приводит к возникновению сходных мутаций? Один из возможных кандидатов на эту роль – пониженный иммунный статус определённых групп населения. Для изучения механизмов отбора опасных мутаций необходимы масштабные направленные исследования их появления, отбора и поддержания в разных регионах мира и России у различных линий. Выявление таких мутантов – одна из задач предлагаемого проекта. Взаимодействия в процессе эволюции постоянно генетически изменяющегося патогена *M. tuberculosis* и организма хозяина (генетически и эпигенетически гетерогенного на уровне популяций) – сложнейшая комплексная проблема, которую мы не можем не учитывать, разрабатывая и предлагая различные схемы и методы профилактики и лечения туберкулёза. Данная область пока далека от подходов персонализированной медицины, но думать и действовать в этом направлении необходимо. Факторы генетической гетерогенности *M. tuberculosis* и организма хозяина на различных уровнях (иммунной системы, макрофагов и др.) необходимо учитывать при создании генно-инженерных вакцин и антибиотиков. Ключевым моментом становится молекулярно-генетическая диагностика SNP-полиморфизмов в генах вирулентности и лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* и коррелирующих с предрасположенностью к заболеванию туберкулёзом генах человека.

Сложность картины взаимодействия всех факторов и динамичность появления и распространения сублиний *M. tuberculosis* с высокой вирулентностью и лекарственной устойчивостью требуют, чтобы разработка и применение молекулярно-генетических методов в диагностике происходила на двух уровнях. Первый — максимально широкое использование в клинической практике существующих и близких к внедрению диагностикумов [14]. Второй, стратегически важный уровень предполагает использование принципиально новых технологий детектирования мутантных генов лекарственной устойчивости и вирулентности [14, 15], способных благодаря своим диагностическим и экономическим показателям уже через 5–7 лет занять достойное место на рынке профильных диагностикумов. Поэтому в рамках проекта "Разработка технологической платформы и создание на её основе инновационных диагностикумов, противотуберкулёзных препаратов: антибиотиков и других антибактериальных средств, вакцин, адьювантов, активных в отношении штаммов *Mycobacterium tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью" предлагается в первые 2–3 года провести комплексные генетико-эпидемиологические исследования по созданию каталога мутантных генов вирулентности и устойчивости в различных регионах РФ. Обнаружение мутаций в генах вирулентности и лекарственной устойчивости, ассоциированных с сублиниями *M. tuberculosis*, которые угрожают группам населения с нарушенным иммунитетом, предполагает реализацию следующих этапов:

