

УДК 616.9-092

## Инфекционный процесс как «диалог» между хозяином и паразитом

С.В. Сидоренко

Государственный научный центр по антибиотикам, Москва, Россия

### Infectious Process as a «Dialog» Between Host and Parasite

S.V. Sidorenko

National Research Centre of Antibiotics, Moscow, Russia

#### Терминология

Формирование представлений о том, что некоторые болезни человека связаны с внедрением в его организм невидимых чужеродных агентов, вероятно, происходило одновременно с зарождением цивилизации. В эпоху античности и особенно в эпоху Возрождения эти представления начали приобретать характер учения.

Термин «инфекция» произошел от лат. *inficio, infectum* – напитывать, окрашивать, заражать, отравлять, портить. Открытие Луи Пастером микроскопических живых существ, способных вызывать брожение и, как вскоре стало ясно, ряд болезней человека, дало импульс к развитию новых областей знания, таких, как микробиология и иммунология.

К наиболее впечатляющим результатам, достигнутым микробиологией и иммунологией, относятся создание вакцин, открытие и внедрение в практику антибиотиков. Достигнутые (и будущие) успехи в борьбе с инфекционными болезнями опираются на понимание сути взаимоотношений между человеком и микроорганизмом – *хозяином и паразитом*.

В настоящей статье будет предпринята попытка изложения современного состояния этого вопроса.

Уже на начальных этапах развития микробиологии и учения об инфекционных болезнях возникла практическая необходимость разработки критери-

ев, позволяющих отличать безвредные микроорганизмы от «безвредных». Впервые такие критерии, ставшие затем известными под названием постулатов, сформулировал Роберт Кох 24 марта 1882 г. в докладе «Über Tuberkulose» на заседании Берлинского физиологического общества. По Коху для доказательства «неслучайного» (причинного) характера связи микроорганизма и болезни необходимо показать, что:

- микроорганизм обнаруживается в каждом отдельном случае конкретной болезни при соответствующих патологических изменениях и клинической картине;
- микроорганизм не выявляется при других болезнях;
- при введении здоровому человеку или животному микроорганизма, выделенного от больного и полученного в чистой культуре, развивается типичная картина болезни.

Некоторое время казалось, что с антропоцентрической точки зрения все микроорганизмы можно разделить на патогенные, удовлетворяющие постулатам Коха, и апатогенные, им не удовлетворяющие. Однако уже вскоре после признания постулатов Коха стало очевидным, что для характеристики наблюдаемых взаимодействий между хозяином и паразитом необходимо ввести дополнительную категорию – «условно-патогенные» микроорганизмы, то есть способные вызывать заболевание человека только при определенных условиях. Приблизительно в это же время были заложены основы учения о специфической и неспецифической противoinфекционной резистентности.

Контактный адрес:  
Сергей Владимирович Сидоренко  
113105, Москва, ул. Нагатинская, 3а  
Российский научный центр антибиотиков  
Тел.: (095) 111-76-19  
Эл. почта: serg.sid@g23.relcom.ru

Применение теории Дарвина к анализу взаимоотношений микроб – хозяин позволило сформулировать представление о том, что адаптация к существованию бактерий на поверхностях или во внутренней среде многоклеточных организмов, в частности человека, является одним из направлений их эволюции. Поскольку бактерии используют многоклеточные организмы как питательный субстрат, то это может вызвать повреждение и гибель последних. Соответственно для своего сохранения как биологического вида хозяину необходимо выработать механизмы адаптации к существованию в окружении микроорганизмов. Очевидно, что в процессе естественной истории происходит совершенствование механизмов адаптации к сосуществованию как паразита, так и хозяина.

Постепенно сложилось представление, что все разнообразие микроорганизмов с точки зрения их роли в патологии человека можно разделить на несколько групп.

1. Высокопатогенные микроорганизмы (**облигатные патогены**), способные проникать во внутреннюю среду организма человека, размножаться в различных его органах и тканях, закономерно вызывать болезни. Под патогенностью микроорганизмов традиционно понимают их способность вызывать болезни человека, а **вирулентность** рассматривают как степень патогенности. Однако многими авторами эти термины употребляются как синонимы. Этот подход будет использоваться и в настоящей работе.

2. Микроорганизмы, адаптированные к существованию в нестерильных частях организма человека, связанных с окружающей средой (кожный покров, желудочно-кишечный тракт, верхние отделы дыхательных путей) и составляющие нормальную (эндогенную) микрофлору. Микроорганизмы, входящие в состав нормальной микрофлоры человека, различаются по вирулентности. Так, например, бифидо- и лактобактерии практически никогда не вызывают заболеваний человека, другие же, например *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, являются частыми этиологическими агентами инфекций и относятся к условно-патогенным микроорганизмам.

3. Свободноживущие микроорганизмы, в редких случаях попадающие на эпителиальные поверхности хозяина (человека) или в его внутреннюю среду и при выраженных дефектах систем противомикробной резистентности вызывающие инфекционные заболевания (*Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. и др.).

4. Микроорганизмы, не имеющие значения в инфекционной патологии, поскольку условия для их

существования в организме человека отсутствуют. К этой группе относятся большинство микроорганизмов, обитающих в почве, воздухе и воде.

Приведенная классификация крайне важна с практической точки зрения, поскольку она является основой оценки значимости микроорганизмов, выделяемых из патологического материала в процессе микробиологической диагностики инфекционных болезней. Однако она нуждается в некоторых уточнениях. Речь идет о том, что с точки зрения их вирулентности многие виды условно-патогенных микроорганизмов нельзя рассматривать как однородные. Так, у вида бактерий *E. coli* – одного из наиболее часто встречающихся в организме человека – можно выделить штаммы, обладающие крайне разнообразными свойствами: от комменсалов до штаммов, вызывающих гемолитико-уремический синдром или менингиты новорожденных.

К настоящему времени генетические основы этих различий хорошо изучены. Примеров подобной генетической неоднородности по признаку вирулентности можно привести много. С другой стороны, имеются многочисленные примеры, когда генетически отдаленные микроорганизмы имеют сходные механизмы вирулентности.

Таким образом, следует признать, что во многих случаях патогенность не является видовым признаком микроорганизма.

В целом происходит определенное «размывание» границ между патогенными, условно-патогенными микроорганизмами и комменсалами. Постепенно формируется представление о том, что контакт хозяина и микроорганизма всегда приводит к развитию комплекса генетически запрограммированных процессов как со стороны микро-, так и макроорганизма.

Исходы этих процессов могут быть самыми разнообразными: от элиминации микроорганизма до более или менее выраженных повреждений организма хозяина, иногда несовместимых с его жизнью. Для описания взаимодействий хозяина и паразита предложено множество терминов, смысл которых часто трактуется по-разному.

На основании анализа накопленных данных А. Casadevall и L.-A. Pirofski предложили унифицировать терминологию, описывающую взаимодействия хозяин – паразит [1]. Предлагаемые представления о характере взаимоотношения хозяин – паразит приведены на рис. 1.

Термин **«инфекция» (инфекционный процесс)** используется для описания процессов «приобретения» нового микроорганизма, размножающегося в организме хозяина.

Для характеристики возможных вариантов

исходов и характера течения инфекционного процесса предлагается использовать следующие термины:

– **комменсализм** – состояние, при котором сохранение микроба в организме хозяина не сопровождается повреждением последнего, однако отмечается активация систем специфической и неспецифической резистентности;

– **симбиоз (мутуализм)** – состояние, при котором и микроб, и хозяин получают адаптивные преимущества;

– **инфекционная болезнь** – клинические проявления повреждений макроорганизма, возникающих в результате взаимодействий хозяин – паразит;

– **персистенция** – состояние, при котором факторы резистентности хозяина не обеспечивают элиминацию микроорганизма, сопровождающееся длительным, но незначительным повреждением, в зависимости от баланса взаимодействия хозяин – паразит может эволюционировать в инфекционную болезнь;

– **колонизация** – состояние, развивающееся вслед за приобретением хозяином нового микроорганизма, характеризуется динамичностью и неустойчивостью взаимоотношений хозяин – паразит, эволюционирует в другие формы взаимоотношений.

Предложенный вариант унификации терминологии может вызвать некоторые возражения, однако он отражает важную тенденцию в эволюции представлений о характере взаимоотношений хозяин – паразит.

