

ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА БРУЦЕЛЛА**Игнатов П.Е., Маматкулов И.Х.**<https://doi.org/10.5281/zenodo.8353491>

Аннотация. В данном обзоре авторы приводят примеры известных факторов патогенности бруцелл и рассматривают механизмы их воздействия на клетки организма хозяина. Представлена возможная модель патогенеза бруцеллеза на начальном этапе инфекционного процесса, завершающаяся формированием репликативной ниши.

Согласно современной классификации микроорганизмов, бруцеллы относятся к домену Бактерии (Bacteria), типу – Протеобактерии (Proteobacteria), классу – Альфа-протеобактерии (Alphaproteobacteria), порядку – Ризобиевые (Rhizobiales), семейству – Brucellaceae, роду – Brucella. Считается, что этот род сформировался на слишком давно, так как все виды этого рода представлены довольно компактной генетической группой. Вполне возможно, что предковыми формами бруцелл были однохромасомные почвенные бактерии или бактерии паразитирующие на растениях. Вероятно, они уже имели секреторную систему 3 или 4 типа, которую активно использовали. Переход к паразитизму (возможно у травоядных) сопровождался у них потерей части генома, но приобретением механизмов кислотоустойчивости и синтезом новых эффекторных белков и нуклеопротеидов, транспортируемых T4 секреторной системой.

Не последнюю роль здесь сыграло изменение структуры основного клеточного антигена - липополисахаридного эндотоксина LPS. Причем как полисахаридной, так и липидной его части. В результате возбудитель приобрел повышенные способности к клеточной адгезии, устойчивости к ряду факторов врожденного иммунитета, а также ингибции или извращению его протективного ответа (1).

Возможно ключевым патогенным фактором стала его способность паразитировать внутри эндоплазматического ретикулума (ER), окружающего ядро инфицированной клетки или существенно повреждать его структуры. Это позволило бруцеллам маскировать мембраны своих вакуолей белками ER (калретикулин например) и нарушать нормальное функционирование клеточных белков. Все это приводит с одной стороны к развитию клеточной анергии, а с другой ингибирует апоптоз этой клетки. То есть формируется идеальная структура для длительной персистенции возбудителя.

Бруцеллы приобрели также свойства подавлять реакции приобретенного иммунитета, нарушая генетически запрограммированные сигнальные пути иммунного ответа и извращая спектр синтезируемых цитокинов. В немалой степени этому способствовала индукция возбудителем анергии Т-клеток, макрофагов и дендритных клеток (5,7).

Таким образом эволюционная адаптация позволила бруцеллам приобрести целую совокупность патогенных молекул, которые взаимно усиливают действие друг друга и позволяют возбудителю длительно персистировать в организме, используя его клетки и органеллы как резервуар для выживания и размножения.

Особым фактором патогенности можно считать и повышенную склонность бруцелл к диссоциации. Снизив вирулентную и антигенную нагрузку на организм хозяина, возбудитель получает больше шансов на незаметное и длительное паразитирование. А это,

в свою очередь, заметно пролонгирует время существования всей паразитарной системы и способствует формированию эндемичных бруцеллезных очагов.

Весьма условно известную на сегодняшний день совокупность факторов патогенности бруцелл можно разделить на несколько групп.

1. Это факторы влияющие на адгезию возбудителя к клеткам мишеням и дальнейшую интернализацию. Наиболее известны из них:

а) LPS- может связываться с мусорным рецептором SR-A на поверхности клеток. LPS после опсонизации способствует также связыванию через мембранные рецепторы к комплементу, иммуноглобулинам, TLRs и ряду других рецепторов.

б) SP-41- белок связывающийся с остатками сиаловых кислот на поверхности клетки.

с) Hsp-60- Это белок теплового шока связывающийся с клеточным прионным протеином PrP^c.

д) поверхностный белок OMP25 (только у R-форм)

Кроме этого, в данную группу можно было бы отнести ферменты гиалуронидазу и нейраминидазу, которые помогают бруцеллам проникать через межклеточное пространство и адгезироваться.

Для адсорбции на клетке может быть использовано даже электростатическое взаимодействие.

2. Факторы защиты от токсических продуктов фагоцитов:

а) Супероксиддисмутаза - COD A и COD B

б) Алкилгидропероксиредуктазы AhpC AhpD - разлагает супероксид и оксид азота.

в) Каталаза - разлагает перекись водорода

г) Редуктаза оксида азота (Nor D)

3. Факторы адаптации и кислотоустойчивости:

а) Уреазы - разлагают мочевины до аммиака и аммиачных соединений.

б) Цитохромоксидазы (свв3 и vd) - адаптация к недостатку кислорода внутри бруцеллосомы.

4. Факторы влияющие на внутриклеточное выживание:

а) Двухкомпонентная BvrR/BvrS система запускающая активацию VirB- зависимой модификации вакуоли и ее трафик к эндоплазматическому ретикулуму.(ER).

б) Факторы активации белков T4SS (virB 1-virB 12).

в) Эффекторный белки взаимодействующие с белками ER (Vse A, B,C; Vsp A, B, F).

5. Факторы влияющие на фаго-лизосомальное слияние:

а) Циклический b-1,2 гликан - модификация мембран вакуолей

б) Эффекторные нуклеопротеиды повышающие уровень циклического аденозинмонофосфата.

в) Маскировка мембран репликативных rBCV белками ER (кальретикулин).

6. Факторы способствующие ингибции иммунного ответа (Stealth strategy) :

а) LPS - блокирует образование мембраноатакующего комплекса комплемента, блокатор TNF α , слабый индуктор провоспалительных цитокинов.