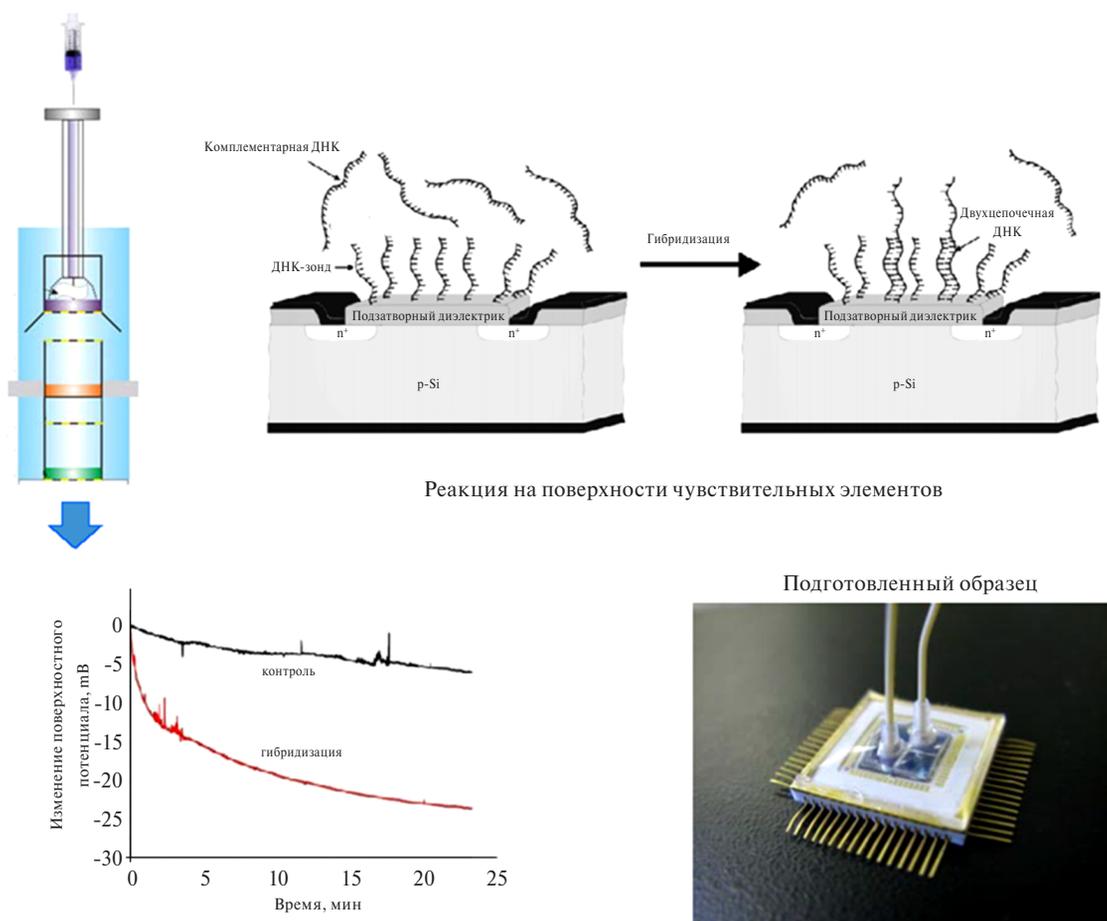
- формирование и комплексную характеристику когорт пациентов из основных регионов России — Центрального, Северо-Западного, Уральского, Западно-Сибирского и Восточно-Сибирского округов;
- организацию центра по координации и унификации отбора и характеристике пациентов;
- создание криобиобанка для хранения и последующего анализа биологического материала пациентов (ДНК *M. tuberculosis*, ДНК крови, ДНК микробиоты ЖКТ);
- организацию серверного центра по хранению и биоинформатическому анализу геномных и метагеномных данных.

**Разработка диагностикумов для выявления инфекций *M. tuberculosis* и генотипического определения их лекарственной устойчивости.** Первый по очерёдности и значимости шаг в борьбе с туберкулёзом — быстрая и точная диагностика активной формы туберкулёза, имеющая определяющее значение для разработки эффективных стратегий лечения. Традиционные методы идентификации микобактерий основаны на окраши-

вании образцов для обнаружения кислотоустойчивых бактерий с последующим культивированием на твёрдой среде и биохимическим тестированием. Однако для выделения и накопления патогена требуются особые условия биологической безопасности, соблюдение которых невозможно во многих учреждениях. К существенным недостаткам метода относится также скорость проведения исследования: 1–3 недели для анализа культуры в жидкой питательной среде и 4–8 недель — в плотной. Таким образом, определение вида изолята стандартными методами занимает до 2 месяцев, в течение которых лечение может осуществляться неподходящими антибиотиками.

В настоящее время на рынке представлены достаточно эффективные инструменты для экспресс-диагностики возбудителя и анализа на чувствительность *M. tuberculosis* к противомикробным препаратам [14], например, такие как BD MGIT Tbc Identification Test и BD VASTEC MGIT Kit. Однако их широкое использование ограничено потребностью в специализированном оборудовании, дорогостоящих реагентах и специально обученном персонале. Разрешённый на территории Российской Федерации с июня 2018 г. иммуноферментный тест Квантиферон (QuantiFERON) тоже имеет ряд ограничений и недостатков, главный из них — низкая специфичность анализа. Обозначенную проблему решают тест-системы [14], в основе которых лежит амплификация нуклеиновых кислот, к ним принадлежит в том числе Xpert MTB/RIF system. Этот подход тоже имеет ряд ограничений, включая чувствительность к ингибиторам в образцах, необходимость специального обучения персонала и дорогостоящих реагентов. Упомянутая система Xpert MTB/RIF сегодня стоит около 32 долл., а каждый тест с её использованием — примерно 10 долл. Другой недостаток системы — её неспособность детектировать устойчивость к другим антибиотикам, кроме рифампицина.

