

ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова  
Кафедра микробиологии и вирусологии

# Факторы патогенности бактерий

Чаплин А.В. & К<sup>o</sup>  
Москва, 2016 г.

# Факторы патогенности

---

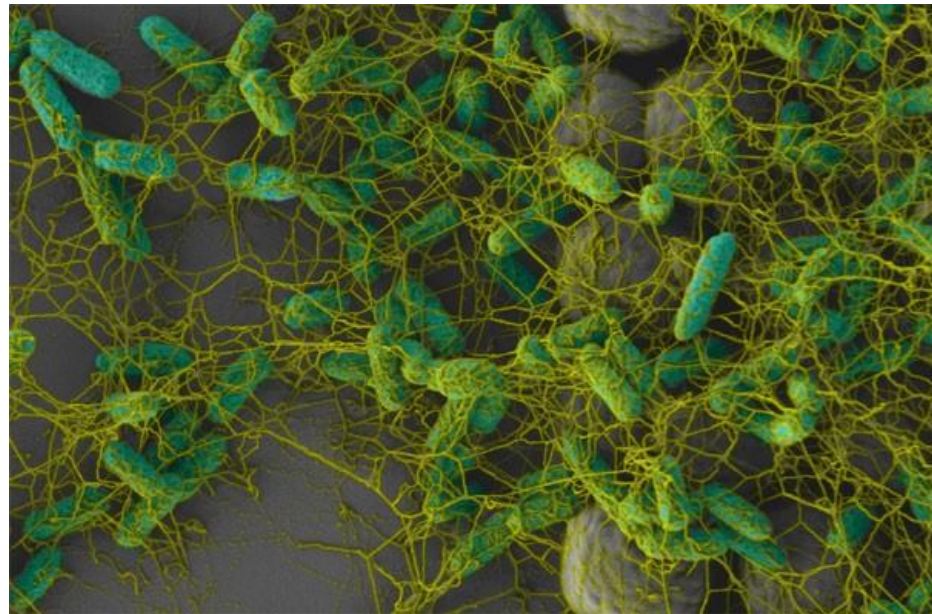
- Факторы патогенности – это молекулы или структуры микроорганизмов, наличие которых обеспечивает протекание инфекционного процесса.
- Вирулентность конкретного штамма микроорганизмов обеспечивается набором присутствующих у него факторов патогенности.
- Синтез факторов патогенности может кодироваться как собственно геномом бактерий, так и присутствующими в клетках плазмидами или интегрированными бактериофагами.

# Классификация

---

- Общепринятой классификации факторов патогенности бактерий не существует.
- Можно условно выделить следующие группы:
  - Факторы адгезии
  - Факторы инвазии, агрессии и добычи питательных веществ
  - Антифагоцитарные факторы
  - Токсины
  - Инъецируемые эффекторные белки

