

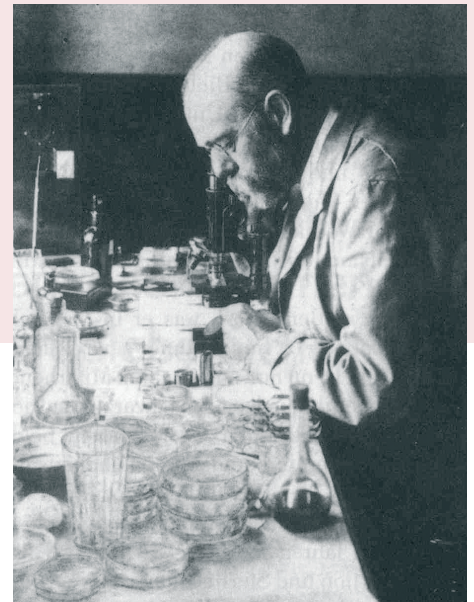
UNA VISIÓ ACTUAL DEL BACIL DE KOCH

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Escrit per:

Jesús Ángel Gonzalo Asensio

Doctorand del Dept. de Microbiologia
Universitat de Saragossa



Robert Koch al seu laboratori, F.H. Hancox (1896)

Introducció

La primera descripció de *Mycobacterium tuberculosis* té lloc el 24 de Març de 1882, quan Robert Koch descriu la seva visió a través d'un microscopi amb aquestes paraules: "sota l'objectiu, les estructures dels teixits animals com per exemple el nucli, apareixen marrons, mentre que els bacteris de la tuberculosi són d'un color blau precís".

Sota aquesta bella aparença s'oculta el patògen causant d'una de les malalties més devastadores de la història de la humanitat: la tuberculosi, que lluny de ser eradicada, continua essent la principal causa de mortalitat deguda a un agent bacterià.

Des de la seva identificació a finals del segle XIX, les investigacions en camps com la microbiologia clàssica, la immunologia i la bioquímica han aportat importants coneixements sobre *M. tuberculosis*. Actualment la potència de les eines de biologia molecular i la disponibilitat de la seqüència genòmica del bacil permetran investigar els seus mecanismes de virulència i, així, dissenyar noves estratègies de tractament i vacunació.

Característiques de *Mycobacterium tuberculosis*

M. tuberculosis junt amb *Mycobacterium leprae* (causant de la lepra) són els representants més importants i més coneguts del gènere dels micobacteris (anomenat així degut a la semblança relativa entre les seves colònies en plaques d'agar i els fongs (*myco*)) (figura 1).

Tot i que segons la taxonomia clàssica es tracta d'un bacteri gram positiu ja que posseeix una única membrana cel·lular de fosfolípids i proteïnes a la qual s'uneix una paret cel·lular de peptidglicà, el seu comportament enfront la tinció de Gram és anòmal degut a la presència addicional d'una veritable cuirassa lipídica ancorada externament a la paret de peptidglicà. Aquest component accessori compost per lípids i polisacàrids complexos altament específics és responsable de la baixa permeabilitat del bacteri a la majoria dels compostos (inclosos els antibiòtics) i engloba molts factors de virulència responsables de la interacció amb les cèl·lules de l'hoste (figura 2).

Sota el microscopi, *M. Tuberculosis* presenta una forma bacil·lar lleugerament corbada i la seva mida mitjana és de 1-5 µm de llarg i de 0.4-0.6 µm de gruix.

Quant a condicions de creixement, és un micobacteri de metabolisme aerobi i creixement molt lent amb uns períodes de divisió que oscil·len entre 18 i 24 hores en funció de les condicions de cultiu. Les colònies en medi sòlid apareixen després de dues o tres setmanes d'incubació. A títol comparatiu pot dir-se que *Escherichia coli* té un període de divisió de 20 minuts i forma colònies visibles en una mica més de 12 hores.