Исследования в области разработки быстрых, точных и простых в эксплуатации систем диагностики лекарственно устойчивых форм туберкулёза ведутся во многих странах мира [15, 16]. В рамках представляемого проекта предполагается разработать и внедрить в практику новую технологическую платформу для экспрессной молекулярной диагностики МЛУ и ШЛУ-ТБ в клинических образцах (мокроте, моче) при использовании системы бинарных дезоксирибозимных сенсоров [17]. Эта технология позволит одновременно обнаруживать ДНК/РНК МЛУ-ТБ непосредственно в клинических образцах и идентифицировать точечные мутации, обуславливающие формирование множественной и широкой лекарственной устойчивости.



**Рис. 2.** Определение устойчивости к антибиотикам на основе картриджа с интегрированной пробоподготовкой и микроэлектронного чипа

Схема представлена А.Е. Кузнецовым (НПК "Технологический центр", г. Москва, Зеленоград), участником проекта "МЛУ/ШЛУ Туберкулёз"

Диагностическая система (рис. 2) основана на специфическом расщеплении РНК каталитически активным дезоксирибозимом (ДНКзимом), формирующимся только в присутствии мишени в образце. Специфичность сенсора значительно повышается благодаря тому, что его сборка происходит в результате гибридизации структур к двум участкам мишени (бинарная система). После сборки сенсора ДНКзим запускает реакцию на поверхности полевого транзистора, который сигнализирует о присутствии в образце мишени. Так как на одном микроэлектронном чипе может быть сформирован массив полевых структур, возможно реализовать мультианализ, разместив индивидуальные ДНКзимовые сенсоры на отдельных полевых структурах. Ключевыми параметрами создаваемой диагностической системы являются следующие: универсальность за счёт использования полевых полупроводниковых структур для детектирования мутаций на основе стандартных технологий микро- и нанoeлектроники; возможность прямого детектирования раз-

личных взаимодействий (ДНК-ДНК, ДНК-РНК, ДНК-фермент) и реакций ферментативного и ДНК-катализа; закрытый характер системы и её малый объём, защищающие оператора от контакта с патогеном; параллельное детектирование десятков реакций; высокая кинетика реакций и малый расход реагентов, также обусловленные малым объёмом системы.

**Создание противотуберкулёзных антибиотиков нового механизма действия, в том числе обладающих активностью ингибировать вирулентность туберкулёз/ВИЧ.** Проблема лекарственной устойчивости туберкулёза и длительность современной противотуберкулёзной терапии приводят к необходимости разработки новых препаратов, способных преодолеть лекарственную устойчивость и/или сокращать сроки стандартной химиотерапии [18, 19]. Ещё одна проблема – значительная токсичность известных противотуберкулёзных препаратов, особенно при длительных схемах лечения, предусматривающих одновременное использование двух и более препаратов. Большую

