

© Б.Г. Андрюков, Н.Ф. Тимченко, 2015 г.  
УДК 616.9-092

Б.Г. Андрюков, Н.Ф. Тимченко

## АПОПТОЗ-МОДУЛИРУЮЩИЕ СТРАТЕГИИ ДЕТЕРМИНАНТ ПАТОГЕННОСТИ ИЕРСИНИЙ

ФГБУ « Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова»  
Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук, г. Владивосток

В начале 70-х годов прошлого века было установлено, что процессы гибели клеток могут развиваться не только при некрозе, но и при физиологической (непатологической) гибели, при активации внутриклеточных механизмов индуцируется их генетически регулируемая самоликвидация. Новый тип гибели клеток был обозначен самостоятельным термином – апоптоз. Сегодня установлено, что апоптоз является основной формой генетически запрограммированной гибели клеток (ПГК) и одним из объектов интенсивного исследования в области биологии и медицины. Это эволюционно консервативный процесс, необходимый для развития и сохранения клеточного гомеостаза многоклеточного организма. В отличие от некроза апоптоз устраняет отдельные клетки, не вызывая воспаления. Активация или ингибирование клеточной смерти может стать решающим фактором при ряде патологических состояний, включая бактериальные инфекции. Для модуляции апоптоза патогенные виды рода *Yersinia* широко используют детерминанты патогенности, эффекторные белки, суперантигены и токсины, с целью ликвидации иммунокомпетентных клеток и сохранения эпителиоцитов для внутриклеточного персистирования и их колонизации. В обзоре представлены основные молекулярные механизмы апоптоза эукариотических клеток и его модуляции при иерсиниозных инфекциях, характеризующихся клиническим полиморфизмом и циклическим течением. *Yersinia spp.* в своих апоптоз-модулирующих стратегиях используют разнообразные механизмы с использованием своих детерминант патогенности.

**Ключевые слова:** апоптоз, запрограммированная гибель клетки (ПГК) бактериальные инфекции, иерсиниозные инфекции, факторы патогенности, *Yersinia spp.*, апоптоз-модулирующие стратегии, эукариотические клетки.

**Цитировать:** Андрюков Б.Г., Тимченко Н.Ф. Апоптоз-модулирующие стратегии детерминант патогенности иерсиний // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2015. №1(59). С. 29-41. URL: <https://yadi.sk/i/h4CuUFqxiVGY>

### Введение

Термин апоптоз, предложенный 40 лет назад австралийскими учеными J.F.R. Kerr, A.H. Wyllie и A.R. Currie (1972) [57], имеет несколько определений, главный смысл которых состоит в представлении этого процесса как запрограммированной гибели клетки (ПГК), отражающего его основное функциональное значение. Авторы на основании результатов сравнительных морфологических исследований предложили это семантическое понятие как обозначение специфического процесса гибели одиночных клеток отличного от некроза. С тех пор молекулярные механизмы апоптоза являются одной из наиболее интенсивно изучаемых областей биологии. Установлено, что главной отличительной чертой апоптоза является его генетическая детерминированность и физиологичность.

До XX в. теория гибели клеток обсуждалась с дихотомической точки зрения: апоптоз или некроз. Однако с ростом научных знаний были изучены иные, с хорошо организованными сигнальными механизмами формы ПГК.

С 2005 по 2009 гг. международный Номенклатурный Комитет по клеточной смерти (Nomenclature Committee on Cell Death, NCCD) предложил ряд рекомендаций для определения различных морфологических типов клеточной гибели для их правильного применения, связанных с терминологией. На основании морфологических признаков были вы-

делены три типа (программ) гибели клеток: апоптоз (I), аутофагия (II) и некроз (III).

В 2012 г. вследствие существенного прогресса в биохимических и генетических исследованиях клеточной смерти, проведенных за последние годы, были получены новые знания. Стало ясно, что аналогичные морфотипы гибели клеток имеют функциональную, биохимическую и иммунологическую гетерогенности. Кроме того, наличие определенных морфологических признаков не является достаточным для установления причинно-следственной связи между данным процессом и клеточной смертью. В связи с этим NCCD принял решение внести изменения в классификацию программ клеточной гибели в соответствие с морфологическими и молекулярными признаками [51].

Таким образом, в настоящее время, существует 12 различных форм клеточной гибели. Среди них: апоптоз (Fink and Cookson, 2005), аутофагия (Fink and Cookson, 2005), митоптоз (Chaabane et al., 2012), некроз (Fink и Куксон, 2005), некроптоз (Galluzzi and Kroemer, 2008), нетоз (Remijnsen и др., 2011), онкоз (Fink and Cookson, 2005), пироптоз (Cookson, 2001), аноикис (Moro et al., 2009; Sakamoto et al., 2010, 2011) и паронекроз (Willingham et al., 2007). Однако по-прежнему остается загадкой: не являются ли эти формы лишь различными физиологическими механизмами особенности одного и того же биологического феномена?

Сегодня установлено, что апоптоз является основной формой генетически запрограммированной гибели клеток (ПГК) и одним из объектов интенсивного исследования в области биологии и медицины. Генетически регулируемый физиологический механизм ПГК, имеет решающее значение в морфогенезе и обеспечивает специфичность для иммунной и нервной системы в процессе развития. Апоптоз играет важную роль в поддержании клеточного гомеостаза органов и систем организма. Активация либо ингибирование запрограммированной гибели клеток, как ведущего механизма ограничения пролиферации клеточных популяций, может лежать в основе развития ряда патологических состояний. Дефекты апоптоза в эмбриогенезе приводят к аномалиям развития плода, а нарушения клеточного гомеостаза в результате ингибирования апоптоза вызывают онкологические заболевания [2, 3, 4].

На современном этапе развития зарубежной и отечественной медико-биологической науки накоплен большой объем знаний о повреждении ключевых механизмов регуляции апоптоза при патологических процессах различного генеза [3, 4, 5, 6, 7]. Гибель клеток является важнейшим процессом этапов эмбриогенеза и механизмов врожденного иммунного ответа организма против вторгшихся микроорганизмов. Тем не менее, патогенные организмы выработали механизмы для модуляции апоптоза для их выживания. Тактический спектр приемов, при помощи которых возбудителю удастся выжить в организме, разнообразен. Одним из таких приемов оказалась способность бактериальных патогенов регулировать апоптоз. Известно, что развитие различных инфекционных заболеваний связано с нарушениями механизмов реализации апоптоза, приводящими к его активированию или ингибированию [8, 9, 10, 11].

Применительно к инфекционной патологии, обусловленной патогенными иерсиниями, апоптоз представляет собой результат многообразных механизмов, являясь необходимым этапом инфекционного процесса. В настоящее время проблема иерсиниозной инфекции сохраняет свою актуальность, несмотря на достигнутые успехи в изучении многих ее аспектов [12, 13, 14, 15, 16, 17].

Многообразие клинических проявлений, отсутствие патогномичных симптомов, редкость моносиндромных вариантов определяют трудности распознавания иерсиниозной инфекции и необходимость значительных усилий в исследованиях различных аспектов патогенеза. Результаты исследований последних двух десятилетий позволили выявить ряд детерминант патогенности *Yersinia spp.*, способствующих их выживанию, размножению и распространению в организме-хозяине [13, 18, 19, 20].

Из 11 видов бактерий рода *Yersinia* только три – *Y. pestis* (чума), *Y. pseudotuberculosis* (псевдотуберкулез)

и *Y. enterocolitica* (кишечный иерсиниоз) – являются хорошо документированными возбудителями инфекционных заболеваний человека [13]. Несмотря на разные пути заражения организма, все патогенные виды объединяет общая тропность к лимфоидной ткани и механизмы сопротивления первичному иммунному ответу. Представители семейства *Yersinia* обладают большим набором факторов вирулентности, которые кодируются либо хромосомными генами, либо плазмидами (самореплицирующимися экстрахромосомными элементами). Исследования, проведенные в последние годы, показали, что важным звеном реализации проапоптотических механизмов апоптоза у иерсиний являются их детерминанты вирулентности [24, 25, 26]. Основные генетические детерминанты, задействованные в этих механизмах, кодируются плазмидой вирулентности 70–75 тыс. пар нуклеотидов человека [12, 13, 20, 21].

Выявлено, что факторы патогенности иерсиний оказывают определяющее воздействие на все звенья патогенеза и значительно влияют на клинические проявления иерсиниозов [19, 22, 23]. Однако, несмотря на успехи в изучении и раскрытии звеньев патогенеза иерсиниозных инфекций, остаются невыясненными некоторые вопросы о роли и участии некоторых факторов патогенности в модуляции апоптоза. Остается также неясной роль и значение различных механизмов иерсиния-индуцированного апоптоза в патогенезе инфекции [23].

