

ДАЙДЖЕСТ: ТУБЕРКУЛЬОЗ

Останні новини щодо резистентності мікобактерії туберкульозу

R. Singh et al. Журнал J. Appl. Microbiol. Червень 2020;
128 (6): 1547-1567. ЦИО (doi): 10.1111/jam.14478.
Опубліковано онлайн 29 жовтня 2019 р.

Туберкульоз (ТБ) разом із синдромом набутого імунodefіциту та малярією входять до трійки найлетальніших інфекційних захворювань, які становлять загрозу світовому здоров'ю, особливо в країнах із середнім і низьким рівнями доходу. ТБ, спричинений мікобактеріями туберкульозу (МБТ), є повітряно-крапельною інфекцією; третина світового населення інфікується ТБ, що призводить до майже 1,6 млн смертей щороку. Протитуберкульозні препарати вводяться в різних комбінаціях чотирьох засобів першої лінії (рифампіцин, ізоніазид, піразинамід та етамбутол), які становлять основу схем лікування на початковій фазі тривалістю 6-9 місяців. Кілька причин пояснюють низьку ефективність терапії ТБ: пізня діагностика; відсутність своєчасного та належного введення ефективних препаратів; низька доступність менш токсичних, недорогих та ефективних препаратів; довга тривалість лікування; невідповідність режиму прийому препаратів; еволюція резистентних штамів ТБ. Резистентний до ліків ТБ являє собою значну проблему для програм лікування та контролю захворювання. На тіл всесвітньої появи 558 тис. нових випадків ТБ з резистентністю до рифампіцину (станом на 2017 рік), 82 % з яких стали мультирезистентним (МР) ТБ, важливо постійно оновлювати знання про механізми та молекулярні передумови розвитку резистентності МБТ. Цей огляд підсумовує прогрес протитуберкульозних препаратів, спосіб їхньої дії та механізми резистентності МБТ. Метою є надання даних останніх досліджень щодо механізмів резистентності до лікарських засобів загалом, нещодавно розроблених / удосконалених протитуберкульозних препаратів, які працюють, і міжнародних рекомендацій щодо лікування МРТБ. Огляд базується на актуальній літературі й рекомендаціях Всесвітньої організації охорони здоров'я та має на меті сприяти кращому розумінню стійкості до препаратів для ефективної терапії ТБ.

Казеоз – ніша для персистенції резистентної мікобактерії туберкульозу

J. Sarathy, V. Dartois. Журнал Clin. Microbiol. Rev. Квітень 2020; 33 (3): e00159-19. ЦИО (doi): 10.1128/CMR.00159-19.
Опубліковано 17 червня 2020 р.

Казеоз, основний некротичний матеріал туберкульозних уражень, є резервуаром резистентних мікобактерій. Казеозний некротичний матеріал перебуває в закритих вузликах і відкритих порожнинах, які з'єднуються з дихальними шляхами. Кілька загальновідомих характеристик казеозу були встановлені в доантибіотичну еру, коли розтини померлих від ТБ були поширеним явищем, але методології були обмеженими. Ці новаторські дослідження породили такі поняття, як

Recent updates on drug resistance in Mycobacterium tuberculosis

R. Singh et al. J. Appl. Microbiol. 2020 Jun; 128 (6):
1547-1567. doi: 10.1111/jam.14478.
Epub 2019 Oct 29.

Tuberculosis (TB) along with acquired immune deficiency syndrome and malaria rank among the top three fatal infectious diseases which pose threat to global public health, especially in middle and low income countries. TB caused by Mycobacterium tuberculosis (MTB) is an airborne infectious disease and one-third of the world's population gets infected with TB leading to nearly 1.6 million deaths annually. TB drugs are administered in different combinations of four first-line drugs (rifampicin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol) which form the core of treatment regimens in the initial phase of 6-9 months. Several reasons account for the failure of TB therapy such as late diagnosis; lack of timely and proper administration of effective drugs; lower availability of less toxic, inexpensive and effective drugs; long treatment duration; nonadherence to drug regimen; evolution of drug-resistant TB strains. Drug-resistant TB poses a significant challenge to TB therapy and control programs. In the background of worldwide emergence of 558,000 new TB cases with resistance to rifampicin in the year 2017 and of them, 82 % becoming multidrug-resistant TB (MDR-TB), it is essential to continuously update the knowledge on the mechanisms and molecular basis for evolution of MTB drug resistance. This narrative and traditional review summarizes the progress on the anti-tubercular agents, their mode of action and drug resistance mechanisms in MTB. The aim of this review is to provide recent updates on drug resistance mechanisms, newly developed / repurposed anti-TB agents in pipeline and international recommendations to manage MDR-TB. It is based on recent literature and World Health Organization guidelines and aims to facilitate better understanding of drug resistance for effective TB therapy and clinical management.