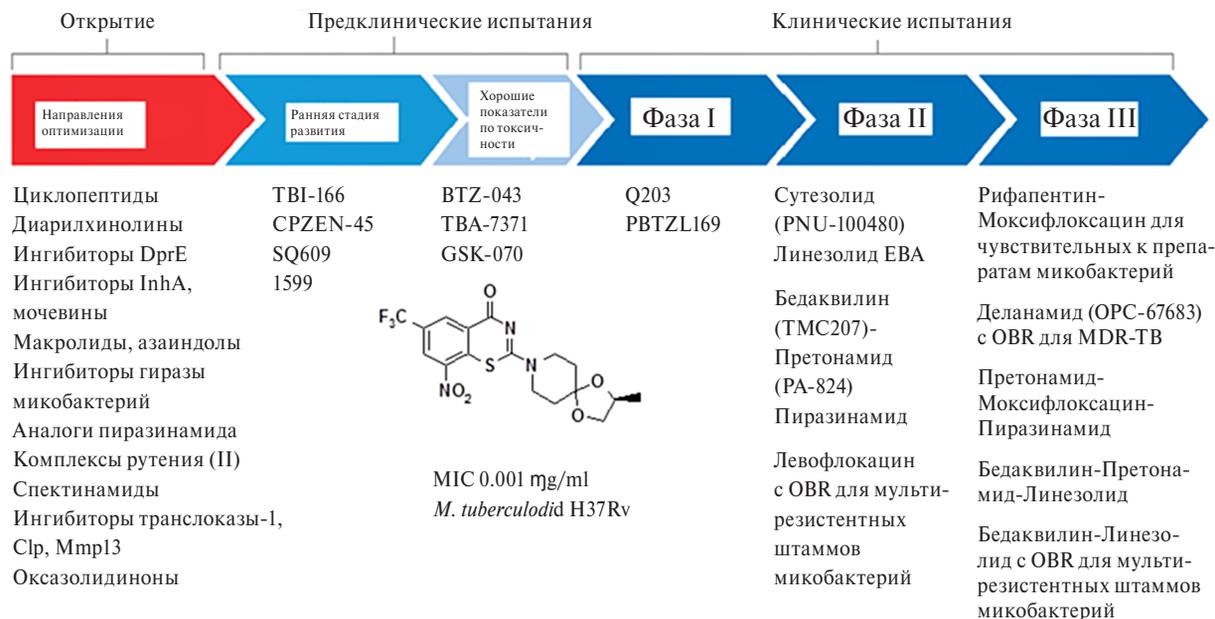


Рис. 3. Разработка новых противотуберкулёзных препаратов

обеспокоенность вызывает значительная гепатотоксичность противотуберкулёзных средств первого и второго ряда. Ситуация осложняется при лечении больных, которые, помимо туберкулёзной инфекции, имеют другие заболевания – вирусные (в частности, ВИЧ-инфекцию, гепатит) или аутоиммунные (например, сахарный диабет). Поэтому разработка новых эффективных, безопасных и доступных лекарств остаётся важным приоритетом [18–20]. Кроме того, возрастает роль полифункциональных (мультицелевых) лекарственных препаратов, активных в отношении нескольких мишеней, а также ингибирующих вирулентные свойства патогена.

Накопленный опыт (зачастую негативный) позволил разработать новую концепцию создания противотуберкулёзных лекарств, предполагающую реализацию ряда принципов и подходов:

- отбор классов низкомолекулярных соединений, ранее не описанных как противотуберкулёзные лекарства;
- получение полусинтетических соединений с новым механизмом действия из природных антибиотиков;
- идентификация и описание новых биомишеней;
- раннее выявление механизма действия;
- разработка бактериальных тест-систем для скрининга сфокусированных химических библиотек с установленным механизмом действия;
- ранняя оценка токсичности новых соединений;
- отбор соединений, способных поражать 2–3 биомишени *M. tuberculosis*, в том числе вирулентности [5, 6, 12].

На рисунке 3 представлены некоторые разрабатываемые в мире противотуберкулёзные препараты. В рамках предлагаемого отечественного проекта предполагается разработка следующих препаратов: химическим синтезом – фторхинолоны, азолопиримидины, бензотиазины, азолазины, бензодиазепины, азолотетразины; конъюгаты пурина с аминокислотами; на основе природных соединений – SQ109 с добавлением природных монотерпеноидов; производные склареола; ингибиторы вирулентности *M. tuberculosis* различных классов. Отметим, что российские учёные имеют значительный опыт в разработке противотуберкулёзных препаратов [21, 22].

**Разработка новых генно-инженерных вакцин.** В течение последних 25 лет интенсивных исследований мировому научному сообществу не удалось создать новой противотуберкулёзной вакцины. ВССГ вакцина, используемая с 1921 г. и проявляющая по различным причинам всё меньшую эффективность, – единственная используемая в клинической практике. Вместе с тем мировое научное сообщество высоко оценивает вероятность создания в ближайшее время генно-инженерных вакцин [23–25]. Сегодня ряд вакцин находятся на стадии клинических исследований и значительно большее число – на стадии доклинических разработок. Детальный анализ состояния исследований по созданию противотуберкулёзных вакцин и существующих проблем в этой области представлен в обзорах [26, 12].

