

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ЛАТЕНТНОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Т.К. Кондратьева¹, Т.Л. Ажикина², М.О. Шлеева³, А.С. Капрельянц³, А.С. Ант¹

Введение

Mycobacterium tuberculosis вызывает у людей инфекцию с широким спектром клинических проявлений – от бессимптомного носительства до быстро прогрессирующего туберкулеза. По современным оценкам только у 3–10% индивидов, инфицированных *M. tuberculosis* (МБТ) и не имеющих явных нарушений иммунной системы, рано или поздно развивается клинически манифестированный туберкулез [11]. Если не считать редкие, хотя, по-видимому, реальные, случаи полной бесследной элиминации популяции возбудителя за счет пока не установленных факторов естественной резистентности [16], около 90% инфицированных лиц без клинической картины болезни представляют собой колоссальный резервуар латентного туберкулеза (ЛТБ). Поскольку у части таких лиц инфекция переходит в активное состояние, становится контагиозной и оказывает серьезное влияние на эпидемическую ситуацию [40], проблема выявления, лечения и предотвращения ЛТБ относится к числу важнейших для медицины.

Эволюционная стратегия паразитизма МБТ, по-видимому, сочетает медленно текущий инфекционный процесс (обеспечивает длительную жизнь каждой отдельной бактериальной популяции) с неизбежной реактивацией некоторой небольшой доли латентных популяций (обеспечивает горизонтальную передачу). На сегодняшний момент такое сочетание представляет собой неразрешимую в медицинском аспекте проблему, поскольку требует точного понимания механизмов протективного иммунитета против ЛТБ, его нарушений, а также патогенеза заболевания. Если удастся установить основные механизмы и биологические маркеры защитных реакций, тогда появится возможность прицельно влиять на биохимические пути патогенеза и отслеживать успех применения новых

вакцин и лекарств по надежным биологическим показателям [32]. Следует однако признать, что, несмотря на очень серьезное изучение проблемы латентности в последние три десятилетия, мы все еще не имеем точных знаний о том, как устроено это явление и что приводит к переходу от латентной к активной форме инфекции [56].

После попадания МБТ в органы, в первую очередь в лёгкие, большая часть бактерий фагоцитируется макрофагами и нейтрофилами и оказывается под давлением факторов сначала врожденного, а затем и адаптивного иммунитета. Это приводит к угнетению роста и хотя бы частичному уничтожению микобактериальных клеток. Однако чаще всего полного уничтожения популяции МБТ (истинной элиминации инфекции) не происходит. Возбудитель переходит в так называемое покоящееся (дормантное) состояние, при котором бактерии становятся мало восприимчивыми к воздействию внешних угнетающих факторов. В терминах микробиологии дормантное состояние МБТ традиционно определяют как утрату способности расти в культуре [26]. На системном уровне инфекция переходит в так называемое латентное состояние [4, 14], сопровождающееся образованием высоко структурированных и изолированных от легочной ткани гранул, состоящих преимущественно из клеток иммунной системы [76]. Изолированное положение и сниженный метаболизм МБТ приводят к тому, что латентную инфекцию практически невозможно выявить стандартными биохимическими и микробиологическими методами, а также элиминировать с помощью антибиотиков. В состоянии латентности никаких негативных проявлений инфекции внешне не наблюдается, и, согласно современным представлениям о туберкулезе, именно ЛТБ – это наиболее распространенный тип течения инфекции [15].

¹ ФГБУ «Центральный НИИ туберкулеза» РАМН, г. Москва

² ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, г. Москва

³ ФГБУН «Институт биохимии им. А.Н. Баха» РАН, г. Москва

Переход микобактерий в дормантное состояние и реактивация: генетика возбудителя

Данные, касающиеся физиологического состояния МБТ, находящихся в дормантном состоянии, противоречивы [15]. Окончательно не установлено точное место локализации МБТ, пребывающих в дормантном состоянии [22]. До сих пор нет однозначного мнения о том, что из себя конкретно представляет это состояние: является ли оно действительно дормантным, не сопровождающимся клеточными делениями [53], либо же клеточное деление продолжает осуществляться [28]. Недавно было показано, что в клинических изолятах МБТ, циркулирующих в человеческой популяции более 30 лет, отсутствуют существенные изменения генома [83]. Эти данные можно признать весомым свидетельством того, что в дормантном состоянии репликация МБТ либо отсутствует, либо находится на чрезвычайно низком уровне.

