



УДК 579.873.21:577.2:577.2:616-002.5-08

Ю. И. Бажора, д-р мед. наук, проф.

**КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В СИСТЕМЕ
«ХОЗЯИН — M. TUBERCULOSIS»
И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В БОРЬБЕ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ**

Одесский государственный медицинский университет, Одесса, Украина

УДК 579.873.21:577.2:577.2:616-002.5-08

Ю. І. Бажора

**КЛІТИННО-МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ВЗАЄМОДІЇ
У СИСТЕМІ «ХАЗЯЙН — M. TUBERCULOSIS» І ЇХ ВИКОРИСТАННЯ
У БОРОТЬБИ З ТУБЕРКУЛЬОЗОМ**

Одеський державний медичний університет, Одеса, Україна

Розглянуто клітинно-молекулярні механізми взаємодії у системі «хазяїн — патоген». Наведено сучасні погляди на формування захисних реакцій людини у відповідь на проникнення в її організм *M. tuberculosis*. Висвітлено роль генетичних факторів людини і патогену у розвитку туберкульозної інфекції.

Ключові слова: туберкульоз, імунна система, молекулярно-генетичні методи діагностики.

UDC 579.873.21:577.2:577.2:616-002.5-08

Yu. I. Bazhora

**CELLULAR AND MOLECULAR MECHANISMS OF INTERACTION
IN “HOST — M. TUBERCULOSIS” SYSTEM AND ITS USAGE FOR STRUGGLE
WITH TUBERCULOSIS**

The Odessa state medical university, Odessa, Ukraine

Cellular and molecular mechanisms of interaction in the “host — pathogen” system are examined. Modern views on the formation of defense reactions in humans as a response for *M. tuberculosis* intervention is produced. The role of genetic factors of the human being and pathogen in development of tuberculosis infection is elucidated.

Key words: tuberculosis, immune system and tuberculosis, molecular-genetic methods of diagnosis.

Несмотря на успехи, достигнутые при введении массовой иммунизации вакциной BCG, применение ряда противотуберкулезных препаратов в различных комбинациях с лечебной целью, в 70-е годы XX ст. стало понятным, что достичь явного перевеса в борьбе с туберкулезом не удастся. Результаты исследований в области иммунологии туберкулеза, микробиологии возбудителей этой инфекции указывали на необходимость более глубокого изучения процессов взаимодействия организма больного человека с патогеном.

Последняя четверть XX ст. ознаменовалась бурным развитием экспериментальной и клинической иммунологии. Именно в этот период раскрыты молекулярные механизмы взаимодействия между клетками иммунной системы в ходе формирования иммунного ответа, а также процессы молекулярного воздействия системы иммунитета на чужеродные агенты.

Успехи молекулярной биологии в последние десятилетия связаны с разработкой ряда новых методов исследований, базирующихся на интеграции биологических исследований с информатикой. Это значительно ускорило расшифровку генома не только прокариот, но и эукариот, включая геном человека, мыши, других организмов.

Все выше указанное способствовало более углубленному изучению механизмов взаимодействия составных элементов системы «хозяин — патоген» при туберкулезе.

С особой тщательностью изучались процессы взаимодействия микобактерий с клетками иммунной системы хозяина. Вскрыты основные механизмы фагоцитоза возбудителей туберкулеза макрофагами, имеющие свои особенности, позволяющие микобактериям уклоняться от их умерщвления и деградации в цитоплазме фагоцитов. Установлено, что *M. tuberculosis* пре-

дотвращает слияние фагосом с первичными лизосомами. Отсутствием гидролаз в фагосоме объясняется выживание патогена внутри одного из основных участников борьбы с инфекционными агентами. Эта особенность микобактерий возникла в процессе эволюции и связана по крайней мере с двумя известными механизмами: ограничением слияния фаголизосом на раннем этапе инфекции и адаптацией микробов к условиям в фаголизосомах активированных макрофагов гранулем на более поздних этапах [1].

Как экспериментальные исследования, так и клинические наблюдения позволили установить, что туберкулез отличается от других инфекционных заболеваний тем, что в инфицированном организме увеличивается содержание макрофагов и моноцитов; инфекция контролируется клеточно-опосредованным иммунитетом, который управляется цитокинами Т-клеток и эффекторными клетками, которые активируются макрофагами. Этот иммунитет настолько мощный, что примерно 90 % инфицированных *M. tuberculosis* людей (у которых нормально функционирует иммунная система) способны ограничить развитие клинической картины болезни.

Считается, что в клеточно-опосредованном иммунитете $CD4^+$ Т-клетки контролируют иммунный ответ при туберкулезе, управляя всеми иммунологическими реакциями. Макрофаги являются основными эффекторными клетками, уничтожающими *M. tuberculosis*.

Кроме $CD4^+$ Т-клеток, в приобретенном иммунитете важную роль играют и другие популяции клеток: $CD8^+$ Т-клетки, $\gamma\delta$ Т-клетки. Почему включаются различные субпопуляции Т-клеток в формирование противотуберкулезного специфического иммунитета? Предполагается, что такое разнообразие Т-клеток связано с различными механизмами процессинга антигена и разными молекулами, используемыми для презентации антигена, и расширяет спектр антигенов микобактерий, на которые вырабатывается специфический ответ. Это позволяет хозяину более активно бороться с туберкулезной инфекцией, характеризующейся медленным ростом и хроническим течением [2].