Группа экспертов – участников российского Консорциума "МЛУ/ШЛУ Туберкулёз" и меж-

дународного Консорциума TB Resist<sup>1</sup>, разработала подходы к созданию генно-инженерных противотуберкулёзных вакцин, учитывающие полученные ранее новые знания в этой области:

- использование новых комбинаций антигенов, экспрессируемых на различных стадиях инфекционного процесса;
- использование при необходимости мутантных вариантов антигенов, которые характерны для эпидемиологически опасных сублиний, распространённых в конкретных регионах и среди определённых популяций населения;
- создание вакцин на основе вирусных платформ, в первую очередь вирусов, не связанных с человеком;
- разработка вакцинных форм для интраназального введения, стимулирующих мукозальную специфическую долговременную память;
- разработка адъювантов нового поколения для вакцин интраназального типа на основе пробиотиков лактобацилл и бифидобактерий.

**Разработка адъювантов на основе штаммов лактобацилл и бифидобактерий с селективной иммуномодулирующей активностью для использования с интраназальной противотуберкулёзной вакциной.** Одно из перспективных направлений поиска адъювантов, эффективных при стимуляции как антительного, так и клеточно-опосредованного иммунного ответа, — изучение бактериальных адъювантов на основе пробиотических бактерий или их компонентов. Об иммуностимулирующей и иммуномодулирующей функции бактериальных адъювантов свидетельствует повышение титра антител, возрастание активности Тц- и/или Тх-клеток после их введения. Опубликован ряд работ, показывающих адъювантное действие пробиотических бактерий лактобацилл и бифидобактерий при противовирусной, а также противострептококковой вакцинации [27]. В последние годы идентифицированы бактериальные адъюванты на основе молочнокислых бактерий, компоненты бактериальной стенки, фибронектин, связывающий белок 1 *Streptococcus pyogenes*, поверхностные флагеллины, которые способны индуцировать антительные ответы. Как представители комменсальной микрофлоры бифидобактерии и лактобациллы способны стимулировать реакции врождённого иммунитета и оказывать влияние на формирование адаптивного иммунного ответа, влияя на изменения профилей секреции как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов [12, 28].

<sup>1</sup> <https://projects.iq.harvard.edu/tbresist/home>

Исследование иммуномодулирующей активности штаммов бактерий проводится обычно на клеточных культурах из клеток кишечника (Сасо-2, НТ-29) или иммунцитов (ЕС-6, ТНР-1) и лабораторных животных (здоровых, с дефектами иммунной системы, гнотобионтов, а также с экспериментальной инфекционной и неинфекционной патологией желудочно-кишечного тракта). С использованием различных методических подходов показано, что разные штаммы бифидобактерий и лактобацилл и их компоненты оказывают различный по степени выраженности иммуномодулирующий эффект, то есть действие является штаммоспецифическим [28]. Для профилактики респираторных инфекций, к которым можно отнести и лёгочную форму туберкулёза, в последнее время всё чаще обращаются к мукозальной вакцинации, при ней индукция более эффективного иммунного ответа происходит не за счёт более длительного высвобождения антигена, а благодаря активации мукозальной иммунной системы перед и/или во время вакцинации. Становится актуальным использование параллельно мукозальных адъювантов, способных индуцировать антительные ответы на поверхности слизистых оболочек. В ряде работ указывается на применение различных штаммов пробиотических бактерий, введённых как адъюванты интраназально. Лактобациллы, введённые интраназально, повышали системный и респираторный иммунитет и устойчивость к респираторно-синцитиальной инфекции. Можно утверждать, что использование иммуномодулирующего и адъювантного эффекта пробиотических микроорганизмов для усиления иммунного ответа и повышения резистентности организма к респираторным инфекциям, в том числе туберкулёза, — перспективное направление. При разработке вакцин и бактериальных адъювантов к ним нельзя не учитывать иммунный статус, в том числе его гетерогенность у разных групп населения, а также глобальное влияние климатической микробиоты на его формирование и поддержание. Хотя ещё в 2014 г. был опубликован обзор на эту тему [29], тем не менее состоянию микробиоты при вакцинации по-прежнему не уделяется серьёзного внимания.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Статья подготовлена при поддержке гранта № 0112-2019-0002, подтема "Генетический контроль лекарственной устойчивости и вирулентности микобактерий" в рамках Государственного задания "Генетические технологии в биологии, медицине, сельскохозяйственной и природохозяйственной деятельности".