Механизмы, за счет которых происходит переход МБТ в дормантное состояние, не вполне ясны. Традиционно считается, что важную роль в обеспечении этого перехода играет регулон *dosR* [58], в состав которого входит около 50 генов. Экспрессия генов регулона *dosR* индуцируется при свободном культивировании МБТ в условиях гипоксии [66, 73, 78], а также при инфицировании изолированных макрофагов [69], мышей [31] и морских свинок [71], то есть когда рост МБТ находится под давлением сдерживающих факторов. С вхождением бактерий в дормантное состояние уже давно связывают повышение экспрессии гена *hspX* (Rv2031c), относящегося к регулону *dosR* и кодирующего белок α -кристаллин [84, 85]. В качестве «доказательства от противного», также было показано, что активность *dosR* необходима для возобновления роста микобактерий при выходе из дормантного состояния. При этом разнообразные мутации в *dosR* не приводят к гибели МБТ в условиях гипоксии, что свидетельствует о том, что не только регулон *dosR* отвечает за переход в дормантность и выживание под давлением внешних факторов [39]. Кроме того, профили экспрессии генов регулона *dosR* различаются для штаммов с различной вирулентностью, таких как H₃₇Rv, H₃₇Ra [42] и W-Beijing [50]. Таким образом, можно согласиться с мнением, что функции *dosR* в поддержании латентности до конца не понятны [13].

Среди других предполагаемых генетических факторов, участвующих в регуляции переходов МБТ из активного в дормантное состояние и обратно, можно отметить ген *relA* (Rv2583c), продукт которого, по-видимому, предотвращает вхождение в или ускоряет выход из состояния дормантности [54]. Недавно было показано, что транскрипционный регулятор семейства LuxR также участвует в поддержании дормантности МБТ [24]. Помимо выявления генетических регуляторов дормантного состояния, установлены некоторые особенности метаболизма МБТ, находящихся в организме хозяина, на-

пример, переход от полного цикла трикарбоновых кислот на глиоксальный шунт и индукция систем, защищающих патоген от повреждающего действия клеток иммунной системы [47, 69, 82]. Предполагается, что длительное пребывание клеток МБТ в тканях хозяина приводит к снижению уровня метаболизма у возбудителя и даже к его практической полной остановке у покоящихся форм, поскольку такие клетки *in vivo* резистентны к действию антибиотиков [25]. Высказана гипотеза (пока не доказанная) о роли систем токсин-антитоксин в установлении покоящегося состояния у МБТ [6].

Данных об изменениях метаболического состояния МБТ при вхождении в дормантное состояние и в ходе реактивации инфекции, равно как и о сдвигах в экспрессии бактериальных генов, связанных с реорганизацией метаболизма, пока явно недостаточно. Проблема системного изучения дормантного состояния микобактерий и ЛТБ связана, в первую очередь, с несовершенством тест-систем *in vitro* и почти полным отсутствием модельных систем *in vivo* [3]. Тем не менее, в лаборатории А. С. Капрельянца разработана модель *in vitro* перехода МБТ в дормантное состояние за счет создания определенных стрессовых условий, позволяющая аккумулировать покоящиеся клетки *M. tuberculosis*, которые способны к реактивации в определенных условиях; эта модель, по-видимому, на настоящий момент лучше всего имитирует дормантное состояние МБТ в условиях *in vivo* [3, 52]. С целью выявления особенностей биохимических процессов, связанных с переходом бактерий в состояние «некультивируемости», и понимания механизмов данного явления был проведен анализ изменения профиля экспрессии генов МБТ в процессе образования дормантных форм методом гибридизации на ДНК-чипах [67]. Было выяснено, что при переходе в покоящееся состояние регистрируется несколько сотен генов с повышенной экспрессией, продукты которых принимают участие в основных метаболических процессах и дыхании, в регуляции транскрипции и процессах, протекающих в клеточной стенке, а также кодирующих регуляторные белки. Важно, что значительную часть таких генов составляют гены, кодирующие ферменты, участвующие в катаболических реакциях. В другой работе по системному изучению транскриптома исследовались так называемые «персистеры», то есть бактерии, устойчивые к действию антибиотиков, находящиеся в не- (или медленно) делящемся состоянии и способные к восстановлению роста при переводе в среду без антибиотиков. Было показано, что транскрипция большей части генов у таких бактерий подавлена, а повышена экспрессия лишь 15 генов, среди которых ген *acr2*, кодирующий α -кристаллин, и гены σ -факторов [33]. Однако поскольку весьма вероятно, что «персистеры» обладают определенной метаболической активностью, вопрос о том насколько они отражают истинное дормантное состояние бактерий остается открытым.

Другой стороной проблемы понимания того, как именно регулируется экспрессия генов МБТ при изменении физиологического состояния, является переход от дормантности к возобновлению роста, то есть реактивация инфекции. Участие в этом процессе белков семейства Rpf доказано вполне убедительно [12, 21, 27, 30], поэтому обнаруженное повышение экспрессии генов семейства *Rpf* при реактивации МБТ в модели инфекции у кроликов [34] было ожидаемо. Белки Rpf содержат консервативный домен, обладающий активностью близкой к лизоциму, и, скорее всего, принимают участие в гидролизе пептидогликанов клеточной стенки, что является ранним звеном в процессе выхода из дормантности (реактивации) [17].

