

© В. Л. ДОБИН, 2018

УДК 616-002.5

DOI 10.21292/2075-1230-2018-96-8-59-65

ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭВОЛЮЦИИ ТУБЕРКУЛЕЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ

В. Л. ДОБИН

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, Россия

Представлены данные литературы по изучению эволюции возбудителя туберкулеза и сущности процессов, приведших к современному разнообразию микобактерий туберкулеза. Использование молекулярных методов с другими вспомогательными средствами позволило изменить взгляды на историю микобактерий туберкулезного комплекса, приведя к созданию нового эволюционного сценария.

Ключевые слова: эволюция, возбудитель туберкулеза, микобактерии туберкулезного комплекса

Для цитирования: Добин В. Л. Представления об эволюции туберкулезных микобактерий // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2018. – Т. 96, № 8. – С. 59-65. DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-8-59-65

UNDERSTANDING OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EVOLUTION

V. L. DOBIN

Pavlov Razyan State Medical University, Razyan, Russia

The article presents data from the literature devoted to studying the evolution of *M. tuberculosis* and the matter of the process which resulted in the modern diversity of tuberculous mycobacteria. Molecular methods with other auxiliary tools helped to change the view on history of *M. tuberculosis* complex, leading to the development of a new evolutionary scenario.

Key words: evolution, the causative agent of tuberculosis, *M. tuberculosis* complex

For citations: Dobin V.L. Understanding of Mycobacterium tuberculosis evolution. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2018, Vol. 96, no. 8, P. 59-65. (In Russ.) DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-8-59-65

Современные молекулярные технологии, позволяющие весьма детально изучать геном и ДНК современных микобактерий (производя их своеобразную геномную «паспортизацию»), с такой же эффективностью применимы для исследований микобактериальной ДНК, обнаруживаемой в ископаемом (палеонтологическом и археологическом) материале, и это дает возможность изучать эволюцию возбудителя туберкулеза на уровне, совершенно недоступном ранее. Сочетание молекулярных, филогенетических и филогеографических методик позволяет моделировать предков современной микобактерии туберкулеза (МБТ), чтобы лучше понимать своеобразие и отличия древних и современных штаммов, особенности древних и современных эпидемических вспышек туберкулеза, сущность процессов, приведших к современному разнообразию МБТ.

Молекулы ДНК в определенных условиях могут сохраняться в останках людей и животных тысячи и миллионы лет. Сохранность, фрагментация и их деградация зависят от условий нахождения, особенно вредны световые, влажностные и температурные колебания. Исследования на древней ДНК человека показали, что наилучшие образцы для получения амплификабельной ДНК – это ископаемые кости и зубы, а мумифицированные ткани – довольно скудный ее источник.

Анализ древней ДНК сталкивается с двумя главными проблемами. Во-первых, последовательности состоят из смеси эндогенных и различных экзогенных слоев, в основном современных микроб-

ных контаминантов. Во-вторых, высокая частота ошибочных нуклеотидных включений может наблюдаться как результат тяжелых посмертных повреждений ДНК. Такие искаженные посмертные паттерны играют важную роль в проверке подлинности древних последовательностей и отличии их от современных контаминантов. Для этого разработаны пользовательские пакеты карты повреждения (map Damage и map Damage 2.0), которые идентифицируют такие паттерны от наборов секвенирования последовательностей контаминантов. Они регулируют наборы данных и совместимы с широким диапазоном ДНК-библиотек [22]. Кроме ДНК, некоторые липидные факторы, обуславливающие вирулентность МБТ, могут неплохо сохраняться в мумифицированных телах. Их изучение также позволяет подтверждать диагноз ископаемого туберкулеза.

Филогенетический анализ МБТ базируется на предположении, что в ходе эволюции они претерпевают изменения, приспосабливаясь к условиям внешней среды, и эти изменения, в том числе и филогенетически значимых фрагментов генома, являются функцией времени. Определив скорость этих изменений (путем расчета коэффициента синонимических и несинонимических нуклеотидных замен), а их можно уподобить своеобразным «геномным часам», по ним можно проследить историю возникновения, видообразования, диверсификации микобактерий туберкулезного комплекса (МБТК). Точность эволюционных исследований повышается пропорционально возрасту ископае-

мых образцов ДНК и изучению большего количества их локусов.

На сегодняшний день самыми древними в мире достоверными образцами считаются: из человеческих останков – ДНК из неолитического захоронения деревни Atlit-Yam в восточном Средиземноморье – 9 000 лет [20], а из трупов животных – ДНК плейстоценового бизона, погибшего 17 000 лет тому назад в пещере-ловушке в Северной Америке [29]. На территории России самые древние образцы ДНК были обнаружены в костях людей из захоронения Аймырлаг на Юге Сибири, которым 4 000 лет [33]. Возраст сохранившихся останков погибших от туберкулеза людей и животных оценивают с помощью радиоуглеродного метода, сохранившихся письменных источников или сопутствующих предметов материальной культуры.

