

Ю.А. КУЧЕРЯВЫЙ, к.м.н., Д.Н. АНДРЕЕВ, Е.В. БАРКАЛОВА

ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России

КЛИНИКО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ *HELICOBACTER PYLORI* К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

В обзоре литературы представлены современные представления о клинических и молекулярных аспектах антибиотикорезистентности *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). На сегодняшний день рост количества штаммов *H. pylori* резистентных к основным препаратам, используемым в схемах терапии первой линии, рассматривается как главная причина неудач лечения инфекции. В общемировой популяции показатели распространенности резистентных штаммов *H. pylori* варьируют в различных географических зонах в широких пределах, коррелируя с общей частотой применения антибиотиков в популяции. Текущие мировые консенсусные рекомендации регламентируют дифференцированную стратегию выбора схем эрадикационной терапии в зависимости от уровня резистентности *H. pylori* к кларитромицину, что объясняется высокой клинической значимостью данного варианта устойчивости.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, эрадикация, антибиотикорезистентность, кларитромицин, метронидазол, амоксициллин, тетрациклин, левофлоксацин, рифабутин, фуразолидон

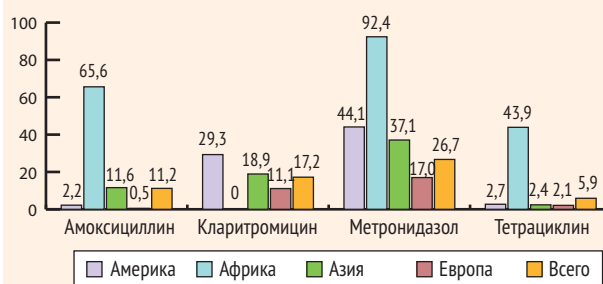
АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

На сегодняшний момент антибактериальные препараты являются основными компонентами схем эрадикационной терапии (ЭТ) инфекции *H. pylori*. При этом эффективность данных препаратов, а следовательно, и протоколов ЭТ напрямую зависит от чувствительности микроорганизма к ним. В настоящее время предметом внимания мирового гастроэнтерологического сообщества является снижение эффективности традиционных схем ЭТ. Интерес к данной проблеме подчеркивается колоссальным числом публикаций, включающим на сегодняшний день более 120 метаанализов контролируемых исследований, посвященных различным аспектам антихеликобактерной терапии. Главным образом данную негативную тенденцию напрямую связывают с ростом антибиотикорезистентных штаммов *H. pylori* в мире [1, 2]. Если в конце 1980-х гг. были описаны лишь единичные случаи выявления резистентных штаммов, то к настоящему времени эта проблема приобрела более массовый и значимый характер.

Первые случаи резистентности, зафиксированные в мире, относились к препаратам нитроимидазолового ряда. При этом в настоящее время спектр резистентности *H. pylori* охватывает фактически все антибактериальные препараты, используемые в целях эрадикации микроорганизма [3]. В основе механизмов формирования резистентности *H. pylori* к антибактериальным препаратам лежат преимущественно точечные мутации, обуславливающие альтерацию механизмов действия антибиотиков. При этом спектр мутаций отличается крайней гетерогенностью, что определяется различными точками приложения (мишенями) антибактериальных средств, используемых в схемах ЭТ [4, 5].

Согласно литературным данным распространенность резистентных штаммов *H. pylori* растет во всем мире [3, 6–9]. При этом среди антибиотиков, применяемых в схемах ЭТ *H. pylori* первой линии, наиболее остро проблема резистентности стоит к метронидазолу и кларитромицину, в то время как резистентность к амоксициллину и тетрациклину остается на довольно низком уровне (рис. 1) [9].

Рисунок 1. Резистентность *H. pylori* к основным антибактериальным препаратам первой линии ЭТ в мире [9]



Согласно систематическому обзору De Francesco и соавт. (2010) в общемировой популяции отмечаются следующие показатели резистентности *H. pylori* к основным антибиотикам, применяемым в схемах ЭТ:

- кларитромицин – 17,2% (95% ДИ: 16,5–17,9),
- метронидазол – 26,7% (95% ДИ: 25,2–28,1),
- амоксициллин – 11,2% (95% ДИ: 9,6–12,7),
- левофлоксацин – 16,2% (95% ДИ: 14,4–18),
- тетрациклин – 5,9% (95% ДИ: 4,7–7,1),
- рифабутин – 1,4% (95% ДИ: 0,81–9),
- полирезистентность – 9,6% (95% ДИ: 8,5–10,7) [9].