**Целью** настоящего обзора является формирование комплексного представления об участии детерминант патогенности *Yersinia spp.* в апоптоз-модулирующих механизмах при иерсиниозных инфекциях, что способствует более глубокому пониманию патогенеза возникновения клинических форм заболеваний и их осложнений.

В качестве прелюдии к обсуждаемой теме необходимо остановиться на кратком описании феномена апоптоза и его механизмов как основной формы ПГК, который сегодня привлекают наибольшее внимание в научной литературе.

### Основные механизмы апоптоза

Основная и наиболее изученная форма ПГК – это апоптоз. Впервые термин «апоптоз» (в переводе с древнегреческого – «опадение лепестков с цветка», или «листопад») был использован Гиппократом при описании структурных изменений костей, связанных с гибелью клеток и тканей, а также Галеном – при описании отпадения струпа в процессе заживления ран.

Предлагая этот термин, J.F. Kerr et al. (1972) [1], справедливо полагали, что описанный ими феномен играет важную роль в нормальном обмене веществ в клетках, а нарушения в его механизме могут стать причиной возникновения заболеваний. Они же впервые выдвинули и обосновали концеп-

цию о принципиальном различии апоптоза и других форм ПГК. В 2002 г. S. Brenner, R. Horvitz и J. Sulston, получили Нобелевскую премию за раскрытие основных механизмов генетической регуляции развития органов и исследования программированной клеточной смерти [24].

Апоптоз обозначает регулируемую форму гибели клеток, которая опосредуется скоординированными действиями протеаз и нуклеаз внутри неповрежденной клеточной мембраны. В настоящее время изучено множество интегральных механизмов, с помощью которых апоптоз может быть запущен в эукариотических клетках [18, 27, 36, 44].

Апоптотическая смерть клеток может быть вызвана множеством внутриклеточных стрессами, в том числе повреждением ДНК, окислительным стрессом, цитозольной  $Ca^{2+}$  перегрузкой, накопления белков в эндоплазматическом ретикулуме и многими другими. Эти причины запускают так называемый внутренний механизм апоптоза («intrinsic apoptosis»). Этот путь связан с митохондриями, с изменением их мембранного потенциала и освобождением проапоптотических белков семейства Bcl-2. Он зависит от протеолитического каскада активации и выделения в цитоплазму цитохрома C, флавопротеина AIF (Apoptosis Inducing Factor – фактор, индуцирующий апоптоз), прокаспазы, что является ключевым событием при апоптозе в клетках эукариотов и также одним из пусковых событий в системе ПГК в микроорганизмах [14, 25, 43]. В свою очередь, это ведет к активации каспаз, большого семейства протеаз, которые вовлекаются в инициацию и участие в организованном демонтаже клеток [29, 34, 62]. Этот путь, по-видимому, имеет место у всех клеток эукариотических организмов, обладающих митохондриями. Особенностью такого механизма является его относительная независимость от каспаз [18, 68, 74].

Другой путь (внешний, extrinsic apoptosis), достаточно широко распространенный у низших эукариотов и растений, является зависимым от ферментов, подобных каспазам млекопитающих и берущих начало от поверхностных рецепторов клеток, осуществляющих трансдукцию (передачу) апоптотических сигналов. Это семейство, так называемых, рецепторов смерти, «death receptors» (среди наиболее изученных рецепторов – Fas, он же APO-1 или CD95, TNFR1- он же p55 или CD120a, DR3, DR4, DR5 и их соответствующие лиганды), которые имеют прямую связь с механизмом апоптоза [24, 67, 73, 77].

Все рецепторы смерти представляют собой трансмембранные белки, характеризующиеся наличием общей последовательности из 80 аминокислот в цитоплазматическом домене (т.н. «домен смерти», death domain, DD). Именно с этими рецепторами у многоклеточных эукариот связан и другой путь апоптоза (т.н. *инструктивный* апоптоз). Его

основой служит механизм передачи суицидного сигнала от «рецепторов смерти» плазматических мембран через цепочку сигнальных белков, включающих в себя каспазоподобный фермент, к митохондриям и затем в ядро [25, 78, 83].

В настоящее время описан ряд других взаимозависимых путей, связанных с внутренним механизмом апоптоза, в которых задействованы разнообразные проапоптотические белки [42, 83].

Апоптоз по ряду морфологических признаков отличается от аутофагии (лизосомальной деградации внутриклеточных белков, липидов, нуклеиновых кислот и органелл), от некроза (который является результатом острого воспалительного повреждения ткани) и пироптоза (провоспалительной смерти макрофагов и моноцитов, в основе которой лежит избыточная продукция интерлейкина-1, сопровождающая инфекционные процессы, вызванные *Shigella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Francisella tularensis*, *Legionella pneumophila*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Burkholderia pseudomallei*, *Candida albicans* и другими микроорганизмами [24, 27, 77, 83].

### Эффекторные белки и III система секреции иерсиний

Семейство белков наружной мембраны *Yersinia* является интегрированной системой для обеспечения условий выживания и размножения микроорганизма в лимфоидной ткани организма-хозяина. Эта система представляет собой определенный последовательный каскад механизмов взаимодействия с клеткой хозяина, приводящей в конечном итоге к секреции в ее цитоплазму эффекторных белков (табл. 1).

По механизму действия все факторы патогенности иерсиний делятся на несколько функциональных групп. Одна из них объединяет детерминанты, способствующие адгезии (YopA) и инвазии (Ail), а также порин, липополисахаридно-белковый комплекс и специальные органеллы – пили, филаментозные структуры. Способность иерсиний к адгезии и инвазии в клетки эпителия кишечника кодируется хромосомным inv-геном и не зависит от наличия плазмид [14].

По своей природе интегрин является белком наружной мембраны иерсиний. Он обеспечивает проникновение бактерии внутрь эукариотической клетки, связываясь с рецепторами-интегринами на их поверхности. Y. Yang и R. Isberg (1993) обнаружили, что белок адгезин, кроме своей непосредственной функции – обеспечении адгезии бактерии также может способствовать проникновению *Yersinia* клетку при помощи прикрепления к рецепторам на их поверхности у мутантов inv-гена [27].



Механизмы индукции апоптоза с участием белков внешней мембраны (Yops) *Yersinia spp*

Yops	Мишени	Механизмы	Источники	
YopP ( <i>Y. enterocolitica</i> ) YopJ ( <i>Y. pseudotuberculosis</i> , <i>Y. pestis</i> )	Митохондрии	Нарушение трансмембранного транспорта электронов. Нарушение редокс-баланса. Снижение мембранного потенциала. Освобождение и выход в цитоплазму апоптогенных факторов: цитохрома c, AIF, Smac/DIABLO. Активируют белки семейства Bcl-2. Иницируют пермеабиллизацию наружной мембраны	Zheng et al., 2012; Pandey et al., 2009; Thiefes et al., 2006; Vibould et al., 2005.	
	Каспазо-зависимый путь	Липополи-сахариды (ЛПС)	Индукцируют ЛПС-ассоциированный апоптоз	Bose et al., 2012; Bi et al., 2012; Zheng et al., 2011; Bergsbaken et al., 2009; Belhocine et al., 2004.
		Каспазы	Непосредственно активируют механизм каспазного цикла	
		Митоген-активируемые протеинкиназы (МАР)	Активируют пенетрацию YopP в цитоплазму клеток организма-хозяина. Влияют на белки-мишени, связанные с функционированием редокс-чувствительных транскрипционных факторов. Регулируют ПГК.	
	Каспазо-независимый путь	p53; NF-κβ; AP-1; Bcl-2	Активация экспрессии Bid, PUMA, Noxa	Gröbner et al., 2006;
YopH	Т-лимфоциты	Индукцируют апоптоз	Tansini et al., 2012; Peters et al., 2012.	
YopB; YopD; YopE	Макрофаги	Проникают в цитозоль, вызывая коллапс цитоскелета	Dohrman et al., 2005	
YopO; YopH; YopM; YopT; YopE	Макрофаги	Ингибируют фагоцитоз	Grosdent et al., 2002	

Способность иерсиний к инвазии в клетки-мишени кишечника является важным моментом патогенеза псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза, обеспечивая вовлечение в инфекционный процесс органов пищеварения.