Исследования по эволюции МБТ носят комплексный характер, в них принимают участие патоморфологи, радиологи, микробиологи, молекулярные биологи, математики, популяционные генетики, эволюционные биологи и при необходимости другие специалисты – историки, этнографы, археологи и т. д. и т. п. Многие комплексные исследования выполнены интернациональными коллективами авторов.

Невзирая на различный тропизм, фенотипы и патогенность, МБТК-штаммы высококлональны: их нуклеотидные последовательности идентичны в 99,9%, а 16S rRNA-последовательности между членами МБТК не различаются вовсе (за исключением *M. canettii*) [11, 13, 18, 21, 31]. Поэтому исследовать эволюционную историю таких мономорфных бактерий трудно. В связи с этим используется комплексный аналитический подход с применением нескольких молекулярных методик (рестрикционный анализ, различные варианты сполитотипирования, секвенирование, ПЦР, микрочипы и т. д. и т. п.). Так, в исследованиях по эволюции МБТК с их помощью изучали IS6110, IS1081, SNP, LPN, TbD1, TbD9, полиморфизм GC-повторов в генах белков, 3R ДНК-гены, pks 15/1, Gyr A, Kat G codon 463, oху R, mр 40, plc D и др. [1, 3, 5, 9, 12, 13, 18, 21, 24, 31, 34]. Использование молекулярных методов вкупе с другими вспомогательными средствами позволило сделать множество неожиданных открытий и кардинально изменить взгляды на историю МБТК, приведя к созданию совершенно нового эволюционного сценария.

Последний общий предок у МБТК и *M. leprae* существовал около 36 млн лет тому назад [9], а прародители современных МБТК появились около 3 млн лет тому назад на Африканском Роге от одного общего предка, который был патогенным для обитавших там ранних гоминид [6, 30], предшественников человека. Таким образом, МБТК старше возбудителей тифа, чумы и малярии. Они появились из ископаемого родового пула гладких микобактерий, на которые среди нынешних членов

МБТК больше всего похожа *M. canettii* [12]. Ее гены домашнего хозяйства мозаичны, и их индивидуальные сегменты могут быть обнаружены у других членов МБТК. *M. canettii* до сих пор обладает свойствами, утраченными другими представителями этого комплекса, в виде быстрого роста, гладкости колоний, меньшей стойкости и вирулентности, таких геномных признаков, как наличие TbD1 (отсутствующего у современных членов МБТК). Древние гладкие бациллы соответствуют «пребутылочным» линиям МБТК, принадлежащим к более широкому виду, из которого появились современные микобактерии. По данным исследователей, изучавших современные гладкие африканские микобактерии, некоторые из них значительно отличались от типичных представителей *M. canettii* по исследованным генетическим параметрам. Исследователи предположили, что эти гладкие африканские микобактерии могут быть сохранившимися потомками *M. prototuberculosis* [19].

Современные члены МБТК – относительно молодые патогены, клональное потомство родового штамма, который подвергся эволюционному переходу «бутылочного горлышка» около 35 000 лет тому назад [18, 21, 31]. Они появились из родового пула гладких микобактерий путем развития преимуществ в персистенции и вирулентности. Предположительно это могло произойти путем потенциальной комбинации: 1) потери функции гена; 2) приобретения новых генов путем горизонтального переноса; 3) межштаммовой рекомбинации генных кластеров; 4) фиксации SNP. Однако все эти предположения требуют дальнейшего изучения.

С постепенным ростом и рассеиванием людей из Африки по всему миру увеличивалось и разнообразие МБТК, которые обладают уникальным свойством – латентностью (умением долго жить в организме хозяина, не вызывая болезнь). Эту латентность обозначают как персистенцию, если мы говорим о микробиологическом процессе, или инфицирование, если говорим о туберкулезе как инфекции. Латентность (неудачный термин) позволила МБТК избежать эволюционного тупика. Сегодня доказано, что микобактерия может годами прятаться в костном мозге хозяина. Рост вирулентности МБТК произошел около 10 000 лет тому назад во время неолитического демографического перехода, обусловленного появлением сельского хозяйства и животноводства, способствовавших скученности проживания людей, и был связан с потерей генов регуляторных путей [9].

Полногеномное секвенирование древних и современных штаммов открыло, что МБТК с течением времени аккумулировали характерные геномные делеции, которые сегодня используются для различия отдельных видов и линий МБТК. Интересно, что большинство идентифицированных делеций (хоть они и были обнаружены в изолятах, вызвавших активный туберкулез) слабовредоносны для

патогена. Между тем часть из них может предоставлять ему даже краткосрочные преимущества: для спасения от иммунной системы хозяина, снижения микробной нагрузки от его мобильных генетических элементов, развития антибиотикорезистентности, укорочения латентности, способствующей трансмиссии. Если делеция гена не является жизнедеятельной стратегией МБТК в течение долгого времени, то, например, важный ген после некоторых перерывов мог затем быть сохранен в популяции, несмотря на спорадическую позитивно избирательную делецию [34].