То, что $CD4^+$ Т-клетки играют основную роль в иммунной защите против *M. tuberculosis*, четко установлено при ВИЧ-инфекции. Характерное для больных СПИДом снижение количества $CD4^+$ Т-клеток сопровождается прогрессированием первичной инфекции, реактивацией эндогенного туберкулеза и повышенной чувствительностью к реинфекции [3]. Это подтверждает и повышенная восприимчивость к *M. tuberculosis* у мышей с делецией $CD4$ или молекул-продуктов генов МНС класса II.

$CD4^+$ Т-клетки активируются цитокинами ($IFN\gamma$ и $TNF\alpha/\beta$) макрофагов, инфицированных

M. tuberculosis [4–6]. Лимфоциты становятся цитотоксичными в отношении макрофагов, содержащих микобактерии, и выделяют гранзимы, Fas-L, гранулизин и перфорин [7].

$CD4^+$ Т-клетки узнают АГ детерминанты, представленные им молекулами МНС класса II на АРС, например, макрофагах. Не установлено отдельного иммунодоминантного АГ *M. tuberculosis*, но узнаваемые больными с положительными пробами на туберкулин АГ идентифицированы. Это три комплекса белков: 85 (30–32 kDa), ESAT-6 и CFP-10, липопротеины 19 и 38 kDa, два белка 32 и 39 kDa. Значительный прогресс в идентификации других АГ достигнут в связи с доступом к изучению генома *M. tuberculosis*. Иммунологические и генетические исследования в различных популяциях людей позволяют выявить наиболее важные из них, воздействующие на $CD4^+$ Т-клетки на различных этапах туберкулезной инфекции [8; 9].

Важную роль в противотуберкулезном иммунитете играют $CD8^+$ Т-клетки. Как и $CD4^+$ Т-клетки, они секретируют $IFN-\gamma$, экспрессируют гранзим, Fas-L, гранулизин, перфорин, что позволяет им лизировать инфицированные *M. tuberculosis* макрофаги. Однако многие вопросы, связанные с функцией этих клеток на различных этапах туберкулезной инфекции, остаются нерешенными. Известно, что большинство активных в отношении *M. tuberculosis* $CD8^+$ Т-клеток распознают пептиды микобактерий в комплексе с молекулами МНС класса I. Установлено, что АГ микобактерий могут процессироваться для презентации МНС класса I по альтернативному пути, не требующему проникновения их в цитозоль. Тем самым обеспечиваются дополнительные механизмы для активации $CD8^+$ Т-клеток [10–12].

M. tuberculosis активируют также $V\delta 2$ Т-клетки, которые секретируют $IFN-\gamma$. Последний лизирует инфицированные макрофаги. Известно, что $V\delta 2^+$ Т-клетки реагируют на малые фосфатсодержащие молекулы. Узнавание фосфатмолекул ТСR-зависимо, но не рестриковано на любой известной МНС или МНС-подобной молекулах. Следовательно, $V\delta 2^+$ Т-клетки узнают совершенно особые микобактериальные молекулы [13].

Кроме того, на *M. tuberculosis* может также отвечать и субпопуляция $CD1$ рестриktированных $\alpha\beta TCR^+$ Т-клеток. $CD1$ ограничивает секрецию $IFN-\gamma$ Т-клетками, который цитотоксичен для инфицированных макрофагов, помогая макрофагам контролировать внутриклеточные микобактерии [14].

Таким образом, в иммунную защиту против *M. tuberculosis* включаются различные по своей функции Т-клетки. Возможно, различные субпопуляции Т-лимфоцитов играют связующую роль между врожденным и приобретенным

иммунитетом, а также на различных стадиях течения туберкулезной инфекции.

Однако в процессе эволюции *M. tuberculosis* выработала ряд механизмов угнетения иммунной системы хозяина с целью своего выживания.

Кроме отмеченной выше модуляции фагосом макрофагов для предупреждения разрушения протеазами, микобактерии противодействуют активным радикалам кислорода через супероксиддисмутазу и другие ферменты. Туберкулезная палочка чувствительна к NO, продуцируемому индуцибельной iNOS. Остается не ясно, достаточно ли в инфицированных макрофагах индуцированной iNOS для выполнения этой функции.

M. tuberculosis выработала различные механизмы угнетения функции Т-лимфоцитов. Так, ее молекулы индуцируют продукцию макрофагами цитокинов, которые подавляют функцию Т-клеток, таких как IL-10 и TGF-β. Избыточная продукция этих цитокинов наблюдается при активном туберкулезе, что угнетает эффект провоспалительных цитокинов и функцию Т-клеток.

Активная туберкулезная инфекция ассоциируется с повышенным апоптозом антиген-специфических в отношении микобактерий Т-лимфоцитов. Механизмы этого явления не изучены. Возможно, что усиленный апоптоз Т-клеток приводит к длительному дефекту в функционировании различных субпопуляций Т-лимфоцитов при туберкулезной инфекции.

Недавно открыт еще один механизм уклонения *M. tuberculosis* от иммунной защиты хозяина. Выявлены молекулы микобактерий, которые способны угнетать процессинг антигена для МНС класса II [15; 16].

Взаимодействие между функцией многих активированных субпопуляций Т-лимфоцитов, узнающих многочисленные АГ микобактерий, и способностью *M. tuberculosis* блокировать эффекторную фазу иммунного ответа, возможно, и определяет широкий диапазон развития инфекции: от невыявленной персистенции до активного туберкулезного процесса.