Поскольку выход из дормантного состояния ассоциирован с изменениями в клеточной стенке МБТ, закономерен интерес к роли гликолипидов клеточной стенки в латентной инфекции. В экспериментальной модели латентного туберкулеза было установлено снижение синтеза МБТ сульфоллипидов (SL) и накопление предшественников диацилтрегалеазы и полиацилтрегалеазы (DAT/PAT), происходившие на фоне резкого понижения транскрипции генов *mmpL8* и *mmpL10*, но увеличения транскрипции генов семейства *pks*, вовлеченных в биосинтез, соответственно, SL и DAT [63]. Кроме того, для выхода из дормантной фазы МБТ требуется энергия, в частности, в форме триацилглицеридов [41]. Было показано, что для группы высоко патогенных и широко распространенных штаммов МБТ Beijing характерен высокий уровень продукции триацилглицеридов [23]. По мнению авторов, это может давать конкурентное преимущество в условиях гипоксии.

Подводя итог этому разделу, следует отметить, что процессы, связанные с переходом в дормантное состояние у МБТ, а также реактивацией латентной инфекции, все еще требуют интенсивного и систематического изучения. Существующие представления достаточно разрознены, подробно исследуются лишь некоторые очевидные метаболические пути (например, вовлеченные в биосинтез компонентов клеточной стенки).

Переход микобактерий в дормантное состояние и реактивация: генетика хозяина

Хотя иммунный ответ при туберкулезной инфекции изучен достаточно подробно [1, 5, 64], немного известно о том, какое именно сочетание показателей противотуберкулезного иммунитета не только сдерживает рост популяции возбудителя, но и обеспечивает высокий уровень защиты от патологических процессов в легких. Еще меньше изучен вопрос о состоянии лимфоидных органов и локального иммунного ответа в легочной ткани при латентной фазе инфекции [55, 81]. Простейшая модель персистенции инфекции получается при заражении аэрогенным путем умеренно резистентных к ТБ мышей линии B6 [48] низкой дозой (100 КОЕ) МБТ. После острой начальной

фазы инфекция успешно контролируется иммунной системой хозяина, и количество бактерий в органах не меняется на протяжении нескольких месяцев. Тем не менее, мыши в конце концов погибают от легочной патологии [62]. Эта модель хронического ТБ удобна своей простотой, но не универсальна, поскольку не позволяет понять, что происходит при заражении генетически более чувствительных и более резистентных индивидов.

При использовании широко известной модели реактивации ТБ, разработанной в университете Cornell [44, 45], мышей заражают внутривенно разными дозами МБТ, дают инфекции развиться в течение 2-4 недель, а затем проводят химиотерапию на протяжении 1-2 месяцев до прекращения высевания бактерий из легких и селезенки [18, 19]. После прекращения лечения, через 12-28 недель (в зависимости от схемы заражения и лечения) у части мышей снова развивается активный процесс, с появлением культивируемых МБТ в органах. Несмотря на то, что опыты ставились на генетически идентичных мышах инбредных линий, все группы исследователей зарегистрировали реактивацию ТБ лишь у части животных [68]. Подобная вариабельность значительно затрудняет моделирование и понимание механизмов латентности туберкулезного процесса.

Вместе с тем, совершенно очевидно, что расшифровка молекулярных механизмов переключений в иммунной системе, сопровождающих переход от эффективного сдерживания латентной инфекции к реактивации ТБ, помогут выработать новую стратегию контроля заболевания. В этой связи, прежде всего, необходимы надежные модели на животных для анализа молекулярных механизмов персистенции и реактивации популяции возбудителя в организме-хозяине. Тот факт, что переход к клинической форме заболевания происходит лишь у небольшого числа первично инфицированных индивидов, а также характер образования и распада легочных гранулем, безусловно, указывает на важность генетики хозяина в этом процессе [35, 70]. Этот генетический аспект латентности и реактивации ТБ также требует экспериментального изучения. За исключением наших работ [60, 61], генетический контроль латентности ТБ в экспериментальных моделях изучался мало и только в ранних работах, устаревших с точки зрения качества иммунологических исследований [38], а генетика человека в этом аспекте не исследована вообще.

В обширной литературе, посвященной проблеме хронического и латентного туберкулеза (см. обзор [65]) постоянно подчеркивается, что переход инфекции в латентную фазу, а также поддержание и нарушение латентности, в равной степени зависят от возбудителя и хозяина, т. е. их генетики и физиологии. Тем не менее, попыток связать в единой экспериментальной системе генетическое разнообразие двух взаимодействующих видов почти не делалось, в первую очередь из-за сложности и дороговизны соответствующих экспериментов. Лишь

совсем недавно появилось исследование, в котором использовались как линии мышей, несущие мутации по генам, вовлеченным в иммунный ответ, так и штаммы *M. tuberculosis* с генетическими дефектами по факторам вирулентности [43]. В этом исследовании впервые были получены прямые доказательства того, что продукты секреторной системы МБТ ESX-1 вызывают перфорацию мембраны макрофагальных фагосом, позволяя внеклеточной ДНК МБТ активировать в цитозоле макрофага факторы врожденного иммунитета, но связь этого биохимического пути с поддержанием ЛТБ не исследовалась. Изучение иммунного ответа на разных стадиях активного, латентного и реактивирующегося ТБ у мышей с генетически детерминированными различиями по тяжести течения заболевания, несомненно, даст вполне нетривиальные результаты, учитывая возможность сопоставления сдвинутых по времени фенотипических картин.