Исследования необратимых делеций на полиморфизм LPN, SNP и прямых повторов для расшифровки филогении МБТК [6, 23, 25] установили, что определяемая при таком подходе последовательная и однонаправленная потеря ДНК в репрезентативных штаммах открывает порядок, в котором члены МБТК снисходят от их общего предка. Сохранившиеся на сегодня представители общего пращура МБТК включают родовые и современные штаммы микобактерий. Последние отличаются потерей 2-1-kb-фрагмента (называемого TbD1) и вызывают большинство текущих случаев туберкулеза. Они включают семейство пекинских штаммов, которые преобладают в Азии и вызывали вспышки [17]. Отдельная линия (отличающаяся делецией RD 9) отклонилась от родовой и последовательно дала начало *M. africanum*, *M. microti*, *M. pinipedii*, *M. caprae*, *M. bovis*. Считается, что *M. bovis*, обладающая наибольшим числом делеций, – наиболее молодой член МБТК, и из этого следует, что именно люди передали МБТ домашним животным, а не наоборот.

Как уже упоминалось выше, в одной из природных пещер-ловушек Северной Америки были обнаружены хорошо сохранившиеся мумифицированные останки плейстоценового бизона, погибшего, по данным радиоуглеродного анализа, около 17 000 лет тому назад. Проведенная ПЦР-амплификация туберкулезных изменений его костных пыстных образцов выявила фрагменты ДНК, которые были также секвенированы и сполиготипированы, чтобы определить их взаимоотношения с разными членами МБТК. Установлено, что ДНК бизона совсем не похожа на ДНК современной *M. bovis*. Rothschild B. et al. [29] предполагают, что образец ДНК ископаемого бизона может быть репрезентативен предшественнику МБТК или первой группе видов, произошедших вскоре после начала видообразования. Сполиготипический паттерн изолята бизона оказался ближе к таковым современных *M. africanum* и *M. tuberculosis*, чем других членов МБТК. Этот случай, наравне с описанными случаями туберкулеза ископаемых большерогой овцы и овцебыка, допускает, что туберкулез был представлен и широко распространен на Американском континенте среди рогатых животных уже не менее 17 000 лет. Другими словами, возбудители и пути

заражения туберкулезом диких и домашних животных могли быть различными.

Все современные линии имеют клональную генетическую структуру, которая ограничивается географически и адаптирована к локальным популяциям хозяев [3]. Это также подтверждается всеобъемлющим исследованием, выполненным группой под руководством Gagneux [7]. Она изучала геномные особенности 320 штаммов, репрезентативных глобальному многообразию МБТК, и идентифицировала 34 167 полиморфных сайтов, которые использовали для реконструкции филогенетических взаимоотношений между ними. Полученная филогения совпала с прежней, уже существующей, основанной на других генетических маркерах. При сравнении филогении МБТ с соответствующим деревом, репрезентативным основным человеческим гаплогруппам (построенным на основании данных 4 955 митохондриальных геномов), авторы наблюдали их поразительное сходство. Такие данные подтверждают, что эволюция МБТК шла параллельно с эволюцией человеческого хозяина. Возможность того, что характеристики болезни могли измениться через какое-то время по мере того, как разные МБТК отбирались в разных генетических сообществах, может помочь объяснить свежие эпидемиологические тренды, ассоциированные с увеличившимся рассеиванием Beijing-семейства МБТ и уменьшением частоты болезни, вызванной другими линиями МБТ. Другие исследования [34] показали, что разные географические регионы мира имеют различные распределения линий МБТ и что в некоторых из них есть главная линия, для которой характерно небольшое распространение в других местах. Еще несколько исследований нашли взаимосвязи между микобактериальными генотипами и фенотипами людей. Так, в космополитических мегаполисах передача филогеографических линий ассоциируется с этническими популяциями неслучайно. Например, китаец скорее всего инфицируется и заболевает туберкулезом из-за заражения штаммом восточно-азиатской линии, чем микобактериями других линий. Это допускает, что в процессе эволюции человека специфические филогеографические линии МБТК адаптировались (или коэволюционировали) к отдельным человеческим популяциям и что такая совместимость хозяин – патоген обнаруживается даже тогда, когда трансмиссия имеет место за пределами их происхождения. Подобные макро-, микроотношения были задокументированы между филогеографической линией и типом мутаций, что генерируют штаммы, устойчивые к изониазиду (например, katG[S315T] или с – t0 – T заменой в inhA промоторе 15). Эти данные допускают, что принадлежность к определенной линии МБТ влияет на механизм развития изониазид-резистентности, которая, в свою очередь, действует на бактериальный фитнес и трансмиссию изониазид-резистентных штаммов.

Следует хотя бы вкратце остановиться на нескольких публикациях, описывающих наиболее интересные, хорошо исследованные ископаемые случаи человеческого туберкулеза.

В образцах 9 000-летней давности из Восточно-Средиземноморья исследовали ДНК от матери и дочери из 5 генетических локусов и установили, что они имели характеристики, сопоставимые с сохранившимися до сих пор генетическими линиями микобактерий. При этом у них уже определялась делеция *TbD1*, которая считается характерной для современных линий МТБК.