В многочисленных исследованиях, проведенных в конце XX в. и коренным образом изменивших представление о взаимодействии иерсиний с клетками микроорганизма, доказано, что плаزمид вирулентности pYV кодирует комплекс белков, объединенных в единую систему, предназначенных для нейтрализации иммунокомпетентных клеток хозяина. Она состоит из двух десятков эффекторных белков (Yops) и системы их секреции III типа (Ysc), позволяющей бактерии вводить синтезирующие ими множества бактериальных эффекторных белков в цитоплазму клетки-мишени при тесном контакте с клеткой без проникновения в нее [21, 23], а также средства доставки эффекторов и систему регуляции [28, 29]. Ysc является общей для всех трех патогенных *Yersiniae* и играет существенную роль в возникновении инфекции.

Все Yops делятся на несколько групп. Часть из них являются внутриклеточными эффекторами, а другие обеспечивают транслокацию эффекторов и предназначены для доставки бактериальных белков в эукариотические клетки-мишени, системы управления (YopN) и для блокирования системы иммунологической защиты (главным образом, подавления фагоцитарной активности) или нарушения внутриклеточного взаимодействия (YopE, YopH, YopM, YpkA/YopO,

YopP/YopJ) [14]. Исходя из цели настоящего обзора остановимся подробнее на функции одного из белков-эффекторов – YopP (*Y. enterocolitica*) и его аналога YopJ (*Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis*).

В конце прошлого столетия было впервые обнаружено, что *Yersinia spp.* способны вызывать апоптоз макрофагов *in vitro* [30, 31, 32] и *in vivo* [33]. При этом, в отличие от *Shigella spp.*, которые вызывали апоптоз клеток «изнутри», иерсинии были способны индуцировать клеточную смерть, находясь экстрацеллюлярно [30, 33]. Некоторое время считалось, что триггерные проапоптотические свойства иерсиний были связаны с подавлением функции цитокинов (TNF и γ-интерферона) [34, 35]. Однако исследования, проведенные позднее, показали, что центральная роль в индукции апоптоза макрофагов принадлежит белку-эффектору YopP/YopJ [32, 36, 37, 38].

Как известно, реализация апоптогенной программы представляет собой три последовательных стадии: инициации, эффекторной и деградации [39, 40]. Основными вариантами запуска запрограммированной гибели клеток являются: митохондриальный, рецепторный (TNFα-опосредованный) и ядерный (p53-опосредованный).

Митохондриальный путь инициации программы апоптоза включает изменения электронного транспорта и клеточного редокс-баланса, потерю митохондриального трансмембранного потенциала, взаимодействие про- и антиапоптотических белков семейства Bcl-2, выход апоптогенных факторов (цитохром c, AIF, Smac/DIABLO), что происходит

только при повышении проницаемости наружной мембраны митохондрий вследствие открытия неселективных пор между наружной и внутренней мембранами митохондрий [21, 39, 41, 42, 43, 44].

В последние годы большое внимание уделяется изучению биологической активности белков, относящихся к семейству аннексинов. Аннексин V, как и другие аннексины, не выделяется из нормальных клеток; источником внеклеточного аннексина V являются только апоптотические и разрушенные клетки [45, 46, 47, 48]. В механизме действия аннексина V, как и других аннексинов, большое значение имеет их свойство связываться с отрицательно заряженными фосфолипидами, в том числе с фосфатидилсеринем (ФС), экспозиция которого на клеточной мембране является одним из ранних признаков апоптоза [47, 48, 49, 50]. Это свойство рекомбинантного аннексина A5 используют для определения и подсчета апоптотических клеток в периферической крови [47, 48, 51].

Предположение об индукции апоптоза по митохондриальному пути при иерсиниозных инфекциях подтвердилось повышением в крови уровня аннексина V и активности каспаз при изучении механизмов патогенных стратегий у *Y. pestis* [41]. В качестве ключевого посредника при этом использовалась тирозинфосфатаза (*YopH*), которая индуцирует Т-клеточный апоптоз. Подобный же механизм используют *Y. enterocolitica*, вызывая активацию клеточной гибели фагоцитов, однако, в этом случае используется *YopP* [52, 53].

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что в условиях развития иерсиниозных инфекций передача сигнала апоптоза сопряжена с дисфункцией митохондрий, выражающейся в повышении проницаемости их мембран и снижении мембранного потенциала.

Более поздние исследования показали, что *YopP/YopJ* способствует индукции ЛПС-индуцированного апоптоза и непосредственно стимулирует расщепление каспаз (рис. А).

Его мишенью являются МАР (митоген-активируемые протеинкиназы), которые активируются при проникновении *YopP* в цитоплазму клетки-хозяина [54, 55, 56]. Активированные МАР воздействуют на белки-мишени, связанные с функционированием редокс-чувствительных транскрипционных факторов транскрипции и регуляцией программированной клеточной гибели: p53, NF-κB, AP-1 и др. [57, 58, 59], а также с синтезом белков семейства Bcl-2, являющихся ключевыми регуляторами апоптоза. В частности, p53 активирует экспрессию Bid, PUMA и Noxa [60, 61], NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) управляет генами, кодирующими белки Bcl-XL, IAP, A1, отвечающие за угнетение процесса апоптоза [62, 63]. Gröbner S, et al, (2006) в экспериментальных исследованиях на крысиных макрофагах и дендритных клетках показал, что *YopP*-индуцированная гибель клетки проходила по каспаз-зависимому и каспаз-независимому (некроз) механизмам [64].

При этом, *YopP*-индуцированная гибель клеток сопровождалась всеми признаками митохондриального пути инициации программы апоптоза: снижением внутреннего трансмембранного митохондриального потенциала DeltaPsi(m), повышением проницаемости мембран митохондрий и освобождением из них цитохрома с [65]. Результаты этих исследований позволяют сделать вывод, что *YopP*-индуцированная активация апоптоза, связана с повышением активности каспаз. Однако остались невыясненными взаимодействия между выявленными путями клеточной смерти [52].

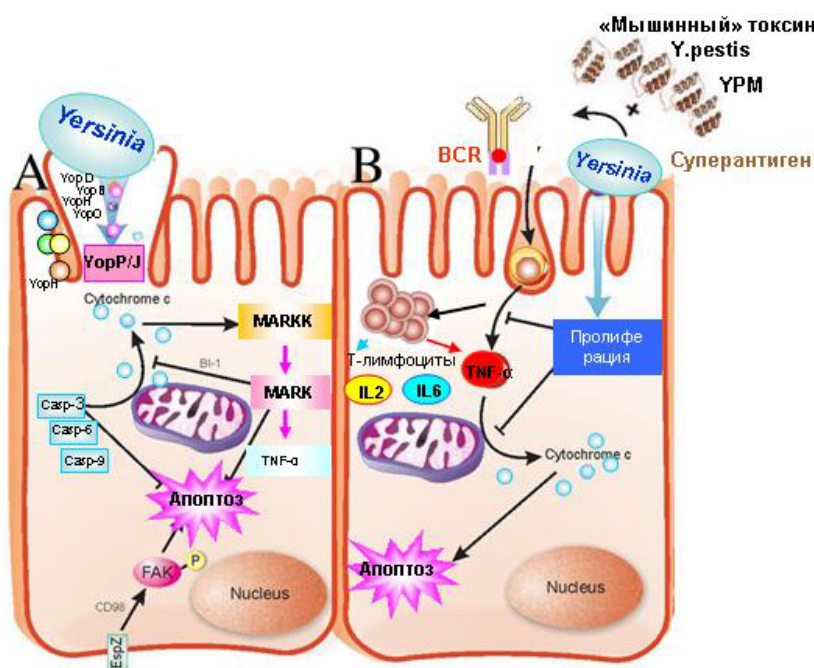


Рис. Механизмы индукции апоптоза Yersinia spp. с участием белков внешней мембраны (А) и суперантигенов (В)

Результаты других исследований, выполненных в начале XXI в., выявили участие и других эффекторных белков *Yersinia* в проявлениях редокс-чувствительными элементами сигнальной трансдукции как про-, так и антиапоптотической активности, зависящей от особенностей индуцирующих сигналов, комбинации возможных путей их передачи и типа клеток [17, 64]. В обзоре Viboud G.I., и Bliska J.B. (2005) освещается участие Yops-транслокаторов (*YopB* и *YopD*) и Yops-эффекторов (*YopO*, *YopH*, *YopM*, *YopT*, *YopJ/YopP* и *YopE*) в подавлении фагоцитоза в макрофагах путем блокировки респираторного взрыва при экспериментальном псевдотуберкулезе [66].

### Суперантигены иерсиний

Многие патогенные микроорганизмы продуцируют суперантигены – специфические белки-антигены, способные в пикомолярных концентрациях вызвать массовую неспецифическую активацию Т-лимфоцитов без предварительного процессинга и презентации (рис. В).