Показатели распространенности резистентных штаммов *H. pylori* варьируют в различных географических зонах в

широких пределах, коррелируя с общей частотой применения антибиотиков в популяции [7, 10]. Ярким отражением этой картины является Япония, где рост применения кларитромицина в период с 1993 по 2000 г. пропорционален росту резистентности к этому антибиотику [11]. Кроме того, следует упомянуть, что в современной Европе за последние десятилетия потоки миграции населения внесли свои изменения в общей карте антибиотикорезистентности как внутри страны, так и в отдельных городах [12]. В целом данный тренд можно экстраполировать и на другие части света.

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ *H. PYLORI* К КЛАРИТРОМИЦИНУ

Тенденция к росту резистентности *H. pylori* к кларитромицину четко прослеживается в странах Европы, где общая резистентность к кларитромицину увеличилась с 9% (1998) до 17,6% (2008–2009) [13, 14]. Такой динамике роста кларитромициновой резистентности способствует широкое применение антибиотика в качестве монотерапии респираторных инфекций [4]. Наиболее высокие цифры резистентности к кларитромицину зарегистрированы в Испании – 49,2% (95% ДИ: 38,7–58,2) и Японии – 40,7% (95% ДИ: 28,5–53,3), а низкие в Нидерландах – 0,8% (95% ДИ: 0,3–1,4), Швеции – 1,5% (95% ДИ: 0,1–2,8) и Малайзии – 2,1% (95% ДИ: 0,06–4,2) [9]. В России показатель резистентности *H. pylori* к кларитромицину по обобщенным данным приближается к рубежу в 20% [15–19]. При этом в Санкт-Петербурге частота выделения кларитромицин-резистентных штаммов уже сейчас превышает этот рубеж (табл. 1).

Текущие консенсусные рекомендации регламентируют дифференцированную стратегию выбора схем ЭТ в зависимости от уровня резистентности *H. pylori* к кларитромицину [20, 21]. Данная позиция объясняется высокой клинической значимостью данного варианта устойчивости по сравнению с резистентностью к метронидазолу [3, 6]. Научным базисом этого положения являются результаты метаанализа L. Fischbach и E.L. Evans (2007), включившего 93 исследования (табл. 2). Так, в случае резистентности *H. pylori* к кларитро-

Таблица 1. Частота выявления кларитромицин-резистентных штаммов *H. pylori* в России (последние 5 лет) [16–19]

Автор	Год	Город	Результат
Н.В. Барышникова и соавт.	2009	Санкт-Петербург	32,6%
М.Ф. Осипенко и соавт.	2012	Новосибирск	6%
К.М. Перфилова и соавт.	2012	Нижний Новгород	7,3%
Л.Б. Лазебник и соавт.	2012	Москва	16%

мицину эффективность тройной терапии (ИПП + кларитромицин + амоксициллин) падает на 66,2% (95% ДИ: 58,2–74,2), а эффективность тройной терапии с метронидазолом (ИПП + кларитромицин + метронидазол) снижается на 35,4% (95% ДИ: 25,4–45,4) [22]. Эти данные согласуются с более ранней работой F. Megraud (2004), в которой эффективность стандартной тройной терапии в контексте резистентности к кларитромицину падала почти на 70% (с 87,8% до 18,3%) [7]. Таким образом, снижение эффективности стандартных схем тройной терапии при устойчивости к кларитромицину является критическим – 35–70%, определяя высокую клиническую значимость этой вариации резистентности.