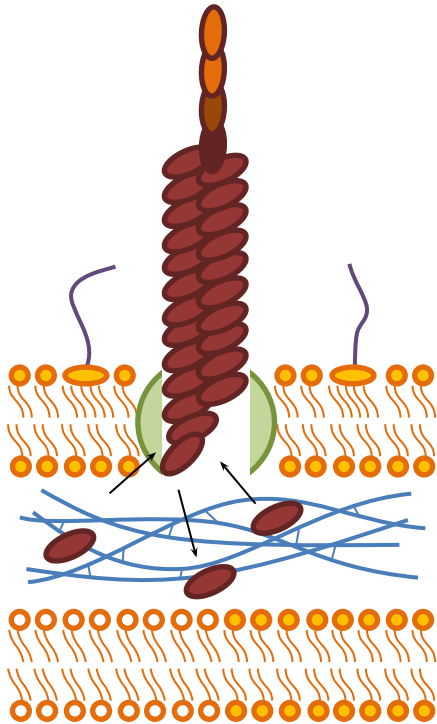
# Часть I: Факторы адгезии



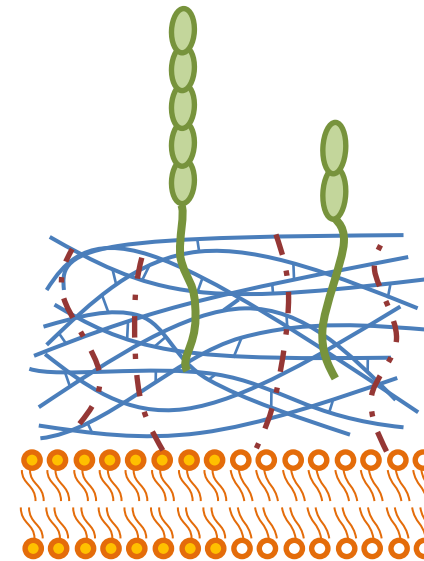
# Бактериальная адгезия

- В большинстве случаев первым этапом взаимодействия бактериальных возбудителей с организмом человека является адгезия к эпителию слизистых оболочек.
- Адгезия позволяет противостоять смыванию бактерий со слизистых за счёт перистальтики кишечника, мукоцилиарного транспорта респираторного тракта и. т. д.
- Прочной специфической адгезии способствует наличие специализированных белков – **адгезинов**, которые связываются с белками или углеводными остатками на поверхностях слизистых оболочек.

# Варианты адгезинов



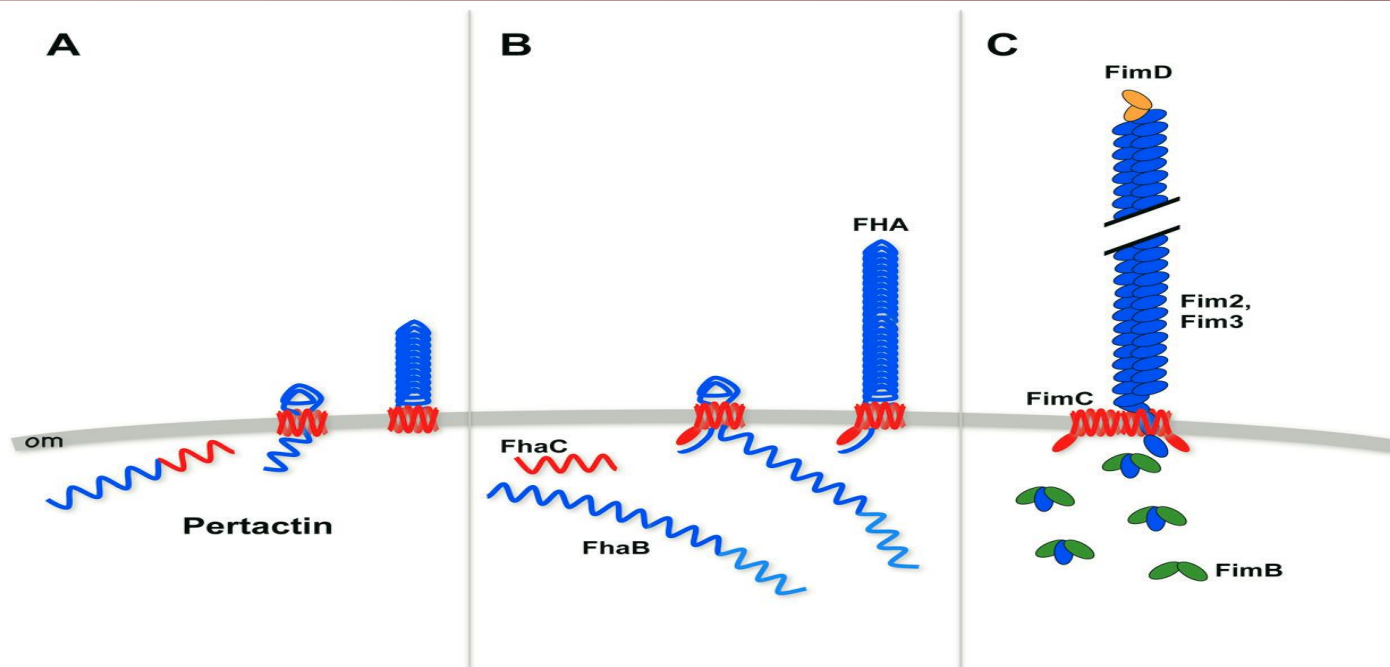
**Фимбриальные адгезины**  
(на примере Fim-белков *E. coli*)



**Афимбриальные адгезины**  
(на примере SpA и ClfA *S. aureus*)

- Необходимость связывания с определенными молекулами определяет видовой тропизм и тканевый тропизм бактерий

