



О.К. Асмолов¹, М.М. Чеснокова¹, О.А. Бабуріна¹,
О.К. Лобанов²

¹Одеський національний медичний університет

²Одеська обласна протитуберкульозна клінічна лікарня

Характеристика *M. tuberculosis* родини Beijing

В огляді висвітлено основні властивості мікобактерій туберкульозу родини Beijing, яка значно поширилася у різних географічних регіонах. Головними негативними властивостями штамів цієї родини є їхня висока вірулентність, трансмісивність і здатність до швидкого формування лікарської стійкості, що має велике значення в умовах епідемії туберкульозу.

Ключові слова

Мікобактерії туберкульозу, сімейство Beijing, лікарська стійкість.

Понад 130 років, які минули від дня відкриття збудника туберкульозу, він продовжує бути предметом усебічного поглибленого вивчення у всьому світі. До активного впровадження методів молекулярно-генетичного типування вважали, що мікобактерії туберкульозу (МБТ) є генетично висококонсервативною групою з дуже обмеженим спектром генотипної різниці, які можуть впливати на патогенез. Однак з'ясувалося, що сукупність штамів мікобактерій, які циркулюють, характеризується значною варіабельністю із наявністю високо- й маловірулентних штамів, поєднаних у різні родини на підставі генетичних особливостей. Нині протистояння людини і збудника туберкульозу перебуває на шпилі розвитку.

Відмінною рисою сучасних штамів МБТ є неможливість горизонтального перенесення генів [4, 6], хоча рідкісні рекомбінації показані в останні роки [18]. Еволюція *M. tuberculosis* відбувається переважно шляхом делецій та дуплікацій, що зумовлює клональний паттерн еволюції та в поєднанні з відсутністю рекомбінацій може спричинити патогенетичну різницю між штамми [13]. Послідовністю, яку широко використовують як генетичний маркер, є інсерційна послідовність IS6110, що належить до IS3 родини транспозонів [27], специфічна для штамів комплексу *M. tuberculosis* [21].

Патогенність мікобактерій туберкульозу пов'язана насамперед зі здатністю виживати в макрофагах та індукувати гіперчутливість сповільненого типу. Генетично різні штами *M. tuberculosis* стимулюють дещо іншу імунну відповідь. Це своєю чергою визначає різницю в патогенезі і відповідно — в клінічних виявах захворювання. Так, у різних штаммах *M. tuberculosis* виявлено різну експресію 527 генів (15 % загальної кількості обстежених) [14].

Однією з родин, для якої активно вивчають механізми високої вірулентності й трансмісивності, є Східно-Азіатська (*Beijing*). Її домінування виявлено в 1995 р. у китайській провінції Beijing. Значне поширення штамів *Beijing* у різних географічних регіонах та здатність їх до домінування і клонального поширення дає змогу припустити, що ця філогенетична лінія має генетичні переваги над іншими лініями *M. tuberculosis* щодо здатності інфікувати людину та спричинювати захворювання. Сучасні молекулярні дослідження свідчать, що родина *W-Beijing* є самостійною філогенетичною лінією, котра походить від спільного штаму [29].

В експериментах на мишах, інфікованих штамми кількох генетичних родин, доведено, що бактерії родини Beijing розмножуються в легенях активніше, спричинюють ранню і масивну пневмонію та смерть [3, 19]. При цьому у мишей спостерігається спочатку висока, хоч і скороминуща, експресія фактора некрозу пухлин-альфа (TNF- α) та індукцибельної ізоформи кисню

оксида (NO) синтетази (iNOS), що припускає ефективну активізацію макрофагів на ранній стадії інфекції. Проте інтерферон гамма (IFN- γ) продукується пізно й слабо, що може свідчити про швидку інактивізацію макрофагів, які стимулюють Т-хелпери I типу (Th1) недостатньо ефективно для зупинки розмноження бактерій.