На территории нынешней Германии были исследованы останки 118 индивидов (из трех мест в Саксонии) примерно 5 000-летней давности на предмет туберкулеза костей морфологически, радиологически и с помощью генотипирования ДНК [27]. У двоих был выявлен туберкулез позвоночника и у 22 – туберкулез ребер. Дополнительные молекулярные анализы определили наличие патогенов, принадлежащих к МТБК.

Bos K. et al. [5] исследовали три генома МТБК тысячелетней давности из скелетов перуанцев. Они отличались от известных форм, адаптированных к человеку, и более всего были схожи с теми, что были приспособлены к тюленям и морским львам. Эти данные дают основание предполагать, что морские млекопитающие могли сыграть свою роль в передаче туберкулеза людям через океан еще в доколумбовую эру, хотя сегодня современные американские штаммы МБТ тесно связаны с таковыми из Европы.

В 1994 г. во время ремонта Доминиканской церкви в венгерском городе Вац случайно было открыто большое захоронение в запечатанных холодных (с температурой до 10°C), сухих криптах 265 священников и богатых католиков, похороненных в них с 1731 по 1838 г. Семьдесят процентов тел было мумифицировано естественным образом, при этом сохранились не только кости, но и мягкие ткани. Сохранившиеся архивы дали возможность точно определить возраст и семейную принадлежность умерших, профессии. У части из них были описаны предсмертные симптомы. Двадцати семи мумиям были сделаны рентгенограммы, на которых определялись обызвествленные поражения легких, характерные для туберкулеза. После этого международные команды исследователей [14, 15] приступили к комплексному изучению этих останков, которое продолжалось больше 20 лет. Сначала было проведено исследование на ДНК МБТ 168 погребенных, у 93 из них получен положительный результат. В части случаев сохранность ДНК МБТ была отличной, что позволило ее генотипировать и секвенировать. Таким образом, представилась возможность сравнить эти археологические ДНК с ДНК современных МБТ-изолятов, то есть изучить прошлую эпидемиологию туберкулезной инфекции и расширить временные рамки для изучения изменений в мо-

лекулярных фингерпринтах, чтобы лучше понять эволюцию МБТ.

Троим членам одной семьи, погребенным в этой Доминиканской церкви (матери 55 лет и двум дочерям 28 лет и 14 лет), проведен молекулярный анализ ДНК, включая исследование *IS6110*, *GyrA*, *katG*, *oxyR*, *mir 40*, *plc D*. Штаммы в их мумифицированных останках были идентифицированы как МБТ. Сполиготипирование разделило их на два штаммовых типа, то есть три члена изученной семьи были инфицированы двумя различными штаммами МБТ. В сравнении со штаммом матери у обеих дочерей определялись МБТ с одноточечной мутацией и одной делецией (потерей спейсера 31). При сравнении влияния заданного размера на выход ампликона была показана четкая разница между ДНК XVIII в. и современной.

Также 14 геномных последовательностей, представляющих 12 отдельных (различных) генотипов, из Доминиканской церкви проанализировали с помощью метагеномикса. Все они принадлежали к четвертой линии МБТ. Основываясь на исследованиях [4, 8] геномных последовательностей, выделено шесть основных филогенетических линий для МБТК, ассоциированных с туберкулезом человека. Четыре линии относятся к *M. tuberculosis*, а две – к *M. africanum*. Анализ геномных данных позволяет вычислить эволюционные дистанции. Установлено, что на уровне геномов отличия между линиями составляют в среднем 2000 SNPs, что эквивалентно, к примеру, эволюционной дистанции между *M. tuberculosis* и *M. bovis* [16], а разнообразие мировой популяции МБТ в целом выше, чем разнообразие всех остальных представителей комплекса при сравнении друг с другом (без учета *M. canettii*). Байесовская филогенетическая датировка, основанная на образцах с хорошо задокументированными датами, отнесла наиболее ранних предков этой линии в поздний романский период (между железным веком и концом античности). Во всех 14 исторических геномах обнаружена делеция 7 пары оснований в *rks 5/1*-гене, характерная для евроамериканской линии МБТ. Филогенетический анализ показал, что в XVIII в. в Венгрии циркулировало по крайней мере 12 различных штаммов МБТ. Проведенное авторами глубокое исследование исторических генотипов 4-й линии филогении подтверждает непрерывность штаммовых линий на протяжении более двух столетий.

В Британии исследовали ДНК МБТ из археологических образцов скелетов из Британии и Европы, датированных второй половиной XIX в. [26]. Результаты исследований дали возможность отнести их к группировкам и линиям, распознаваемым у сохранившихся МБТ. Другими словами, по крайней мере в течение XVIII-XIX вв. в Британии были представлены штаммы МБТ, принадлежавшие к различным генетическим группам. Все эти публикации подтверждают длительность и своеобразие сосуществования людей и МБТ.