M. Tuberculosis és un patògen intracel·lular molt adaptat a les cèl·lules de l'hoste i incapaç de créixer a l'ambient. Aquesta característica, junt amb el seu lent creixement contribueixen a la naturalesa crònica de la infecció, la dificultat del tractament i la seva transmissió persona-persona.

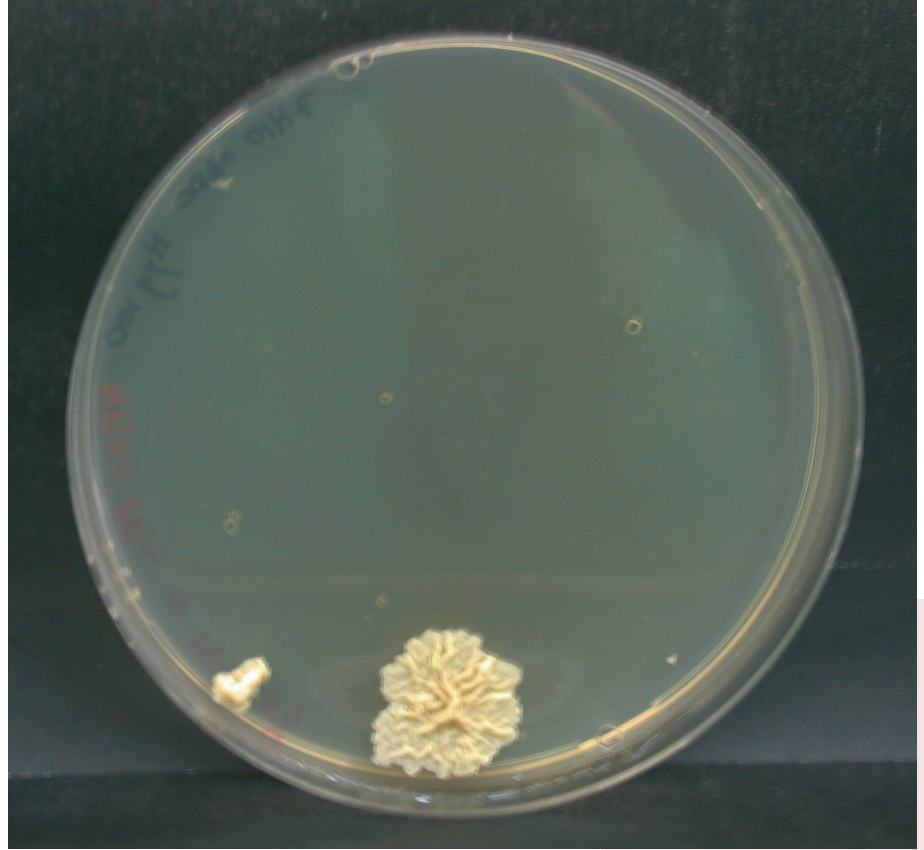


Figura 1. Aspecte de les colònies de *M. tuberculosis* en medi sòlid. Pot observar-se la seva gran mida i la seva morfologia rugosa característica.

La tuberculosi: història, patògenia i tractament

Es creu que la tuberculosi va començar com una malaltia del bestiar i es va transmetre a l'home a partir de la domesticació d'animals i la vida en societat durant el neolític. Existeixen proves de la malaltia en ossos prehistòrics i en mòmies egípcies i precolombines.

A la societat moderna fou tradicionalment coneguda com a "tisi" i es va creure que es tractava d'una malaltia hereditària degut al seu diagnòstic en diferents membres d'una mateixa família. No va ser fins a finals del segle XIX quan Jean-Antoine Villemin determinà la naturalesa infecciosa de la malaltia i anys més tard Koch en va identificar l'agent causal.

Durant els anys successius l'aparició d'antibiòtics eficaços i d'una vacuna denominada BCG (Bacil de Calmette-Guérin) juntament amb la millora de les condicions de vida van reduir de mica en mica els casos de tuberculosi dels països desenvolupats, encara que va quedar relegada als països pobres.