Резистентность *H. pylori* к кларитромицину детерминируется точечными хромосомными мутациями в регионе, кодирующем пептидил-трансферазу (основную мишень макролидов) в V домене 23S рРНК [4, 5, 7]. Наиболее часто встречающимися вариациями таких мутаций являются замена нуклеотидных последовательностей в позициях 2142 (A2142G и A2142C), 2143 (A2143G) (рис. 2) [4, 5, 23]. Замещение нуклеотидов в данных последовательностях приводит к снижению аффинности макролидов к рибосомам бактериальной клетки, тем самым формируя резистентность. К текущему моменту также описаны и другие точечные мутации: A2115G, G2141A, T2117C, T2182C, T2289C, G224A, C2245T, C2611A, однако их клиническое значение в контексте антибиотикорезистентности пока не установлено, за исключением T2182C и C2611A, ассоциированных с низким уровнем резистентности к кларитромицину [5, 24, 25].

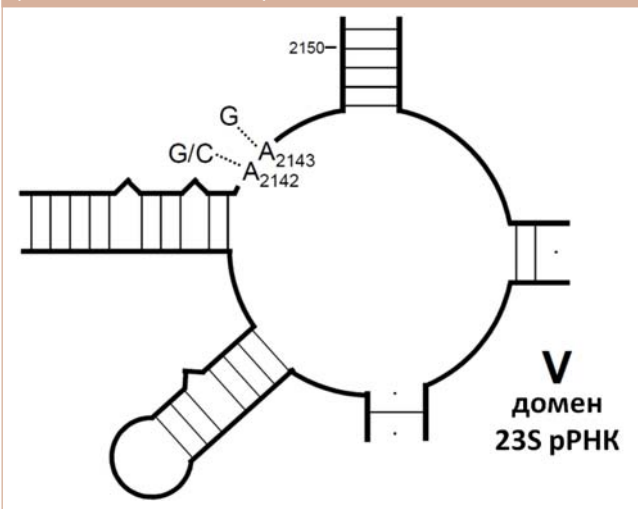
Кроме вышеописанных изменений в формировании кларитромициновой резистентности может играть роль экспрессия эффлюкс-помп RND-семейства [4, 26]. Эффлюкс-помпы представляют собой белковые комплексы, обеспечивающие быструю транслокацию (выброс) ЛС из бактериальной клетки наружу, тем самым не давая антибиотику связаться с рибосомой [27]. Определенный интерес представляют данные о возможном взаимодействии ИПП с эффлюкс-помпами RND-семейства ввиду их структурной аналогии. В частности, помимо супрессии продукции соляной кислоты ИПП могут оказывать ингибирующее действие на

Таблица 2. Снижение эффективности стандартных схем ЭТ в контексте резистентности *H. pylori* к кларитромицину и метронидазолу (адаптировано из [22])

Схема ЭТ	Количество исследований	Количество пациентов	Снижение эффективности
ИПП + кларитромицин + амоксициллин	24	2556	66,2% (95% ДИ: 58,2–74,2%)
ИПП + кларитромицин + метронидазол	34	3128	35,4% (95% ДИ: 25,4–45,4%)
ИПП + кларитромицин + метронидазол	34	3128	18,7% (95% ДИ: 13,4–24,0%)
ИПП + амоксициллин + метронидазол	24	1945	30% (95% ДИ: 21,8–38,2%)
ИПП + тетрациклин + метронидазол + препарат висмута	16	899	14% (95% ДИ: 5,4–22,6%)

Примечание: подчеркивается антибактериальный препарат, к которому имеется резистентность.

Рисунок 2. Схематическое изображение V домена 23S рРНК *H. pylori*. Замена нуклеотидных последовательностей в позициях 2142 и 2143 ассоциирована с формированием резистентности к кларитромицину (адаптировано из [8])



эффлюкс-помпы, снижая резистивный потенциал *H. pylori* [5, 28]. Тем не менее существенной доказательной базы эта позиция пока не имеет.

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ *H. PYLORI* К ПРОИЗВОДНЫМ НИТРОИМИДАЗОЛА (МЕТРОНИДАЗОЛ, ТИНИДАЗОЛ)

Резистентность *H. pylori* к производным нитроимидазола имеет довольно широкие географические границы. Наиболее высокие показатели резистентности выявлены в странах Африки – 92,4% (95% ДИ: 88,4–96,3), далее по убыванию: Америка – 44,1% (95% ДИ: 39,2–49,0), Азия – 37,1% (95% ДИ: 32,9–41,3) и Европа – 17,0% (95% ДИ: 15,5–18,5) [9]. В РФ показатель резистентности к метронидазолу, по данным Российской группы по изучению *H. Pylori*, стабилизировался в 2001 г. на уровне 55% [29]. По данным В.В. Цуканова и соавт. (2004), в Красноярске и Абакане выявлены критические уровни резистентности к метронидазолу: 78% и 81% соответственно [30]. Таким образом, высокий уровень устойчивости к метронидазолу не делает обоснованным широкое применение данного препарата в схемах тройной ЭТ в России [31].