Проблема ЛТБ и изучение экспрессии генов методами геномного секвенирования РНК

Исследование экспрессии генов патогенных микроорганизмов является мощным инструментом изучения их физиологии, однако до недавнего времени полные профили транскрипции получали методами гибридизации на ДНК-чипах, имеющими существенные ограничения [72]. Наиболее современным подходом для анализа транскриптома бактериальной клетки является массированное секвенирование всей клеточной РНК (так называемый RNA-seq) с помощью секвенаторов нового поколения, таких как Illumina, SoLID и др. [46, 49, 57]. В последние два года появилось много работ с полным описанием транскриптома *M. tuberculosis*, выполненных методами RNA-seq [7-9, 51, 59, 77], важной особенностью которых стало выявление в транскриптом *M. tuberculosis* множества малых некодирующих РНК – генетических элементов, регулирующих экспрессию генов. Общим недостатком этих работ было то, что сравнения транскриптомов *M. tuberculosis* проводились исключительно при росте в культуре. Сравнивали транскриптом либо в стационарной и логарифмической фазах роста, либо при различных стрессовых воздействиях. Для исследований транскриптома в условиях, приближенных к реальной инфекции *in vivo* (например, при инфекции культивируемых макрофагов), по-прежнему использовали гибридизацию на ДНК-чипах [36]. Наши работы по исследованию методом полного секвенирования транскриптома МБТ при росте *in vivo* стали первыми в этой области [10, 29, 74]. Был разработан метод анализа транскриптома внутриклеточных патогенов в инфицированных тканях, который является универсальным и может быть применен для исследований любого бактериального инфекционного возбудителя, в том числе, поиска факторов вирулентности, мишеней лекарственной терапии, разработки стратегии эпидемиологического мониторинга за-

болевания [10]. Этот метод использовали для изучения изменений, происходящих в транскриптомах МБТ (были исследованы патогенная *M. tuberculosis* и условно патогенная *M. avium*) при адаптации к инфекции в мышцах с разной чувствительностью к туберкулезу. Выявлены группы генов, экспрессия которых ассоциирована с развитием болезни [74].

В последние годы изучению малых некодирующих РНК бактерий придается большое значение. Установлено, что эти малые РНК модулируют широкий спектр физиологических ответов, играя важную роль в регуляции транскрипции, трансляции и стабильности мРНК [80]. Считается, что малые РНК позволяют бактериям быстро реагировать на изменения окружающей среды, вызывая глобальные изменения в экспрессии генов. Это особенно важно для патогенных бактерий, которым необходимо регулировать экспрессию генов в ответ на быстро меняющиеся условия обитания в хозяине, например, температура, показатели pH и др. [37]. Центральная роль малых РНК в регуляции экспрессии генов вирулентности была показана для *Chlamydia trachomatis*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Vibrio cholerae* и *Yersinia pestis* (см. обзор [75]). В роде *Mycobacterium* к настоящему времени малые РНК были выявлены у *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium*, *M. smegmatis* и *M. marinum* [2, 8, 20, 29, 79]. Установлено, что гиперэкспрессия этих малых РНК приводит к понижению жизнеспособности *M. tuberculosis*, что свидетельствует об их важной физиологической роли. Учитывая, что регуляция некодирующих коротких РНК контролируется, в частности, регулоном *dosR* [9], можно сделать вывод о важности их изучения при переходах МБТ между дормантным и активным состояниями. В частности, мы начинаем использовать методы глубокого секвенирования и разработанные нами модели ЛТБ и реактивации инфекции для характеристики некодирующей части транскриптома *M. tuberculosis* в дормантном и реактивном состоянии. Будут выявлены короткие РНК, экспрессия которых повышена в дормантном состоянии, и проведено изучение их влияния на изменения в транскрипции других генов. Такие регуляторные РНК потенциально могут быть использованы в качестве мишеней при поиске новых лекарств для лечения и профилактики туберкулеза.

Благодарности

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (Комплексный проект №13-04-40070-К, включающий гранты №13-04-40070-Н, №13-04-40071-Н и №13-04-40072-Н).