Des del descobriment de Koch, més de 100 milions de persones han mort degut a la malaltia. Actualment 2 milions de

persones moren cada any i un terç de la població mundial es troba infectada.

Aquestes xifres alarmants i la reaparició de la malaltia als països rics van fer que la tuberculosi fos declarada per l'OMS l'any 1993 com un problema d'emergència global.

La infecció amb *M. tuberculosis* més freqüent es produeix a nivell pulmonar, tot i que també hi ha un 15% de formes extrapulmonars, i comença amb la inhalació de bacils presents en l'aire exhalat per un individu malalt. Quan els bacils arriben als alvèols són fagocitats per macròfags residents, els quals inicien una resposta immunitària que, encara que molt complexa, consisteix fonamentalment en l'activació de diferents tipus de limfòcits T. Aquests limfòcits secreten Interferó γ (IFN γ), el qual al seu torn induïx l'expressió del Factor de Necrosi Tumoral α (TNF α) tant en limfòcits T com en macròfags. Ambdós productes estimulen la síntesi d'espècies reactives d'oxigen i enzims lítics pels macròfags infectats per tal de lluitar contra *M. tuberculosis*. Malgrat

això, el bacteri pot sobreviure a l'atac mitjançant la producció d'enzims i compostos que neutralitzen les espècies reactives d'oxigen i la inhibició de la fusió del fagosoma (en el qual es troben els bacils) amb els lisosomes que contenen els enzims lítics. Així doncs, s'arriba a un estat d'equilibri entre les defenses del sistema immunitari i les pròpies del patògen, que pot persistir durant llargs períodes de temps dins del fagosoma en estat latent, amb un metabolisme mínim i sense causar patologies (figura 3).

La malaltia comença degut a una lenta progressió del patògen o bé quan el sistema immunitari falla i *M. tuberculosis* té capacitat de multiplicar-se a l'interior de macròfags que no han estat activats correctament (figura 4). Aquesta progressió de la malaltia tractarà d'evitar-se per part de la resta de cèl·lules immunitàries destruint les cèl·lules infectades i el teixit pulmonar que les envolta. Els bacils que sobreviuen a l'atac podran infectar altres macròfags no activats i així successivament fins la destrucció de gran part del teixit pulmonar. Així doncs, la tuberculosi no