Существуют данные, что в случае резистентности к метронидазолу эффективность тройной терапии (ИПП + кларитромицин + метронидазол) снижается на 18,7% (95% ДИ: 13,4–24,0). В свою очередь метронидазол-резистентные штаммы *H. pylori* снижают эффективность стандартной квадротерапии (ИПП + тетрациклин + метронидазол + препарат висмута) в меньшей степени – на 14% (95% ДИ: 5,4–22,6) [22].

Механизмы устойчивости *H. pylori* к производным нитроимидазола мало изучены. Считается, что основной причиной резистентности к этой группе препаратов является невозможность антибактериального соединения преобразоваться в свою активную форму [4, 8, 10]. Причиной данного феномена могут быть мутации гена *rdxA*, кодирующего кислород-

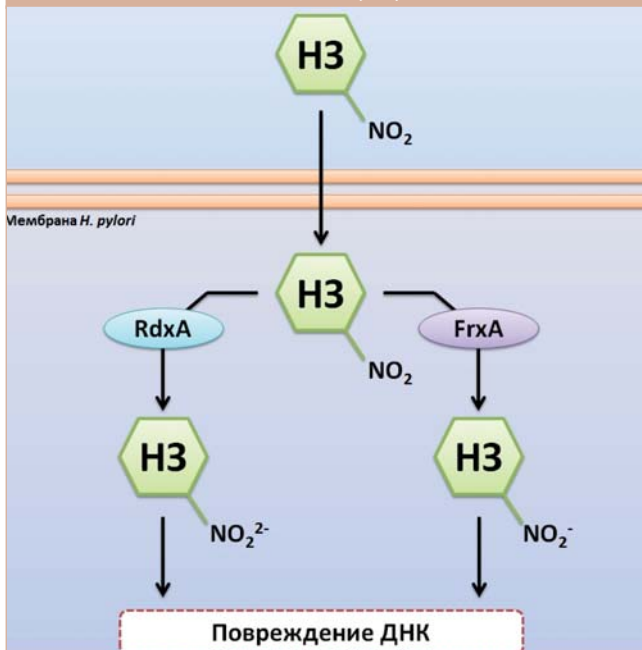
нечувствительную нитроредуктазу, и *frxA*, кодирующую флавиноксиредуктазу [8, 32]. Инактивация последних ведет к снижению трансформации (восстановления) метронидазола в активные дериваты (NO_2^- и NO_2^{2-}), оказывающие повреждающее действие на структуру ДНК (*puc. 3*) [4, 5, 8]. Тем не менее описаны случаи резистентности *H. pylori* к производным нитроимидазола, не связанные с мутациями *rdxA* и *frxA* [33]. Предполагается, что часть из них может быть обусловлена низкой активностью NADH-оксидазы или механизмами эффлюкса [5, 34].

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ *H. PYLORI* К АМОКСИЦИЛЛИНУ

На сегодняшний день в мире не было идентифицировано роста резистентности *H. pylori* к амоксициллину, что оставляет его наиболее важным элементом в схемах ЭТ [1, 3, 6, 7, 10]. Так, в Европе уровень резистентности *H. pylori* к амоксициллину держится на стабильно низком уровне и не превышает 1% (0,5%, 95% ДИ: 0,06–1,06%). Контрастируя с данными европейской популяции, в ряде стран Африки и Азии были выявлены более высокие цифры резистентности к амоксициллину, в частности в Камеруне – 85,6% (95% ДИ: 76,9–91,5) и в Тайване – 36,1% (95% ДИ: 27,9–44,2) [9].

