

Correlación entre las cepas circulantes de *Mycobacterium tuberculosis* portadoras de la delección *DosR* y/o con delección en el gen *kdpD*, con la severidad de la tuberculosis pulmonar y la respuesta inmune al tratamiento.

Juan C. Ocampo¹ y Andrés Baena^{1,2}

RESUMEN

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa causada por *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), la incidencia mundial reportada es de 10 millones de personas, de los cuales fallecieron 1,5 millones (incluyendo 200.000 personas con VIH), caracterizándola como una enfermedad infecciosa letal (OMS, 2020).

Mtb se transmite a través de aerosoles que son expectorados por personas infectadas. El órgano diana afectado son los pulmones. A pesar de los esfuerzos en salud pública de los dos últimos siglos, se ha comprendido que centrarse solo en el tratamiento no eliminará la TB, la investigación se ha ampliado entonces a otros aspectos. Por medio de la secuenciación del genoma completo y tipificación molecular se ha evidenciado una alta heterogeneidad entre las cepas de *Mtb*, exhibiéndose algunas con mayor virulencia afectando directamente la efectividad del tratamiento para la TB. Se ha propuesto que ciertos clados particulares de *Mtb* tienen mayor éxito y distribución en algunas poblaciones humanas específicas.

Planteamiento del problema: evidencia reciente ha mostrado que el genotipo de *Mtb* influye el fenotipo clínico de la tuberculosis, y que existe una interacción significativa entre el hospedero y el genotipo bacteriano. Recientemente, nuestro grupo, en colaboración con el Centro Nacional de Secuenciación Genómica, secuenció el genoma completo del aislado clínico co-

lombiano UT205, se encontró una delección genómica de 3649 pb que afecta varios genes pertenecientes al regulón *dosR*, además una delección de 13 pb en el gen *kdpD*. En contraposición, el aislado clínico UT127 no posee esta delección. La respuesta *in vitro* de varias poblaciones de macrófagos humanos hacia UT205 y UT127 difiere significativamente, particularmente en la inducción de muerte celular, sugiriendo diferencias en virulencia entre ambos aislados clínicos.

Por lo anterior nos preguntamos si ¿Existe una asociación entre las características de la enfermedad y la presencia/ausencia de las delecciones?, ¿Presentan los pacientes con TB, infectados con cepas portadoras de las delecciones una respuesta inmunológica diferente a aquellos infectados con cepas no portadoras de la delección? y ¿Se podrían asociar estas diferencias con la respuesta al tratamiento?

Objetivo general: determinar si existe una asociación entre las delecciones de los genes *DosR* y/o *KdpD*, en cepas circulantes de *Mtb* aisladas de pacientes con TB pulmonar activa, con la severidad de la enfermedad y la respuesta al tratamiento, producción de citoquinas y marcadores séricos de inflamación, en una población de pacientes del Municipio de Medellín.

Metodología: se estudiarán 100 pacientes con TB pulmonar seleccionados dentro de las 2 primeras semanas de tratamiento, reclutados en la red de metrosalud del Municipio de Medellín (Colombia). Se medirá la severidad clínica (TB-score instrumento anteriormente validado), citoquinas séricas y moléculas asociadas a la inflamación por medio de la tecnología de BD™ Cytometric Bead Array (CBA) y ELISA respectivamente en 3 tiempos (t 0, 2 y 6 meses desde el inicio de tratamiento). La determinación de las delecciones en *DosR* y *KdpD* se harán, por PCR convencional y qRT-PCR usando ADN extraído de muestras de baciloscopia. El análisis estadístico consistirá en un modelo predictivo para determinar si las mediciones asociadas con presencia de mediadores de la inflamación en suero y la severidad clínica pueden definir la pertenencia a uno de los grupos específicos como presencia o ausencia de la delección.

Resultados esperados: las cepas circulantes de *Mtb* que presentan las delecciones se asocien con una TB

¹ Grupo de Inmunología Celular e Inmunogénica, Corporación Académica Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Grupo de Inmunología Celular e Inmunogénica, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Correspondencia: juan.ocampom1@udea.edu.co - andres.baenag@udea.edu.co

Financiación del proyecto: Grupo de Inmunología Celular e Inmunogénica, Minciencias

más severa y muestren características de respuesta inmunológica diferentes a las cepas que no presentan la delección. Que el tratamiento de los pacientes infectados con cepas que tienen las delecciones sea más prolongado con respecto a los que están infectados con cepas que no tienen las delecciones.

Resultados Obtenidos: en una muestra de 41 asilados de ADN de *Mtb* de pacientes con TB se encontró la presencia de la delección en el gen *KdpD* en un 7,3%. Se encontró que la delección del *DosR* estaba presente en el 50% de los individuos.