Литература

1. Ант А.С., Кондратьева Т.К. Туберкулёз: патогенез, иммунный ответ и генетика хозяина // Мол. биол. – 2008. – Т. 42. – С. 880-890.
2. Игнатов Д.В., Мефодьева Л.Г., Майоров К.Б. и др. Новые малые РНК *Mycobacterium avium* // Биоорг. химия. – 2012. – Т. 38. – С. 509-512.
3. Шлеева М.О., Салина Е.Г., апрельянец А.С. Покоящиеся формы микобактерий // Микробиология. – 2010. – Т. 79. – С. 3-15.
4. Ahmad S. Pathogenesis, immunology, and diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection // Clin. Dev. Immunol. – 2011. – Vol. 2011. – A. 814943.
5. Apt A.S. Are mouse models of human mycobacterial diseases relevant? Genetics says: 'yes!' // Immunology. – 2011. – Vol. 134. – P. 109-115.
6. Arcus V.L., Rainey P.B., Turner S.J. The PIN-domain toxin-antitoxin array in mycobacteria // Trends Microbiol. – 2005. – Vol. 13. – P. 360-365.
7. Arnvig K., Young D. Non-coding RNA and its potential role in *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis // RNA Biol. – 2012. – Vol. 9. – P. 427-436.
8. Arnvig K.B., Young D.B. Identification of small RNAs in *Mycobacterium tuberculosis* // Mol. Microbiol. – 2009. – Vol. 73. – P. 397-408.
9. Arnvig K.B., Comas I., Thomson N.R. et al. Sequence-based analysis uncovers an abundance of non-coding RNA in the total transcriptome of *Mycobacterium tuberculosis* // PLoS Pathog. – 2011. – Vol. 7. – e1002342.
10. Azhikina T., Skvortsov T., Radaeva T. et al. A new technique for obtaining whole pathogen transcriptomes from infected host tissues // Biotechniques. – 2010. – Vol. 48. – P. 139-144.
11. Barry C.E., 3rd, Boshoff H.I., Dartois V. et al. The spectrum of latent tuberculosis: rethinking the biology and intervention strategies // Nat. Rev. Microbiol. – 2009. – Vol. 7. – P. 845-855.
12. Biketov S., Potapov V., Ganina E., et al. The role of resuscitation promoting factors in pathogenesis and reactivation of *Mycobacterium tuberculosis* during intra-peritoneal infection in mice // BMC Infect. Dis. – 2007. – Vol. 7. – P. 146.
13. Boon C., Dick T. How *Mycobacterium tuberculosis* goes to sleep: the dormancy survival regulator DosR a decade later // Future Microbiol. – 2012. – Vol. 7. – P. 513-518.
14. Cardona P.J. A dynamic reinfection hypothesis of latent tuberculosis infection // Infection. – 2009. – Vol. 37. – P. 80-86.
15. Chao M.C., Rubin E.J. Letting sleeping dos lie: does dormancy play a role in tuberculosis? // Annu. Rev. Microbiol. – 2010. – Vol. 64. – P. 293-311.
16. Cobat A., Gallant C.J., Simkin L. et al. Two loci control tuberculin skin test reactivity in an area hyperendemic for tuberculosis // J. Exp. Med. – 2009. – Vol. 206. – P. 2583-2591.
17. Cohen-Gonsaud M., Barthe P., Bagneris C. et al. The structure of a resuscitation-promoting factor domain from *Mycobacterium tuberculosis* shows homology to lysozymes // Nat. Struct. Mol. Biol. – 2005. – Vol. 12. – P. 270-273.
18. de Wit D., Wootton M., Dhillon J. et al. The bacterial DNA content of mouse organs in the Cornell model of dormant tuberculosis // Tuberc. Lung Dis. – 1995. – Vol. 76. – P. 555-562.
19. Dhillon J., Mitchison D.A. Effect of vaccines in a murine model of dormant tuberculosis // Tuberc. Lung Dis. – 1994. – Vol. 75. – P. 61-64.
20. DiChiara J.M., Contreras-Martinez L.M., Livny J. et al. Multiple small RNAs identified in *Mycobacterium bovis* BCG are also expressed in *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium smegmatis* // Nucleic. Acids Res. – 2010. – Vol. 38. – P. 4067-4078.
21. Downing K.J., Mischenko V.V., Shleeва M.O. et al. Mutants of *Mycobacterium tuberculosis* lacking three of the five *rpf*-like genes are defective for growth in vivo and for resuscitation in vitro // Infect. Immun. – 2005. – Vol. 73. – P. 3038-3043.
22. Ehlers S. Lazy, dynamic or minimally recrudescence? On the elusive nature and location of the mycobacterium responsible for latent tuberculosis // Infection. – 2009. – Vol. 37. – P. 87-95.
23. Fallow A., Domenech P., Reed M.B. Strains of the East Asian (W/Beijing) lineage of *Mycobacterium tuberculosis* are DosS/DosT-DosR two-component regulatory system natural mutants // J. Bacteriol. – 2010. – Vol. 192. – P. 2228-2238.
24. Fang H., Yu D., Hong Y. et al. The LuxR family regulator Rv0195 modulates *Mycobacterium tuberculosis* dormancy and virulence // Tuberculosis (Edinb). – 2013. – Vol. 93. – P. 425-431.
25. Flynn J.L., Chan J. Tuberculosis: latency and reactivation // Infect. Immun. – 2001. – Vol. 69. – P. 4195-4201.
26. Gangadharam P.R. Mycobacterial dormancy // Tuberc. Lung Dis. – 1995. – Vol. 76. – P. 477-479.
27. Gengenbacher M., Kaufmann S.H. Mycobacterium tuberculosis: success through dormancy // FEMS Microbiol. Rev. – 2012. – Vol. 36. – P. 514-532.
28. Gill W.P., Harik N.S., Whiddon M.R. et al. A replication clock for *Mycobacterium tuberculosis* // Nat. Med. – 2009. – Vol. 15. – P. 211-214.
29. Ignatov D., Malakho S., Majorov K. et al. RNA-Seq analysis of *Mycobacterium avium* non-coding transcriptome // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – e74209.
30. Kana B.D., Mizrahi V. Resuscitation promoting factors in bacterial population dynamics during TB infection // Drug Discovery Today: Disease Mechanisms. – 2010. – Vol. 7. – e13-e18.
31. Karakousis P.C., Yoshimatsu T., Lamichhane G. et al. Dormancy phenotype displayed by extracellular *Mycobacterium tuberculosis* within artificial granulomas in mice // J. Exp. Med. – 2004. – Vol. 200. – P. 647-657.
32. Kaufmann S.H. Future vaccination strategies against tuberculosis: thinking outside the box // Immunity. – 2010. – Vol. 33. – P. 567-577.
33. Keren I., Minami S., Rubin E. et al. Characterization and transcriptome analysis of *Mycobacterium tuberculosis* persists // MBio. – 2011. – Vol. 2. – e00100-00111.
34. Kesavan A.K., Brooks M., Tufariello J. et al. Tuberculosis genes expressed during persistence and reactivation in the resistant rabbit model // Tuberculosis (Edinb). – 2009. – Vol. 89. – P. 17-21.
35. Kondratieva E., Logunova N., Majorov K. et al. Host genetics in granuloma formation: human-like lung pathology in mice with reciprocal genetic susceptibility to *M. tuberculosis* and *M. avium* // PLoS One. – 2010. – Vol. 5. – e10515.
36. Koo M.S., Subbian S., Kaplan G. Strain specific transcriptional response in *Mycobacterium tuberculosis* infected macrophages // Cell Commun. Signal. – 2012. – Vol. 10. – P. 2.