Основной причиной резистентности *H. pylori* к амоксициллину являются мутации в гене *pbp1A*, кодирующем пенициллин-связывающий белок 1А (PBP1), ответственный за катализацию терминальной стадии образования пептидогликана клеточной стенки бактерий [4, 5, 35, 36]. Наиболее часто с амоксициллиновой резистентностью ассоциированы три вариации замены аминокислот (Ser₄₁₄ на Arg, Thr₅₅₆ на

Рисунок 3. Роль дефектов кислород-нечувствительной нитроредуктазы (*RdxA*) и флавиноксиредуктазы (*FrxA*) в формировании резистентности *H. pylori* к нитроимидазолам (НЗ) [4, 5, 10, 32, 35]



Ser и Asn₅₆₂ на Tyr) в структуре белка [4]. Также описаны точечные мутации генов, кодирующих других представителей семейства пенициллин-связывающих белков (PBP2, PBP3 и PBP4), однако их роль в развитии резистентности к амоксициллину рассматривается как аддитивная [5, 36, 37].

Кроме того, определенную роль в формировании резистентности *H. pylori* к амоксициллину могут играть механизмы, задействованные в снижении проницаемости мембраны микроорганизма. Последнюю биологическую характеристику связывают с алтерацией функций белков наружной мембраны *H. pylori*, кодируемых генами *hopB* и *hopC* [38].

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ *H. PYLORI* К ТЕТРАЦИКЛИНУ

В целом резистентность *H. pylori* к тетрациклину в мире находится на низком уровне. Так, в Европе этот показатель составляет 2,1% (95% ДИ: 1,1–3,5), в Азии – 2,4% (95% ДИ: 1,0–3,8), а в Америке – 2,7% (95% ДИ: 1,1–4,4). В странах Африки резистентность встречается значительно выше (43,9%, 95% ДИ: 35,4–52,4) [9]. В России тетрациклин-резистентные штаммы *H. pylori* не выявлены [29].

Основной причиной резистентности *H. pylori* к тетрациклину являются мутации в генах, кодирующих 16S рРНК (*rrnA* и *rrnB*) [4, 8, 39]. При этом наиболее частой мутацией считается замена нуклеотидного триплета AGA₉₂₆₋₉₂₈ → TTC (рис. 4), приводящая к снижению аффинности антибиотика к рибосоме на 24–52% [5, 40]. К другому механизму устойчивости к тетрациклину относят активность белка Tet(O), являющегося антагонистом антибиотика, препятствующим его связи с рибосомой и последующей остановке синтеза белка [41].

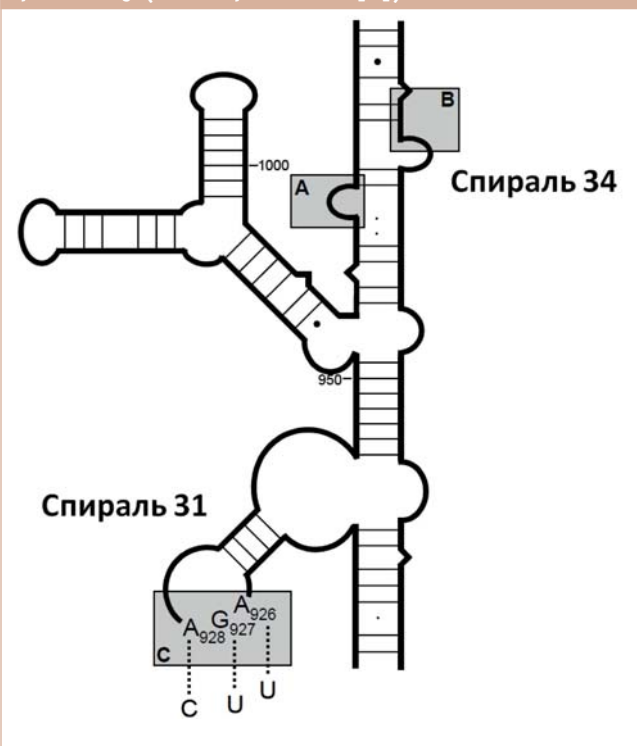
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ *H. PYLORI* К ФТОРХИНОЛОНАМ

Резистентность *H. pylori* к антимикробным препаратам фторхинолонового ряда в Европе составляет 24,1% (95% ДИ: 20,7–27,4), что выше по сравнению со странами Азии, где этот же показатель составляет 11,6% (95% ДИ: 9,5–13,7). Однако в странах Азии показатели резистентности сильно варьируют: от 2,6% (95% ДИ: 0,3–4,8) в Гонконге до 14,9% (95% ДИ: 11,8–18,0) в Японии [9]. Экспертами отмечается, что широкое использование препаратов этой линии в современной медицине четко коррелирует с ростом резистентных штаммов *H. pylori* в популяции [4, 10].