Отдельного упоминания заслуживают описания ископаемых случаев множественных (многоштаммовых) туберкулезных инфекций, потому что сегодня на территориях высокого распространения туберкулеза ими страдает каждый пятый больной. У 5 из 8 исследованных в этом отношении трупов из Доминиканской церкви было найдено более одного генотипа МБТ, а у одного из них даже три, то есть в Европе в XVII в. множественная (многоштаммовая) туберкулезная инфекция была довольно распространенным явлением. В исследовании 34 трупов XVIII-XIX вв. из Британии и Европы [Muller (2015)] у 1 из них также однозначно была выявлена туберкулезная инфекция множественной локализации.

Стремительное распространение штаммов *Beijing* вызвало небывалый интерес к его филогении [1, 17]. Генотип МБТ *Beijing* появился на территории современного Северного Китая более 2 000 лет тому назад. Сегодня он состоит из 2 крупных филогенетических линий – «древней» и «современной» (с различной структурой генома и различным эволюционным потенциалом). Они отличаются по структуре локусов NTE, IS6110, IS1547 и Rv3135 – PPE. Его современное генетическое многообразие сформировалось в результате человеческой миграции из Юго-Восточной Азии в другие регионы Евразии и на другие континенты. В Россию он первоначально проник, по-видимому, во времена монгольского нашествия в XIII-XV вв. и в результате длительного и тесного сосуществования русских и завоевателей закрепился на территории России, в которой сегодня доминирует тип M2 [1, 17]. Однако наиболее «успешный» современный российский генотип *Beijing* – W 148 (BO). Он широко циркулирует также и на территории постсоветского пространства и преобладает среди иммигрантов из бывшего СССР

в США и Германии. Сейчас происходит «взрывная» диссеминация штаммов этого кластера, широко распространяющаяся по всей России, благодаря его особым свойствам.

Клинические особенности изолятов *M. tuberculosis* генотипа *Beijing*, по данным [28], следующие: «ускользание» от БЦЖ вакцины (вакцина в меньшей степени защищает от инфицирования современными штаммами *Beijing* – на животных моделях); повышенный уровень устойчивости к антибиотикам (ассоциация штаммов генотипа *Beijing* с множественной лекарственной устойчивостью); повышенная вирулентность (быстрое распространение патогена, уменьшенная выживаемость – на животных моделях); высокая иммуногенность (повышенный ответ провоспалительных цитокинов; некроз зараженных макрофагов); адаптация (коэволюция) к иммунной системе человека.

Суммируя все вышеизложенное, следует заключить, что МБТК появились значительно раньше, чем предполагалось ранее, в результате длительной коэволюции с их человеческим хозяином, еще до «эволюционного сужения» и одомашнивания скота. Представляется, что будущие исследования по эволюции МБТК должны основываться на спаренной – человеческой и микобактериальной – полногеномной информации, собираемой проспективно. Такой интегрированный подход позволит исследовать молекулярные детерминанты коэволюции хозяин – патоген при туберкулезе человека. МБТ смогли приспособиться к изменяющимся человеческим популяциям. Открытие закономерностей этих изменений, которые случились в этом взаимодействии в ходе эволюции, может помочь предсказать будущие паттерны болезни и разработать рациональные стратегии, способные наконец-то разорвать это историческое партнерство.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии у него конфликта интересов.

Conflict of Interests. The author state that he has no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