37. Lease R.A., Smith D., McDonough K. et al. The small noncoding DsrA RNA is an acid resistance regulator in *Escherichia coli* // *J. Bacteriol.* – 2004. – Vol. 186. – P. 6179-6185.
38. Lecoer H.F., Lagrange P.H., Truffot-Pernot C. et al. Relapses after stopping chemotherapy for experimental tuberculosis in genetically resistant and susceptible strains of mice // *Clin. Exp. Immunol.* – 1989. – Vol. 76. – P. 458-462.
39. Leistikow R.L., Morton R.A., Bartek I.L. et al. The *Mycobacterium tuberculosis* DosR regulon assists in metabolic homeostasis and enables rapid recovery from nonrespiring dormancy // *J. Bacteriol.* – 2010. – Vol. 192. – P. 1662-1670.
40. Lillebaek T., Andersen A.B., Dirksen A. et al. Persistent high incidence of tuberculosis in immigrants in a low-incidence country // *Emerg. Infect. Dis.* – 2002. – Vol. 8. – P. 679-684.
41. Low K.L., Rao P.S., Shui G. et al. Triacylglycerol utilization is required for regrowth of in vitro hypoxic nonreplicating *Mycobacterium bovis* BCG // *J. Bacteriol.* – 2009. – Vol. 191. – P. 5037-5043.
42. Malhotra V., Tyagi J.S., Clark-Curtiss J.E. DevR-mediated adaptive response in *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra: links to asparagine metabolism // *Tuberculosis (Edinb.)*. – 2009. – Vol. 89. – P. 169-174.
43. Manzanillo P.S., Shiloh M.U., Portnoy D.A. et al. *Mycobacterium tuberculosis* activates the DNA-dependent cytosolic surveillance pathway within macrophages // *Cell Host Microbe*. – 2012. – Vol. 11. – P. 469-480.
44. McCune R.M., Feldmann F.M., Lambert H.P. et al. Microbial persistence. I. The capacity of tubercle bacilli to survive sterilization in mouse tissues // *J. Exp. Med.* – 1966. – Vol. 123. – P. 445-468.
45. McCune R.M., Feldmann F.M., McDermott W. Microbial persistence. II. Characteristics of the sterile state of tubercle bacilli // *J. Exp. Med.* – 1966. – Vol. 123. – P. 469-486.
46. McGinn S., Gut I.G. DNA sequencing - spanning the generations // *N. Biotechnol.* – 2013. – Vol. 30. – P. 366-372.
47. McKinney J.D., Honer zu Bentrop K., Munoz-Elias E.J. et al. Persistence of *Mycobacterium tuberculosis* in macrophages and mice requires the glyoxylate shunt enzyme isocitrate lyase // *Nature*. – 2000. – Vol. 406. – P. 735-738.
48. Medina E., North R.J. Resistance ranking of some common inbred mouse strains to *Mycobacterium tuberculosis* and relationship to major histocompatibility complex haplotype and *Nramp1* genotype // *Immunology*. – 1998. – Vol. 93. – P. 270-274.
49. Metzker M.L. Sequencing technologies - the next generation // *Nat. Rev. Genet.* – 2010. – Vol. 11. – P. 31-46.
50. Minch K., Rustad T., Sherman D.R. *Mycobacterium tuberculosis* growth following aerobic expression of the DosR regulon // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – e35935.
51. Miotto P., Forti F., Ambrosi A. et al. Genome-wide discovery of small RNAs in *Mycobacterium tuberculosis* // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – e51950.
52. Mukamolova G., Salina E., Kapelyants A. Mechanisms of latent tuberculosis: dormancy and resuscitation of *Mycobacterium tuberculosis* // *National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Nih, Vol 1: Frontiers in Research*. – 2008. – Vol. 1. – P. 83-90.
53. Munoz-Elias E.J., Timm J., Botha T. et al. Replication dynamics of *Mycobacterium tuberculosis* in chronically infected mice // *Infect. Immun.* – 2005. – Vol. 73. – P. 546-551.
54. Murphy D.J., Brown J.R. Identification of gene targets against dormant phase *Mycobacterium tuberculosis* infections // *BMC Infect. Dis.* – 2007. – Vol. 7. – 84.
55. North R.J., Jung Y.J. Immunity to tuberculosis // *Annu. Rev. Immunol.* – 2004. – Vol. 22. – P. 599-623.
56. Ottenhoff T.H., Kaufmann S.H. Vaccines against tuberculosis: where are we and where do we need to go? // *PLoS Pathog.* – 2012. – Vol. 8. – e1002607.
57. Ozsolak F. Third-generation sequencing techniques and applications to drug discovery // *Expert. Opin. Drug Discov.* – 2012. – Vol. 7. – P. 231-243.
58. Park H.D., Guinn K.M., Harrell M.I. et al. *Rv3133c/dosR* is a transcription factor that mediates the hypoxic response of *Mycobacterium tuberculosis* // *Mol. Microbiol.* – 2003. – Vol. 48. – P. 833-843.
59. Pellin D., Miotto P., Ambrosi A. et al. A genome-wide identification analysis of small regulatory RNAs in *Mycobacterium tuberculosis* by RNA-Seq and conservation analysis // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – e32723.
60. Radaeva T.V., Nikonenko B.V., Mischenko V.V. et al. Direct comparison of low-dose and Cornell-like models of chronic and reactivation tuberculosis in genetically susceptible I/St and resistant B6 mice // *Tuberculosis (Edinb.)*. – 2005. – Vol. 85. – P. 65-72.
61. Radaeva T.V., Kondratieva E.V., Sosunov V.V. et al. A human-like TB in genetically susceptible mice followed by the true dormancy in a Cornell-like model // *Tuberculosis (Edinb.)*. – 2008. – Vol. 88. – P. 576-585.
62. Rhoades E.R., Frank A.A., Orme I.M. Progression of chronic pulmonary tuberculosis in mice aerogenically infected with virulent *Mycobacterium tuberculosis* // *Tuberc. Lung Dis.* – 1997. – Vol. 78. – P. 57-66.
63. Rodriguez J.E., Ramirez A.S., Salas L.P. et al. Transcription of genes involved in sulfolipid and polyacyltrehalose biosynthesis of *Mycobacterium tuberculosis* in experimental latent tuberculosis infection // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – e58378.
64. Russell D.G. Who puts the tubercle in tuberculosis? // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2007. – Vol. 5. – P. 39-47.
65. Russell D.G. *Mycobacterium tuberculosis* and the intimate discourse of a chronic infection // *Immunol. Rev.* – 2011. – Vol. 240. – P. 252-268.
66. Rustad T.R., Harrell M.I., Liao R. et al. The enduring hypoxic response of *Mycobacterium tuberculosis* // *PLoS One*. – 2008. – Vol. 3. – e1502.
67. Salina E.G., Mollenkopf H.J., Kaufmann S.H. et al. *M. tuberculosis* gene expression during transition to the «non-culturable» // *State. Acta Naturae*. – 2009. – Vol. 1. – P. 73-77.
68. Scanga C.A., Mohan V.P., Joseph H. et al. Reactivation of latent tuberculosis: variations on the Cornell murine model // *Infect. Immun.* – 1999. – Vol. 67. – P. 4531-4538.
69. Schnappinger D., Ehrt S., Voskuil M.I. et al. Transcriptional adaptation of *Mycobacterium tuberculosis* within macrophages: insights into the phagosomal environment // *J. Exp. Med.* – 2003. – Vol. 198. – P. 693-704.
70. Schurr E., Kramnik I. Genetic control of host susceptibility to tuberculosis. *Handbook of Tuberculosis*. Ed. by S. Kaufmann and W. Britten. – Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2008.