### Основные этапы инфекционного процесса

За традиционным и вполне обоснованным представлением о микроорганизмах как о существах, стоящих на низших ступенях эволюции, следует оценка их роли во взаимоотношениях с многоклеточными организмами как подчиненной, что отражается и в терминологии.

По отношению к микроорганизмам употребляют термины «паразиты», «комменсалы». Однако существует несколько парадоксальная точка зрения, согласно которой ответ на вопрос о том, кто же является паразитом, микроб или человек – далеко не однозначен [2].

В системе человек – микроб общее количество

человеческих клеток составляет  $10^{13}$ , а микробных –  $10^{14}$ – $10^{15}$ . Ряд необходимых для организма человека питательных веществ синтезируется эндогенной микрофлорой. Главное преимущество, которое получают микроорганизмы, сосуществующие с многоклеточными организмами, – стабильность окружающей среды по параметрам температуры, ионному составу, наличию питательных веществ.

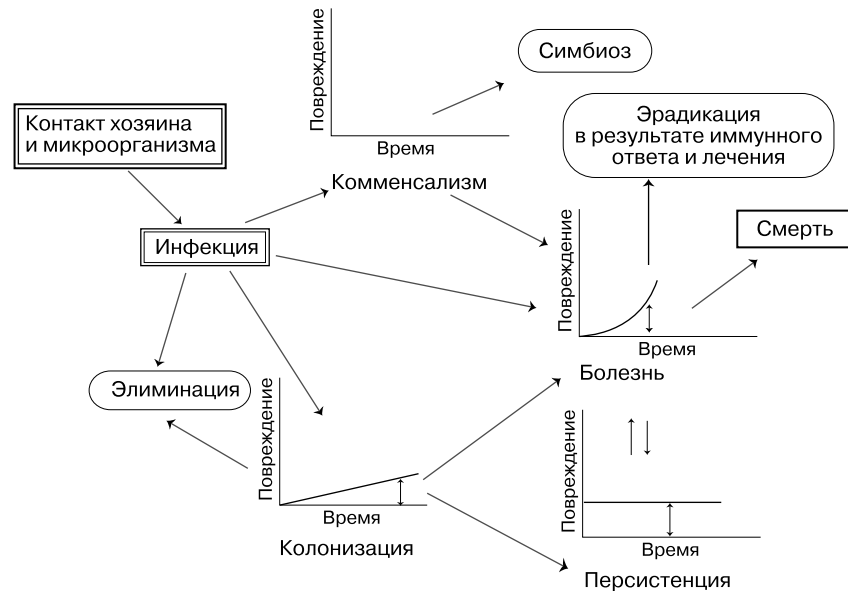


Рис. 1. Взаимодействия хозяин–паразит: варианты развития инфекционного процесса

Таким образом, оценить, кто же получает от существования большую выгоду, достаточно сложно. По крайней мере следует признать, что сосуществование бактерий и человека абсолютно равноправно.

В инфекционном процессе традиционно выделяют следующие звенья, которые предполагают непосредственный физический контакт между микроорганизмом и клеткой хозяина:

- 1) адгезия микроорганизмов к эпителию хозяина;
- 2) инвазия микроорганизмов во внутренние среды организма хозяина;
- 3) пролиферация микроорганизмов во внутренней среде организма хозяина.

При одних инфекциях перечисленные процессы развиваются последовательно, при других происходит только адгезия.

В патогенезе инфекций важное значение имеют также процессы, непосредственно не связанные с физическим контактом клеток. Речь идет о продукции микроорганизмами токсинов и антител – макроорганизмом. В этих случаях клетка-эфektor и

мишень оказываются пространственно разделенными.

### Адгезия

Все микроорганизмы обладают выраженной способностью прикрепляться к органическим и неорганическим поверхностям. Естественный образ жизни большинства микроорганизмов связан с их закреплением на каких-либо субстратах. Размножение в бульонной культуре, используемое в лабораторных условиях, является скорее исключением, чем «правилом» в жизни микроорганизмов.

Для практических целей выделяют *две* группы механизмов адгезии – неспецифические и специфические.

**Неспецифическая адгезия** опосредована физико-химическими взаимодействиями бактерий с поверхностями. К ним относятся:

- электростатические взаимодействия;
- гидрофобные взаимодействия;
- ван-дер Ваальсовы взаимодействия;
- броуновское движение.

Неспецифическая адгезия, как правило, обратима. Для описания этого типа адгезии в англоязычной литературе иногда используют термин «**docking**» (постановка в док). Для описания специфической адгезии, которую считают необратимой, используют термин «**anchoring**» (заякоривание).

**Специфическая адгезия** происходит в результате молекулярных взаимодействий между **адгезином** микробной клетки и **рецептором** клетки хозяина.

Под *адгезинами* понимают поверхностные структуры микробных клеток и входящие в их состав макромолекулы, обычно белки, посредством которых осуществляется прикрепление к специфическим поверхностям.

Под *рецептором* подразумевают структуру, комплементарную адгезину и находящуюся на поверхности эукариотической клетки. Функцию рецепторов в процессе адгезии выполняют углеводные или пептидные (белковые) фрагменты, локализованные на мембране эукариотических клеток.

Специфическая адгезия – один из частных случаев универсального биологического механизма: **лиганд-рецепторных** взаимодействий, участвующих в реакции антиген – антитело, передаче гормональных и нейросигналов и в ряде других процессов. Основу таких взаимодействий составляет пространственная комплементарность взаимодействующих структур. Для ее описания обычно используют аналогию «ключ – замок».

Адгезины часто являются **лектинами** – протеинами, способными связываться с углеводными.

Представители двух основных таксономических групп микроорганизмов – грамположительные и грамотрицательные бактерии – используют различные стратегии специфической адгезии. У грамотрицательных микроорганизмов молекулы адгезинов входят в состав специализированных органелл – **ворсинок** (фимбрий, пилей), вследствие чего они называются **фимбриальными адгезинами**.

Ворсинки представляют собой тонкие и длинные белковые структуры диаметром около 10 нм и длиной несколько сотен нанометров. Дистальная часть ворсинки представлена еще более тонкой фибриллой, на конце которой располагается молекула собственно адгезина. У грамотрицательных бактерий различают несколько типов ворсинок. Основой классификации служат структура ворсинок, рецептор связывания и механизм сборки. Один штамм микроорганизмов может обладать несколькими типами ворсинок.

*Пили* – разновидность ворсинок, осуществляющих контакт между микробными клетками в процессе конъюгации.

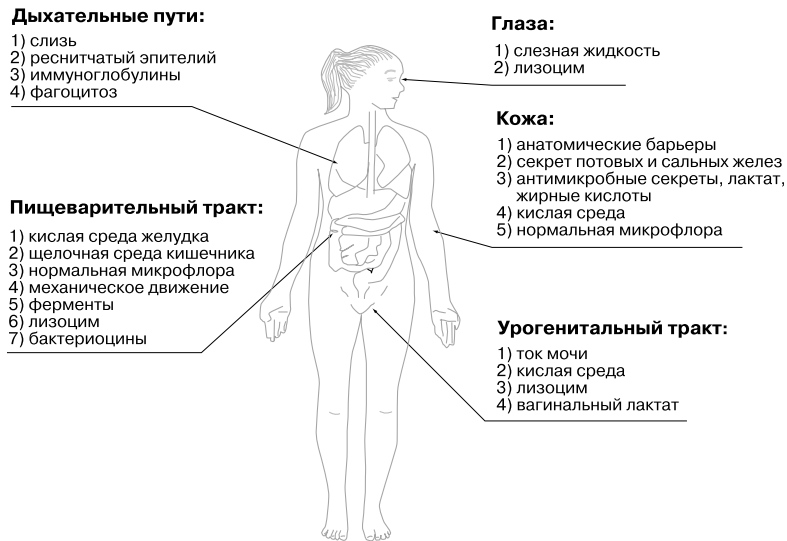
У грамположительных бактерий фимбриальные адгезины не описаны. Эти микроорганизмы осуществляют адгезию посредством **афимбриальных** адгезинов. Структура многих афимбриальных адгезинов не установлена, большинство из известных являются белковыми молекулами, связанными с цитоплазматической мембраной микробной клетки. Рецепторами для адгезинов грам(+) бактерий чаще всего являются фибронектин и белки межклеточного матрикса. Афимбриальные адгезины описаны и у грам(-) бактерий.