# пертактин, филаментозный гемолитин (ФГА), и фимбрии на поверхности клеток *Bordetella*

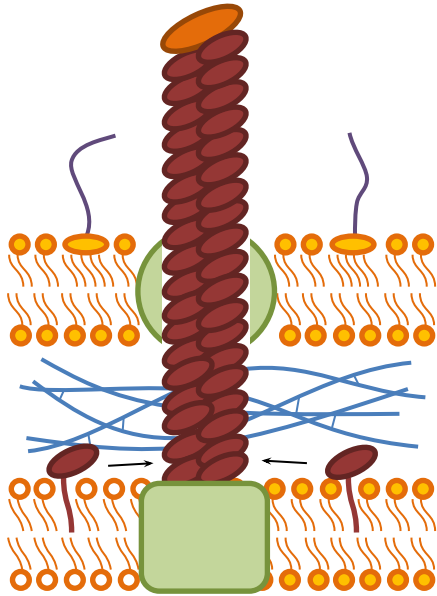


**ФГА** - экзопротеин (синий), секретируется через наружную мембрану посредством порообразующего белка (красный), FhaC. Эта транслокация происходит через двухкомпонентную систему секреции (TpsAB). ФГА является обязательным для присоединения к реснитчатым эпителиальным клеткам и для персистенции во время инфекции, возможно, прямо или косвенно, модулируя иммунную систему хозяина.

**Фимбрии 1 типа.** Белок-шаперон FimB, транспортирует субъединиц (FimD-верхушечная субъединица, Fim2 и Fim3) через мембранную пору FimC. Фимбрии необходимы для персистенции во время инфекции, прямо или косвенно, модулируют иммунную систему, необходимыми для адгезии к реснитчатому эпителию.

**Пертактин** - автотранспортер. С-концевой регион ~30 кДа (красное) образует канал в наружной мембране (ом), необходимый для транслокации ~70 кДа  $\beta$ -спирального «пассажира» домена

# Пили IV типа

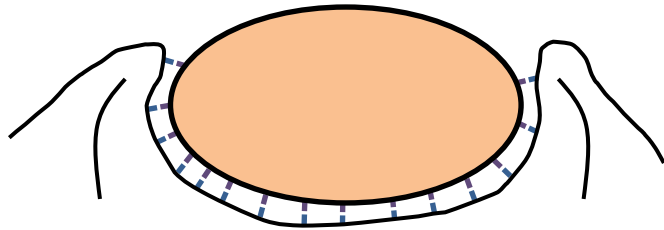


**Пили IV типа**  
(на примере Pil-  
белков  
представителей рода  
*Neisseria*)

- Пили IV типа способны сокращаться после прикрепления к субстрату, обеспечивая передвижение сквозь полужидкую среду на поверхностях слизистых оболочек.
- Также они участвуют в переносе ДНК из внешней среды сквозь капсулу и клеточную стенку в процессе трансформации.