Суперантигены способны одновременно связывать молекулы главного комплекса гистосовместимости на поверхности антигенпредставляющей клетки и многочисленных доменов V $\beta$  Т-клеточного рецептора (TCR), имитируя специфический антиген-рецепторный контакт [67]. Поликлональность бактериальных

суперантигенов вызывает неспецифическую стимуляцию нескольких клонов Т-лимфоцитов (до 25%). Это приводит не только к их пролиферации, но и массивной секреции широкого спектра эффекторных молекул, в том числе таких биологически активных цитокинов, как IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$  и других [68], что в конечном итоге приводит к системной токсичности и подавлению иммунного ответа [69]. Разросшаяся Т-клеточная популяция, в конце концов, ликвидируется индуцированным апоптозом [16, 70]. Влияние суперантигена может проявляться заметно отличающимися клиническими проявлениями от острого токсического шока до хронического артрита.

Длительное время считалось, что секреция суперантигена – свойство исключительно патогенных видов стрептококков и стафилококков, а также некоторых вирусов. Однако в 1993 г. Т. Miyosishi-Akiyama et al. [71] обнаружил суперантигенный токсин у *Y. pseudotuberculosis* (YPM), значительно отличающийся по структуре от кокков [72]. В дальнейшем было установлено, что способность синтезировать YPM связана с хромосомным *urp*-геном [67] и характерна для более 95% дальневосточных штаммов возбудителя [73, 74]. С наличием YPM связывается возможный механизм формирования аутоиммунных заболеваний при псевдотуберкулезе [73].

Таблица 2

Механизмы индукции апоптоза с участием суперантигенов *Yersinia* spp

Суперантигены	Мишени	Механизмы	Источники
YPM ( <i>Y. pseudotuberculosis</i> )	Т-лимфоциты	Стимулирует пролиферацию	Miyosishi-Akiyama et al., 1993; Abe et al., 1997; Fukushima et al., 2001; Peterson et al., 2004.
	Цитокины	Избыточная секреция IL-2; IL-6; NF- $\alpha$	
Суперантиген <i>Y. enterocolitica</i>	Т-лимфоциты	Стимулирует пролиферацию	Stuart et al., 1995.
«Мышиный» токсин <i>Y. pestis</i>	Т-лимфоциты	Стимулирует пролиферацию	Vasil'eva et al., 2005

Как и *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* также способны экспрессировать по крайней мере один суперантиген, который стимулирует Т-лимфоцитарную пролиферацию [75], с которым связываются постинфекционные аутоиммунные спондилоартриты типа синдрома Рейтера и реактивные артриты. У *Y. pestis* роль суперантигена отводится «мышинному» токсину [76].

### Факторы токсигенности *Yersinia*: термостабильный токсин (ТсТ)

В качестве ведущего патогенетического фактора для большого числа заболеваний выступает окислительный стресс – универсальный механизм повреждения клеток, при котором механизмы генерации активных форм кислорода (АФК) являются однотипными. Отличия в образовании внутриклеточных АФК можно выявить только на начальных стадиях развития болезни [77, 78].

Инфекционное воспаление является одним из примеров патологических процессов, характеризующихся как дисбалансом окислительного метаболизма, так и нарушениями реализации апоптоза. При инфекционных процессах свободно-радикальное окисление сопровождается увеличением нагрузки АФК, играющих важную роль в регуляции редокс-чувствительных сигнальных систем клетки, экспрессии воспалительных медиаторов, программ выживания или гибели клетки.

В настоящее время накоплено большое количество данных, подтверждающих взаимосвязь между генерацией АФК, функцией митохондрий и реализацией апоптоза [78]. Показано, что митохондрии могут выступать в качестве мишеней регуляторных молекул при передаче апоптогенного сигнала, а также в роли источника АФК, являющихся сигнальными молекулами данных каскадов [79].



Излишняя активация апоптотической гибели клеток может приводить к истощению защитных сил организма, в то время как ее ингибирование – к хронизации воспалительного процесса. Основные эффекторные молекулы воспалительной реакции – АФК, обеспечивая микробицидное, фунгицидное и цитотоксическое действие, могут изменять жизнедеятельность всех клеток организма. У *Yersinia* этот механизм модуляции апоптоза реализуется при действии токсинов.

Продукция токсинов у иерсиний является одним из основных факторов патогенности [14]. Иерсинии

обладают выраженными цитотоксическими свойствами, которые опосредуются по крайней мере двумя *Yops* – *YopE* и *YopT*. Однако у *Yersinia* есть и другая, целая группа белковых эффекторов – токсинов, во многом определяющих наличие их патогенность. Одну из важных ролей в иммунопатогенезе псевдотуберкулеза играет термостабильный энтеротоксин *Y. pseudotuberculosis* (ТсТур) – белок с молекулярной массой 45 кДа. Отмечено, что он помимо устойчивости к высокой температуре снижает фагоцитарную активность нейтрофилов и мононуклеарных лейкоцитов периферической крови человека [13, 14, 18, 20].

Таблица 3

Механизмы модуляции апоптоза с участием токсинов *Yersinia spp*

Токсины	Мишени	Механизмы	Источники
Термостабильный токсин <i>Y. pseudotuberculosis</i> (ТсТур)	Нейтрофилы	Индукцирует развитие апоптоза после 24 часов инкубации. Ингибирование апоптоза после 48 часов инкубации. Модулирует активность каталазы и глутатион-редуктазы. Модулирует продукцию АФК. Блокирует «респираторный взрыв». Модулирует уровни цАМФ.	Dolmatova et al., 2012; Sit et al., 1997; Caretti et al., 2001; Cocrane et al., 2004.
Цитонекротический фактор (CNFY) <i>Y. pseudotuberculosis</i>	Семейство GTF-связывающих клеточных сигнальных Rho-белков	Повреждение клеток эпителия. Нарушает барьерную функцию эпителия. Блокирует функцию иммунной системы. Блокирует фагоцитарную активность макрофагов.	Sit et al., 2011; Knust et al., 2010; Kadhum et al., 2008; Blumenthal et al., 2007; McNichol et al., 2007; Aepfelbacher et al., 2007; Malomi et al., 2006; Hoffman et al., 2004.

Исследования, проведенные Долматовой Л.С. и соавт. (2010) с целью установления механизма этого влияния позволили установить, что ТсТур индуцировал развитие апоптоза в нейтрофилах крови крыс через 24 часа инкубации, а через 48 часов даже стимулировал жизнеспособность и снижал активность апоптоза. При этом модуляция клеточной гибели зависела от активности каталазы и глутатионредуктазы под действием токсина и связывалась авторами с изменениями уровнем продукции АФК [80,81].

В целом, полученные результаты подтверждают выводы других авторов о том, что в основе механизма развития апоптоза лимфоцитов при действии токсина иерсиний заложена блокировка «респираторного взрыва» [78, 82, 83].

Известно, что в регуляции апоптоза могут участвовать митогенактивируемые и цАМФ-зависимые протеинкиназы [17]. Позднее было показано, что ТсТур способен модулировать уровень цАМФ в нейтрофилах крови человека [13, 19].

Известно также, что циклазная система ограничивает «респираторный взрыв» в фагоцитах [81, 66]. В связи с этим выявленные различия в действии ТсТур на уровень апоптоза нейтрофилов при различных его концентрациях могут быть связаны с различным дозозависимым влиянием на уровень цАМФ. Вовлеченность цАМФ в реализацию эффекта ТсТур в отношении нейтрофилов была исследована с использованием

кофеина – ингибитора цАМФ-фосфодиэстеразы и индуктора повышения уровня внутриклеточного цАМФ и активности протеинкиназы А [84].

#### Факторы токсигенности *Yersinia*: Цитонекротический фактор *Yersinia pseudotuberculosis* (CNFY)

Общими целями бактериальных токсинов являются семейство малых GTP-связывающих Rho-белки [85]. Гидролазные ферменты GTPases участвуют в регуляции нескольких клеточных процессов, в том числе реорганизации цитоскелета клеток, эндо- и экзоцитозу, клеточной пролиферации и апоптоза [85, 86; 87]. Они действуют как “on-off” переключатели, циркулируя между неактивным и активированным состоянием GTP, и относятся к эффекторным клеточным молекулам. Внутриклеточная функция малых Rho-белков GTPases связана с обеспечением связывания и гидролиза GTP, физиологического равновесия между пролиферацией клеток и апоптозом [87].

Выше было показано, что при различных патологических состояниях в клетку поступают эффекторные белки, которые могут изменять активность GTPase. К таким белкам относятся микробные токсины, проникающие в организм хозяина при инфекциях.