## ЛИТЕРАТУРА

1. WHO Global Tuberculosis Report 2017. WHO, 2017.
2. Lange C., Chesov D., Heyckendorf J. et al. Drug-resistant tuberculosis: An update on disease burden, diagnosis and treatment // *Respirology*. 2018. V. 23(7). P. 656–673.
3. Prozorov A.A., Zaichikova M.V., Danilenko V.N. *Mycobacterium tuberculosis* mutants with multidrug resistance: history of origin, genetic and molecular mechanisms of resistance, and emerging challenges // *Russian Journal of Genetics*. 2012. V. 48(1). P. 1–14.
4. Шур К.В., Беккер О.Б., Зайчикова М.В. и др. Генетические аспекты лекарственной устойчивости и вирулентности *Mycobacterium tuberculosis* // *Генетика*. 2018. № 54(12). С. 1363–1375.
5. Prozorov A.A., Fedorova I.A., Bekker O.B., Danilenko V.N. The Virulence Factor of *Mycobacterium tuberculosis*: Genetic Control, New Conceptions // *Russian Journal of Genetics*. 2014. V. 50(8). P. 775–797.
6. Mikhecheva N.E., Zaychikova M.V., Melerzanov A.V., Danilenko V.N. A nonsynonymous SNP catalog of *Mycobacterium tuberculosis* virulence genes and its use for detecting new potentially virulent sublineages // *Genome Biology and Evolution*. 2017. V. 9(4). P. 887–899.
7. Chahine E.B., Karaoui L.R., Mansour H. Bedaquiline: a novel diarylquinoline for multidrug-resistant tuberculosis // *Ann. Pharmacother*. 2014. V. 48(1). P. 107–115.
8. Prozorov A.A., Danilenko V.N. Mycobacteria of the tuberculosis complex: Genomics, molecular epidemiology, and evolution trends // *Biology Bulletin Reviews*. 2011. V. 1(6). P. 483–495.
9. Merker M., Blin C., Mona S. et al. Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage // *Nat Genet*. 2015. V. 47(3). P. 242–249.
10. Шур К.В., Умпелева Т.В., Беккер О.Б. и др. Создание выборки клинических изолятов *Mycobacterium tuberculosis* линии Beijing-b0 и определение предикторов иммунной дисфункции пациентов-источников // *Вестник РГМУ*. 2018. № 7(3). С. 24–30.
11. Zaychikova M., Mikhecheva N., Belay Y. et al. Single nucleotide polymorphisms of Beijing lineage *Mycobacterium tuberculosis* toxin-antitoxin system genes: their role in the changes of protein activity and evolution // *Tuberculosis*. 2018. V. 112. P. 11–19.
12. Даниленко В.Н., Зайчикова М.В., Дьяков И.Н. и др. *Mycobacterium tuberculosis*: проблемы лекарственной устойчивости, вирулентности и подходы к их решению // *Вестник РГМУ*. 2018. № 7(3). С. 5–12.
13. Pang J.M., Layre E., Sweet L. et al. The polyketide Pks1 contributes to biofilm formation in *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Bacteriol*. 2012. V. 194(3). P. 715–721.
14. Pai M., Nicol M.P., Boehme C.C. Tuberculosis Diagnostics: State of the Art and Future Directions // *Microbiol. Spectr*. 2016. V. 4(5). P. 1–2.
15. Harries A.D., Kumar A.M.V. Challenges and Progress with Diagnosing Pulmonary Tuberculosis in Low- and Middle-Income Countries // *Diagnostics (Basel)*. 2018. Nov. 23; 8(4). pii: E78.
16. Zaichikova M.V., Zakharevich N.V., Sagaydak M.O. et al. *Mycobacterium tuberculosis* type II toxin-antitoxin systems: a genetic polymorphism, functional properties and the possibility of using for genotyping // *Journal PLoS One*. 2015. e0143682. P. 1–15.
17. Bengtson H.N., Homolka S., Niemann S. et al. Multiplex detection of extensively drug resistant tuberculosis using binary deoxyribozyme sensors // *Biosens Bioelectron*. 2017. V. 94. P. 176–183.
18. Gaur P.K., Mishra S. New Drugs and Vaccines for Tuberculosis // *Recent Pat. Antiinfect Drug Discov*. 2017. V. 12(2). P. 147–161.
19. Igarashi M. Development of new antituberculosis drugs from natural products // *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 2017. V. 81(1). P. 32–37.
20. Silva da P. B., Campos D.L., Ribeiro C.M. et al. New antimycobacterial agents in the pre-clinical phase or beyond: recent advances in patent literature (2001–2016) // *Expert Opin. Ther. Pat*. 2017. V. 27(3). P. 269–282.
21. Danilenko V., Simonov A., Lakatos S. et al. Search for Inhibitors of Bacterial and Human Protein Kinases Among Derivatives of Diazepines [1,4] Annelated with Maleimide and Indole Cycles // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2008. V. 51. P. 7731–7736.
22. Bekker O.B., Sokolov D.N., Luzina O.A. et al. Synthesis and activity of (+) – and (–) – usnic acid derivatives containing 1,3-thiazole cycle against *Mycobacterium tuberculosis* // *Medicinal Chemistry Research*. 2015. V. 24(7). P. 2926–2938.
23. Vilaplana C., Cardona P.J. How Far Are we Away From an Improved Vaccine For Tuberculosis? Current Efforts and Future Prospects // *Arch. Bronconeumol*. 2018. V. 26. pii: S0300-2896(18)30446-0.
24. Schragger L.K., Harris R.C., Vekemans J. Research and development of new tuberculosis vaccines: a review. Version 1 // *F1000Res*. 2018. V. 7. P. 1732.
25. Zhu B., Dockrell H.M., Ottenhoff T.H.M. et al. Tuberculosis vaccines: Opportunities and challenges // *Respirology*. 2018. V. 23(4). P. 359–368.
26. Li Z., Zheng C., Terreni M. et al. Novel Vaccine Candidates against Tuberculosis // *Curr. Med. Chem*. 2018. V. 25. P. 1–2.
27. Kwak J.Y., Lamousé-Smith E.S.N. Can probiotics enhance vaccine-specific immunity in children and adults? // *Beneficial Microbes*. 2017. V. 8(5). P. 657–670.
28. Леонтьева Г.Ф., Крамская Т.А., Грабовская К.Б. и др. Использование лактобацилл в качестве адьювантов при интраназальной иммунизации химерной пневмококковой вакциной // *Медицинская иммунология*. 2016. № 18(6). С. 545–554.
29. Valdez Y., Brown E.M., Finlay B.B. Influence of the microbiota on vaccine effectiveness // *Trends Immunol*. 2014. V. 35(11). P. 526–537.