Caseum is a niche for Mycobacterium tuberculosis drug-tolerant persisters

J. Sarathy, V. Dartois. Clin. Microbiol. Rev. 2020 Apr 1;
33 (3): e00159-19. doi: 10.1128/CMR.00159-19.
Print 2020 Jun 17.

Caseum, the central necrotic material of TB lesions, is a reservoir of drug-recalcitrant persisting mycobacteria. Caseum is found in closed nodules and in open cavities connecting with an airway. Several commonly accepted characteristics of caseum were established during the preantibiotic era, when autopsies of deceased TB patients were common but methodologies were limited. These pioneering studies generated concepts such as acidic pH, low oxygen tension, and paucity of nutrients being the drivers of nonreplication and

ДАЙДЖЕСТ: ТУБЕРКУЛЬОЗ

кислий рН, низький тиск кисню та недостатність поживних речовин, які є рушіями відсутності реплікації та персистенції в ділянці казеозного некрозу. Тут ми розглядаємо загальноприйняті уявлення про специфічні для казеозу фактори стресу, котрі, як вважається, спричиняють розвиток резистентності МБТ. Наші сучасні знання показують, що *M. tuberculosis* стикається зі збагаченою ліпідами дієтою, а не з дефіцитом поживних речовин у казеозному некротичному матеріалі. Змінна рН казеозу спостерігається в усіх місцях ураження, можливо, тимчасово кисла в ранніх ураженнях, але загалом майже нейтральна в більшості зрілих ділянок. Тиск кисню низький в аваскулярному казеозі закритих вузликів і високий на поверхні порожнини; градієнт зменшення тиску кисню, ймовірно, формується в напрямку стінки порожнини. Оскільки казеозний некроз переважно складається з інфікованих і некротизованих макрофагів, заповнених краплями ліпідів, мікросередовища, з якими стикається *M. tuberculosis* у пінистих макрофагах і в казеумі, мають багато подібностей. Незважаючи на певні прогалини в знаннях, ці висновки є надійною відправною точкою для розроблення високоефективних ліків, аналізуючи відкриття, що поєднують правильний баланс тиску кисню, рН, умісту ліпідів і видів ліпідів для моделювання резистентності МБТ до лікарських препаратів у ділянці казеозного некрозу.

Аналіз імунної відповіді на мікобактерії туберкульозу шляхом кластеризації Т-клітинних рецепторів за допомогою GLIPH2 та скринінгу антигена на рівні геному

H. Huang et al. Журнал *Nat. Biotechnol.* 1 жовтня 2020; 38 (10): 1194-1202. ЦіО (doi): 10.1038/s41587-020-0505-4. Опубліковано онлайн 27 квітня 2020 р.

CD4⁺ Т-клітини мають вирішальне значення для боротьби з патогенами, але всебічному аналізу специфіки Т-клітин людини заважає різноманітність алелів HLA (понад 20 тис.) і складність багатьох геномів патогенів. Раніше ми описали GLIPH, алгоритм кластеризації Т-клітинних рецепторів (TCR), які розпізнають однаковий епітоп і передбачають їх обмеження HLA, але цей метод втрачає ефективність і точність при аналізі понад 10 тис. TCR. Тут ми описуємо вдосконалений алгоритм, GLIPH2, який може обробляти мільйони послідовностей TCR. Ми використовували GLIPH2 для аналізу 19 044 унікальних послідовностей TCRβ від 58 осіб, приховано інфікованих МБТ, і групували їх відповідно до їхньої специфічності. Для ідентифікації епітопів, націлених на кластери МБТ-специфічних Т-клітин, ми провели скринінг 3724 різних білків, що охоплюють 95 % генів, які кодуєть білок МБТ, використовуючи штучні антигенпрезентувальні клітини та Т-хелпери. Ми виявили, що принаймні п'ять білків PPE (Pro-Pro-Glu) є мішенями для розпізнавання МБТ Т-клітинами.

persistence in caseum. Here we review widely accepted beliefs about the caseum-specific stress factors thought to trigger the shift of MTB to drug tolerance. Our current state of knowledge reveals that MTB is faced with a lipid-rich diet rather than nutrient deprivation in caseum. Variable caseum pH is seen across lesions, possibly transiently acidic in young lesions but overall near neutral in most mature lesions. Oxygen tension is low in the avascular caseum of closed nodules and high at the cavity surface, and a gradient of decreasing oxygen tension likely forms toward the cavity wall. Since caseum is largely made of infected and necrotized macrophages filled with lipid droplets, the microenvironmental conditions encountered by MTB in foamy macrophages and in caseum bear many similarities. While there remain a few knowledge gaps, these findings constitute a solid starting point to develop high-throughput drug discovery assays that combine the right balance of oxygen tension, pH, lipid abundance, and lipid species to model the profound drug tolerance of MTB in caseum.