Ultraestructura bacteriana

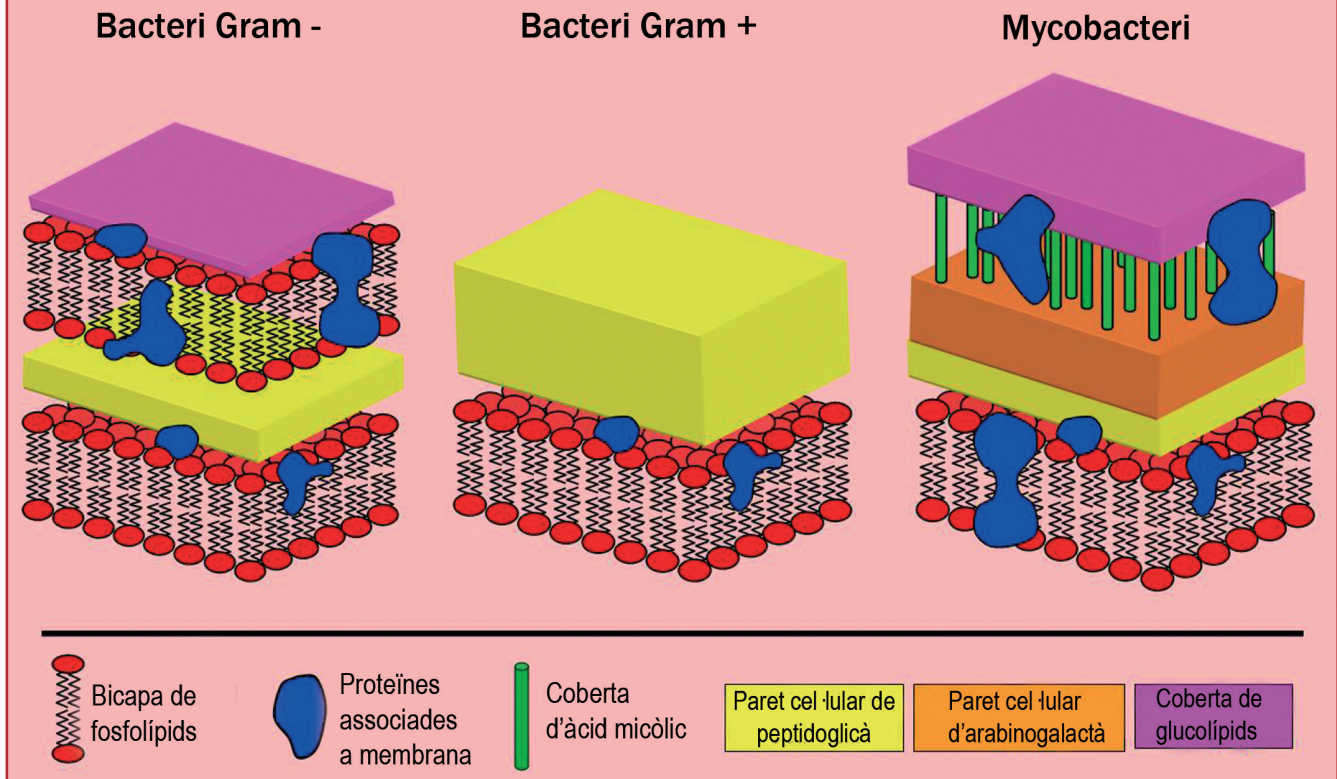


Figura 2

és més que la conseqüència d'una mesura desesperada del sistema immunitari per evitar l'avanç de la malaltia.

La immunodeficiència causada pel virus VIH associada a una destrucció de limfòcits T CD4 dels malalts no tractats tindrà un desenllaç fatal.

El primer antibiòtic emprat en la lluita contra aquesta malaltia va ser l'estreptomicina, coneguda des de 1934 i aplicada a la tuberculosi a partir de 1944. Després van arribar altres fàrmacs més eficaços i específics.

El tractament actual consisteix en l'administració de tres antibiòtics de primera línia (isoniazida, rifampicina i pirazinamida) durant 6 mesos. La combinació de fàrmacs evita l'aparició de soques resistents mentre que els llargs períodes de quimioteràpia permeten

l'eliminació total dels bacils del malalt. Prendre aquests medicaments de manera correcta és complicat i per tant s'administren sota observació directa de personal qualificat (programa DOTS).

Durant els últims anys l'aparició de dues soques multiresistents, és a dir, resistents almenys a dos dels fàrmacs de primera línia, complica el tractament tot i l'existència d'antibiòtics de reserva.

Biologia molecular de *Mycobacterium tuberculosis*

Des de 1998 es coneix el genoma complet de la soca H37Rv de *M. tuberculosis*. Consta de 4411529 parells de bases, el 91% de les quals té capacitat codificant.

El contingut en G i C és del 65.6% i aquesta proporció es manté al llarg

de tota la seqüència, fet que indica l'existència de transferència lateral de gens, així com l'estabilitat genètica conseqüència de l'adaptació a l'hoste. Malgrat aquesta homogeneïtat genètica, el genoma de *M. tuberculosis* posseeix una gran quantitat d'elements genètics mòbils, com transposons i profags, que són responsables de la variabilitat entre soques i, per tant, s'utilitzen en el disseny d'eines de tipatge útils per a estudis d'epidemiologia molecular.