1. Мокроусов И. В. Генетическое разнообразие и эволюция *Mycobacterium tuberculosis*: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2009. – 40 с.
2. Прозоров А. А., Даниленко В. Н. Микобактерии туберкулезного комплекса: геномика, молекулярная эпидемиология, пути эволюции // Усп. совр. биологии. – 2011. – № 3. – С. 227-243.
3. Baker L., Brown N., Maiden M. et al. Silent nucleotide polymorphisms and a phylogeny for *Mycobacterium tuberculosis* // Emer. Inf. Dis. – 2004. – Vol. 10, № 9. – 1568-1574.
4. Bentley S. D., Comas I., Bryant J. M., Walker D., Smith N. H. et al. The genome of *Mycobacterium africanum* West African 2 reveals a lineage-specific locus and genome erosion common to the *M. tuberculosis* complex // PLoS Negl. Trop. Dis. – 2012. – Vol. 6, № 2. – P. e1552.
5. Bos K. et al. Pre-Columbian mycobacterial genomes reveal seals as a source of New World human tuberculosis // Nature. – 2014. – Vol. 514. – P. 494-497.
6. Brosch R. et al. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol. 99. – P. 3684-3689.
7. Comas I. et al. Out-of-Africa migration and Neolithic coexpansion of *Mycobacterium tuberculosis* with modern humans // Nature Genet. – 2013. – Vol. 45. – P. 1176-1182.
8. Comas I., Chakravarti J., Small P. M., Galagan J., Niemann S. et al. Human T cell epitopes of *Mycobacterium tuberculosis* are evolutionarily hyperconserved // Nat. Genet. – 2010. – Vol. 42, № 6. – P. 498-503.
9. Djelouadi Z., Raoult D., Drancourt M. Palaeogenomics of *Mycobacterium tuberculosis*: epidemic bursts with a degrading genome // Lancet Infect. Dis. – 2011. – Vol. 11. – P. 641-650.
10. Dos Vultos T., Mestre O., Golec M. et al. Evolution and diversity of clonal bacteria: The Paradigm of *Mycobacterium tuberculosis* // Plos ONE. – 2008. – Vol. 3, № 2. – P. 1538-1551.
11. Ernst J., Trevejo-Nunez G. Genomics and the evolution, pathogenesis, and diagnosis of tuberculosis // Clin. Invest. – 2007. – Vol. 117, № 7. – 1738-1745.
12. Fabre M., Koeck J., Le Fleche P., Simon F., Herve V. et al. High genetic diversity revealed by variable-number tandem repeat genotyping and analysis of hsp65 gene polymorphism in a large collection of “*Mycobacterium canetti*” strains indicates that the *M. tuberculosis* complex is a recently emerged clone of “*M. canetti*” // J. Clin. Microbiol. – 2004. – Vol. 42. – 3248-3255.
13. Fleischmann R., Alland D., Eisen J., Carpenter L., White O., et al. Whole-genome comparison of *Mycobacterium tuberculosis* clinical and laboratory strains // J. Bacteriol. – 2002. – Vol. 184. – P. 5479-5490.
14. Fletcher H., Donoghue H., Holton I., Pap I., Spigelman M. Widespread occurrence of *Mycobacterium tuberculosis* DNA from 18th-19th century Hungarians // Am. J. Phys. Anthropol. – 2003. – Vol. 120. – P. 144-152.
15. Fletcher H., Donoghue H., Taylor G., van der Zanden A. Molecular analysis of *Mycobacterium tuberculosis* DNA from a family of 18th century Hungarians // Microbiology. – 2003. – Vol. 149. – P. 143-151.
16. Garnier T., Eiglmeier K., Camus J. C., Medina N., Mansoor H. et al. The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol. 100, № 13. – P. 7877-7882.
17. Glynn J., Whiteley J., Bifani P., Kremer K., van Soolingen D. Worldwide occurrence of Beijing W strains of *Mycobacterium tuberculosis* a systematic review // Emer. Inf. Dis. – 2002. – Vol. 8. – P. 843-849.
18. Gutacker M., Smoot J., Migliaccio G., Ricklefs S., Hua S. et al. Genome-wide analysis of synonymous single nucleotide polymorphisms in *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms: Resolution of genetic relationships among closely related microbial strains // Genetics. – 2002. – Vol. 162. – P. 1533-1543.
19. Gutierrez M. et al. Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis* // PLoS Pathogens. – 2005. – Vol. 1. – P. e5.
20. Hershkovitz I. et al. Detection and molecular characterization of 9,000-year-old *Mycobacterium tuberculosis* from a Neolithic settlement in the Eastern Mediterranean // PLoS ONE. – 2008. – Vol. 3. – P. 3426.
21. Hughes A., Friedman R., Murray M. Genomewide pattern of synonymous nucleotide substitution in two complete genomes of *Mycobacterium tuberculosis* // Emer. Inf. Dis. – 2002. – Vol. 8. – P. 1342-1346.
22. Jonsson H., Ginolhac A., Schubert M., Johnson P. mapDamage2.0: fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters // Bioinformatics. – 2013. – Vol. 29. – P. 1682-1684.