Адгезия является начальным и безусловно необходимым этапом любого инфекционного процесса. Поэтому вполне естественно, что многоклеточные организмы выработали систему защиты, ограничивающую адгезию. Механизмы защиты, характерные для различных локусов организма человека, контактирующих с внешней средой, представлены на рис. 2.

Как следует из рис. 2, во многих случаях одним из важных защитных факторов макроорганизма является «нормальная» микрофлора, не допускающая контакта адгезинов патогенных микроорганизмов с рецепторами хозяина.

Фимбриальные адгезины обеспечивают более эффективную адгезию, чем афимбриальные. Они оказываются локализованными на длинной тонкой ножке, что облегчает их контакт с рецептором и, вероятно, позволяет преодолевать барьер «нормальной» микрофлоры и другие защитные механизмы.

К настоящему времени достигнут значительный прогресс в познании процессов, происходящих при



**Рис. 2.** Факторы защиты частей организма человека, связанных с внешней средой

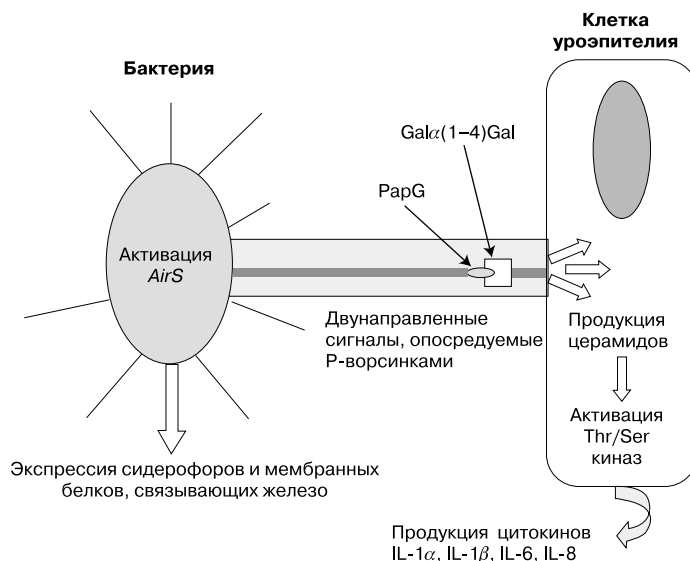
адгезии уропатогенных штаммов *E. coli* к эпителию мочевыводящих путей. Оказывается, что адгезия служит сигналом к запуску каскада сложных реакций как у бактерии, так и у макроорганизма, представленных на рис. 3.

Естественным источником инфицирования мочевыводящих путей (прежде всего у женщин) является кишечная микрофлора. Однако далеко не все штаммы *E. coli*, попадающие из прямой кишки в уретру, способны вызывать инфекцию мочевыводящих путей. Такими свойствами обладают так называемые уропатогенные штаммы.

из мочевого пузыря. В этих условиях жизненной необходимостью для микроорганизма становится способность к пролиферации в моче, чему препятствует низкая концентрация ионов, прежде всего железа.

В эксперименте показано, что связывание белка PapG микроорганизма с рецепторами уроэпителия является сигналом для бактериальной клетки к активации механизмов поглощения железа из окружающей среды (регуляторным элементом в механизмах активации является продукт гена *AirS*). Механизм передачи сигнала от дистального фрагмента ворсинки к регуляторному элементу *AirS*, локализованному в цитоплазматической мембране бактериальной клетки, не известен. Поглощение железа обеспечивается синтезом сидерофоров и мембранных белков, связывающих железо.

Таким образом, адгезия к уроэпителию не только приводит к механическому закреплению микроорганизма в новой экологической нише, но и вызывает адекватную новым условиям перестройку метаболизма. Кроме перестройки метаболизма, механический контакт и связывание Р-ворсинок с клеткой эпителия ведут к изменению механизма сборки новых ворсинок (они становятся короче) и явля-



**Рис. 3.** Взаимодействие клеток уроэпителия и уропатогенных микроорганизмов, опосредованное Р-ворсинками

ются сигналом к экспрессии ряда генов вирулентности *E. coli* (комплекса *pap* и гемолизина).

После адгезии не менее важные события происходят и в клетке уроэпителия. После связывания фрагмента Gal $\alpha$  (1–4) Gal- с адгезином (PapG белком) из мембраны клетки уроэпителия высвобождаются церамиды – известные активаторы серин/треониновых киназ, стимулирующих синтез ряда цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8).

Связывание уропатогенных штаммов *E. coli* через ворсинки I типа с маннозными фрагментами мембраны эпителиальных клеток также приводит к синтезу последними цитокинов. Причем пути активации синтеза цитокинов в этом случае отличаются от тех, которые используются при адгезии через P-ворсинки. Одним из наиболее значимых последствий активации цитокинового каскада является миграция фагоцитов в субэпителиальные слои.

Связывание маннозных рецепторов ведет также к запуску процессов *апоптоза* (программируемой гибели), что вызывает интенсивную эксфолиацию клеток эпителия и должно способствовать ускорению элиминации микроорганизмов. Однако суть оборотной стороны эксфолиации эпителия состоит в том, что для микроорганизмов становятся доступными более глубокие слои эпителия, не обладающие защитными функциями и чувствительные к инвазии.

Итак, очевидно, что в процессе адгезии между бактериальной и эукариотической клетками происходит «диалог», каждый из участников которого по-своему отвечает на сигналы партнера. Скорее всего закономерности, выявленные на модели адгезии *E. coli* к клеткам уроэпителия, имеют универсальный характер. Так, существенно различающиеся в деталях, но сходные по сути процессы описаны при адгезии энтеропатогенов к эпителию слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, а нейссерий – к слизистой оболочке половых путей. С большой долей вероятности можно предположить, что специфическая адгезия всегда сопровождается ответными реакциями как бактерии, так и макроорганизма.

При оценке реакций на адгезию макроорганизма возникает вопрос об их целесообразности. Эксфолиация эпителия мочевого пузыря, наблюдаемая в ответ на адгезию уропатогенных микроорганизмов, является защитной реакцией, направленной на элиминацию прикрепившихся бактерий, но в то же время она явно сопровождается повреждением макроорганизма и вызывает клиническую картину болезни.

*Адгезия микроорганизмов к имплантируемым устройствам.* Совершенствование медицинских тех-

нологий, в частности широкое использование искусственных имплантируемых и внутрисосудистых устройств (протезы, катетеры и др.), создало новую экологическую нишу для микроорганизмов. Ни один из используемых для создания имплантируемых устройств материалов не является биологически инертным. Микроорганизмы оказываются способными связываться с их поверхностями в результате неспецифической адгезии.

Кроме того, на этих поверхностях с разной скоростью происходят отложение белков макроорганизма, чаще всего фибрина, и формирование пленки, в составе которой присутствуют молекулы, являющиеся рецепторами для адгезинов микроорганизмов.

Особенность имплантируемых устройств как субстратов для адгезии микроорганизмов состоит в том, что у них полностью отсутствуют факторы, противодействующие этому процессу. Таким образом, при контакте микроорганизма с поверхностью искусственных устройств адгезия практически неизбежна.

Однако в дальнейшем события разворачиваются не по тем схемам, которые описаны для адгезии микроорганизмов к живым объектам, обладающим факторами резистентности. Вначале на поверхностях, вероятно, формируются отдельные микроколонии микроорганизмов, которые затем быстро объединяются в сплошную биопленку.

Биопленка представляет собой несколько слоев микроорганизмов, покрытых общим *гликокаликсом* – сложной полимерной структурой полисахаридной природы. Формирование биопленки не является чисто механическим слиянием микроколоний. Этот процесс подвержен сложной регуляции, ведущую роль в которой играют *аутоиндукторы*. Феномен аутоиндукции, или кооперативной чувствительности (*quorum sensing*), будет рассмотрен ниже.

Биология микроорганизмов в составе биопленки отличается некоторыми особенностями. Подавляющее большинство индивидуальных клеток находится в состоянии покоя и, что важно для практики, характеризуется крайне низкой чувствительностью к воздействию антибактериальных агентов. По не совсем понятным причинам в отдельных участках биопленки периодически возникают очаги размножения, в результате чего в окружающую среду выделяются свободные (планктонные) клетки микроорганизмов. Описанный процесс составляет основу патогенеза катетерассоциированных инфекций.