Несмотря на то что на настоящий момент препараты фторхинолонового ряда используются в схемах ЭТ второй линии, резистентность к ним может иметь существенное клиническое значение. В частности, ряд небольших исследований показывает, что резистентность к фторхинолонам может снизить эффективность схем с использованием данной группы препаратов на 30–60% [42, 43].

Резистентность к антимикробным препаратам фторхинолонового ряда связана с изменениями нуклеотидных последовательностей в гене *gyrA* (в позициях 87, 88, 91), кодирующем субъединицу А бактериальной ДНК-гиразы [4, 5, 8, 44, 45]. Значение мутаций гена *gyrB* в формировании резистентности к фторхинолонам является минимальным [46].

Рисунок 4. Схематическое изображение тетрациклин-связывающего региона 16S рРНК. Замена нуклеотидного триплета AGA₉₂₆₋₉₂₈ → TTC ассоциирована с формированием резистентности к кларитромицину (адаптировано из [8])



РЕЗИСТЕНТНОСТЬ *H. PYLORI* К РИФАБУТИНУ

Рифабутин довольно редко используется в схемах ЭТ *H. pylori*. Отчасти в связи с этим считается, что устойчивость к данному антибиотику у микроорганизма довольно низкая [4, 7, 8, 10]. Существующие исследования в Европе подтверждают этот тезис. Так, в Германии показатель резистентности составляет 1,4% (95% ДИ: 0,8–1,9), а в Англии – 6,6% (95% ДИ: 3,6–9,7) [47, 48]. В недавнем исследовании Т. Nishizawa и соавт. (2011) в Японии частота выделения рифабутин-резистентных штаммов оказалась предельно низкой – 0,24% [49].

Предполагается, что механизм резистентности к рифабутину связан с точечными мутациями в гене *rpoB*, кодирующем β-субъединицу бактериальной РНК-полимеразы [4, 5, 50].

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ *H. PYLORI* К НИТРОФУРАНАМ (ФУАЗОЛИДОН)

Данных о частоте встречаемости нитрофуран-резистентных штаммов *H. pylori* очень мало. Текущие консенсусы не регламентируют применение фуразолидона в схемах как первой, так и второй линии терапии [20]. Однако невысокая стоимость препарата обуславливает его достаточно широкое применение в странах с низким доходом населения. В Китае была выявлена резистентность к фуразолидону на уровне 8,7% [51]. Наиболее высокий показатель резистентности был выявлен в Иране и составил 61,4% [52].

Таблица 3. Краткая характеристика структуры антибиотикорезистентности *H. pylori* (сводные данные [4, 5, 9, 22, 42, 43])

Антибиотик	Механизмы формирования резистентности	Распространенность резистентных штаммов в мире	Снижение эффективности протоколов ЭТ
Кларитромицин	Точечные мутации в гене 23S рРНК; эффлюкс	17,2%	на 35–70%
Нитроимидазолы	Мутации генов <i>rdxA</i> , <i>frxA</i> ; инактивация NADH-оксидазы; эффлюкс	26,7%	на 14–30%
Амоксициллин	Мутации гена <i>rbp1A</i> ; снижение проницаемости мембраны <i>H. pylori</i>	11,2%	н/д
Тетрациклины	Точечные мутации в гене 16S рРНК; активация белка Tet(0); эффлюкс	5,9%	н/д
Фторхинолоны	Точечные мутации в генах <i>gyrA</i> и <i>gyrB</i>	16,2%	на 30–60%
Рифамицины	Точечные мутации в гене <i>groB</i>	1,4%	н/д
Нитрофураны	Точечные мутации в генах <i>porD</i> и <i>oorD</i>	н/д	н/д

Устойчивость к нитрофуранам может быть опосредована мутациями в генах *porD* и *oorD*, кодирующих δ -субъединицы пируват-флаводоксин-оксидоредуктазы и 2-оксоглутаратредуктазы соответственно [51].

МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНОСТЬ *H. PYLORI*

С начала 1990-х гг. отдельно стоит проблема появления и роста количества полирезистентных штаммов *H. pylori* [3, 7, 10]. Актуальность этой проблемы подчеркивается тем, что частота неудачной эрадикации в случае полирезистентности составляет 65% и выше [10].

В настоящее время в азиатской популяции уровень выявления мультирезистентных штаммов *H. pylori* составляет 8,3% (95% ДИ: 4,9–11,7), в Америке – 15,0% (95% ДИ: 11,3–18,7), а в Европе – 8,9% (95% ДИ: 7,8–10,1) [9]. В РФ также выявлена тенденция к росту полирезистентных штаммов *H. pylori* с 5,5% в 1996 г. до 11,2% в 2001 г. [29].

Вышеперечисленные данные о структуре антибиотикорезистентности *H. Pylori*, включая механизмы развития, мировую распространенность и влияние на эффективность традиционных схем ЭТ, представлены в таблице 3.

Заключение. Таким образом, растущая резистентность *H. pylori* к антибактериальным препаратам, используемым в

первой линии ЭТ, рассматривается как главный фактор, негативно влияющий на эффективность лечения инфекции. К текущему моменту в мире не было идентифицировано роста резистентности *H. pylori* к амоксицилину, что оставляет его наиболее важным элементом в схемах ЭТ. В клинической практике в целях преодоления кларитромициновой и метронидазоловой резистентности целесообразно использование двойных доз ИПП, а также включение препаратов висмута четвертым компонентом в стандартную тройную схему ЭТ. С учетом преобладания в популяции микст-штаммов *H. pylori* перспективно рассматривать последовательную схему ЭТ (первые 5 дней: ИПП + амоксициллин, последующие 5 дней: ИПП + кларитромицин + тинидазол/метронидазол) как протокола первой линии лечения инфекции. Теоретическим обоснованием такого выбора является двухфазное действие последовательной ЭТ. Так, в течение первых 5 дней уничтожаются кларитромицин-резистентные штаммы *H. pylori* и большая часть бактерий на поверхности слизистой, а в течение последующих 5 дней – прочие, в т. ч. в глубине желудочных ямок и адгезированные на эпителии (с учетом действия кларитромицина на биопленки и высокой способности проникновения в ткани).



ЛИТЕРАТУРА

- De Francesco V., Ierardi E., Hassan C., Zullo A. Helicobacter pylori therapy: Present and future // World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther. 2012. №3(4). P. 68–73.
- Castro-Fernandez M., Vargas-Romero J. Infection with Helicobacter pylori. Prevalence, research and impact of antibiotic resistance // Rev. Esp. Enferm. Dig. 2009. №101(11). P. 743–756.
- Georgopoulos S.D., Papastergiou V., Karatapanis S. Helicobacter pylori eradication therapies in the era of increasing antibiotic resistance: A paradigm shift to improved efficacy // Gastroenterol. Res. Pract. 2012. 2012. 757926.
- Wu W., Yang Y., Sun G. Recent Insights into Antibiotic Resistance in Helicobacter pylori Eradication // Gastroenterol. Res. Pract. 2012. 2012. 723183.
- Francesco V.D., Zullo A., Hassan C., et al. Mechanisms of Helicobacter pylori antibiotic resistance: An updated appraisal // World J. Gastrointest. Pathophysiol. 2011. №2(3). P. 35–41.
- Iwaczak F., Iwaczak B. Treatment of Helicobacter pylori infection in the aspect of increasing antibiotic resistance // Adv. Clin. Exp. Med. 2012. №21(5). P. 671–680.
- Megraud F.H. pylori antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing // Gut. 2004. №53. P. 1374–1384.
- Gerrits M.M. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in Helicobacter pylori // Erasmus MC. Netherlands, 2004. Chap. 2. P. 17–46.

Полный список литературы вы можете запросить в редакции.