1. Mokrousov I.V. *Geneticheskaya raznoobraziye i evolyutsiya Mycobacterium tuberculosis. Avtoref. diss. dokt. biol. nauk.* [Genetic variety and evolution of *Mycobacterium tuberculosis*. Doct. Diss.] St. Petersburg, 2009, 40 p.
2. Prozorov A.A., Danilenko V.N. *Mycobacteria of tuberculous complex: genomics, molecular epidemiology, ways of evolution. Usp. Sovr. Biologii*, 2011, no. 3, pp. 227-243. (In Russ.)
3. Baker L., Brown N., Maiden M. et al. Silent Nucleotide Polymorphisms and a Phylogeny for *Mycobacterium tuberculosis*. *Emer. Inf. Dis.*, 2004, vol. 10, no. 9, pp. 1568-1574.
4. Bentley S.D., Comas I., Bryant J.M., Walker D., Smith N.H. et al. The genome of *Mycobacterium africanum* West African 2 reveals a lineage-specific locus and genome erosion common to the *M. tuberculosis* complex. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2012, vol. 6, no. 2, pp. e1552.
5. Bos K. et al. Pre-Columbian mycobacterial genomes reveal seals as a source of New World human tuberculosis. *Nature*, 2014, vol. 514, pp. 494-497.
6. Brosch R. et al. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, pp. 3684-3689.
7. Comas I. et al. Out-of-Africa migration and Neolithic coexpansion of *Mycobacterium tuberculosis* with modern humans. *Nature Genet.*, 2013, vol. 45, pp. 1176-1182.
8. Comas I., Chakravarti J., Small P.M., Galagan J., Niemann S. et al. Human T cell epitopes of *Mycobacterium tuberculosis* are evolutionarily hyperconserved. *Nat. Genet.*, 2010, vol. 42, no. 6, pp. 498-503.
9. Djelouadi Z., Raoult D., Drancourt M. Palaeogenomics of *Mycobacterium tuberculosis*: epidemic bursts with a degrading genome. *Lancet Infect. Dis.*, 2011, vol. 11, pp. 641-650.
10. Dos Vultos T., Mestre O., Golec M. et al. Evolution and Diversity of Clonal Bacteria: The Paradigm of *Mycobacterium tuberculosis*. *Plos ONE*, 2008, vol. 3, no. 2, pp. 1538-1551.
11. Ernst J., Trevejo-Nunez G. Genomics and the evolution, pathogenesis, and diagnosis of tuberculosis. *Clin. Invest.*, 2007, vol. 117, no. 7, pp. 1738-1745.
12. Fabre M., Koeck J., Le Fleche P., Simon F., Herve V. et al. High genetic diversity revealed by variable-number tandem repeat genotyping and analysis of hsp65 gene polymorphism in a large collection of “*Mycobacterium canetti*” strains indicates that the *M. tuberculosis* complex is a recently emerged clone of “*M. canetti*” *J. Clin. Microbiol.*, 2004, vol. 42, pp. 3248-3255.
13. Fleischmann R., Alland D., Eisen J., Carpenter L., White O., et al. Whole-genome comparison of *Mycobacterium tuberculosis* clinical and laboratory strains. *J. Bacteriol.*, 2002, vol. 184, pp. 5479-5490.
14. Fletcher H., Donoghue H., Holton I., Pap I., Spigelman M. Widespread occurrence of *Mycobacterium tuberculosis* DNA from 18th-19th century Hungarians. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 2003, vol. 120, pp. 144-152.
15. Fletcher H., Donoghue H., Taylor G., van der Zanden A. Molecular analysis of *Mycobacterium tuberculosis* DNA from a family of 18th century Hungarians. *Microbiology*, 2003, vol. 149, pp. 143-151.
16. Garnier T., Eiglmeier K., Camus J.C., Medina N., Mansoor H. et al. The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis*. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2003, vol. 100, no. 13, pp. 7877-7882.
17. Glynn J., Whiteley J., Bifani P., Kremer K., van Soolingen D. Worldwide occurrence of Beijing W strains of *Mycobacterium tuberculosis* a systematic review. *Emer. Inf. Dis.*, 2002, vol. 8, pp. 843-849.
18. Gutacker M., Smoot J., Migliaccio G., Ricklefs S., Hua S. et al. Genome-wide analysis of synonymous single nucleotide polymorphisms in *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms: Resolution of genetic relationships among closely related microbial strains. *Genetics*, 2002, vol. 162, pp. 1533-1543.
19. Gutierrez M. et al. Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathogens*, 2005, vol. 1, pp. e5.
20. Hershkovitz I. et al. Detection and molecular characterization of 9,000-year-old *Mycobacterium tuberculosis* from a Neolithic settlement in the Eastern Mediterranean. *PLoS ONE*, 2008, vol. 3, pp. 3426.
21. Hughes A., Friedman R., Murray M. Genomewide pattern of synonymous nucleotide substitution in two complete genomes of *Mycobacterium tuberculosis*. *Emer. Inf. Dis.*, 2002, vol. 8, pp. 1342-1346.
22. Jonsson H., Ginolhac A., Schubert M., Johnson P. mapDamage2.0: fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters. *Bioinformatics*, 2013, vol. 29, pp. 1682-1684.