Первыми описанными токсинами с подобными свойствами были токсины *Clostridium botulinum*, *Clostridium limosum* и *Staphylococcus aureus*, которые вызывали полную инактивацию GTPases, поми-

мо других эффектов приводит к торможению RhoA-зависимых сигнальных путей.

Вскоре был описан токсин, вызывающим активацию Rho GTPases. Им стал цитонекротический фактор (CNF1), выделенный из патогенных штаммов *Escherichia coli* [85, 86, 88, 89, 90, 91, 92, 93]. В дальнейшем были открыты еще несколько подобных токсинов – CNF2 (85% последовательности идентичности с CNF1), CNF3 (70% последовательности идентичности с CNF1). В отличие от хромосомных CNF1 и CNF3, экспрессия CNF2 кодируется плазмидным геном [94, 95]. На сегодняшний день CNF1 является наиболее изученным членом постоянно растущего семейства CNF-токсинов (CNFs) с идентичными и аналогичными свойствами.

Как известно, эукариотические клетки получают внеклеточные стимулы разными способами: в форме растворимых молекул (ростовых факторов, цитокинов и гормонов) которые взаимодействуют с рецепторами клеточной поверхности; от адгезивных взаимодействий с внеклеточным матриксом; и от межклеточных адгезий. Эти стимулы заставляют генерировать изменения в актиновом цитоскелете в специфических сайтах, прежде всего посредством Rho белков. Локальные guanine-nucleotide-exchange factors (GEFs) или GTPase-activating proteins (GAPs) служат для активации или подавления уровней активных связанных с мембраной Rho белков. У человека существует около 20 Rho GTPases, из которых наиболее изучены Rho A, B и C, Rac и Cdc42 [102, 103, 104]. Таким образом, Rho-белки GTPases имеют большое значение в жизнеобеспечении эукариотической клетки. Они являются регуляторами цитоскелета и, по своей функции, участвуют в обеспечении миграции клеток, адгезию, полярность, деление клеток и апоптоза. Возможно, по этой причине система Rho GTPases является внутриклеточной мишенью для различных бактериальных токсинов. В настоящее время проведено достаточно много исследований по изучению механизма клеточной транслокации CNF1 и ее влиянию на апоптоз [96, 101, 104].

В экспериментальных исследованиях на культурах клеток была выявлена способность CNF1 повреждать эпителиоциты и нарушать барьерную функцию эпителия [92, 24, 96], влиять на функции клеток иммунной системы, блокируя фагоцитарную способность макрофагов [92, 96, 97], вызывать развитие рака по механизму активации ядерного фактора каппа-B (NF-κB) и ингибировать апоптоз [86, 96, 98].

Последующие исследования [98; 99] показали, что CNF продуцируют не только кишечная палочка, но также *Y. pseudotuberculosis* (CNFY, 61% гомологии с CNF1). Как и все члены семейства CNF, токсин CNFY имеет модульную структуру с N-концевым доменом для связывания с рецептором клетки и C-концевым доменом, имеющим высокой решающее значение для

каталитической активности токсина. Расположенный в центре каталитический домен образует β-сэндвич, состоящий из двух смешанных β-слоев [100, 101].

Выявлено, что CNF деаминирует глутаминовый остаток и тем самым активирует Rho GTPases. Они соединяются с различными эффекторами, включая протеинкиназы [26] и некоторые актин-связывающие белки, непосредственно или косвенно влияя на локальную сборку или разборку филаментозного (F)-актина [87].

Ингибирование апоптоза всеми изученными CNFs проходит по единому механизму: непрерывная эффекторная активация Rho-белков GTP-фаз, в результате которой блокируется связывание и гидролиз гуанозинтрифосфата (GTP). При этом в отличие от других изоформ токсина, CNF *Yersinia pseudotuberculosis* проявляет субстратную специфичность для RhoA, B и C и не изменяет Rac или Cdc42 [101, 104].

CNFY проникает в клетку-хозяина благодаря механизму рецептор-опосредованного эндоцитоза [100, 101], результатом которого является образование эндосом, подкисленных до pH 5,5–6,0. Сдвиг pH имеет решающее значение для транслокации токсина в цитозоль клетки-хозяина: кислая среда вызывает конформационные изменения токсина [105].

Мишень CNFY – Rho-белки GTPases находятся в цитозоле и в плазматической мембране. Каталитический домен CNFY освобождается от эндосомного мембраны и отщепляется от основной молекулы. Это расщепление и освобождение каталитической части из эндосомы имеет большое значение для реализации полной биологической активности токсина. Вероятно, что этот процесс происходит с конца эндосомы. Экспериментальные исследования, связанные с разрушением микротрубочек, которые необходимы для созревания ранних к поздним эндосомы с CNF, приводило к снижению токсичности фактора [100, 101, 105].

## Выводы

Таким образом, в процессе изучения патогенеза иерсиниозных инфекций выявляется все больше факторов, указывающих на то, что патогенные виды рода *Yersinia* используют различные механизмы влияния на апоптоз клеток макроорганизма при его инфицировании. Они включают в себя различные апоптоз-модулирующие стратегии с использованием детерминант патогенности: (i) эффекторные белки и III систему секреции, (ii) суперантигены и (iii) токсины.

По-видимому, существуют и другие, еще не выявленные механизмы про-и анти-апоптоза клетки-хозяина, используемые патогенными иерсиниями.

В патогенезе иерсиниозов возможны, по крайней мере, две возможные причины модуляции клеточной смерти эукариотической клетки. Первая, и самая очевидная причина активации апоптоза – это ликвидация ключевых иммунокомпетентных клеток, лимфоцитов



и фагоцитов, ведущая к обезоруживанию иммунологической системы инфицированного организма. Вторая причина – ингибирование апоптоза необходимо для обеспечения внутриклеточного персистирования в эпителиоцитах, их колонизации и последующей диссеминации возбудителя в пейеровы бляшки и региональные лимфоузлы. В этом механизме ингибирование апоптоза эпителиальных слеток слизистой тонкой кишки служит целям создания безопасных убежищ для накопления возбудителя, а возможно, и создания, своего рода, плаща-невидимки от иммунологической системы организма-хозяина.