Развитие геномики и протеомики *M. tuberculosis* и расширение знаний молекулярных механизмов процессинга антигенов и активации Т-клеток позволит установить картину межмолекулярных взаимодействий в системе «хозяин — патоген» при туберкулезной инфекции.

Важную роль в защите против инфекции, вызванной *M. tuberculosis*, играет IRF-1. Его структура изучена, выделен и клонирован ген IRF-1. Известно, что IRF-1 индуцируется многими агентами (некоторые вирусы, IFNα/β, TNF-α). Однако наиболее выраженную и длительную его экспрессию вызывает IFN-γ. Так как у IRF-1 есть много индукторов, то не уди-

вительно, что он выполняет много функций, некоторые из которых совпадают с функциями других членов семейства IRF [17–19].

При туберкулезе усиливается индукция IRF-1 в альвеолярных макрофагах и в клетках BAL. Причем, существует несколько механизмов его индукции. Первый из них связан с активацией NF-κB в результате взаимодействия *M. tuberculosis* с TLR-2 и TLR-4, а также аутокринного ответа на IL-1β и TNFα, которые продуцируются индуцированными макрофагами. При активации Jak-Stat пути другие цитокины, продуцируемые инфицированными клетками (INF α/β, INF-γ, IL-12) также могут участвовать в индукции IRF-1 в инфицированных макрофагах или в других клетках, вовлекаемых в очаг инфекции. Аутокринная индукция IRF-1 в инфицированных клетках при активации NF-κB или Jak-Stat пути или обоих сразу — часть врожденного иммунитета, а паракринная индукция IRF-1 в привлеченных в очаг клетках способствует переходу к приобретенному иммунитету [20–22].

IRF-1 играет важную роль в презентации АГ и, следовательно, во взаимодействии между инфицированными клетками и Т-лимфоцитами, оказывает влияние на выработку субпопуляции специфических Т-клеток. IRF-1 экспрессирует гены, необходимые для генерации реактивных метаболитов азота и кислорода, а также вовлечен в экспрессию классического и неклассического генов МНС класса I и генов МНС класса II [23–26].

M. tuberculosis являются сильными индукторами экспрессии хемокинов, которые играют важную роль в привлечении макрофагов в легкие при туберкулезе и их взаимодействии с Т-лимфоцитами. Хемокины необходимы для локальной организации клеток в гранулемах. В привлечении Т-лимфоцитов к очагу инфекции играют роль и различные интегрины [27–30].

Экспрессия хемокинов макрофагами находится под влиянием продукции TNF-α. Предполагается, что TNF-α влияет на экспрессию хемокинов в инфицированных *M. tuberculosis* легких, управляя образованием гранулемы. Гранулема — очаговое накопление мононуклеаров в месте инфекции *M. tuberculosis*. Макрофаги, инфицированные микобактериями, вырабатывают TNF-α. Последний влияет на продукцию хемокинов. Т-лимфоциты, привлеченные к месту инфекции, вырабатывают IFN-γ, которые также изменяют продукцию некоторых хемокинов. Соответствующий градиент хемокинов является причиной миграции клеток (моноцитов/макрофагов, Т- и В-лимфоцитов) в место нахождения инфицированных макрофагов и происходит формирование гранулемы. В отсутствие TNF градиент хемокинов не регулируется и миграция клеток не осуществляется.

Поэтому гранулема не формируется или, сформировавшись, распадается. Клетки мигрируют в легкие, но вместо формирования гранулемы рассеиваются по всей легочной ткани, вызывая ее деструкцию [31–33].

Важной проблемой в борьбе с туберкулезом является понимание сути латентной инфекции, то есть механизмов устойчивости *M. tuberculosis* к иммунным реакциям хозяина и проведенной химиотерапии. Интенсивные исследования моделей туберкулеза у мышей позволили выявить некоторые факторы, обеспечивающие персистенцию микобактерий. Еще предстоит выяснить важность этих факторов у человека. Корнельская модель — полезная модель для изучения индуцированной химиотерапией латентности у мышей, но она может не соответствовать латентности у человека, которая обычно возникает при естественном иммунном ответе [34].

Основным механизмом иммунологического ограничения туберкулезной инфекции является формирование гранулем. Главными клеточными элементами гранулемы являются макрофаги и Т-лимфоциты. Гранулемы проходят определенные стадии своего созревания, которое завершается казеозным некрозом. В основе казеозного распада тканей лежит ГЗТ, характерная для иммунного ответа при туберкулезе. Активированные Т-цитолитические лимфоциты убивают макрофаги, содержащие в себе *M. tuberculosis*. Последние разрушаются, вызывая гибель тканей. Целыми сохраняются лишь эластические волокна альвеол, что и обеспечивает плотность и эластическую консистенцию очагов казеозного некроза [35–37].

При этом подавляющее большинство (если не все) туберкулезных палочек погибает. Следовательно, ГЗТ при туберкулезе — вынужденная реакция, направленная на уничтожение спрятавшихся внутри клеток бактерий. Бактерии в казеозной массе выживать и размножаться не могут из-за отсутствия кислорода, низкого рН и наличия разнообразных биологически активных веществ, высвобождающихся из погибших макрофагов. Антигены разрушенных микобактерий усиливают накопление вокруг очага популяции Т-лимфоцитов, которые выделяют INF- γ и другие цитокины. Последние активируют местные макрофаги, которые уничтожают бактерии, выходящие за пределы зоны некроза. У иммунологически компетентного хозяина вокруг некротизированных тканей формируется капсула. Казеозные массы со временем подвергаются кальцинации и даже оссификации. В таких структурах жизнеспособных бактерий нет [38; 39].