23. Kamerbeek J., Schools L., Kolk A., van Agterveld M., van Soolingen D. et al. Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosis and epidemiology // *J. Clin. Microbiol.* - 1997. - Vol. 35. - P. 907-914.
24. Karbou R. A., van Pittiust N., Namouchi A. Insights into the evolutionary history of tubercle bacilli as disclosed by genetic rearrangements within a PE PGRS duplicated gene pair // *BMC Evolutionary Biology*. - 2006. - doi 10.1186/1471-2148 6 107
25. Mostowy S., Cousins D., Brinkman J., Aranaz A., Behr M. Genomic deletions suggest a phylogeny for the Mycobacterium tuberculosis complex // *J. Infect. Dis.* 2002. - Vol. 186. - P. 74-80.
26. Muller R., Roberts C., Brown T. Genotyping of ancient Mycobacterium tuberculosis strains reveals historic genetic diversity // *Proc. Biol. Sci.* - 2014. - Vol. 281. - P. 2013-3236.
27. Nicklisch N. et al. Rib lesions in skeletons from early neolithic sites in Central Germany: on the trail of tuberculosis at the onset of agriculture // *Am. J. Phys. Anthropol.* - 2012. - Vol. 149. - P. 391-404.
28. Parwati I., van Crevel R., van Soolingen D. Possible underlying mechanisms for successful emergence of the Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype strains // *Lancet Infect. Dis.* - 2010. - Vol. 10, № 2. - P. 103-111.
29. Rothschild B. et al. Mycobacterium tuberculosis complex DNA from an extinct bison dated 17,000 years before the present // *Clin. Infect. Dis.* - 2001. - Vol. 33. - P. 305-311.
30. Semaw S., Simpson S., Quade J., Reime P., Butler R. et al. Early Pliocene hominids from Gona, Ethiopia // *Nature*. - 2005. - Vol. 433. - P. 301-305.
31. Sreevatsan S., Pan X., Stockbauer K., Connell N., Kreiswirth B. et al. Restricted structural gene polymorphism in the Mycobacterium tuberculosis complex indicates evolutionarily recent global dissemination // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. - 1997. - Vol. 94. - P. 9869-9874.
32. Supply P., Marceau I. M., Mangenot S. et al. Genome analysis of smooth tubercle bacilli provides insights into ancestry and pathoadaptation of the etiologic agent of tuberculosis // *Nat. Genet.* - 2013. - Vol. 15, № 2. - P. 172-179.
33. Taylor G., Murphy E., Hopkins., Rutland P., Chisiov Y. First report of Mycobacterium bovis DNA in human remains from the Iron Age // *Microbiology*. - 2007. - Vol. 153. - P. 1243-1249.
34. Tsolaki G., Hirsh E., De Riemer K. et al. Functional and evolutionary genomics of Mycobacterium tuberculosis: Insights from genomic deletions in 100 strains // *PNAS*. - 2004 - Vol. 101, № 14. - P. 4865-4870.
23. Kamerbeek J., Schools L., Kolk A., van Agterveld M., van Soolingen D. et al. Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, vol. 35, pp. 907-914.
24. Karbou R.A., van Pittiust N., Namouchi A. Insights into the evolutionary history of tubercle bacilli as disclosed by genetic rearrangements within a PE PGRS duplicated gene pair. *BMC Evolutionary Biology*, 2006, doi 10.1186/1471-2148 6 107
25. Mostowy S., Cousins D., Brinkman J., Aranaz A., Behr M. Genomic deletions suggest a phylogeny for the Mycobacterium tuberculosis Complex. *J. Infect. Dis.*, 2002, vol. 186, pp. 74-80.
26. Muller R., Roberts C., Brown T. Genotyping of ancient Mycobacterium tuberculosis strains reveals historic genetic diversity. *Proc. Biol. Sci.*, 2014, vol. 281, pp. 2013-3236.
27. Nicklisch N. et al. Rib lesions in skeletons from early neolithic sites in Central Germany: on the trail of tuberculosis at the onset of agriculture. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 2012, vol. 149, pp. 391-404.
28. Parwati I., van Crevel R., van Soolingen D. Possible underlying mechanisms for successful emergence of the Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype strains. *Lancet Infect. Dis.*, 2010, vol. 10, no. 2, pp. 103-111.
29. Rothschild B. et al. Mycobacterium tuberculosis complex DNA from an extinct bison dated 17,000 years before the present. *Clin. Infect. Dis.*, 2001, vol. 33, pp. 305-311.
30. Semaw S., Simpson S., Quade J., Reime P., Butler R. et al. Early Pliocene hominids from Gona, Ethiopia. *Nature*, 2005, vol. 433, pp. 301-305.
31. Sreevatsan S., Pan X., Stockbauer K., Connell N., Kreiswirth B. et al. Restricted structural gene polymorphism in the Mycobacterium tuberculosis complex indicates evolutionarily recent global dissemination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, vol. 94, pp. 9869-9874.
32. Supply P., Marceau I. M., Mangenot S. et al. Genome analysis of smooth tubercle bacilli provides insights into ancestry and pathoadaptation of the etiologic agent of tuberculosis. *Nat. Genet.*, 2013, vol. 15, no. 2, pp. 172-179.
33. Taylor G., Murphy E., Hopkins., Rutland P., Chisiov Y. First report of Mycobacterium bovis DNA in human remains from the Iron Age. *Microbiology*, 2007, vol. 153, pp. 1243-1249.
34. Tsolaki G., Hirsh E., De Riemer K. et al. Functional and evolutionary genomics of Mycobacterium tuberculosis: Insights from genomic deletions in 100 strains. *PNAS*, 2004, vol. 101, no. 14, pp. 4865-4870.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Добин Виталий Лазаревич

ГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова»,
доктор медицинских наук, профессор, заведующий
кафедрой фтизиатрии с курсом лучевой диагностики.
390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9.
Тел.: 8 (4912) 92-01-51
E-mail: viladob@gmail.com

FOR CORRESPONDENCE:

Vitaly L. Dobin

Pavlov Razyan State Medical University,
Doctor of Medical Sciences, Professor,
Head of Tuberculosis Department
with Training in X-ray Diagnostics.
9, Vysokovoltynaya St., Perm, 390026
Phone: +7 (4912) 92-01-51
Email: viladob@gmail.com

Поступила 06.03.2018

Submitted as of 06.03.2018