Таким образом, на рубеже XX–XXI вв. был достигнут значительный прогресс в понимании роли использования различного рода стратегий, которые используются патогенными иерсиниями для модуляции апоптоза при инфекционном процессе. Нет сомнений, что, по мере открытия новых детерминант патогенности у *Yersinia spp.* сложность и многообразие взаимодействия этого патогенна и макроорганизма будут возрастать, как и механизмы влияния на регуляцию клеточной смерти эукариотических клеток.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Долматова Л.С., Заика О.А., Тимченко Н.Ф. Исследование механизмов апоптозодулирующего влияния термостабильного токсина *Yersinia pseudotuberculosis* и корригирующего действия экстракта из дальневосточных видов голотурий на нейтрофилы крыс *in vitro* // Тихоокеанский медиц. журн., 2010; 3: 76-80.
2. Долматова Л.С., Заика О.А., Тимченко Н.Ф. Влияние экстракта из дальневосточных видов голотурий на оксидантно-антиоксидантный баланс и апоптоз в макрофагах мышей при экспериментальной псевдотуберкулезной инфекции // Тихоокеанский медиц. журн., 2012; 1: 53-6.
3. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клетки. СПб, Мед.пресса, 2006. 397 с.
4. Исачкова Л.М., Тимченко Н.Ф., Недашковская Е.П. Патоморфологическая характеристика экспериментальной токсемии, индуцированной термостабильным токсином *Yersinia pseudotuberculosis* // Бюлл. exper. биологии и медицины. 2000; 11: 1123-6.
5. Кудрина Н.В., Беседнова Н.Н. Интенсивность катаболизма клеточных рецепторов при кишечном иерсиниозе и псевдотуберкулезе // Ж. микробиол. 1999; 3: 65-7.
6. Сомов Г.П. Иерсиниозная инфекция на современном этапе. Ж. микробиол. 1997; 5: 7-11.
7. Сомова Л.М., Плехова Н.Г., Дробот Е.И. Новые аспекты патологии псевдотуберкулеза. // Архив патологии. 2000; 5: 47-52.
8. Тимченко Н.Ф., Недашковская Е.П., Долматова Л.С., Сомова Л.М. Токсины *Yersinia pseudotuberculosis*. Владивосток, 2004; 219 с.
9. Ценева Г.Я. Иерсиниоз и псевдотуберкулез: Пособие для врачей. СПб., 1992; 84 с.
10. Ющук Н.Д., Кареткина Г.Н., Ценева Г.Я. Иерсиниозы: итоги изучения и задачи научных исследований. Матер. конф. «Инфекции, обусловленные иерсиниями (иерсиниоз, псевдотуберкулез), и другие актуальные инфекции». СПб, 2000.
11. Ярилин А.А., Никонова М.Ф., Ярилина А.А. Апоптоз, роль в патологии и значимость его оценки при клинико-иммунологическом обследовании больных // Медиц. иммунология. 2000; 2(1): 7-16.
12. Abe J., Onimaru M., Matsumoto S., Noma S., Baba K., Ito Y., Kohsaka T., Takeda T. Clinical Role for a Superantigen in *Yersinia pseudotuberculosis* Infection. J. Clin. Invest., 1997; 99(8): 1823-30.
13. Aepfelbacher M., Claudia T.C., Ruckdeschel K. Effector functions of pathogenic *Yersinia* species. Thromb Haemost., 2007; 98 (3): 521-9.
14. Allsopp T.E., McLuckie J., Kerr L.E., Macleod M., Sharkey J., Kelly J.S. Caspase 6 activity initiates caspase 3 activation in cerebella granule cell apoptosis. Cell Death Differ., 2000; 7: 984-93.
15. Anderson D.M., Fouts D.E., Collmer A., Schneewind O. Reciprocal secretion of proteins by the bacterial type III machines of plant and animal pathogens suggests universal recognition of mRNA targeting signals. Proc Natl Acad Sci USA, 1999; 96(22): 12839-43.
16. Andryukov B.G. Apoptosis-modulating strategy determinants of virulence of *Yersinia*. The Journal of Infectious Diseases, 2013; 112: 203-14.
17. Bellomo F., Piccoli C., Cocco T. Regulation by the cAMP cascade of oxygen free radical balance in mammalian cells. Antioxid. Redox. Signal., 2006; 8(3-4): 495-502.
18. Belhocine T., Steinmetz N., Li C., Green A., Blankenberg F.G. The imaging of apoptosis with the radiolabeled annexin V: optimal timing for clinical feasibility. Technol Cancer Res Treat., 2004; 3(1): 23-32.
19. Beuscher H.U., Rödel F., Forsberg A., Röllinghoff M. Bacterial evasion of host immune defense: *Yersinia enterocolitica* encodes a suppressor for tumor necrosis factor alpha expression. Infect Immun. 1995; 63(4): 1270-7.
20. Blumenthal B., Hoffmann C., Aktories K., Backert S., Schmidt G. The Cytotoxic Necrotizing Factors from *Yersinia pseudotuberculosis* and from *Escherichia coli* Bind to Different Cellular Receptors but Take the Same Route to the Cytosol. Infect. Immun., 2007; 75: 3344-53.
21. Boquet P., Lemichez E. (edit.) Bacterial Virulence Factors and Rho GTPases. Berlin, by Springer, 2010; 197 p. (P. 147-166; 167-176).

22. Boquet P. Induction of phagocytic behaviour in human epithelial cells by *Escherichia coli* cytotoxic necrotizing factor type 1. *Mol. Microbiol.*, 1993; 9: 1247-54.
23. Bose R., Thinwa J., Chaparro P., Zhong Y., Bose S., Zhong G., Dube P.H. Mitogen-activated protein kinase-dependent interleukin-1 $\alpha$  intracrine signaling is modulated by YopP during *Yersinia enterocolitica* infection. *Infect Immun.*, 2012; 80(1): 289-97.
24. Bruckner S., Rhamouni S., Tautz L., Alonso A., Becantini B., Salvesen G.S., Mustelin T. *Yersinia* Phosphatase Induces Mitochondrially Dependent Apoptosis of T Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 2005; 280: 10388-94.
25. Brunelle J.K., Letai A. Control of mitochondrial apoptosis by the Bcl-2 family. *J Cell Sci.*, 2009; 122(4): 437-41.
26. Buetow L., Flatau G., Chiu K., Boquet P., Ghosh P. Structure of the Rho-activating domain of *Escherichia coli* cytotoxic necrotizing factor 1. *Nat. Struct. Biol.*, 2001; 8: 584-8.
27. Caretti A., Bianciardi P., Ronchi R., Fantacci M., Guazzi M., Samaja M. Phosphodiesterase-5 inhibition abolishes neuron apoptosis induced by chronic hypoxia independently of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  signaling. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2008; 233(10): 1222-30.
28. Caprioli A., Falbo V., Roda L.G., Ruggeri F.M., Zona C. Partial purification and characterization of an *Escherichia coli* toxic factor that induces morphological cell alterations. *Infect. Immun.*, 1983; 39: 1300-6.
29. Chen W., Wang H-G., Srinivasula S.M., Alnemri E.S., Cooper N.R. B cell apoptosis triggered by antigen receptor ligation proceeds via a novel caspase-dependent pathway. *J. Immunol.*, 1999; 163: 2483-91.
30. Cochrane R., Clark B.B., Maulik N. c-AMP-mediated suppression of a Th1 clone associated with an alteration of the intracellular redox environment. *Cell. Mol. Biol.*, 2003; 49(2): 301-6.
31. Cornelis G.R. Molecular and cell biology aspects of plague. *PNAS*, 2000; 97(6): 8778-83.
32. Cornelis G.R., Boland A., Boyd A.P. The virulence plasmid of *Yersinia*, an antihost genome. *Microbiol Mol Biol Rev.*, 1998; 62: 1315-52.
33. Contamin S., Galmiche A., Doye A., Flatau G., Benmerah A., Boquet P. The p21 Rho-activating toxin cytotoxic necrotizing factor 1 is endocytosed by a clathrin-independent mechanism and enters the cytosol by an acidic-dependent membrane translocation step. *Mol. Biol. Cell.*, 2000; 11: 1775-87.
34. Cornelissen M., Philippé J., De Sitter S., De Ridder L. Annexin V expression in apoptotic peripheral blood lymphocytes: an electron microscopic evaluation. *Apoptosis*, 2002; 7(1): 41-7.
35. Day C.L., Smits C., Fan F.C., Lee E.F., Fairlie W.D., Hinds M.G. Structure of the BH3 domains from the p53-inducible BH3-only proteins Noxa and Puma in complex with Mcl-1. *J. Mol. Biol.*, 2008; 380(5): 958-71.
36. Denecker G., Declercq W., Geuijen C., Boland A., Benabdillah R. *Yersinia enterocolitica* YopP-induced Apoptosis of Macrophages Involves the Apoptotic Signaling Cascade Upstream of Bid. *Molecular and cell biology aspects of plague*, 2001; 276: 19706-14.
37. Denko N., Langland R., Barton M., Lieberman MA. Uncoupling of S-phase and mitosis by recombinant cytotoxic necrotizing factor 2 (CNF2). *Exp. Cell Res.* 1997; 234:132-8.
38. Donepudi M., MacSweeney A., Briand C., Grutter M.G. Insights into the regulatory mechanism for caspase-8 activation. *Mol. Cell.*, 2003; 11: 543-9.
39. Dohrman A., Kataoka T., Cuenin S., Russell JQ, Tschopp J, Budd RC. Cellular FLIP (long form) regulates CD8+ T cell activation through caspase-8-dependent NF-kappa B activation. *J. Immunol.*, 2005; 174: 5270-8.
40. Doye A., Mettouchi A., Bossis G., Clément R., Buisson-Touati C., Flatau G., Gagnoux L., Piechaczyk M., Boquet P., Lemichez E. CNF1 exploits the ubiquitin-proteasome machinery to restrict Rho GTPase activation for bacterial host cell invasion. *Cell.*, 2002; 111: 553-64.
41. Du C., Fang M., Li Y., Li L., Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell.*, 2000; 102(1): 33-42.
42. Earnshaw W.C., Martins L.M., Kaufmann S.H. Mammalian caspases: structure, activation, substrates and functions during apoptosis. *Annu. Rev. Biochem.*, 1999; 68: 383-424.
43. Engels I.H., Stepczynska A., Stroh C., Lauber K., Berg C., Schwenzer R., Wajant H., Jänicke R.U., Porter A.G., Belka C., Gregor M., Schulze-Ostho K., Wesselborg K. Caspase-8/FLICE functions as an executioner caspase in anticancer drug-induced apoptosis. *Oncogene.*, 2000; 19: 4563-73.
44. Erfurth S.E., Grobner S., Kramer U. *Yersinia enterocolitica* induces apoptosis and inhibits surface molecule expression and cytokine production in murine dendritic cells. *Infect Immun.*, 2004; 72: 7045-54.
45. Falzano L., Fiorentini C., Donelli G., Michel E., Kocks C., Cossart P., Cabanié L., Oswald E., Rippere-Lampe K.E., Lang M., Ceri H., Olson M., Lockman H.A., O'Brien A.D. Cytotoxic necrotizing factor type 1-positive *Escherichia coli* causes increased inflammation and tissue damage to the prostate in a rat prostatitis model. *Infect. Immun.*, 2001; 69: 6515-9.
46. Fiorentini C., Fabbri A., Flatau G., Donelli G., Matarrese P., Lemichez E., Falzano L., Boquet P. *Escherichia coli* cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF1), a toxin that activates the Rho GTPase. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 19532-7.
47. Fleischer B. Superantigens. *Behring, Inst Mitt.*, 1994; 94: 104-12.