У макрофагах, активованих Т-кілерах та натуральних кілерах (NK) IFN- γ індукує гени, продукти яких здатні знищувати мікобактерії туберкульозу. Активізація макрофагів IFN- γ відбувається через Янус тирозин-кіназу (JTK). Пригнічення JAK-STAT (Janus Kinase, Signal Transducer and Activator of Transcription) сигнального шляху, який передає через клітинну мембрану інформацію від інтерферону, інтерлейкінів, також може бути суттєвим чинником у недостатній активізації макрофагів. Інфікування мишей збудниками родини *Beijing* супроводжується відносно підвищеними рівнями матричної рибонуклеїнової кислоти (мРНК) ряду негативних регуляторів JAK-STAT сигнального шляху як цитокінових сигналів (SOCS) 1, 4, та 5, CD45, білка інгібітора, активованого Stat1 (PIAS1), тощо [20].

Істотним є також зниження експресії рецепторів TLR2, TLR4 та головного комплексу гістосумісності класу II макрофагів у разі інфікування штамми *Beijing* порівняно зі штамми *Canetti* та H37Rv [25]. Toll-рецептори (TLRs) – філогенетично консервативні трансмембранні протеїни. Активізація макрофагів такими мікобактеріальними патоген-асоційованими молекулами гліколіпідної природи, як ліпоарабіноманнан (LAM), ліпоманнани (LM), фосфатидилінозитол маннозиди (PIM2, PIM6) та 19-kDa ліпопротеїн, відбувається переважно через TLR2 молекули [8, 9]. Як наслідок починається утворення низки цитокінів, в тому числі IL-12 та антибактеріальних сполук (NO). Доведено, що активізація TLR2 безпосередньо зумовлює внутрішньоклітинне знищення *M. Tuberculosis* в альвеолярних макрофагах *in vitro* [16, 28]. Спостерігається зниження продукції IL-2, що відповідає за активізацію макрофагів і запуск синтезу IFN- γ , продукції TNF- α , підвищення експресії IL-10, який гальмує імунну відповідь, пригнічуючи синтез інтерферонів [11]. Такий баланс цитокінів пояснює зниження рівня IFN- γ , який є не тільки активатором макрофагів, а й антагоністом IL-4. Для IL-4 характерні пригнічення Th1-імунної відповіді та індукція проліферації і диференціювання Th2-клітин, тобто менш ефективного при туберкульозі типу імунної відповіді.

У експериментах у мишей також помічено швидше розмноження в макрофагах і активніше

пригнічення апоптозу інфікованих макрофагів у разі інфікування збудниками родини *Beijing*. Доведено, що К-штам, який належить до родини *Beijing*, зумовлює значно вищий рівень загибелі Th1-клітин шляхом некрозу, ніж апоптозу, порівняно з інфікуванням штамом H37Rv. Також за інфікування К-штамом були істотно пригнічені антиапоптичні фактори Bcl-2, Mcl-1, Bfl-1 та Bcl-xL порівняно з H37Rv [16].

Підвищена вірулентність може бути пов'язана також із нездатністю штамів родини *Beijing* стимулювати дозрівання дендритних клітин, які мають велике значення як антиген-презентувальні клітини [12].

Іншим дуже важливим моментом патогенезу є виживання в організмі хазяїна. *M. tuberculosis* міститься в гранульомі хазяїна, потрапляє в екстремальні гіпоксичні/анаеробні умови. Дослідження *in vitro* та *in vivo* (макрофаги миші та зараження мишей інбредної лінії C57B1/6) засвідчили, що штамми кластера *W-Beijing* мали середню швидкість розмноження *in vitro*, але при цьому виявили високу життєздатність у макрофагах [2]. Відомо, що для виникнення інфекційного захворювання важливе значення має доза збудника. В експерименті [2] доведено, що здатність виживати всередині макрофага для цього кластера, на відміну від інших штамів, майже не залежала від бактеріального навантаження на макрофаги. Штами кластера максимально виживають уже за низького бактеріального навантаження. Достатньо мінімальної кількості збудника, щоб запустити інфекційний процес, водночас як така ж сама доза збудника інших штамів може виявитися недостатньою.