La genètica molecular dels micobacteris és altament específica. Això implica la utilització d'eines genètiques desenvolupades exclusivament per a aquests microorganismes.

Les proteïnes sintetitzades per *M. tuberculosis* estan condicionades per l'elevat contingut en G i C del genoma.

Així doncs, són proteïnes riques en els aminoàcids Ala, Gly, Pro, Arg i Trp i pobres en aminoàcids codificats per codons rics en A i T.

Es coneix la funció d'aproximadament el 50% de les proteïnes de *M. tuberculosis*. El 50% restant són proteïnes similars a les d'altres organismes o bé proteïnes exclusives de micobacteris. Una investigació en detall d'aquestes últimes permetrà utilitzar-les com a dianes per a futurs antibiòtics.

Entre el conjunt de proteïnes es troben tots els enzims necessaris per a la síntesi d'aminoàcids, nucleòtids i àcids grassos, així com els enzims encarregats de la producció d'energia com ara els implicats en la glucòlisi, la ruta de les pentoses fosfat, el cicle de Krebs, el cicle del glicòlat i el sistema de fosforilació

oxidativa. A més hi ha alguns enzims del metabolisme anaerobi que poden utilitzar compostos diferents a l'oxigen com acceptor final d'electrons.

Degut a la multiplicació intracel·lular del paràsit, són especialment importants les molècules essencials pel bacteri. Per això se sintetitzen molècules de tipus hemoglobina i sideròfors, responsables de la captació d'O² i Fe³⁺ respectivament.

La família de proteïnes més nombrosa i divergent respecte a altres microorganismes és la del metabolisme dels lípids. Existeixen molts enzims encarregats de la síntesi d'àcids grassos complexos que formaran part de l'embolcall del bacil. No menys importants són els enzims que duen a terme la degradació de lípids procedents, majoritàriament, de les membranes

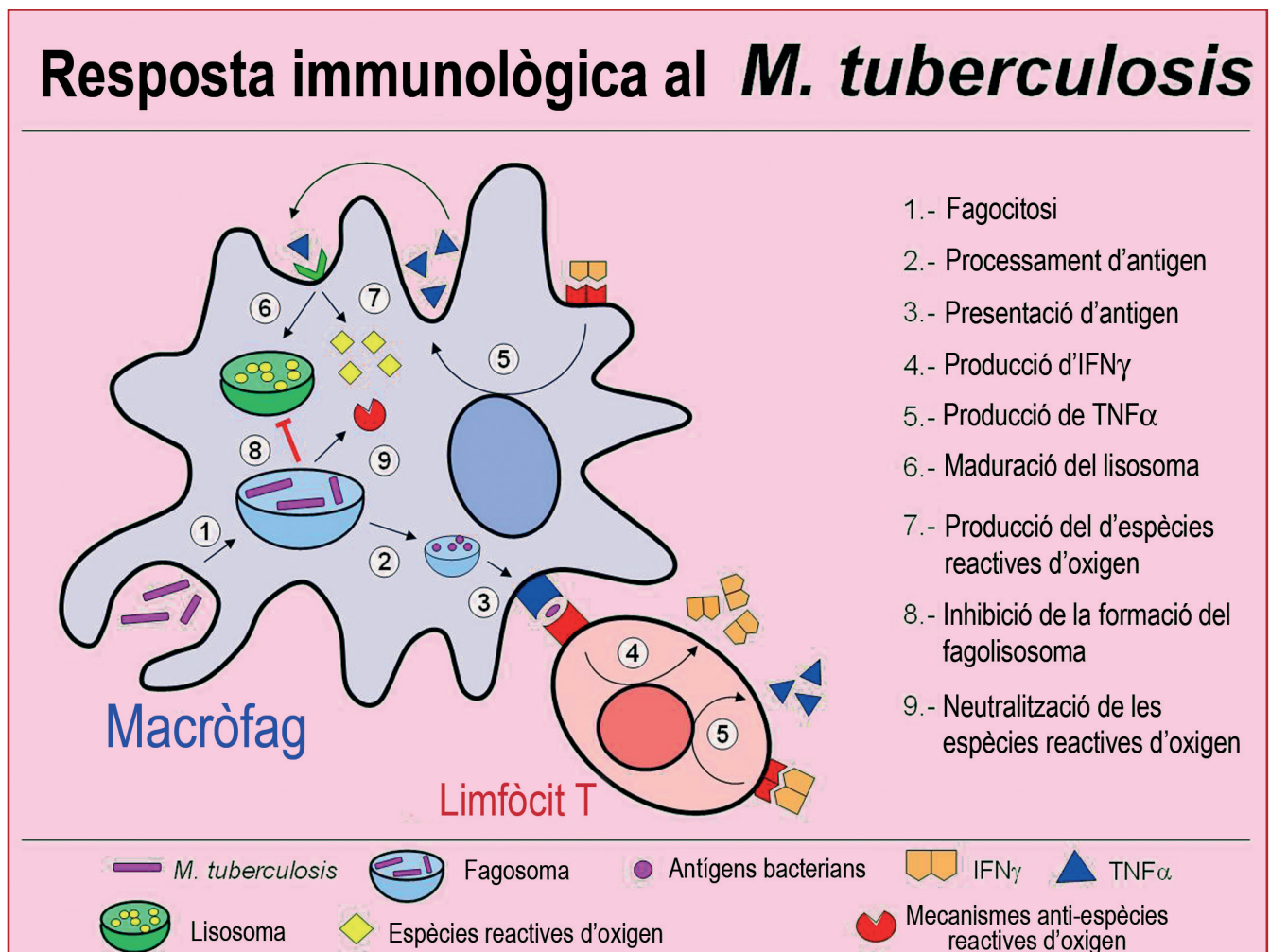
de l'hoste per obtenir energia en el procés i així permetre la persistència intracel·lular.