48. Fukushima H., Matsuda Y., Seki R., Tsubokura M., Takeda N., Shubin F.N., Paik I.K., Zheng X.B. Geographical heterogeneity between Far Eastern and Western countries in prevalence of the virulence plasmid, the superantigen *Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen, and the high-pathogenicity island among *Yersinia pseudotuberculosis* strains. *J Clin Microbiol.* 2001; 39(10): 3541-7.
49. Hao Y.H., Wang Y., Burdette D., Mukherjee S., Keitany G., Goldsmith E., Orth K. Structural requirements for *Yersinia* YopJ inhibition of MAP kinase pathways. *PLoS One*, 2008; 23(1): 1371-5.
50. Hoffmann C., Aktories K., Schmidt G. Change in substrate specificity of Cytotoxic Necrotizing Factor (CNF) unmasks proteasome-independent down-regulation of constitutively active RhoA. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 10826-32.
51. Galluzzi L., Vitale I., Abrams J.M. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death and Differentiation*, 2012; 19: 107-120.
52. Gröbner S., Schulz S., Soldanova I. Absence of Toll-like receptor 4 signaling results in delayed *Yersinia enterocolitica* YopP induced cell death of dendrites cells. *Infect. Immun.* 2007; 75: 512-17.
53. Hoffmann C., Pop M., Leemhuis J., Schirmer J., Aktories K., Schmidt G. The *Yersinia pseudotuberculosis* cytotoxic necrotizing factor (CNFY) selectively activates RhoA. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 16026-32.
54. Hopkins A.M., Walsh S.V., Verkade P., Boquet P., Nusrat A. Constitutive activation of Rho proteins by CNF-1 influences tight junction structure and epithelial barrier function. *J. Cell Sci.*, 2003; 116: 725-42.
55. Kadhum H.J., Finlay D., Rowe M.T., Wilson I.G., Ball H.J. Occurrence and characteristics of cytotoxic necrotizing factors, cytolethal distending toxins and other virulence factors in *Escherichia coli* from human blood and faecal samples. *Epidemiol. Infect.*, 2008; 136: 752-60.
56. Kataoka T., Tschopp J. N-terminal fragment of c-FLIP(L) processed by caspase-8 specifically interacts with TRAF2 and induces activation of the NF-kappaB signaling pathway. *Mol Cell Biol.*, 2004; 24: 2627-36.
57. Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie, A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer.*, 1972; 26: 239-57.
58. Knust Z., Schmidt G. Cytotoxic Necrotizing Factors (CNFs) – A Growing Toxin Family Toxins, 2010; 2: 116-27.
59. Kotb M., Fraser J. D., Superantigens: Molecular Basis for Their Role in Human Diseases. Washington, ASM Press, 2007; 292 p.
60. Kreuz S., Siegmund D., Rumpf J.J. NFkappaB activation by Fas is mediated through FADD, caspase-8, and RIP and is inhibited by FLIP. *J. Cell. Biol.*, 2004; 166: 369-80.
61. Kroemer G., Reed J.C. Mitochondrial control of cell death. *Nat Med.*, 2000; 6(5): 513-9.
62. Kuwana T., Smith J.J., Muzio M., Dixit V., Newmeyer D.D., Kornbluth S. Apoptosis induction by caspase-8 is amplified through the mitochondrial release of cytochrome c. *J.Biol.Chem.*, 1998; 273(26): 16589-94.
63. Lewis J., Devin A., Miller A. Disruption of hsp90 function results in degradation of the death domain kinase, receptor-interacting protein (RIP), and blockage of tumor necrosis factor-induced nuclear factor-kappaB activation. *J. Biol Chem.*, 2000; 275: 10519-26.
64. Lockman H.A. *Yersinia pseudotuberculosis* produces a cytotoxic necrotizing factor. *Infect Immun.*, 2002; 70(5): 2708-14.
65. Malorni W., Fiorentini C. Is the Rac GTPase-activating toxin CNF1 a smart hijacker of host cell fate? *FASEB J.*, 2006; 20: 606-9.
66. McNichol B.A., Rasmussen S.B., Carvalho H.M., Meysick K.C., O'Brien A.D. Two domains of cytotoxic necrotizing factor type 1 bind the cellular receptor, laminin receptor precursor protein. *Infect. Immun.*, 2007; 75: 5095-104.
67. McCall K., Baum J.S., Cullen K., Peterson J.S. Visualizing apoptosis. *Methods Mol Biol.*, 2004; 247: 431-42.
68. Mills S.D., Boland A., Sory M.P., van der Smissen P., Kerbouch C., Finlay B.B., Cornelis G.R. *Yersinia enterocolitica* induces apoptosis in macrophages by a process requiring functional type III secretion and translocation mechanisms and involving YopP, presumably acting as an effector protein. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 1997; 94(23): 12638-43.
69. Mishankin B.N., Vasilyeva G.I., Kozlovsky V.N., Mishankin M.B., Ermolenko T.D., MacFarlane M., Williams A.C. Apoptosis and disease: a life or death decision. *EMBO Reports.* 2004; 5: 674-8.
70. Mittal R., Peak-Chew S.Y., McMahon H.T. Acetylation of MEK2 and I kappa B kinase (IKK) activation loop residues by YopJ inhibits signaling. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103: 18574-9.
71. Miyoshi-Akiyama T., Imanishi K., Uchiyama T. Purification and partial characterization of a product from *Yersinia pseudotuberculosis* with the ability to activate human T cells. *Infect. Immunol.*, 1993; 4: 61-70.
72. Mukherjee S., Keitany G., Li Y. *Yersinia* YopJ acetylates and inhibits kinase activation by blocking phosphorylation. *Science*, 2006; 312: 1211-14
73. Monack D.M., Mecsas J., Ghori N., Falkow S. *Yersinia* signals macrophages to undergo apoptosis and YopJ is necessary for this cell death. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997; 94(19): 10385-90.
74. Monack D.M., Mecsas J., Bouley D, Falkow S. *Yersinia*-induced apoptosis in vivo aids in the establishment of a systemic infection of mice. *J Exp Med.* 1998; 188(11): 2127-37.