71. Sharma D., Bose A., Shakila H. et al. Expression of mycobacterial cell division protein, FtsZ, and dormancy proteins, DevR and Acr, within lung granulomas throughout guinea pig infection // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* – 2006. – Vol. 48. – P. 329-336.
72. Shendure J. The beginning of the end for microarrays? // *Nat. Methods.* – 2008. – Vol. 5. – P. 585-587.
73. Sherman D.R., Voskuil M., Schnappinger D. et al. Regulation of the *Mycobacterium tuberculosis* hypoxic response gene encoding alpha-crystallin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2001. – Vol. 98. – P. 7534-7539.
74. Skvortsov T.A., Ignatov D.V., Majorov K.B. et al. *Mycobacterium tuberculosis* transcriptome profiling in mice with genetically different susceptibility to tuberculosis // *Acta Naturae.* – 2013. – Vol. 5. – P. 62-69.
75. Toledo-Arana A., Repoila F., Cossart P. Small noncoding RNAs controlling pathogenesis // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2007. – Vol. 10. – P. 182-188.
76. Ulrichs T., Kaufmann S.H. New insights into the function of granulomas in human tuberculosis // *J. Pathol.* – 2006. – Vol. 208. – P. 261-269.
77. Uplekar S., Rougemont J., Cole S.T. et al. High-resolution transcriptome and genome-wide dynamics of RNA polymerase and NusA in *Mycobacterium tuberculosis* // *Nucleic Acids Res.* – 2013. – Vol. 41. – P. 961-977.
78. Voskuil M.I., Schnappinger D., Visconti K.C. et al. Inhibition of respiration by nitric oxide induces a *Mycobacterium tuberculosis* dormancy program // *J. Exp. Med.* – 2003. – Vol. 198. – P. 705-713.
79. Wang S., Dong X., Zhu Y. et al. Revealing of *Mycobacterium marinum* transcriptome by RNA-seq // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8. – e75828.
80. Waters L.S., Storz G. Regulatory RNAs in bacteria // *Cell.* – 2009. – Vol. 136. – P. 615-628.
81. Wayne L.G. Dormancy of *Mycobacterium tuberculosis* and latency of disease // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 1994. – Vol. 13. – P. 908-914.
82. Wayne L.G., Lin K.Y. Glyoxylate metabolism and adaptation of *Mycobacterium tuberculosis* to survival under anaerobic conditions // *Infect. Immun.* – 1982. – Vol. 37. – P. 1042-1049.
83. Yang Z., Rosenthal M., Rosenberg N.A. et al. How dormant is *Mycobacterium tuberculosis* during latency? A study integrating genomics and molecular epidemiology // *Infect. Genet. Evol.* – 2011. – Vol. 11. – P. 1164-1167.
84. Yuan Y., Crane D.D., Simpson R.M. et al. The 16-kDa alpha-crystallin (Acr) protein of *Mycobacterium tuberculosis* is required for growth in macrophages // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – Vol. 95. – P. 9578-9583.
85. Zhang Y. Persistent and dormant tubercle bacilli and latent tuberculosis // *Front. Biosci.* – 2004. – Vol. 9. – P. 1136-1156.