В некоторых случаях нет такой последовательности созревания гранулемы. Она довольно длительное время существует без четко очер-

ченной капсулы. Предполагается, что во внеклеточном пространстве в этих структурах остаются жизнеспособные бактерии, не проявляющие метаболической активности и находящиеся в состоянии латентности.

В небольшом числе случаев происходит размягчение плотного некроза. При этом размягченные массы высвобождаются через бронхиальное дерево, и образуется каверна. В обогащенной кислородом среде резко возрастает число размножающихся бактерий, которые при кашле выходят наружу, а также распространяются в легочной ткани.

Бациллы, расположенные внеклеточно внутри легочной каверны, быстро дают мутантные формы, резистентные к противотуберкулезным препаратам, что требует более длительного применения лекарств в различных комбинациях.

Исследованиями последних десятилетий четко доказано, что генетические факторы хозяина играют немаловажную роль в развитии инфекционных заболеваний. Это в полной мере касается и туберкулеза. Ведь клиническая картина заболевания развивается менее, чем у 10 % людей с нормально функционирующей системой иммунитета. В начале заболевания врожденный иммунитет, возможно, является решающим фактором, так как он определяет судьбу туберкулезной палочки: либо она будет убита, либо поселится внутри макрофага [40].

Развитие стойкого иммунитета к *M. tuberculosis* или болезни — результат взаимодействия между продуктами генов вирулентности тех или иных штаммов туберкулезной палочки и защитными реакциями хозяина, которые детерминируются определенными аллелями многих генов, и он варьирует в течение инфекции [41–43].

Влияние генетических факторов на восприимчивость к микобактериальной инфекции четко продемонстрировано на моделях туберкулеза. Таким образом были идентифицированы гены *Nramp1*, *Bcg* [44–49]. Несмотря на это, мышинные модели страдают определенными ограничениями. Во-первых, микобактерии, которые вводились мышам в лабораторных условиях, не были их естественными патогенами. Применялись различные пути введения бактерий. Во-вторых, лабораторные мыши — инбредные мыши, которые имеют сниженную резистентность к инфекциям. Человеческие популяции, напротив, — разнообразные генетические группы с естественным течением большинства микобактериальных инфекций [50–52].

Для выявления генов хозяина, которые вовлечены в восприимчивость к туберкулезной инфекции, используют несколько методов. Кроме указанного выше моделирования на животных, изучают отдельных индивидуумов с маркерами специфической восприимчивости к обычно

непатогенным микроорганизмам; изучают гены — кандидаты к инфекции, сцепление генов в геноме на основе семейных исследований. Каждый из этих методов имеет свои преимущества и недостатки, поэтому их в последнее время применяют в комплексе. Расшифровка генома человека расширила возможности медицинской генетики. Основные усилия исследователей направлены на изучение генетических основ иммунного ответа человека на микобактерии в естественных условиях. Гены восприимчивости к туберкулезу, выявленные в большом количестве популяций, могут стать основой для создания новых лечебных препаратов.

Важное значение в борьбе с туберкулезом имеет изучение на молекулярном уровне особенностей функционирования патогена на различных этапах развития инфекционного процесса.

Достижения молекулярной биологии конца XX — начала XXI вв. предоставили в распоряжение исследователей методы исследования генома микобактерий, которые позволили выйти на качественно новый уровень понимания понятий вирулентности, патогенности, персистенции микобактерий в организме хозяина, а также коренным образом изменили подходы к диагностике, эпидемиологическому мониторингу, лечению и профилактике туберкулеза и микобактериозов.

Прежде всего, это коснулось методов лабораторной диагностики заболеваний, вызванных микобактериями. В последнее время стало очевидным, что рутинные бактериологические методы не в полной мере обеспечивают качественную своевременную диагностику заболевания, особенно в условиях распространения эпидемии ВИЧ-инфекции и неуклонного нарастания показателей лекарственной устойчивости возбудителей туберкулеза [53; 54]. Высокоэффективные скоростные молекулярно-генетические методы диагностики туберкулеза, основанные на использовании ПЦР и гибридизационных технологий, являются, по нашему мнению, оптимальными «методами выбора» для нашей страны и других регионов с высокими показателями заболеваемости в условиях ограниченного финансирования, не позволяющего в настоящее время широко применять дорогостоящие технологии ускоренного выращивания микобактерий ВАСТЕС. Неоценимым преимуществом молекулярно-генетических методов является возможность их использования в решении проблем диагностики внелегочного туберкулеза и микобактериозов — вопросов, которые вплоть до настоящего времени практически не решались и с применением микробиологических методов [55].

Ограниченность спектра эффективных противотуберкулезных препаратов выводит на

первый план проблему надежной и своевременной диагностики лекарственной устойчивости микобактерий. До последнего времени мишени и механизмы действия большинства противотуберкулезных препаратов (ПТП) оставались неизвестными. Как выяснилось, взаимодействие ПТП с микобактериями в большинстве случаев носит сложный многоступенчатый характер, что, по-видимому, обусловлено своеобразием молекулярных механизмов туберкулезной инфекции в системе «патоген — хозяин». В отличие от большинства патогенных микроорганизмов, устойчивость которых к антибактериальным препаратам обусловлена плазмидными генами, у микобактерий основные детерминанты устойчивости находятся в самой микобактериальной хромосоме. В связи с этим основным механизмом возникновения их лекарственной устойчивости является селекция резистентных микобактерий в условиях неадекватной химиотерапии, при этом горизонтальный перенос (трансформация) факторов резистентности практически отсутствует. Из этого понятно, насколько важным для эффективной терапии является своевременная и точная диагностика устойчивости штамма, изолированного от больного [56–59].