Мікобактерії родини *Beijing* здатні активно акумулювати тріацилгліцериди (TAG), які за нестачі поживних речовин гідролізуються, забезпечуючи мікобактерії вуглецем і енергією як без кисню, так і у разі агресивної імунної відповіді хазяїна [10]. Здатність до нагромадження TAG в умовах, коли збудники інших родин їх не нагромаджують, дає родині *Beijing* додаткові переваги у процесі трансмісії й персистенції в організмі хазяїна, чим можна пояснити асоціацію інфікування штамми *Beijing* з невдалим лікуванням та рецидивами туберкульозу [17, 26].

Головною негативною характеристикою штамів родини *Beijing* є здатність їх до швидкого порівняно з іншими родинами формування лікарської стійкості [15]. У низці досліджень доведено, що для медикаментозно-резистентних штамів МБТ характерна знижена пристосованість порівняно з медикаментозно-чутливими [5, 7]. Але МБТ родини *W-Beijing* мають медикаментозно-резистентні штамми, життєздатність

яких зберігається після набуття медикаментозної резистентності, а швидкість росту в культурі навіть більша, ніж у чутливих [1]. Селективні переваги внаслідок мутацій, що не знижують пристосування мікобактерій *W-Beijing* з множинною медикаментозною резистентністю, можуть бути одним із чинників, що пояснюють поширення цих штамів. Значна мутабельність може бути зумовлена специфічною для штамів *W-Beijing* міссенс-мутацією в гені *mutT2*, що належить до суперроду *Nudix* гідролаз, які є ферментами, котрі гідролізують широкий спектр органічних пірофосфатів (нуклеозид ді- та трифосфати, кеп РНК тощо). *MutT* (*NudA*) здатний до розщеплення потенційно мутагенних окис-

лених нуклеотидів, які утворюються внаслідок дії реактивних форм кисню [22]. Мутація зумовлює нестабільність протеїну зі зниженням антимутагенної дії, впливає на загальне сповільнення метаболічних процесів мікобактерії в умовах нестачі поживних речовин [23]. Загалом у штамів *Beijing* виявлено 41 специфічний однонуклеотидний поліморфізм (SNP), у тому числі й у генах, що беруть участь у процесах реплікації, репарації та рекомбінації та мають потенційний вплив на еволюцію й адаптацію представників цієї генетичної лінії [24].

Наведені дані свідчать про те, що мінливість збудника не має меж. Своєю чергою людина протиставляє мікроорганізму нові досягнення науки.