Бактериальные биопленки могут формироваться как на внешней, так и на внутренней поверхности венозных катетеров при отсутствии признаков

воспаления окружающих тканей. В первом случае источником инфицирования является кожа пациента, во втором – руки персонала, производящего манипуляции с подключением и отключением катетера. Само по себе формирование биопленки на поверхности катетера не вызывает каких-либо повреждений макроорганизма. Все негативные эффекты и клиническая картина катетерассоциированных инфекций связаны с образованием планктонных форм микроорганизмов, поступающих в системный кровоток.

Формировать биопленки способны многие микроорганизмы, однако наибольшее клиническое значение имеют биопленки, формируемые *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*. Из эукариотических микроорганизмов основное значение имеют *Candida* spp. В наибольшей степени адгезии микроорганизмов способствуют полиэтиленовые и поливиниловые устройства, в наименьшей – силиконовые, тефлоновые и полиуретановые.

### **Инвазия**

Термин «**инвазия**» используется для описания двух различных процессов: распространения микроорганизмов в межклеточных пространствах тканей организма хозяина и проникновения их внутрь его клеток.

Распространение микроорганизмов по межклеточным пространствам обеспечивают внеклеточно секретируемые белки, обладающие ферментативной активностью и нарушающие целостность внеклеточного матрикса. К ним относятся гиалуронидазы, нейраминидазы, коллагеназы, стрептокиназы, стафилокиназы и т. д. Ферменты, относящиеся к двум последним группам, обеспечивают конвертацию неактивного плазминогена в плазмин, который разрушает фибрин и препятствует свертыванию крови.

Определенное значение во внеклеточном распространении бактерий, вероятно, имеют также бактериальные протеазы, липазы, нуклеазы и гликогидролазы. Все перечисленные факторы действуют в ближайшем окружении микробной клетки и, как правило, не оказывают системного воздействия на организм хозяина.

Тканевому распространению микроорганизмов способствуют также ферменты фосфолипазы, вызывающие лизис эукариотических клеток в результате образования пор в цитоплазматической мембране. К фосфолипазам относятся широко распространенные среди микроорганизмов гемолизины.

Для проникновения внутрь эукариотических клеток у микроорганизма есть *два* пути инвазии: *пассивный* и *активный*.

Под пассивным путем имеется в виду фагоцитоз. Фагоцитоз является одной из наиболее древних защитных реакций макроорганизма, направленных на защиту от микроорганизмов, попавших во внутреннюю среду организма хозяина. Фагоцитозу подвергаются все микроорганизмы. Исходом подавляющего большинства бактерий является их гибель. Лишь немногие виды микроорганизмов приобрели способность выживать внутри фагоцитов. Используемые при этом стратегии будут рассмотрены отдельно.

Активная инвазия предполагает способность микроорганизмов проникать внутрь клеток, не являющихся «профессиональными» фагоцитами. Внутриклеточная среда эукариотических организмов потенциально представляет собой значительную по объему экологическую нишу. Не удивительно, что часть микроорганизмов, адаптированных к существованию на эпителиальных поверхностях, выработали механизмы для активного проникновения внутрь этих объектов. Способность к активной инвазии обычно рассматривается как признак облигатной патогенности микроорганизмов. Выделение их из клинического материала всегда рассматривается как клинически значимое.

Необходимый начальный этап инвазии – прикрепление к поверхности эпителия. Несмотря на наличие многих общих черт с процессом адгезии, описанным выше, адгезия инвазивных микроорганизмов характеризуется некоторыми отличиями. Бактериальные молекулы, участвующие в адгезии (в данном случае они называются **инвазинами**), как правило, не связаны с ворсинками. Более существенные различия касаются рецепторного аппарата эукариотических клеток, участвующего в связывании.

В случае инвазии рецепторами эукариотических клеток являются их мембранные молекулы, основная функция которых состоит в межклеточных взаимодействиях. Так, инвазивные энтеробактерии в качестве рецепторов используют *интегрины* эукариотических клеток. Листерии для связывания в качестве рецептора используют *кадхерин*. Перечисленные молекулы эпителиальных клеток играют основную роль в поддержании структуры тканей, обеспечивая физический контакт эукариотических клеток.

Процесс инвазии в очень упрощенном и схематичном виде можно представить следующим образом. Связывание бактериальных инвазинов с соответствующими рецепторами является сигналом к реорганизации компонентов цитоскелета клеток эпителия (нитей актина и микротрубочек), в результате которой и происходит инвазия. В процессе

инвазии на поверхности эпителиальных клеток образуются выросты, напоминающие псевдоподии макрофагов, которые «обволакивают» бактерии. Затем выросты замыкаются, и формируется внутриклеточная вакуоль, содержащая бактерию. Таким образом бактерия «заставляет» клетку эпителия захватить себя.

Детали процесса инвазии лучше всего изучены на примере таких микроорганизмов, как *Yersinia* spp., *Salmonella* spp. и *Shigella* spp. Перечисленные патогены осуществляют инвазию кишечного эпителия, причем основными «воротами» являются М-клетки.

Одной из основных функций М-клеток является транспорт макромолекул и более крупных частиц из просвета кишечника в области подслизистого слоя, богатые Т- и В-лимфоцитами, макрофагами и дендритными клетками, то есть в те области, где происходят *процессинг*, распознавание антигена и индукция иммунного ответа.

М-клетки обычно обнаруживают в ассоциации с подслизистой лимфоидной тканью. В сравнении с другими энтероцитами они обладают редуцированной щеточной каймой и гликокаликсом, что существенно облегчает их контакт с кишечным содержимым. На апикальной мембране М-клеток экспрессируется повышенное количество тканевых антигенов и интегринов.

Механизм инвазии шигелл представлен на рис. 4. Основными рецепторами для шигелл на поверхности М-клеток являются  $\beta 1$  интегрины. Скорее всего существуют и другие рецепторы, определяющие тропизм микроорганизмов к слизистой оболочке толстой и прямой кишки. Адгезия микроорганизмов является сигналом к синтезу белков

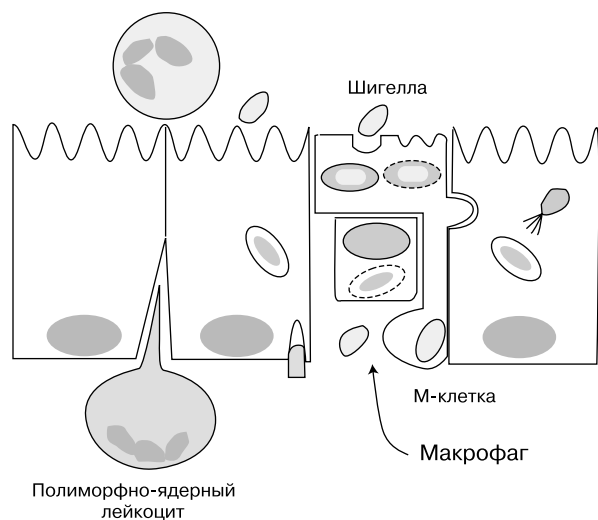


Рис. 4. Механизм инвазии шигелл

(IraB, IraC и IraD), выполняющих функции инвазинов. Их транспорт внутрь эукариотической клетки осуществляет специальная система секреции, относящаяся к III типу. Перечисленные белки вызывают интенсивную полимеризацию актина внутри М-клетки, приводящую к формированию псевдоподий, охватывающих бактериальную клетку, и вакуоли.

Захват шигелл не приводит к выраженному повреждению М-клеток. Микроорганизм быстро мигрирует в подслизистый слой, в область лимфоидных фолликулов, где подвергается фагоцитозу мононуклеарными фагоцитами. Шигеллы вызывают апоптоз фагоцитов, вновь высвобождаются в подслизистый слой и могут проникать в интактные энтероциты через их базолатеральные мембраны.

Однако перечисленные процессы не имеют непосредственного отношения к клиническим и морфологическим проявлениям дизентерии – диарее на фоне язвенно-геморрагического колита. Поражение слизистой оболочки толстой и прямой кишки в основном связано с интенсивным синтезом инфицированными энтероцитами интерлейкинов (IL-1 $\beta$ , IL-8), TNF $\alpha$ , миграцией нейтрофилов и развитием мощной воспалительной реакции в очаге инфекции.

Развитие мощной местной воспалительной реакции, несмотря на формирование локальных поражений слизистой оболочки, надолго обеспечивает макроорганизму значительные преимущества, поскольку предотвращает гематогенное распространение возбудителя.