Идентификация генов, ассоциированных с устойчивостью к большинству ПТП, позволила разработать широкий спектр молекулярно-генетических методов диагностики лекарственной устойчивости, основанных на изучении нуклеотидных последовательностей в соответствующих генах. Практически наиболее важным в клиническом и эпидемиологическом отношении является экспресс-диагностика мультirezистентности микобактерий (устойчивости одновременно к изониазиду и рифампицину). По данным литературы и наших экспериментов, применение достаточно простых и дешевых методов амплификации фрагментов генов, ответственных за возникновение устойчивости к данным препаратам, в сочетании с использованием ДНК-зондов позволяет выявлять более 90 % лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий. Высокоэффективные и надежные в использовании некоммерческие молекулярно-генетические тест-системы для выявления мультirezистентности особенно подходят для проведения экспресс-диагностики лекарственной устойчивости и проведения эпидемиологического мониторинга в странах с высокими уровнями заболеваемости и устойчивости [60–63]. Вопросом первостепенной важности является скорейшая разработка и внедрение государственной программы по изучению уровней лекарственной устойчивости штаммов микобактерий, циркулирующих в Украине, с целью прогнозирования эпидемиологической ситуации и внедрения наиболее эффективных схем

лечения туберкулеза на основе стратегии DOTS/DOTS+ с учетом региональных особенностей.

Проблемы лекарственной устойчивости микобактерий, без сомнения, тесно взаимосвязаны с понятиями вирулентности и патогенности. Всегда ли прямо связаны уровни заболеваемости и лекарственной устойчивости и чем можно объяснить различия этих показателей даже во вполне эпидемиологически благополучных регионах? Только в последнее время, на основе использования последних достижений молекулярной генетики, удалось определить генотипы штаммов микобактерий, циркулирующих на определенных территориях, и выявить среди них, с одной стороны, малораспространенные, а с другой — в высшей степени эпидемиологически «успешные», завоевавшие миллионы квадратных километров территорий и инфицировавшие миллионы людей. К последней группе принадлежат, например, штаммы группы W, в частности, семейство Beijing, ассоциированное с высокими уровнями лекарственной устойчивости и распространенное на обширных территориях России и Китая. Методы молекулярной эпидемиологии, основанные, главным образом, на изучении высокоповторяющихся последовательностей в геноме микобактерий, позволили во многом приблизиться к решению проблемы реального прогнозирования течения эпидемического процесса. Первые шаги сделаны и в направлении понимания генетических механизмов ассоциированности определенных генотипов *M. tuberculosis* с той или иной степенью вирулентности и лекарственной устойчивости [64–68].

Важнейшими компонентами эпидемиологического мониторинга являются исследование очага инфекции, определение уровней текущей трансмиссии заболевания и вклада экзогенной инфекции, прослеживание путей заражения и определение факторов риска заболевания. Во многих странах внедрены общенациональные программы генотипирования микобактерий (в частности, на основе методов ПДРФ, а в самое последнее время — и MIRU), что позволило гораздо глубже понять закономерности распространения туберкулезной инфекции и в значительной степени улучшить эпидемиологическую обстановку. Этот путь является приоритетным и для нашей страны [69–73].

Таким образом, на основе разработки и внедрения современных молекулярно-генетических методов исследования микобактерий туберкулеза удалось значительно продвинуться в понимании закономерностей развития туберкулезной инфекции на уровне генома и генотипа — т. е. материальных основ, определяющих

существование организма. Дальнейший прогресс в борьбе с одним из наиболее успешных (если не самым успешным) патогенов человека будет определяться тем, насколько далеко мы сможем продвинуться в понимании взаимосвязи между генотипом микроорганизма, генотипом макроорганизма, их экспрессией в условиях инфицирования и развития инфекционного процесса, в том числе на фоне лекарственной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ernst J. D. Macrophage receptors for *Mycobacterium tuberculosis* // *Infect. Immun.* — 1998. — Vol. 66. — P. 1277-1281.
2. Boom W. H. The role of T-cell subsets in *M. tuberculosis* infection // *Infections Agent Dis.* — 1996. — Vol. 5. — P. 73-81.
3. Hopewell P. C. Impact of human immunodeficiency virus infection on the epidemiology, clinical features, management, and control of tuberculosis // *Clin. Infect. Dis.* — 1992. — Vol. 15. — P. 540-547.
4. Hay J. C. SNARE complex structure and function // *Exp. Cell. Res.* — 2001. — Vol. 271. — P. 10-21.
5. CD4⁺ alpha-beta T-cell and gamma delta T-cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*: similarities and differences in antigen recognition cytotoxic effector function and cytokine production / K. Tsukaguchi, K. N. Balaji et al. // *J. Immunol.* — 1995. — Vol. 154. — P. 1786-1796.
6. Differential regulation of IFN-gamma, TNF-alpha, and IL-10 production by CD4(+) alphabeta TCR+ T-cell and vdelta2(+) gammadelta T cell in response to monocytes infected with *Mycobacterium tuberculosis*-H37Ra / K. Tsukaguchi, B. de Lange et al. // *Cell Immunol.* — 1999. — Vol. 194 (1). — P. 12-20.
7. CD4⁺ and CD8⁺ T-cell kill intracellular *M. tuberculosis* by a performing and FAS/FASL independent mechanism / D. H. Canaday, R. J. Wilkinson, Q. Li et al. // *J. Immunol.* — 2001. — Vol. 167. — P. 2734-2742.
8. Molecular characterization and human T-cell responses to a member of a novel *Mycobacterium tuberculosis* mtb39 gene family / D. C. Dillon, M. R. Alderson, C. H. Day et al. // *Infect. Immun.* — 1999. — Vol. 67. — P. 2941-2950.
9. Th1/Th2 profiles in tuberculosis, based on the proliferation and cytokine response of blood lymphocytes to mycobacterial antigens / H. M. Surcel, M. Troye-Blomberg, S. Paulie et al. // *Immunology.* — 1994. — Vol. 81. — P. 171-176.
10. Human alveolar T-lymphocyte responses to *Mycobacterium tuberculosis* antigens: role for CD4⁺ and CD 8⁺ cytotoxic T cell and relative resistance of alveolar macrophages to lysis / J. S. Tan, D. H. Canaday, W. H. Boom et al. // *J. Immunol.* — 1997. — Vol. 159. — P. 290-297.
11. Activation of human CD8⁺ ab TCR⁺ cells by *Mycobacterium tuberculosis* via an alternate class I MHC antigen-processing pathway / D. H. Canaday, C. Ziebold, E. H. Noss et al. // *J. Immunol.* — 1999. — Vol. 162. — P. 372-379.
12. Identification by mass spectrometry of CD8(+)- T-cell *Mycobacterium tuberculosis* epitopes within the Rv0341 gene product / D. C. Flyer, V. Ramakrishna, C. Miller et al. // *Infect. Immunol.* — 2002. — Vol. 70. — P. 2926-2932.