## DEVELOPMENT OF A TECHNOLOGICAL PLATFORM FOR CREATING INNOVATIVE ANTI-TB DRUGS EFFECTIVE AGAINST MULTI-DRUG-RESISTANT STRAINS

© 2019 V.N. Danilenko

*Vavilov Institute of General Genetics of Russian Academy of Sciences (VIGG)*

*E-mail: valerid@vigg.ru*

Received: 05.02.2019

Revised version received: 06.02.2019

Accepted: 20.02.2019

This article tackles the issue of the growing morbidity and mortality caused by multi-drug-resistant (extreme drug-resistant) tuberculosis (TB). This issue is aggravated by the alarming rise of immunocompromized patients and immigration worldwide. In order to solve this problem, an interdisciplinary approach is needed. Here we offer to: (1) develop innovative diagnostic techniques for identifying dangerous lineages of TB with mutations and drug resistance genes; (2) develop antibiotics with new modes of action effective against multiple drug resistance and extreme drug-resistant strains of TB and HIV; (3) develop new genetically engineered vaccines; and, (4) develop new vaccine adjuvants based on probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains, with selective immunomodulatory activity.

*Keywords:* multiple drug resistance TB, extreme drug-resistant TB, diagnosis, antibiotics, vaccines, vaccine adjuvants.