Механизмы инвазии кишечного эпителия сальмонеллами во многом напоминают описанные для шигелл. Однако характер взаимоотношений хозяин – паразит сальмонеллезной инфекции иной. Кроме инвазинов, сальмонеллы обладают и другими детерминантами вирулентности – прежде всего устойчивостью к бактерицидному действию фагоцитов.

Вырабатывая механизмы инвазии эукариотических клеток, микроорганизму одновременно приходится создавать механизмы, позволяющие избежать фагоцитоза или сохранять жизнеспособность внутри фагоцитов.

#### **Выживание микроорганизмов внутри фагоцитов**

Как уже отмечено, подавляющее большинство микроорганизмов, попавших внутрь фагоцитов (макрофагов или полиморфно-ядерных лейкоцитов), гибнет. Несмотря на определенные различия в физиологии указанных клеток, между ними есть много общего.



Реакцию фагоцитоза делят на следующие этапы (рис. 5):

- хемотаксис (движение по направлению к инфекционному агенту);
- захват и образование фagosомы (пузырька, внутри которого располагается микроорганизм);
- образование фаголизосомы в результате слияния фagosомы и лизосомы;
- бактерицидное действие (киллинг);
- переваривание микроорганизма.

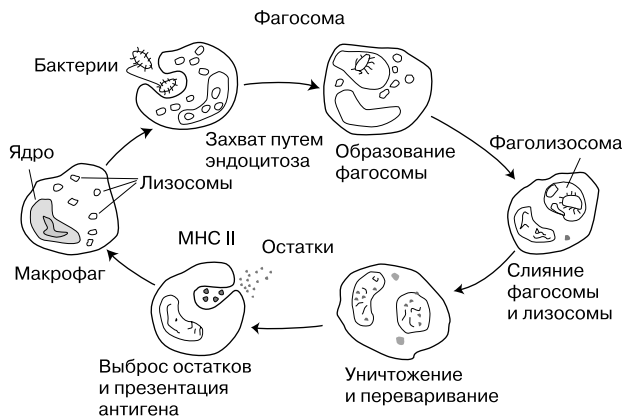


Рис. 5. Этапы фагоцитоза

Для каждого этапа фагоцитоза характерны специфические дефекты. Исторические термины «**завершенный**» и «**незавершенный**» фагоцитоз отражают в основном эффективность двух последних этапов фагоцитоза – *бактерицидного действия и переваривания*.

Фагоцитоз завершается процессом, связывающим механизмы неспецифической и специфической резистентности (иммунитет). Образующиеся в результате переваривания нежизнеспособных микроорганизмов пептидные фрагменты (антигены) экспортируются на поверхность мембраны фагоцитов, где связываются с молекулами II класса *главного комплекса гистосовместимости* – *major histocompatibility complex* (МНС II).

Такое связывание необходимо для последующего распознавания антигенов рецепторами Т-лимфоцитов и индукции иммунного ответа. Липидные антигены бактерий для представления Т-лимфоцитам связываются с CD1 молекулами фагоцитов. Совокупность перечисленных событий обозначают термином «**процессинг**» антигенов.

Первичный контакт фагоцитов с микроорганизмами, предшествующий захвату последних, осуществляется посредством маннозных рецепторов, рецепторов к Fc-фрагменту антител (захват опсонизированных бактерий) и рецепторов к компонентам комплемента.

Связывание микроорганизмов с рецепторами фагоцитов приводит к перестройке цитоскелета, формированию псевдоподий и их замыканию вокруг микроорганизма по типу «застежки молнии».

Бактерицидная активность фагоцитов осуществляется кислородзависимой и кислороднезависимой системами.

Наиболее быстродействующей и эффективной является кислородзависимая бактерицидная система. Практически сразу же после контакта микроорганизма с мембраной фагоцита, еще в процессе образования фagosомы, наблюдают резкое повышение потребления фагоцитом кислорода («дыхательный взрыв»). Ключевым ферментом в «дыхательном взрыве» является НАДФН-оксидаза. В процессе «дыхательного взрыва» внутрь фagosомы выбрасываются активные метаболиты кислорода – супероксидные анионы, синглетный кислород, а также гидроксильные радикалы, перекись водорода, хлорноватистая кислота. Перечисленные короткоживущие молекулы обладают высоким окислительным потенциалом и мощной бактерицидной активностью.

Кислороднезависимая бактерицидная система фагоцитов включает в себя короткие пептидные молекулы (катионные белки, дефензины и некоторые др.), обычно локализованные в цитоплазматических гранулах – *лизосомах*. После образования фagosомы лизосомы перемещаются из различных участков цитоплазмы к фagosоме и сливаются с ней. В результате образуется фаголизосома, в которую и высвобождаются бактерицидные вещества.

Кроме веществ с бактерицидной активностью, из лизосом высвобождаются протеолитические, липолитические и другие ферменты, переваривающие нежизнеспособные микроорганизмы.

К бактерицидным факторам относится также оксид азота, продуцируемый в процессе инфекции макрофагами и выполняющий ряд регуляторных функций.

Учитывая изложенные факты, очевидно, что макроорганизм обладает разнообразными и эффективными механизмами защиты своей внутренней среды от проникновения бактерий. Тем не менее существует группа патогенов, способных сохранять жизнеспособность внутри фагоцитов (*облигатные* и *факультативные* внутриклеточные паразиты). Все разнообразие возможных механизмов устойчивости внутриклеточных паразитов к бактерицидному действию фагоцитов можно объединить в несколько групп [4].

Активная инвазия клеток, не относящихся к фа-

гоцитам, прежде всего эпителиальных: внутри таких клеток микроорганизмы не подвергаются никаким неблагоприятным воздействиям. Описанную стратегию используют сальмонеллы и шигеллы.

Такие микроорганизмы, как стафилококки, пиогенные стрептококки и микобактерии, проникают внутрь фагоцитов, используя рецепторы к комплексу. Фагоцитоз, опосредованный этими рецепторами, не приводит к выраженной активации бактерицидных систем фагоцитов.

Выход патогена из фаголизосомы в цитоплазму, где отсутствуют бактерицидные механизмы, используют листерии, риккетсии и шигеллы. Наиболее детально процесс выхода из фагосомы изучен у листерий. В формировании поры в мембране фагосомы участвуют листериолизин и фосфолипазы.

Ингибция процесса слияния фагосомы и лизосомы, а также предотвращение активации НАДФН-оксидазы позволяют микроорганизмам сохранять жизнеспособность и после фагоцитоза. У сальмонелл описан ряд генов, осуществляющих указанные функции. Эти гены локализованы в составе островка патогенности (SpI2), экспрессируются только после попадания микроорганизма внутрь фагоцитов.

Из приведенных фактов следует, что один и тот же микроорганизм может использовать различные стратегии для сохранения жизнеспособности внутри фагоцитов.

Способность микроорганизмов паразитировать внутри фагоцитов существенно затрудняет терапию вызываемых ими инфекций. В этих условиях микроорганизм оказывается защищенным от дейст-

вия тех антибиотиков, которые не способны проникать внутрь клеток млекопитающих.

### Транспорт эффекторных молекул внутрь эукариотических клеток

Подавляющее большинство бактериальных факторов вирулентности являются белками, синтезируемыми внутри клеток. Мишени же действия этих факторов находятся либо на мембране, либо внутри эукариотических клеток.

Следовательно, микроорганизм должен обладать механизмами транспорта факторов вирулентности через свои мембранные структуры, а для некоторых факторов – еще и механизмами транспорта через мембраны эукариотических клеток. К настоящему времени описано 5 систем транспорта белков через мембранные структуры микроорганизмов, существенно различающихся по своей организации.

Механизм транспорта внутрь эукариотических клеток таких факторов вирулентности, как *A–B токсины* (ботулотоксин, холерный, дифтерийный и др.), известен. *A–B* токсины состоят из двух фрагментов: один обладает специфической ферментативной активностью (*A*), второй (*B*) обеспечивает связывание с эукариотической клеткой. В качестве рецептора на мембране эукариотических клеток обычно выступают *сиалоганглиозиды* (*G*-протеины).

После связывания с мембраной транспорт ферментатически активного фрагмента внутрь клетки-мишени происходит либо в результате образования поры в ее цитоплазме, либо путем эндоцитоза. Токсины типа *A–B* являются экзотоксинами, секретруемыми микробной клеткой в окружающую среду и проявляющими свой эффект на пространственном удалении от клетки-эффектора.