13. *Molecular epidemiology of tuberculosis* / P. Barnes, D. Cave et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2003. — Vol. 349. — P. 1149-1156.
14. *Ulrichs T., Porcelli S. A.* CD1 proteins: targets of T-cell recognition in innate and adaptive immunity // *Rev. Immunogenet* — 2000. — Vol. 2. — P. 416-432.
15. *Recognition* of Gram-positive bacterial cell wall components by the innate immune system occurs via Toll-like receptor / A. Yoshimura, E. Lien et al. // *J. Immunol.* — 1999. — Vol. 1633 (1). — P. 1-5.
16. *Human toll-like receptors mediate cellular activation Mycobacterium tuberculosis* / O. Takeuchi, K. Hoshino, T. Kawai et al. // *J. Immunol.* — 1999. — Vol. 163. — P. 3920-3927.
17. *Schluger N. W., Rom W. N.* The host immune response to tuberculosis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 1998. — Vol. 157. — P. 679-691.
18. *Interferon regulatory factors: the next generation* / Y. Mamane, C. Heylbroeck, P. Genin et al. // *Gene.* — 1999. — Vol. 237. — P. 1-14.
19. *IRF family of transcription factors as regulators of host defense* / T. Taniguchi, K. Ogasawara, A. Takaoka et al. // *Annu. Rev. Immunol.* — 2001. — Vol. 19. — P. 623-655.
20. *Human toll-like receptors mediate cellular activation by Mycobacterium tuberculosis* / T. K. Means, S. Wang, E. Lien et al. // *J. Immunol.* — 1999. — Vol. 163. — P. 3920-3927.
21. *Differential effects of a toll-like receptor antagonist on Mycobacterium tuberculosis-induced macrophage responses* / T. K. Means, B. W. Jones, A. B. Schoromm et al. // *J. Immunol.* — 2001. — Vol. 166. — P. 4074-4082.
22. *Imada K., Leonard W.* The Jak-Stat pathway // *Mol. Immunol.* — 2000. — Vol. 37. — P. 1-11.
23. *Mycobacterium tuberculosis-reactive CD8+ T-lymphocytes: the relative contribution of classical versus non-classical HLA restriction* / D. M. Lewinsohn, A. L. Briden, S. G. Reed et al. // *J. Immunol.* — 2000. — Vol. 165. — P. 925-930.
24. *Induction of M3-restricted cytotoxic T-lymphocytes responses by N-formulated peptides derived from Mycobacterium tuberculosis* / T. Chun, N. V. Serbina, D. Nolt et al. // *J. Exp. Med.* — 2001. — Vol. 193. — P. 1213-1220.
25. *Lefebvre S., Berrih-Aknin S., Adrian F.* Specific interferon (IFN)-stimulated response element of the distal HLA-G-promoter binds IFN-regulatory factor 1 and mediates enhancement of this nonclassical class I gene by IFN-beta // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. — P. 6133-6139.
26. *Susceptibility of mice deficient in CD1D or TAPI to infection with Mycobacterium tuberculosis* / S. M. Behar, C. C. Dascher, M. J. Grusby et al. // *J. Exp. Med.* — 1999. — Vol. 189. — P. 1937-1980.
27. *Beta-chemokines are induced by Mycobacterium tuberculosis and inhibit its growth* / J. S. Saukkonen, B. Bazydlo, M. Thomson et al. // *Infect. Immunol.* — 2002. — Vol. 70. — P. 1684-1693.
28. *Chemokines induced by infection of mononuclear phagocytes with mycobacteria and present in lung alveoli during active pulmonary tuberculosis* / M. I. Sadek, E. Sada, Z. Toossi et al. // *Am. J. Cell. Mol. Biol.* — 1998. — Vol. 19. — P. 513-521.