Investigació en *Mycobacterium tuberculosis*

Malgrat els amplis coneixements adquirits en genètica i biologia molecular de micobacteris, la tuberculosi continua essent un problema seriós. El ressorgiment de la malaltia associada a la SIDA i a l'aparició de soques multiresistents implica el desenvolupament de noves mesures de control.

L'actual vacuna BCG (figura 5) no és eficaç en tots els casos i fins i tot existeixen poblacions en què la seva eficàcia és nul·la. Per aquest motiu l'eradicació completa d'aquesta malaltia implica la construcció d'una nova vacuna.

Figura 3



Existeixen tres estratègies per a l'obtenció de soques vacunals:

- a) L'atenuació de microorganismes vius es basa en la construcció de soques de *M. tuberculosis* mutants en gens de virulència, de manera que és possible mantenir tot el potencial immunogen del patogen sense causar patologia.
- b) La potenciació de la immunogenicitat de BCG consisteix en l'expressió d'antígens, ja siguin de *M. tuberculosis* o d'altres bacteris en l'actual vacuna en un intent d'incrementar la seva antigenicitat i, amb ella, la seva protecció.
- c) Les vacunes basades en subunitats intenten generar una memòria immunitària eficaç a base d'injectar extractes proteics

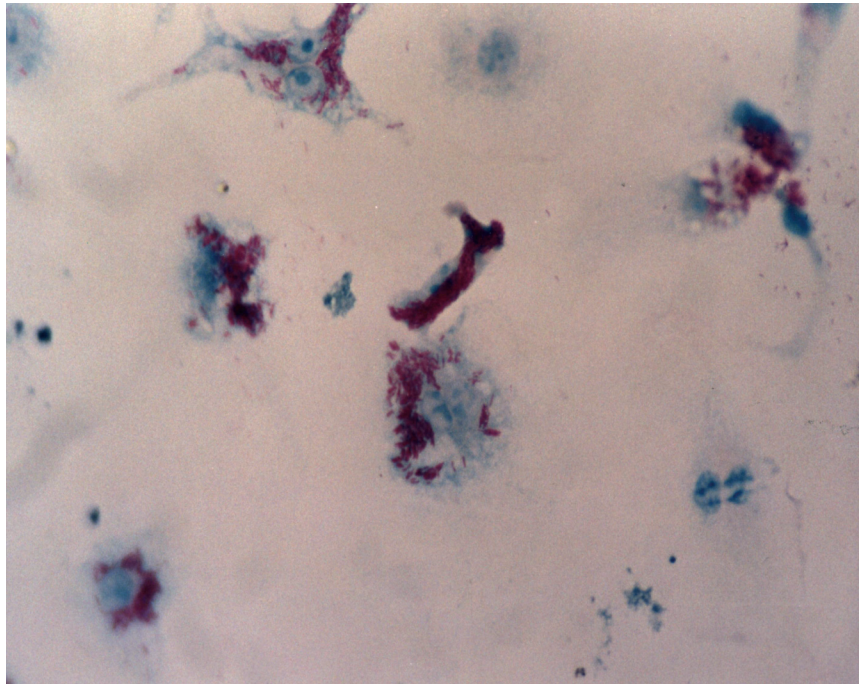


Figura 4. Replicació de *M. tuberculosis* en macròfags de ratolí no activats.

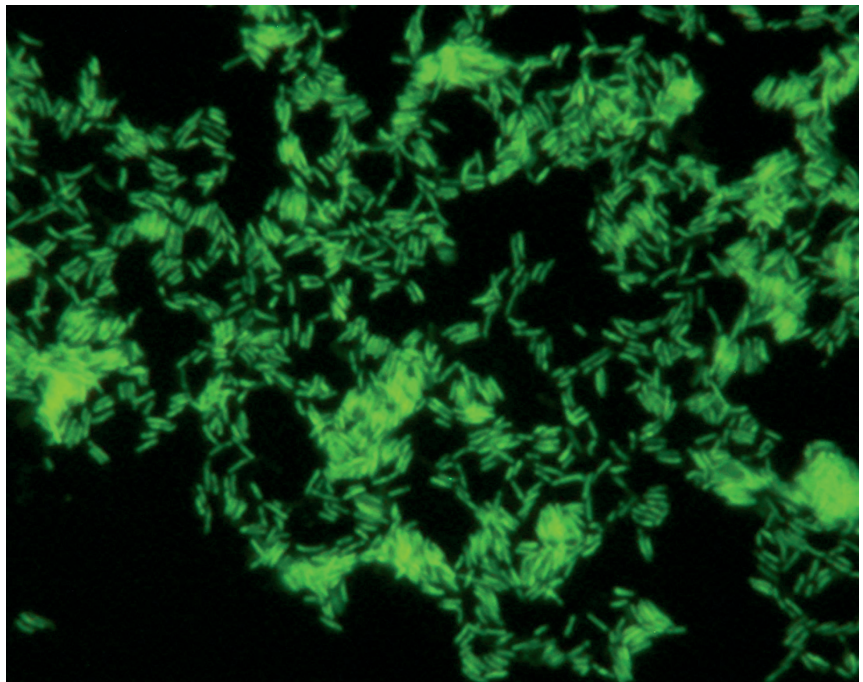


Figura 5. Bacils de l'actual vacuna GCG visualitzats amb microscòpia de fluorescència.

Bibliografia:

·Tuberculosis: patogènesis, protection, and control. Edited by Barry R. Bloom. ASM Press

·Tuberculosis. Lancet 2003; 362: 887-899

·How can immunology contribute to the control of tuberculosis? Nature reviews immunology October 2001. Volume 1, 20-30

·Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. Nature 393, 537-544 (1998)

·TB vaccines: progress and problems. Trends in immunology March 2001. Volume 22 n° 3, 160-168