Для транспорта внутрь эукариотических клеток факторов вирулентности, не относящихся к *A–B* токсинам, микроорганизмы используют другие механизмы. Наибольший интерес вызывают системы секреции III типа грамотрицательных микроорганизмов, осуществляющие не только транслокацию факторов вирулентности через мембранные структуры бактериальной клетки, но и доставляющие их внутрь эукариотических клеток. На рис. 6 изображены система секреции III типа грамотрица-

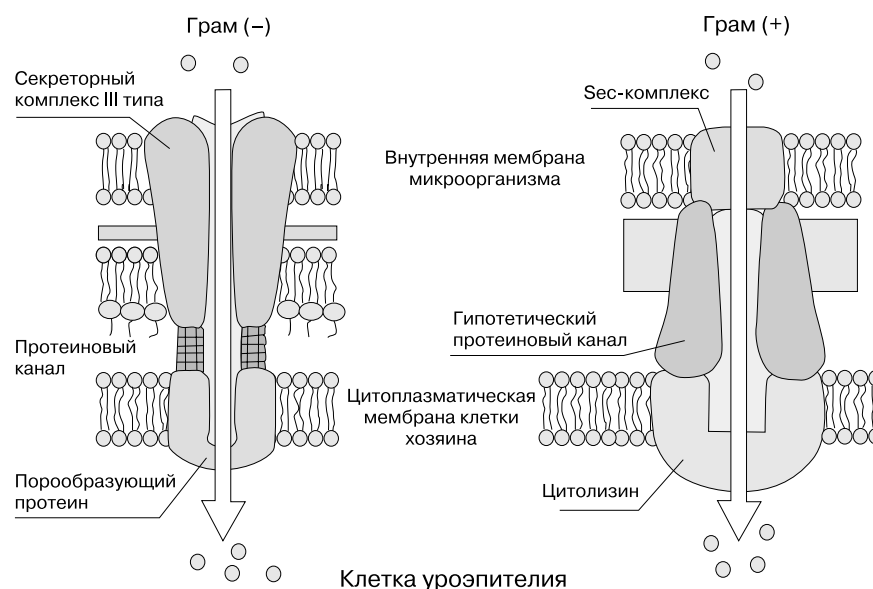


Рис. 6. Транспорт эффекторных молекул внутрь эукариотических клеток

тельных бактерий и недавно предложенная модель транслокации у грамположительных бактерий.

Системы секреции III типа широко распространены среди грамотрицательных микроорганизмов. Даже у филогенетически отдаленных видов они характеризуются значительным сходством и состоят из более чем 20 протеинов. Считается, что по своему происхождению системы секреции III типа связаны со жгутиками – *органеллами*, ответственными за движение бактерий. Это подтверждается значительной гомологией их компонентов.

Наиболее распространенной моделью организации систем секреции III типа является следующая. В цитоплазматической мембране фиксирована кольцевая белковая структура, играющая основную роль в распознавании секретируемых молекул, в инициации процесса секреции и его энергетическом обеспечении. Непосредственно к этой базальной структуре присоединен белковый канал, проходящий через пептидогликан и наружную мембрану бактериальной клетки.

В пептидогликановом слое и наружной мембране канал фиксируется кольцевыми белковыми структурами. Над поверхностью микробной клетки выступает филаментозная белковая структура, формирующая пору в мембране эукариотической клетки.

Для описания функции систем секреции III типа обычно используют термин «**молекулярный шприц**». При электронно-микроскопическом исследовании взаимодействия иерсиний и сальмонелл с клетками млекопитающих у бактериальных клеток удается обнаружить структуру, напоминающую шприц, причем «игла» шприца прокалывает мембрану эукариотической клетки. Ключевой момент в транслокации – образование поры в мембране эукариотической клетки.

До недавнего времени механизмы транслокации факторов вирулентности грамположительных бактерий, не относящихся к А–В токсинам, не были известны. Лишь недавно на основании изучения инфекции культуры кератиноцитов пиогенным стрептококком была предложена модель транслокации факторов вирулентности этого микроорганизма внутрь эукариотических клеток [5].

В цитоплазматической мембране стрептококков имеются белки общего *секреторного* пути (Sec), осуществляющие транспорт эффекторных молекул во внеклеточную среду. Удалось показать, что в некоторых случаях Sec-белки оказываются связанными со стрептолизинем О, формирующим в мембране кератиноцитов пору диаметром до 30 нм. Протеиновый канал, который мог бы пространственно связывать Sec-белки и стрептолизин, не идентифицирован, его наличие только постулируется. Гипо-

тетический механизм получил название «**цитоплизинопосредованная транслокация**». Использование стрептококками механизма цитоплизинопосредованной транслокации показано для транспорта внутрь эукариотической клетки только одного белка – НАД-гликогидролазы, однако принципиальное значение этого факта велико.

Есть все основания рассматривать транспорт эффекторных молекул внутрь эукариотических клеток как один из фундаментальных механизмов вирулентности, который может быть использован в качестве мишени для действия новых противоинфекционных препаратов.

### **Генетическая организация детерминант вирулентности**

Подавляющее большинство известных детерминант вирулентности не относится к жизненно важным для бактерий. Кодирующие их гены обычно локализованы на плаزمиде либо интегрированы в бактериальную хромосому в составе профагов или других генетических элементов.

В подавляющем большинстве случаев вирулентность не является устойчивым признаком какого-либо вида. Так, токсинопродуцирующие штаммы коринебактерий, стафилококков, стрептококков, эшерихий и многих других микроорганизмов фенотипически не отличаются или практически не отличаются от авирулентных штаммов этих же видов.

Такой патоген, как возбудитель чумы *Yersinia pestis*, по существу, является клоном *Yersinia pseudotuberculosis*, сформировавшимся 1500–20 000 лет назад. Факторы, определяющие принципиально более высокую вирулентность *Y. pestis* в сравнении с *Y. pseudotuberculosis*, до сих пор окончательно не установлены. Обнаружить какие-либо различия в структуре жизненно важных генов у этих микроорганизмов не удается [6].

Происхождение большинства факторов вирулентности остается загадкой. Несколько более понятны механизмы их распространения, ведущую роль в которых, очевидно, играют процессы горизонтального переноса генов.

Накопление информации о первичных нуклеотидных последовательностях геномов прокариот привело к интересным находкам. Одна из них – обнаружение в геномах ряда микроорганизмов значительного количества чужеродной ДНК. Степень чужеродности или родства ДНК обычно оценивается по процентному содержанию нуклеотидов **гуанина** и **цитозина** (G+C). Описанные фрагменты чужеродной ДНК получили название **геномных островков**. Их происхождение пока не известно.

Кроме отличия от хромосомной ДНК по GC

составу, для геномных островков характерны наличие генов, кодирующих детерминанты генетического обмена (транспозазы, интегразы, инсерционные последовательности), а также ассоциация с локусами, кодирующими транспортные РНК.

С практической точки зрения наиболее важно то, что в состав геномных островков входят гены, необходимые для осуществления какой-либо конкретной функции. К таким функциям может относиться получение некоторых питательных веществ из окружающей среды, устойчивость к антибиотикам (метициллину), патогенность и некоторые др. [7].

Геномные островки, кодирующие функции патогенности, получили название **островков патогенности**.

Островки патогенности описаны у многих микроорганизмов. Часто один и тот же микроорганизм обладает несколькими островками патогенности, выполняющими разные функции. Наиболее детально эти генетические элементы изучены у грамотрицательных микроорганизмов (сальмонелл, шигелл, эшерихий, иерсиний, легионелл, геликобактерий, нейссерий), а из грамположительных бактерий – у листерий.

У сальмонелл описано 5 островков патогенности, выполняющих различные функции. Достаточно подробно изучены функции двух островков патогенности (*Salmonella pathogenicity island* – SPI) – SPI 1 и SPI 2 [8]. В состав обоих островков патогенности входят гены, кодирующие системы секреции III типа. Различия между этими островками патогенности касаются белков, доставляемых внутрь эукариотических клеток (субстратных, эффекторных протеинов). Белки, кодируемые генами SPI 1, вызывают реорганизацию цитоскелета клеток хозяина и инвазию. Они также вызывают потерю электролитов энтероцитами, что проявляется диареей, апоптоз макрофагов и локальную воспалительную реакцию. Белки, кодируемые генами SPI 2, необходимы для сохранения жизнеспособности и пролиферации микроорганизмов внутри фагоцитов.