Список літератури

1. Тунгусова О.С., Марьяндышев А.О., Каугант Д.А. и др. Влияние лекарственной устойчивости на фитнес микобактерий туберкулеза генотипа *W-Beijing* // Пробл. туб. и болезней легких.— 2005.— № 10.— С. 46–50.
2. Черноусова Л.Н., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г. и др. свойства штаммов *M. tuberculosis* кластера *W* // Пробл. туб. и болезней легких.— 2008.— № 10.— С. 45–49.
3. Abebe F., Bjune G. The emergence of Beijing family genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* and low-level protection by bacilli Calmette-Guerin (RCG) vaccines: is there a link? // Clin. exp. immunol.— 2006.— Vol. 145, N 3.— P. 389–397.
4. Alland D., Whittam T.S., Murray V.B. et al. Modeling bacterial evolution with comparative-genome-based marker systems: application to *Mycobacterium tuberculosis* evolution and pathogenesis // J. Bacteriol.— 2003.— Vol. 185.— P. 3392–3399.
5. Andersson D.I., Levin B.R. The biological cost of antibiotic resistance // Current Opinion in Microbiology.— 1999.— Vol. 2.— P. 489–493.
6. Becq J., Gutierrez M., Rosas-Magallanes V. et al. Contribution of horizontally acquired genomic islands to the evolution of the tubercle bacilli // J. Mol. Biol. Evol.— 2007.— Vol. 24.— P. 1861–1871.
7. Billington O.J., McHugh T.D., Gillespie S.H. Physiological cost of rifampin induced in vitro in *Mycobacterium tuberculosis* // Antimicrobial Agents and Chemotherapy.— 1999.— Vol. 43.— P. 1866–1869.
8. Caws M., Thwaites G., Dunstan S. et al. The influence of host and bacterial genotype on the development of disseminated disease with *Mycobacterium tuberculosis* // PLoS Pathog.— 2008.— Vol. 4.— P. 450–457.
9. Crevel R., Ottenhoff T.H., van der Meer J. Innate Immunity to *Mycobacterium tuberculosis* // Clin. Microbiol. Rev.— 2002.— Vol. 15, N 2.— P. 294–309; [Електронний ресурс].— Режим доступу до документа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC118070/>.
10. Daniel J., Deb C., Dubey V.S. et al. A novel lipase belonging to the hormone-sensitive lipase family induced under starvation to utilize stored triacylglycerol in *Mycobacterium tuberculosis* // J. Biol. Chem.— 2006.— Vol. 281.— P. 3866–3875.
11. Dormans J., Burger M., Aguilar D. et al. Correlation of virulence, lung pathology, bacterial load and delayed type of hypersensitivity responses after infection with different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes in a BALB/c mouse model // Clin. exp. immunol.— 2004.— Vol. 137, N 3.— P. 460–468.
12. Ebner S., Ratzinger G., Krosbacher B. et al. Production of IL-12 by human monocytederived dendritic cells is optimal when the stimulus is given at the onset of maturation, and is further enhanced by IL-4 // J. Immunol.— 2001.— Vol. 166.— P. 633–641.
13. Gagneux S., Small P.M. Global phylogeography of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis product development // Lancet infect. dis.— 2007.— N 7.— P. 328–337.
14. Gao Q., Kripke K.E., Saldanha A.J. et al. Gene expression diversity among *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates // Microbiology.— 2005.— Vol. 151 (pt. 1).— P. 5–14.
15. Hanekom M., van der Spuy G.D., Streicher E. et al. A recently evolved sublineage of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strain family is associated with an increased ability to spread and cause disease // J. Clin. Microbiol.— 2007.— Vol. 45.— P. 1483–1490.
16. Kleinnijenhuis J., Oosting M., Joosten L.A.B. et al. Innate Immune Recognition of *Mycobacterium tuberculosis* // Clin. Dev. Immunol. 2011: [Електронний ресурс].— Режим доступу до документа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3095423>.
17. Lan N.T., Lien H.T., Tung I.B. et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and risk for treatment failure and relapse, Vietnam // Emerg. Infect. Dis.— 2003.— N 12.— P. 1633–1635.
18. Liu X., Gutacker M.M., Musser J.M. et al. Evidence for recombination in *Mycobacterium tuberculosis* // J. Bacteriol.— 2006.— Vol. 188.— P. 8169–8177.
19. López B., Aguilar D., Orozco H. et al. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes // Clin. Exp. Immunol.— 2003.— Vol. 133, N 1.— P. 30–37.
20. Manca C., Tsenova L., Freeman S. et al. Hypervirulent *M. tuberculosis* W/Beijing strains upregulate type I IFNs and increase expression of negative regulators of the Jak-Stat pathway // J. Interferon Cytokine Res.— 2005.— Vol. 25.— P. 694–701.
21. McHugh T., Gillespie S. Nonrandom Association of IS6110 and *Mycobacterium tuberculosis*: Implications for Molecular Epidemiological Studies // Journal of Clinical Microbiology.— 1998.— Vol. 36, N 5.— P. 1410–1413.
22. McLennan A.G. The *Nudix* hydrolase superfamily // Cell. Mol. Life Sci.— 2006.— Vol. 63.— P. 123–143.
23. Moreland N.J., Charlier C., Dingley A.J. et al. Making sense of a missense mutation: characterization of *MutT2*, a *Nudix* hydrolase from *Mycobacterium tuberculosis*, and the G58R mutant encoded in *W-Beijing* strains of *M. tuberculosis* // Biochemistry.— 2009.— Vol. 48.— P. 699–708.
24. Moreland N.J., Charlier C., Dingley A.J. et al. Phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing Strains Constructed from Polymorphisms in Genes Involved in DNA Replication, Recombination and Repair // PLoS One.— 2011.— Vol. 6, N 1: [Електронний ресурс].— Режим доступу до документа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0016020>.
25. Rocha-Ramirez L.M., Estrada-Garcia I., Lopez L.M.-Marin et al. *Mycobacterium tuberculosis* lipids regulate cytokines, TLR-2/4 and MHC class II expression in human macrophages // Tuberculosis.— 2008.— Vol. 88.— P. 212–220.