29. *Chemokine receptor 2 serves an early and essential role in resistance to Mycobacterium tuberculosis* / W. Peters, H. M. Scott, H. F. Chambers et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* — 2001. — Vol. 98. — P. 7958-7963.
30. *Influence of trehalose 6,6'-dimycolate (TDM) during mycobacterial infection of bone marrow macrophages* / J. Indrigo, Jr. R. L. Hunter, J. K. Actor et al. // *Microbiology.* — 2002. — Vol. 148. — P. 1991-1998.
31. *Chemokine networks in vivo* / P. A. Tessier, P. H. Nacache, I. Clark-Lewis et al. // *J. Immunol.* — 1997. — Vol. 159. — P. 3595-3602.
32. *Up-regulation of HIV coreceptors CXCR 4 and CCR on CD4(+) T cells during human endotoxemia and after stimulation with (myco) bacterial antigens: the role of cytokines* / N. P. Juffermans, W. A. Paxton, P. E. Dekkers et al. // *Blood.* — 2000. — Vol. 96. — P. 2649-2654.
33. *Lane B. R., Markovitz D. M., Woodford N. L.* TNF-alpha inhibits HIV-1 replication in peripheral blood monocytes and alveolar macrophages by inducing the production of RANIES and decreasing C-C chemokine receptor 5 (CCR5) expression // *J. Immunol.* — 1999. — Vol. 163. — P. 3653-3661.
34. *Molecular evidence of endogenous reactivation of Mycobacterium tuberculosis after 33 years of latent infection* / T. Lillebaek, A. Dirksen, I. Baess et al. // *J. Infect. Dis.* — 2002. — Vol. 185. — P. 401-404.
35. *Characterization of murine lung dendritic cells infected with Mycobacterium tuberculosis* / M. Gonzales-Juarretero, I. M. Orme et al. // *Infect. Immunol.* — 2001. — Vol. 69. — P. 1127-1133.
36. *Human toll-like receptors mediate cellular activation by Mycobacterium tuberculosis* / T. K. Means, S. Wang, E. Lien et al. // *J. Immunol.* — 1999. — Vol. 163. — P. 3920-3927.
37. *Microbial lipopeptides stimulate dendritic cell maturation via Toll-like receptor 2* / C. J. Hertz, S. M. Kiertscher, P. J. Godowski et al. // *J. Immunol.* — 2001. — Vol. 166. — P. 2444-2450.
38. *Flynn J. L., Chan J.* Tuberculosis: latency and reactivation // *Infect. Immune.* — 2001. — Vol. 69. — P. 4195-4201.
39. *Zahrt T. C., Deretic V.* Reactive nitrogen and oxygen intermediates and bacterial defenses: unusual adaptations in Mycobacterium tuberculosis // *Antioxid. Redox. Signal.* — 2002. — Vol. 4. — P. 141-159.
40. *Walksman S. A.* The conquest of tuberculosis. — London: Robert Hale Limited, 1964.
41. *Motulsky A. G.* Metabolic polymorphism and the role of infectious diseases in human evolution // *Hum. Biol.* — 1960. — Vol. 32. — P. 28-62.
42. *Interferon-g-receptor deficiency in an infant with fatal basille Calmette-Guerin infection* / E. Jouanguy, E. Altare, S. Lamhamedi et al. // *N. Engl. J. Med.* — 1996. — Vol. 335. — P. 1956-1961.
43. *Casanova J. L., Abel L.* Genetic dissection of immunity to mycobacteria: the human model // *Annu. Rev. Immunol.* — 2002. — Vol. 20. — P. 581-620.
44. *Brown I. N., Clynn A. A., Plant J. E.* Inbred mouse strain resistance to Mycobacterium lepraemurium follows the Ity/Lsh pattern // *Immunology.* — 1982. — Vol. 47. — P. 149-156.