В целом факторы вирулентности, кодируемые двумя островками патогенности, обуславливают различные проявления инфекционного процесса. Эффекторные протеины, кодируемые островком патогенности SPI 1, необходимы для инвазии энтероцитов, и вызывают развитие локализованного инфекционного процесса. Белки, кодируемые островком патогенности SPI 2, необходимы для сохранения жизнеспособности микроорганизмов внутри фагоцитов и вызывают развитие генерализованной инфекции. Конкретные функции некоторых генов обоих островков патогенности не расшифрованы.

У таксономически различных микроорганизмов

(иерсиний, эшерихий и шигелл) описаны островки патогенности, кодирующие детерминанты, необходимые для эффективного захвата свободного железа, концентрация которого в организме млекопитающих крайне низка.

Анализ генетической организации детерминант вирулентности свидетельствует, что большинство из них являются чужеродными для микроорганизмов-хозяев и приобретены ими на различных этапах эволюции в результате горизонтального переноса генов. В некоторых случаях эти процессы произошли сравнительно недавно.

Возникновение вирулентного фенотипа может быть связано с приобретением значительных по размеру и сложных по организации фрагментов чужеродной ДНК (островки патогенности сальмонелл) либо с приобретением единственного фактора (токсинообразование у коринебактерий). Приобретение микроорганизмом фактора, обеспечивающего ему селективные преимущества в какой-либо экологической нише, приводит к быстрой экспансии вновь сформировавшегося клона. В процессе эволюции подобные события, вероятно, могут происходить неоднократно и приводить к возникновению микроорганизмов, адаптированных к существованию в различных условиях (пример – сальмонеллы).

Вполне допустимо, что приобретение маловирулентными микроорганизмами новых детерминант вирулентности, формирование клонов с новыми свойствами и их распространение происходит с частотой не меньшей, чем распространение клонов антибиотикорезистентных бактерий.

На фоне интенсивного развития современных медицинских технологий постоянно увеличивается количество пациентов с различной степенью нарушения механизмов противoinфекционной резистентности, что создает для микроорганизмов новые экологические ниши. Это, в свою очередь, может стимулировать селекцию микроорганизмов с новыми наборами детерминант вирулентности, обеспечивающими адаптацию патогенов к новым условиям. Появление и распространение таких микроорганизмов, без сомнения, приведет к возникновению новых клинических проблем.

В качестве примера, подтверждающего вероятность описанных событий, можно указать на наблюдаемое в последние годы возрастание значимости энтерококков в этиологии инфекций кровеносного русла у пациентов, находящихся в отделениях интенсивной терапии и реанимации. Долгое время считалось, что энтерококки являются практически авирулентными микроорганизмами. Однако в настоящее время в качестве потенциальных факторов вирулентности энтерококков рассматривают:

- факторы агрегации и феромоны, интенсифицирующие процессы генетического обмена у этих микроорганизмов;
- внеклеточные металлопептидазы, гидролизующие коллаген, гемоглобин и другие белки;
- цитолизины – бактериоцины, разрушающие про- и эукариотические клетки;
- адгезины и факторы, обеспечивающие секрецию цитолизиннов.

У штаммов *E. faecalis*, выделенных от больных, количество выявляемых детерминант вирулентности существенно выше, чем у штаммов, выделенных из различных объектов внешней среды [9].

### Регуляция экспрессии вирулентности

Тот факт, что многие гены бактерий экспрессируются лишь при необходимости в их продуктах, известен давно. Это в полной мере относится и к генам, кодирующим факторы вирулентности. С точки зрения здравого смысла, согласующейся с многочисленными экспериментальными данными, представляется вполне логичным, что в различных условиях окружающей среды микроорганизмы используют различные стратегии жизнедеятельности.

При существовании микроорганизма в почве или воде необходимость в синтезе факторов вирулентности отсутствует. При контакте же с организмом хозяина или при попадании в его внутреннюю среду для микроорганизма возникает необходимость в синтезе факторов, обеспечивающих его адаптацию к новым условиям.

Основными факторами, сигнализирующими микроорганизму о попадании во внутреннюю среду организма хозяина, являются:

- повышение температуры;
- осмолярность;
- реакция среды;
- концентрация двухвалентных катионов, прежде всего железа.

Для «переключения» от одного образа жизни к другому должны существовать механизмы распознавания внешних условий, генерации сигнала о распознавании, его передачи к генетическим структурам и последовательного включения транскрипции и трансляции необходимой генетической информации. Реализацию перечисленных функций по адаптации микроорганизмов к меняющимся условиям среды обитания осуществляют двухкомпонентные системы передачи сигналов (или двухкомпонентные регуляторные системы), состоящие из сенсорной *гистидинкиназы* и *регулятора ответа*.

Механизм функции двухкомпонентных систем приведен на рис. 7. Сенсорная киназа является белком, осуществляющим трансформацию внешнего

сигнала в химическую связь и его передачу к белку (регулятору ответа), регулирующему транскрипцию соответствующего гена. Сенсорные киназы локализованы в цитоплазматической мембране микробной клетки и, как правило, состоят из двух доменов.

Специфичность распознаваемых сенсорными киназами стимулов определяется структурой входного домена, которая отличается выраженной вариабельностью у отдельных ферментов. Связывание входного домена с внешним стимулом приводит к конформационным изменениям фермента и аутофосфорилированию передающего домена.

Структура передающего домена у различных киназ высококонсервативна. Следующим этапом в передаче сигнала является перенос фосфата к родственной молекуле белка-регулятора ответа. Фосфорилирование белка-регулятора приводит к его активации, изменению ДНК связывающей активности и, как следствие, к инициации или торможению транскрипции соответствующих генов.

Двухкомпонентные системы передачи сигналов широко распространены среди прокариотических организмов. Так, анализ генома *P. aeruginosa* позволил выявить у этого микроорганизма 64 гистидинкиназы и 63 регулятора ответа [10]. Функции (полностью или частично) установлены менее чем для 20 систем. Они участвуют в регуляции захвата железа, хемотаксиса, продукции альгината, экспрессии адгезинов и других факторов вирулентности.

В регуляции экспрессии факторов вирулентности участвуют также несколько семейств белковых факторов. Общее свойство этих факторов – способ-

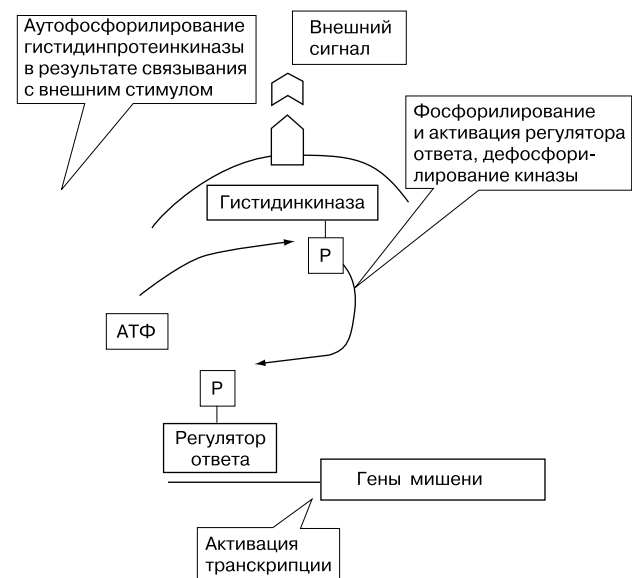


Рис. 7. Двухкомпонентная система передачи сигнала

ность связываться с определенными участками ДНК и активировать транскрипцию ряда функционально связанных генов. Иногда такие факторы называют *глобальными регуляторами вирулентности*.

В качестве примера глобальных регуляторов вирулентности можно привести белок VirF, осуществляющий регуляцию экспрессии ряда детерминант вирулентности у иерсиний (Yop – *Yersinia outer proteins*). Активность фактора VirF проявляется только при температуре 37°C и низком содержании Ca<sup>2+</sup> в окружающей среде. Поскольку указанные условия характерны для внутренней среды млекопитающих, то очевидно, что биологический смысл функций фактора VirF сводится к «включению» экспрессии факторов вирулентности при попадании микроорганизма во внутреннюю среду организма хозяина.