26. Sun Y.J., Lee A.S., Wong S.Y. et al. Association of Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype with tuberculosis relapse in Singapore // *Epidemiol Infect.*— 2006.— Vol. 134, N 2.— P. 329–332.
27. Thierry D., Brisson-Noyl A., Lйvy-Frйbault V. et al. Characterization of a Mycobacterium tuberculosis insertion sequence, IS6110, and its application in diagnosis // *J. Clinical microbiology.*— 1990.— Vol. 28, N 12.— P. 2668–2673.
28. Thoma-Uszynski S., Stenger S., Takeuchi O. et al. Induction of direct antimicrobial activity through mammalian toll-like receptors // *Science.*— 2001.— Vol. 291, N 5508.— P. 1544–1547.
29. Tsolaki A., Gagneux S., Pym A. et al. Genomic deletions classify the Beijing/W strains as a distinct genetic lineage of Mycobacterium tuberculosis // *J. Clin. Microbiol.*— 2005.— Vol. 43.— P. 3185–3191.

А.К. Асмолов¹, М.М. Чеснокова¹, Е.А. Бабурина¹, А.К. Лобанов²

¹Одесский национальный медицинский университет

²Одесская областная противотуберкулезная клиническая больница

Характеристика *M. tuberculosis* семейства Beijing

В обзоре освещены основные свойства микобактерий туберкулеза семейства *Beijing*, которое значительно распространилось в различных географических регионах. Главными негативными свойствами штаммов этого семейства является их высокая вирулентность, трансмиссивность и способность к быстрому формированию лекарственной устойчивости, что имеет большое значение в условиях эпидемии туберкулеза.

Ключевые слова: микобактерии туберкулеза, семейство *Beijing*, лекарственная устойчивость.

O.K. Asmolov¹, M.M. Chesnocova¹, O.A. Baburina¹, O.K. Lobanov²

¹Odesa National Medical University, Odesa, Ukraine

²Odesa Regional Tuberculosis Clinical Hospital, Odesa, Ukraine

Characteristics of *M. tuberculosis* of the Beijing family

The review presents the basic properties of Mycobacterium tuberculosis of *Beijing* family, spread in the different geographic regions. The main negative characteristics of the strains of this family are their high virulence, transmissibility and potency for the rapid drug resistance development, which is of great importance in the conditions of the TB epidemic.

Key words: Mycobacterium tuberculosis, *Beijing* family, drug resistance.

Контактна інформація:

Асмолов Олександр Костянтинович, д. мед. н., зав. кафедри фтизіопульмонології
65082, м. Одеса, Валіховський пров., 2
Тел. (048) 778-01-83
E-mail: kaftub@mail.ru

Стаття надійшла до редакції 6 березня 2013 р.