Discusión: en un modelo murino infectado con una cepa mutante *kdpDE* se evidenció un aumento en la virulencia micobacteriana, no existe un estudio que asocie esta pérdida con un comportamiento clínico más severo de la TB (16) four isolated homologous regulators, and three isolated homologous sensors. We have constructed defined mutations in six of these genes and measured virulence in a SCID mouse model. Mice infected with four of the mutants (deletions of *devR*, *trcXY*, *trcS*, and *kdpDE*). Si nuestra hipótesis es correcta la presencia/ausencia de la delección en el gen *KdpD* y *DosR* se podrían utilizar como biomarcadores para ejercer una vigilancia mayor en las personas enfermas infectadas con las variantes con delección y de su respuesta al tratamiento, así como para estudios prospectivos esperando que la tasa de transmisión de las cepas con delecciones sea mayor a las que no las poseen.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, KdpD protein, *DosR* regulon, Chromosome Deletion

Palabras clave: *Mycobacterium tuberculosis*, proteína *kdpD*, regulón *DosR*, delección cromosómica

BIBLIOGRAFÍA

1. WHO | Global tuberculosis report 2020. WHO [Internet]. 2020 [cited 2020 Nov 3]; Available from: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/
2. Cardona PJ. Pathogenesis of tuberculosis and other mycobacteriosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2018 Jan 1;36(1):38–46.
3. Philips JA, Ernst JD. Tuberculosis Pathogenesis and Immunity. *Annu Rev Pathol Mech Dis* [Internet]. 2012 Feb 7;7(1):353–84. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011811-132458>
4. Rohde KH, Abramovitch RB, Russell DG. Mycobacterium tuberculosis Invasion of Macrophages: Linking Bacterial Gene Expression to Environmental Cues. *Cell Host Microbe*. 2007 Nov 15;2(5):352–64.
5. GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT 2012 WHO Library Cataloguing-in-Publication Data Global tuberculosis report 2012 [Internet]. 2012 [cited 2020 Nov 3]. Available from: <http://www.who.int/about/>
6. Costa ERD, Lazzarini LCO, Perizzolo PF, Díaz CA, Spies FS, Costa LL, et al. Mycobacterium tuberculosis of the RDRio genotype is the predominant cause of tuberculosis and associated with multidrug resistance in Porto Alegre City, South Brazil. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2013 Apr 16 [cited 2020 Nov 3];51(4):1071–7. Available from: <http://www.saude>
7. Weisenberg SA, Gibson AL, Huard RC, Kurepina N, Bang H, Lazzarini LCO, et al. Distinct clinical and epidemiological features of tuberculosis in New York City caused by the RD Rio Mycobacterium tuberculosis sublineage. *Infect Genet Evol* [Internet]. 2012 Jun [cited 2020 Nov 3];12(4):664–70. Available from: </pmc/articles/PMC3290718/?report=abstract>
8. Lazzarini LCO, Spindola SM, Bang H, Gibson AL, Weisenberg S, Carvalho WDS, et al. RDRio Mycobacterium tuberculosis infection is associated with a higher frequency of cavitary pulmonary disease. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2008 Jul [cited 2020 Nov 3];46(7):2175–83. Available from: </pmc/articles/PMC2446940/?report=abstract>
9. Click ES, Moonan PK, Winston CA, Cowan LS, Oeltmann JE. Relationship between mycobacterium tuberculosis phylogenetic lineage and clinical site of tuberculosis. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2012 Jan 15 [cited 2020 Nov 3];54(2):211–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22198989/>
10. Pareek M, Evans J, Innes J, Smith G, Hingley-Wilson S, Loughheed KE, et al. Ethnicity and mycobacterial lineage as determinants of tuberculosis disease phenotype. *Thorax* [Internet]. 2013 [cited 2020 Nov 3];68(3):221–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23019255/>
11. Gagneux S, Small PM. Global phylogeography of Mycobacterium tuberculosis and implications for tuberculosis product development [Internet]. Vol. 7, *Lancet Infectious Diseases*. *Lancet Infect Dis*; 2007 [cited 2020 Nov 3]. p. 328–37. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17448936/>

12. Gagneux S, DeRiemer K, Van T, Kato-Maeda M, De Jong BC, Narayanan S, et al. Variable host-pathogen compatibility in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2006 Feb 21 [cited 2020 Nov 3];103(8):2869–73. Available from: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0511240103
13. Isaza JP, Duque C, Gomez V, Robledo J, Barrera LF, Alzate JF. Whole genome shotgun sequencing of one Colombian clinical isolate of *Mycobacterium tuberculosis* reveals *DosR* regulon gene deletions. *FEMS Microbiol Lett* [Internet]. 2012 May 1 [cited 2020 May 26];330(2):113–20. Available from: <https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.2012.02540.x>
14. Duque C, Arroyo L, Ortega H, Montúfar F, Ortíz B, Rojas M, et al. Different responses of human mononuclear phagocyte populations to *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis*. 2014 Mar 1;94(2):111–22.
15. Baena A, Cabarcas F, Alvarez-Eraso KLF, Isaza JP, Alzate JF, Barrera LF. Differential determinants of virulence in two *Mycobacterium tuberculosis* Colombian clinical isolates of the LAM09 family. *Virulence* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2020 Nov 4];10(1):695–710. Available from: [/pmc/articles/PMC6650194/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31111111/)
16. Parish T, Smith DA, Kendall S, Casali N, Bancroft GJ, Stoker NG. Deletion of two-component regulatory systems increases the virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun*. 2003 Mar 1;71(3):1134–40.