45. Crocer P. R., Blackwell J. M., Bradley D. J. Expression of the natural resident liver macrophages // *Infect. Immunol.* — 1984. — Vol. 43. — P. 1033-1040.
46. Differences in response among inbred mouse strains to infection with small doses of *Mycobacterium bovis* BCG / A. Forget, E. Skamene, P. Gros et al. // *Infect. Immunol.* — 1981. — Vol. 32. — P. 42-47.
47. Phenotypic expression of genetically-controlled natural resistance to *Mycobacterium bovis* (BCG) / J. L. Stach, P. Gros, A. Forget et al. // *J. Immunol.* — 1984. — Vol. 132. — P. 888-892.
48. NH_2 -terminal sequence of macrophage — expressed natural resistance — associated macrophage protein (Nramp) encodes a proline / serine- rich putative Src homology 3-binding domain / C. H. Barton, J. K. White, T. I. A. Roach et al. // *J. Exp. Med.* — 1994. — Vol. 179. — P. 1683-1687.
49. Genomic structure, promoter sequence, and induction of expression of the mouse Nramp 1 gene in macrophages / G. Govoni, S. Vidal, M. Gellier et al. // *Genomics.* — 1995. — Vol. 27. — P. 9-19.
50. Natural resistance to infection with intracellular pathogens: the Nramp 1 protein is recruited to the membrane of the phagosome / S. Gruenheid, E. Pinner, M. Desjardins et al. // *J. Exp. Med.* — 1997. — Vol. 185. — P. 717-730.
51. Gomes M. S., Appeleberg R. Evidence for a link between iron metabolism and Nramp1 gene function in innate resistance against *Mycobacterium avium* // *Immunology.* — 1998. — Vol. 95. — P. 165-168.
52. Production of monocyte chemo attractant protein 1 in tuberculosis patients / Y. Lin, J. Gong, M. Zhang et al. // *Infect. Immunol.* — 1998. — Vol. 66. — P. 2319-2322.
53. Борисов С. Е. Диагностика туберкулеза: возможности и пределы // *Пробл. туберкулеза.* — 2001. — № 3. — С. 5-9.
54. Маянский А. Н. Туберкулез (микробиологические и иммунологические аспекты) // *Иммунология.* — 2001. — № 2. — С. 53-63.
55. Modern laboratory diagnosis of tuberculosis / F. A. Drobniewski, M. Caws, A. Gibson et al. // *Lancet Infect. Dis.* — 2003. — Vol. 3 (3). — P. 141-147.
56. Blanchard J. S. Molecular mechanisms of drug resistance in *Mtb* // *Annu. Rev. Biochem.* — 1996. — Vol. 65. — P. 215-239.
57. Detection of rifampicin-resistance mutation in *Mtb* / A. Teleni, P. Imboden, F. Marchesi et al. // *Lancet.* — 1993. — Vol. 341. — P. 647-650.
58. Characterization of *pncA* mutation in pyrazinamide resistant *Mycobacterium tuberculosis* / A. Scoprio, P. Lindholm-Levy, L. Hefets et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 1997. — Vol. 41. — P. 540-542.
59. Douglass J., Steyn L. M. A ribosomal gene mutation in streptomycin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates // *J. Infect. Dis.* — 1993. — Vol. 167 (6). — P. 1505-1506.
60. DNA sequencing with chainterminating inhibitors / F. Sanger, S. Nicklen, A. R. Coulson et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1977. — Vol. 74. — P. 5463-5467.
61. Drobniewski F. A., Wilson S. M. The rapid diagnosis of isoniazid and rifamping resistance in *Mycobacterium tuberculosis* a molecular story // *J. Med. Microbiol.* — 1998. — Vol. 467. — P. 189-196.
62. Evaluation of the INNO-LiPA Rif. TB assay, a revers hybridization assay for the simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and its resistance to rifamping / R. Rossau, H. Traore, H. De Beenhouwer et al. // *Antimicrob. Agents and Chemotherapy.* — 1997. — Vol. 41. — P. 2093-2098.
63. Genetic Diversity of *Mycobacterium africanum* Clinical Isolates Based on IS6110-Restriction Fragment Polymorphism Analysis, Spoligotyping and Variable Number of Tandem DNA Repeats / C. Viana-Niero, C. Gutierrez, C. Sola et al. // *J. Clin. Microbiol.* — 2001. — Vol. 39. — P. 57-65.
64. Occurrence and stability of insertion sequences in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: evaluation of an insertion sequence-dependent DNA polymorphism as a toll in epidemiology of tuberculosis / D. Soolingen, P. W. Hermans, P. E. de Haas et al. // *Jornal of Clinical Microbiology.* — 1991. — Vol. 29. — P. 2578-2586.
65. An outbreak of tuberculosis with accelerated progression among persons infected with the human immunodeficiency virus. An analysis using restriction-fragmentlength polymorphisms / C. L. Daley, P. M. Small, G. F. Schecter et al. // *New England Journal of Medicine.* — 1992. — Vol. 326. — P. 231-235.
66. Molecular approach to identifying route of transmission of tuberculosis in the community / A. Genewein, A. Teleni, C. Bemasconi et al. // *Lancet.* — 1993. — Vol. 342. — P. 814-844.
67. Rifamping and Multidrug-resistant tuberculosis in Russian civilians and prison inmates: dominance of the Beijing strain family / F. A. Drobniewski, Y. M. Balabanova, M. Ruddy et al. // *Emerg. Infect. Dis.* — 2002. — Vol. 8. — P. 1320-1326.
68. Murray M., Nardell E. Molecular epidemiology of tuberculosis achievements and challenges to current knowledge // *Bulletin of the World Health Organization.* — 2002. — Vol. 80. — P. 477-482.
69. A multi-institutional outbreak of highly drug-resistant tuberculosis: epidemiology and clinical outcomes / T. R. Frieden, L. F. Sherman, K. L. Maw et al. // *JAMA.* — 1996. — Vol. 276. — P. 1229-1235.
70. *Mycobacterium tuberculosis* *phoP* mutant: lipoarabinomannan molecular structure / P. Ludwiczak, M. Gilleron, Y. Bordat et al. // *Microbiology.* — 2002. — Vol. 148. — P. 3029-3037.
71. Phylogenetic reconstruction within *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype in North Western Russia / I. Mokrousov, O. Narvskaya, T. Otten et al. // *Researchin Microbiol.* — 2002. — Vol. 153. — P. 629-637.
72. Genotyping of the *Mycobacterium tuberculosis* complex using MIRUs: association with VNTR and spoligotyping for molecular epidemiology and evolutionary genetics / C. Sola, I. Filliol, E. Legrand et al. // *Infection. Genetics and Evolution.* — 2003. — Vol. 3. — P. 125-133.
73. *Mycobacterial* interspersed repetitive unit typing of *Mycobacterium tuberculosis* compared to IS6110-based restriction fragment length polymorphism analysis for 5 investigation of apparently clustered cases of tuberculosis / P. M. Hawkey, E. G. Smith, J. T. Evans et al. // *J. Clin. Microbiol.* — 2003. — Vol. 41 (8). — P. 3514-3520.