В регуляции экспрессии факторов вирулентности участвуют также альтернативные *сигма-факторы*. Они являются обязательным компонентом РНК-полимеразы – ключевого фермента транскрипции. В процессе роста микроорганизмы используют различные сигма-факторы, определяющие преимущественную экспрессию отдельных групп генов. При переходе в стационарную фазу роста или при недостатке питательных веществ микроорганизмы начинают использовать сигма-факторы, обеспечивающие экспрессию генов, необходимых для адаптации к неблагоприятным условиям. Под контролем таких сигма-факторов находится экспрессия ряда генов вирулентности у сальмонелл и эшерихий.

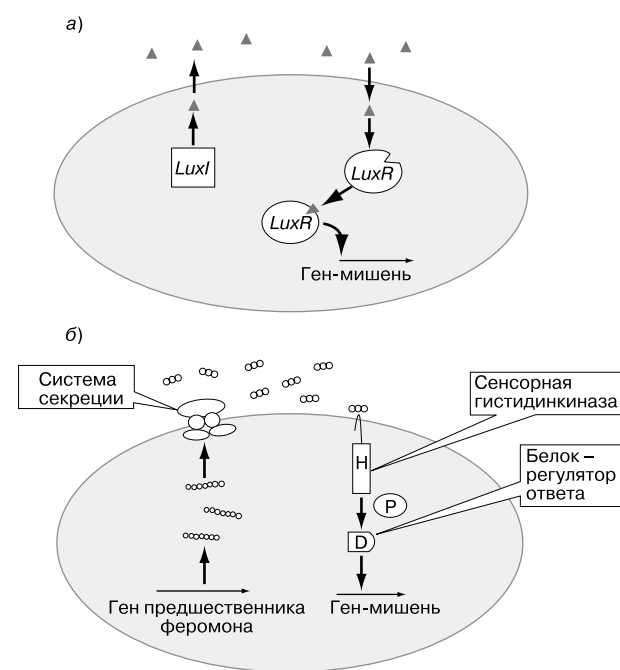
Практически важным является тот факт, что на уровне индивидуальной клетки экспрессия генов вирулентности регулируется одновременно несколькими системами. Иерархически наиболее высоким уровнем регуляции вирулентности, вероятно, является феномен *кооперативной чувствительности*, или *чувства кворума* («*quorum sensing*»). В наиболее общем виде данный феномен можно рассматривать как пример «социального» поведения бактерий, поскольку его смысл заключается в модификации физиологических функций бактерий в ответ на изменение их численности. Механизм реализации феномена кооперативной чувствительности заключается в продукции микроорганизмами внеклеточных сигнальных молекул (*аутоиндукторов, феромонов*), детекции сигнальных молекул и генерации ответной реакции [11]. Общая схема реализации феномена кооперативной чувствительности представлена на рис. 8.

Аутоиндукторы, продуцируемые грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами, различаются по химической природе. Наиболее

хорошо известны видоспецифичные *гомосеринлактоны*, продуцируемые грамотрицательными микроорганизмами. Они свободно диффундируют через бактериальные мембраны во всех направлениях. При достижении некоей пограничной концентрации гомосеринлактоны связываются с молекулой регуляторного протеина. Образовавшийся комплекс инициирует транскрипцию гена-мишени. Несколько позже у грамотрицательных микроорганизмов были обнаружены аутоиндукторы, структурно относящиеся к хинолонам и дикетопиразинам, которые также свободно диффундируют через бактериальные мембраны.

Аутоиндукторы грамположительных бактерий являются короткими пептидами, подвергающимися посттрансляционной модификации. Для их экспорта наружу необходимы секреторные системы, а для распознавания и генерации ответной реакции – двухкомпонентные системы передачи сигналов.

Феномен кооперативной чувствительности играет чрезвычайно важную роль в физиологии



**Рис. 8.** Феномен кооперативной чувствительности: а) грамотрицательные бактерии, синтетаза аутоиндуктора – ген *LuxI*; аутоиндуктор ▲ гомосеринлактон свободно диффундирует через мембрану и непосредственно связывается с регуляторным протеином; б) грамположительные бактерии, синтез предшественника аутоиндуктора ∞∞ (феромона) осуществляется на рибосомах, предшественник подвергается посттрансляционной модификации ∞∞; транспорт аутоиндуктора наружу осуществляется с помощью системы секреции, распознавание феромона и генерация ответа происходят посредством двухкомпонентной системы передачи сигналов

микроорганизмов. Впервые он был обнаружен при изучении биолюминесценции у *Vibrio harveyi*. К настоящему времени показано участие систем кооперативной чувствительности в регуляции экспрессии многих факторов вирулентности.

Наиболее детально изучена роль кооперативной чувствительности в регуляции вирулентности *P. aeruginosa*. Под контролем этой системы находится образование биопленок, синтез практически всех внеклеточных энзимов, проявляющих токсические свойства. Блокада кооперативной чувствительности приводит к резкому снижению вирулентности *P. aeruginosa* при экспериментальных инфекциях.

Аутоиндукторы контролируют синтез основных токсинов у *S. aureus*. Крайне интересной находкой является обнаружение конкурентных взаимоотношений между феромонами, продуцируемыми *S. aureus* и *S. epidermidis*. Оказалось, что феромоны, продуцируемые *S. epidermidis*, блокируют токсинобразование у большинства штаммов *S. aureus*. Однако феромоны *S. aureus* не препятствуют пролиферации *S. epidermidis* [12]. Возможно, это наблюдение частично объясняет преимущественное распространение коагулазонегативных стафилококков при катетерассоциированных инфекциях.

Биологический смысл феномена кооперативной

чувствительности, вероятно, заключается в синхронизации синтеза факторов вирулентности и «включения» этого процесса только в тот момент, когда плотность микробной популяции оказывается достаточной для наработки токсических субстанций в количестве, необходимом для повреждения тканей хозяина.

### Заключение

В заключение следует еще раз подчеркнуть основные положения представленного очерка взаимоотношений хозяина и паразита:

- на современном этапе способность микроорганизмов вызывать инфекционные болезни всегда можно связать с продукцией вполне определенных факторов вирулентности;
- проявления вирулентности всегда связаны с функциями макроорганизма;
- вирулентность в большинстве случаев не является видовым признаком микроорганизмов;
- детерминанты вирулентности часто кодируются генетическими структурами типа островков патогенности, чужеродными для данного вида микроорганизмов;
- экспрессия вирулентности регулируется как внешними условиями существования микроорганизмов, так и плотностью их популяции.

### Литература

1. Casadevall A., Pirofski L.-A. Host-Pathogen Interactions: Basic Concepts of Microbial Commensalism, Colonization, Infection, and Disease. *Inf Immun* 2000; 68:6511-8
2. Isenberg H.D. Pathogenicity and virulence: another view. *Clin Microbiol Rev* 1988; 1:40-53.
3. Abraham S.N., Jonsson A.-B., Normark S. Fimbriae-mediated host-pathogen cross-talk. *Curr Opin Microbiol* 1998; 1:75-81
4. Pieters J. Evasion of host cell defense mechanisms by pathogenic bacteria. *Curr Opin Immunol* 2001; 13:37-44.
5. Madden J.C., Ruiz N., Caparon M. Cytolysin-mediated translocation: a functional equivalent of type III secretion in Gram-positive bacteria. *Cell* 2001; 104:143-52.
6. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiyoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *PNAS* 1999; 96:14043-8.
7. Hentschel U., Hacker J. Pathogenicity islands: the tip of the iceberg. *Microb Infect* 2001; 3:545-8.
8. Hansen-Wester I., Hensel M. Salmonella pathogenicity islands encoding type III secretion systems. *Microb Infect* 2001; 3:549-59.
9. Eaton T.J., Gasson M.J. Molecular Screening of Enterococcus Virulence Determinants and Potential for Genetic Exchange between Food and Medical Isolates. *Appl Envir Microbiol* 2001; 67:1628-35.
10. Rodrigue A., Quentin Y., Lazdunski A., Méjean V., Foglino M. Two-component systems in *Pseudomonas aeruginosa*: why so many? *Trends Microbiol* 2000; 8:498-504.
11. Bassler B.L. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2:582-7.
12. Otto M., Echner H., Voelter W., Gotz F. Pheromone Cross-Inhibition between *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Inf Immun* 2001; 69:1957-60.