Analyzing the Mycobacterium tuberculosis immune response by T-cell receptor clustering with GLIPH2 and genome-wide antigen screening

H. Huang et al. *Nat. Biotechnol.* 2020 Oct; 38 (10): 1194-1202. doi: 10.1038/s41587-020-0505-4. Epub 2020 Apr 27.

CD4⁺ T cells are critical to fighting pathogens, but a comprehensive analysis of human T-cell specificities is hindered by the diversity of HLA alleles (>20,000) and the complexity of many pathogen genomes. We previously described GLIPH, an algorithm to cluster T-cell receptors (TCR) that recognize the same epitope and to predict their HLA restriction, but this method loses efficiency and accuracy when >10,000 TCR are analyzed. Here we describe an improved algorithm, GLIPH2, that can process millions of TCR sequences. We used GLIPH2 to analyze 19,044 unique TCRβ sequences from 58 individuals latently infected with MTB and to group them according to their specificity. To identify the epitopes targeted by clusters of MTB-specific T-cells, we carried out a screen of 3,724 distinct proteins covering 95 % of MTB protein-coding genes using artificial antigen-presenting cells and reporter T-cells. We found that at least five PPE (Pro-Pro-Glu) proteins are targets for T-cell recognition in MTB.

Опосередкована ліпідами лізосомальна трансформація МБТ в інфікованих макрофагах модулює внутрішньоклітинний рух і виживання МБТ

K. Sachdeva et al. Журнал J. Biol. Chem. 3 липня 2020; 295 (27): 9192-9210. ЦІО (doi): 10.1074/jbc.RA120.012809. Опубліковано онлайн 18 травня 2020 р.

Внутрішньоклітинні патогени зазвичай маніпулюють лізосомною системою хазяїна для свого виживання. Проте, чи впливає ця патогенна зміна на організацію та функціонування самої лізосомальної системи, невідомо. Використовуючи інфекції *in vitro* й *in vivo* та кількісний аналіз зображень, ми показуємо, що вміст й активність лізосом у глобальному масштабі підвищені в інфікованих *M. tuberculosis* макрофагах. Ми помітили, що цей посилений лізосомальний стан зберігається з часом і визначає адаптивний гомеостаз у зараженому макрофагу. Лізосомні зміни спричинені мікобактеріальними поверхневими компонентами, особливо асоційованим із клітинною стінкою ліпідом – сульфоліпід-1 (SL-1), який функціонує через вісь mTOR комплексу 1 (mTORC1) – фактора транскрипції EB (TFEB) у клітинах хазяїна. Мутант МБТ, у якого відсутній SL-1, *MtbΔprks2*, демонструє ослаблення лізосомальних змін у порівнянні з WT (wild-type, немутований («дикий») тип) МБТ при інфекціях як *in vitro*, так й *in vivo*. Вплив макрофагів на очищений SL-1 посилює транспортування фагоцитарного вантажу до лізосом. Відповідно, *MtbΔprks2* демонстрував подальше зменшення транспортування лізосом у порівнянні з WT. Знижений обмін цього мутантного штаму МБТ до лізосом корелював із посиленням внутрішньоклітинним виживанням бактерій. Наші результати показують, що глобальна зміна лізосомальної системи хазяїна є визначальною особливістю інфікованих МБТ макрофагів і цей змінений лізосомний стан захищає цілісність клітини хазяїна та сприяє стримуванню патогена.

MTB lipid mediated lysosomal rewiring in infected macrophages modulates intracellular MTB trafficking and survival

K. Sachdeva et al. J. Biol. Chem. 2020 Jul 3; 295 (27): 9192-9210. doi: 10.1074/jbc.RA120.012809. Epub 2020 May 18.

Intracellular pathogens commonly manipulate the host lysosomal system for their survival. However, whether this pathogen-induced alteration affects the organization and functioning of the lysosomal system itself is not known. Here, using *in vitro* and *in vivo* infections and quantitative image analysis, we show that the lysosomal content and activity are globally elevated in MTB-infected macrophages. We observed that this enhanced lysosomal state is sustained over time and defines an adaptive homeostasis in the infected macrophage. Lysosomal alterations are caused by mycobacterial surface components, notably the cell wall-associated lipid sulfolipid-1 (SL-1), which functions through the mTOR complex 1 (mTORC1)-transcription factor EB (TFEB) axis in the host cells. An MTB mutant lacking SL-1, *MtbΔprks2*, shows attenuated lysosomal rewiring compared with the WT MTB in both *in vitro* and *in vivo* infections. Exposing macrophages to purified SL-1 enhanced the trafficking of phagocytic cargo to lysosomes. Correspondingly, *MtbΔprks2* exhibited a further reduction in lysosomal delivery compared with the WT. Reduced trafficking of this mutant MTB strain to lysosomes correlated with enhanced intracellular bacterial survival. Our results reveal that global alteration of the host lysosomal system is a defining feature of MTB-infected macrophages and suggest that this altered lysosomal state protects host cell integrity and contributes to the containment of the pathogen.