Сведения об авторах

Кондратьева Татьяна Константиновна – ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики отдела иммунологии ФГБУ «Центральный НИИ туберкулеза» РАМН, г. Москва, доктор биологических наук
Адрес: Москва 107564, Яузская аллея, д. 2.

Ажикина Татьяна Леодоровна – ведущий научный сотрудник ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, г. Москва, доктор биологических наук
Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
e-mail: office@ibch.ru

Шлеева Маргарита Олеговна – старший научный сотрудник лаборатории биохимии стрессов микроорганизмов ФГБУН «Институт биохимии им. А.Н. Баха» РАН, г. Москва, кандидат биологических наук
Адрес: г. Москва, Ленинский пр., д. 33
Телефон (495) 954-40-47

Капреляньц Арсений Сумбатович – заведующий лабораторией биохимии стрессов микроорганизмов ФГБУН «Институт биохимии им. А.Н. Баха» РАН, г. Москва, доктор биологических наук, профессор
Адрес: г. Москва, Ленинский пр., д. 33
Телефон (495) 954-40-47
e-mail: arseny@inbi.ras.ru

Апт Александр Соломонович – заведующий лабораторией иммуногенетики отдела иммунологии ФГБУ «Центральный НИИ туберкулеза» РАМН, г. Москва, доктор биологических наук, профессор
Адрес: Москва 107564, Яузская аллея, д. 2.
e-mail: asapt@aha.ru