б) Эффекторные белки содержащие TIR -домены (VtpB и Vtp1/VtpA)- нарушают прохождение сигнала от TLRs к NF κ B. В результате снижается синтез

провоспалительных цитокинов и ингибируется созревание антигенпрезентирующих и иных клеток.

в) Пролинрацемаза - фермент-активатор секреции IL-10.

Конечно это далеко не все факторы патогенности данного возбудителя. Некоторые из них здесь не учтены, а многие, вероятно, еще и вовсе не известны. Но работы в этом направлении ведутся очень интенсивно.

Обобщая информацию известную в настоящее время, молекулярную патологию бруцеллеза, особенно на начальном этапе, можно было бы представить следующим образом. Попадая на слизистые оболочки хозяина бруцеллы проникают через эндотелиальный (и эпителиальный) барьер используя как межклеточные пространства, так и чрезклеточный транспорт. Попадая в подслизистый слой они сталкиваются с “профессиональными” фагоцитирующими клетками - макрофагами и дендритными клетками(5). Адсорбируясь на их поверхности, возбудитель подвергается атаке продуктами “респираторного взрыва” и дальнейшему фагоцитозу. Одновременно рецепторы TLRs начинают распознавать PAMP и сигнализировать об этом в ядро клетки.

Однако бруцеллы достаточно легко нейтрализуют токсические продукты “респираторного взрыва” своими супероксиддисмутазами и каталазой. Внутри фагосомы в клеточной стенке бруцелл активируется двухкомпонентная BvrR/BvrS система. Она запускает процессы экспрессии VirB и других генов, детерминирующих продукцию белков T4SS и эффекторных молекул (2). Через систему секреции T4SS, как через шприц, эффекторные белки перемещаются в цитоплазму фагоцита, где оказывают свое патогенное действие.

В результате блокируются сигналы от TLRs, поскольку эффекторные белки с TIR-доменами (VtpB и Vtp1/VtpA) конкурируют с активированными цитозольными доменами TLRs за адаптерные молекулы TIRAP, MyD88 и другие(3,4). Активация врожденной иммунной системы ингибируется и возбудитель быстро (в течении нескольких часов) перемещается в ER. Здесь бруцеллы повреждают мембраны этой сети, включая их части в состав собственной репликативной вакуоли rBCV. Таким образом она маскируется от дальнейшего слияния с лизосомами, содержащими дефензины, разнообразные ферменты, пернитриты, галогены и другие бактерицидные компоненты, способные убить возбудитель. Следует заметить, что нарушение фаго-лизосомального слияния, вероятно является одним из важнейших механизмов патогенности бруцелл. В нем могут также быть задействованы осморегулирующие периплазматические циклические b-1-2 гликаны бруцелл (6), а также эффекторные нуклеопротеиды изменяющие индекс циклических нуклеотидов - ц.АМФ/ц.ГМФ. Таким образом, основная стратегия бруцелл на первом этапе патогенеза - это скрытное проникновение внутрь клетки, с минимальной активацией систем врожденного иммунитета.

Эффекторные белки бруцелл (VseC например) способны долго поддерживать состояние стресса ER, за счет выбивания шаперонов из его белков и ингибции клеточных систем репарации(1,7). Одновременно эффекторные молекулы возбудителя инициируют несколько механизмов, которые не позволяют инфицированной клетке включать механизмы апоптоза. Даже киллинг таких клеток лимфоцитами может быть затруднен. В результате клетки хозяина, с одной стороны, не способны в полной мере выполнять свои функции из-за большого количества дефективных (не свернутых) белков, а с другой - и не

способны погибнуть через апоптоз. Это формирует ниши для размножения и длительной персистенции возбудителя.

Дальнейшие механизмы острого воспаления, аллергической перестройки, формирования гранулем и хронизации инфекционного процесса по своему тоже интересны и имеют свои характерные для бруцеллеза особенности. Но так или иначе они все базируются на способности возбудителя бруцеллеза длительно персистировать внутри клеток хозяина.

Как бы то ни было, но даже сейчас не совсем понятно, что же является основным (ключевым) патогенным фактором (или совокупностью факторов), выключающим программу внутрифагоцитарного киллинга и обеспечивающим бруцеллам длительное внутриклеточное персистирование. Не вполне понятны и механизмы нарушения иммунного ответа, приводящие к длительным воспалительно-пролиферативным процессам и неспособности организма к формированию выраженного адаптивного иммунитета. Ответы на подобные вопросы могли бы сформировать у нас более четкие представления об эффективных методах борьбы с этим заболеванием, которое так распространено на нашей планете.

REFERENCES

1. P. Figueiredo et. all., Pathogenesis and immunobiology of brucellosis - *Am.J. Pathol.* 2015; 185 (6);1505-1507
2. Dohmer P.H., et.all., Identification of a type IV secretion substrate of *Brucella abortus* that participates in the early stages of intracellular survival. *Cell Microbiol.* 2014;16:396–410.
3. Radhakrishnan G.K., Yu Q., Harms J.S., Splitter G.A. *Brucella* TIR domain-containing protein mimics properties of the Toll-like receptor adaptor protein TIRAP. *J Biol Chem.* 2009; 284: 9892–9898.
4. Kaplan-Turkoz B., et.all., Structure of the Toll/interleukin 1 receptor (TIR) domain of the immunosuppressive *Brucella* effector BtpA/Btp1/TcpB. *FEBS Lett.* 2013; 587: 3412–3416.
5. Glowaka et. all., - Virulence Factors, Pathogenesis and Treatment - *Pol.J.Micr.*2018; 30;67(2); 151-161
6. Arellano-Reynoso B., et. all., Cyclic beta-1,2-glucan is a *Brucella* virulence factor required for intracellular survival. *Nat Immunol.* 2005;6:618–625.
7. Calfon M., et all., IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA. *Nature.* 2002;415:92–96.