75. Murphy K., Travers P., Walport M. Antigen Presentation to T Lymphocytes. *Janeway's Immunobiology*. 7th edition. Garland Science, 2008; 206-7.
76. Nakajima R., Brubaker R.R. Association between virulence of *Yersinia pestis* and suppression of gamma interferon and tumor necrosis factor alpha. *Infect Immun.*, 1993; 61(1): 23-31.
77. Nakajima W., Tanaka N. Synergistic induction of apoptosis by p53-inducible Bcl-2 family proteins Noxa and Puma. *J. Nippon Med Sch.*, 2007; 74(2): 148-57.
78. Nakamura A., Imaizumi A., Yanagawa Y. et al.  $\beta$ 2-adrenoceptor activation inhibits Shiga toxin2-induced apoptosis of renal tubular epithelial cells. *Biochem. Pharmacol.*, 2003; Vol. 66: 343-53.
79. Naktin J., Beavis K.G. *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *Clin Lab Med.*, 1999; 19: 523-36.
80. Orth K., Xu Z., Mudgett M.B. Disruption of signaling by *Yersinia* effector YopJ, a ubiquitin-like protein protease. *Science*, 2000; 290: 1594-7.
81. Pei S., Doye A., Boquet P. Mutation of specific acidic residues of the CNF1 T domain into lysine alters cell membrane translocation of the toxin. *Mol. Microbiol.*, 2001; 41: 1237-47.
82. Regula K.M., Ens K., Kirshenbaum L.A. Mitochondria-assisted cell suicide: a license to kill. *J Mol Cell Cardiol.*, 2003; 35(6): 559-67.
83. Renno T., Attinger A., Locatelli S., Bakker T., Vacheron S., MacDonald H.R. Cutting edge: apoptosis of superantigen-activated T cells occurs preferentially after a discrete number of cell divisions in vivo. *J. Immunol.*, 1999; 162(11); 6312-5.
84. Reutelingsperger C. P. M., van Heerde W. L. Annexin V, the regulator of phosphatidyl-serine catalyzed inflammation and coagulation during apoptosis. *Cell. Mol. Life Sci.*, 1997; 53: 527-32.
85. Richter C. Oxidative stress, mitochondria, and apoptosis. *Restor Neurol Neurosci.*, 1998; 12(2-3): 59-62.
86. Riordan KE, Sorg JA, Berube BJ, Schneewind O. Impassable YscP substrates and their impact on the *Yersinia enterocolitica* type III secretion pathway. *J Bacteriol.*, 2008; 190(18); 6204-16.
87. Ruckdeschel K, Mannel O, Richter K et al. *Yersinia* outer protein P of *Yersinia enterocolitica* simultaneously blocks the nuclear factor-kappa B pathway and exploits lipopolysaccharide signaling to trigger apoptosis in macrophages. *J Immunol* 166:1823–1831.
88. Ruckdeschel K. Immunomodulation of macrophages by pathogenic *Yersinia* species. *Arch. Immunol. Ther. Exp.-Warsz.* 2002; 50(2): 131-7.
89. Ruckdeschel K., Mannel O., Schrottner P. Divergence of apoptosis-inducing and preventing signals in bacteria-faced macrophages through myeloid differentiation factor 88 and IL-1 receptor-associated kinase members. *J. Immunol.*, 2002; 168: 4601-11.
90. Sit S.-T., Manser E. Rho GTPases and their role in organizing the actin cytoskeleton. *J. of Cell Science*, 2011; 124: 679-83.
91. Stuart P.M., Munn R.K., DeMoll E., Woodward J.G. Characterization of human T-cell responses to *Yersinia enterocolitica* superantigen. *Hum. Immunol.* 1995; 43: 269-75.
92. Swairjo M. A., Concha N. O., Kaetzel M.A. Bridging mechanism and phospholipid head group recognition in the membrane-binding protein annexin V. *Nat. Struct. Biol.*, 1995; 2: 968-74.
93. Thornberry N.A., Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science*, 1998; 281(5381): 1312-6.
94. Thiefes A., Wolf A., Doerrie A., Grassl G.A., Matsumoto K., Autenrieth I., Bohn E., Sakurai H., Niedenthal R., Resch K., Kracht M. The *Yersinia enterocolitica* effector YopP inhibits host cell signaling by inactivating the protein kinase TAK1 in the IL-1 signaling pathway. *EMBO*, 2006; 7: 838-44.
95. Thompson C.B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*, 1995; 261: 1456-62.
96. Trambas C.M., Griffiths G.M. Delivering the kiss of death. *Nature Immunol.*, 2003; 4: 399-403.
97. Uchiyama T. T., Miyoshi-Akiyama H., Kato W., Fujimaki K., Imanishi Y. X., Renno T., Attinger A., Locatelli S., Bakker T., Vacheron S., Mac Donald H.R. Cutting edge: Apoptosis of superantigen-activated T cells occurs preferentially after a discrete number of cell divisions in vivo. *J. Immunol.*, 1999; 162: 6312-5.
98. Vanags D.M., Coppola S., Burgess D. H. Protease involvement in fodrin cleavage and phosphatidylserine exposure in apoptosis // *Biol. Chem.* 1996. Vol. 271, p. 31075-85.
99. Viboud G.I., Bliska J.B. *Yersinia* outer proteins: role in modulation of host cell signaling responses and pathogenesis // *Ann. Rev. Microbiol.* 2005. Vol. 59, p. 69-89.
100. Weinrauch Y., Zychlinsky A. The induction by bacterial pathogens // *Annu. Rev. Microbiol.* 1999. Vol. 53, p.155–87
101. Wilson M.R. Apoptosis: unmasking the executioner. // *Cell Death Differ.* 1998. N 5, p. 646-52.
102. Wolf C.M., Eastman A. 1999. The temporal relationship between protein phosphatase, mitochondrial cytochrome c release, and caspase activation in apoptosis. // *Exp. Cell. Res.* 1999. Vol. 247, p. 505-13.
103. Yang Y., Isberg R.R. Cellular internalization in the absence of invasin expression is promoted by the *Yersinia pseudotuberculosis* yadA product. *Infect Immun.*, 1993. Vol. 61(9), p. 3907-13.
104. Yoshino K., Abe J., Murata H., Takao T., Kohsaka T., Shimonishi Y., Takeda T. Purification and characterization of a novel superantigen produced by a clinical isolate of *Yersinia pseudotuberculosis*. *FEBS Lett.* 1994; 356(1): 141-4.

105. Zhang G., Gurtu V., Kain S.R., Yan G. Early detection of apoptosis using a fluorescent conjugate of annexin V. *Biotechniques*. 1997; 23(3): 525-31.
106. Zhao Z.S., Manser E. PAK and other Rho-associated kinases-effectors with surprisingly diverse mechanisms of regulation. *Biochem J*. 2005; 386(2): 201-14.
107. Zhu H., Bunn H.F. How Do Cells Sense Oxygen? (Perspective). *Science*, 2001; 292: 449-51.

B.G. Andryukov, N.F. Timchenko

## APOPTOSIS-MODULATING STRATEGY DETERMINANTS OF VIRULENCE OF YERSINIA

Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of RAMS, Vladivostok, Russia

Apoptosis is genetically programmed cell death – one of the objects of intensive research in the field of biology and medicine. This is strictly regulated process, essential for the development and preservation of cellular homeostasis of a multicellular organism. Unlike necrosis, apoptosis eliminates separate cells, without causing inflammation. Activation or inhibition of cell death may become a decisive factor in a number of pathological conditions, including bacterial infections. In their strategies for modulation of apoptosis *Yersinia* widely used determinants of virulence, effectors proteins, superantigens and toxins, with a view to the elimination of immunocompetent cells and preservation of epitheliocytes for intracellular persistence and their colonization. This review presents the basic molecular mechanisms of apoptosis and its modulation by yersiniosis, characterized by clinical polymorphism and cyclical over. *Yersinia spp.* in their apoptosis-modulating strategies uses a variety of mechanisms with the use of their determinants of virulence.

**Keywords:** apoptosis, a bacterial infection, *Yersinia* infection, virulence factors of *Yersinia spp.*, apoptosis-modulating strategies, eukaryotic cells.

**Citation:** Andryukov B.G., Timchenko N.F. Apoptosis-modulating strategy determinants of virulence of *Yersinia*. *Health. Medical ecology. Science*. 2015; 1(59): 27-41. URL: <https://yadi.sk/i/h4CuUFqxiVGY>

### Сведения об авторах

Андрюков Борис Георгиевич – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярных основ патогенности бактерий ФГБУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» СО РАМН, телефоны: 8(423)-246-78-14, 89242304647; 690078, г. Владивосток, ул. Сельская, д. 1; e-mail: andryukov\_bg@mail.ru.

Тимченко Нэлли Федоровна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярных основ патогенности бактерий ФГБУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» СО РАМН, тел./факс: 8(423) 244-14-38; 690078, г. Владивосток, ул. Сельская, д. 1; e-mail: ntimch@mail.ru.

© Е.Д. Облучинская, 2015 г.

УДК 615.072:582.272.7

Е.Д. Облучинская

## ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ФУКУСОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

ФГБУ «Мурманский морской биологический институт» Кольского научного центра Российской Академии наук, г. Мурманск

Рассмотрены теоретические и экспериментальные аспекты создания биопрепаратов на основе фукусковых водорослей. Предложена рациональная схема получения оригинальных фукусковых биопрепаратов, представлены конкретные примеры ее реализации

**Ключевые слова:** фукусковые водоросли; биопрепараты; иммуномодуляторы; антикоагулянты

**Цитировать:** Облучинская Е.Д. Теоретические и экспериментальные аспекты создания биопрепаратов на основе фукусковых водорослей // *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2015. №1(59). С. 41-42. URL: <https://yadi.sk/i/DczTqm8SciVGc>

Фукусковые водоросли – перспективное сырье для получения биологически активных веществ (БАВ). Они содержат полисахариды (фукоидан, альгинаты), полифенолы, липиды и другие биологически активные компоненты. Спектр применения препаратов из фукусковых водорослей широк, и обусловлен их фи-

тохимическим составом. В основном препараты из водорослей используются в лечебно-профилактической практике в виде нутрицевтиков [1, 3, 5].

Для создания современных биопрепаратов на основе водорослей необходимо применение методологических подходов, которые требуют