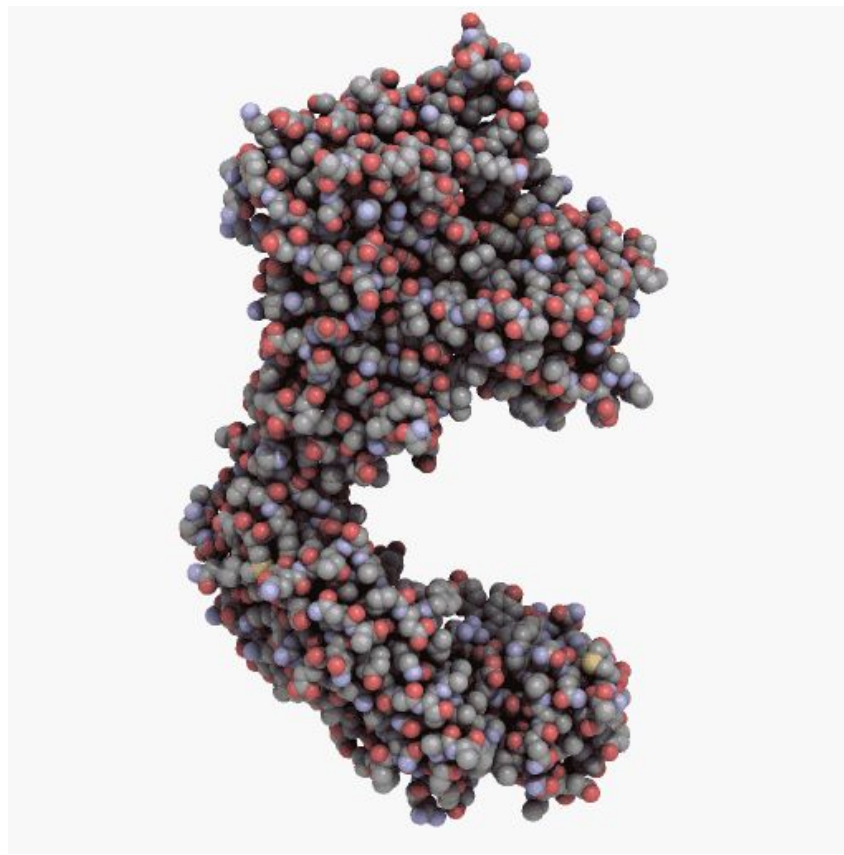
# Адгезия как механизм инвазии



- Связывание бактерий с некоторыми поверхностными белками (интегрины, E-кадгерин) ведет к реорганизации цитоскелета и проникновению бактерии внутрь нефагоцитирующих клеток человека.
- Это называется “zipper mechanism”. Он характерен для представителей родов *Yersinia* и *Listeria*.
- Некоторые другие патогены вызывают свой захват клеткой путем прямого воздействия на внутриклеточные белки (“trigger mechanism”).

# Часть II:

## Факторы инвазии, агрессии и добычи питательных веществ



# Факторы инвазии, агрессии и добычи питательных веществ

- Данная группа факторов преимущественно представлена набором ферментов, которые расщепляют компоненты тканей человеческого организма. Они выполняют следующие функции:
  - Распространение бактерий по тканям организма и прорыв в лимфатическую и кровеносную системы;
  - Подавление естественной резистентности и адаптивного иммунитета;
  - Обеспечение бактерий питательными веществами для роста и размножения.
- Наиболее широко данная группа факторов представлена у возбудителей раневых инфекций.

# Ферменты инвазии

- **Коллагеназа** – расщепление коллагена – основного белкового компонента соединительной ткани.
- **Гиалуронидаза** – расщепление гиалуроновой кислоты – основного углеводного компонента соединительной ткани.
- **Нейраминидаза** – отщепление остатков сиаловых кислот от гликопротеидов и ганглиозидов.
- **ДНКаза** – расщепление ДНК, высвобождающейся из разрушенных клеток и служащей механическим барьером для распространения инфекции.

# Ферменты инвазии

- **Фосфолипазы** – расщепление фосфолипидов мембран, приводящее к гибели клеток. Данные ферменты рассматриваются не только как факторы инвазии, но и как токсины.
- **Активаторы плазминогена** (стрептокиназа, стафилокиназа) – стимулируют расщепление фибрина, нейтрализуя участие системы свертывания крови в сдерживании инфекции.
- Активаторы плазминогена применяются в клинической практике для лечения инфаркта миокарда, тромбозов и тромбозембрий



# Ферменты инвазии

- **Уреаза** – гидролизует мочевину до аммиака и углекислого газа.



- Это приводит к:
  - возможности использования аммиака как источника азота;
  - локальному защелачиванию среды. В частности, бактерии *Helicobacter pylori* используют уреазу для выживания в кислой среде желудка.

# Железо как дефицитный ресурс

Неотъемлемым компонентом белков дыхательной цепи и многих ферментов являются ионы железа

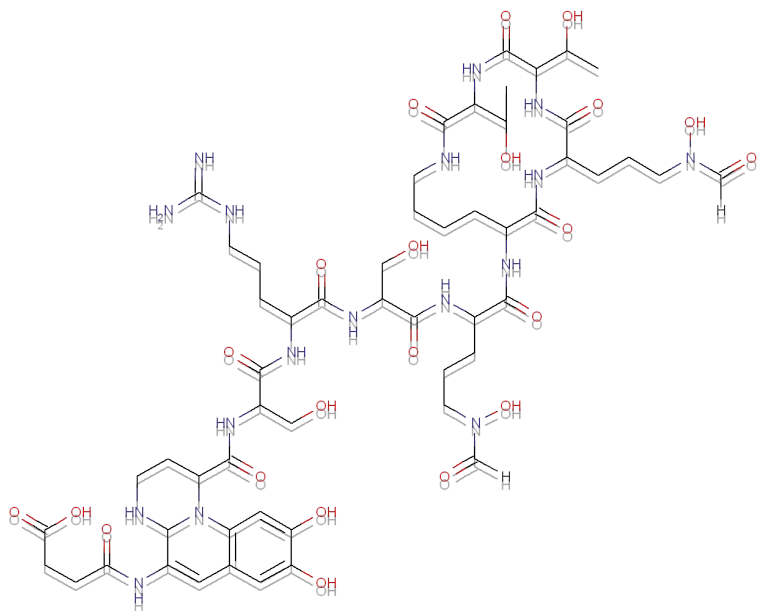
Большие количества железа часто являются необходимыми для размножения бактерий

Патогенные бактерии (особенно облигатно аэробные) должны обладать системами перехвата ионов железа с белков человека

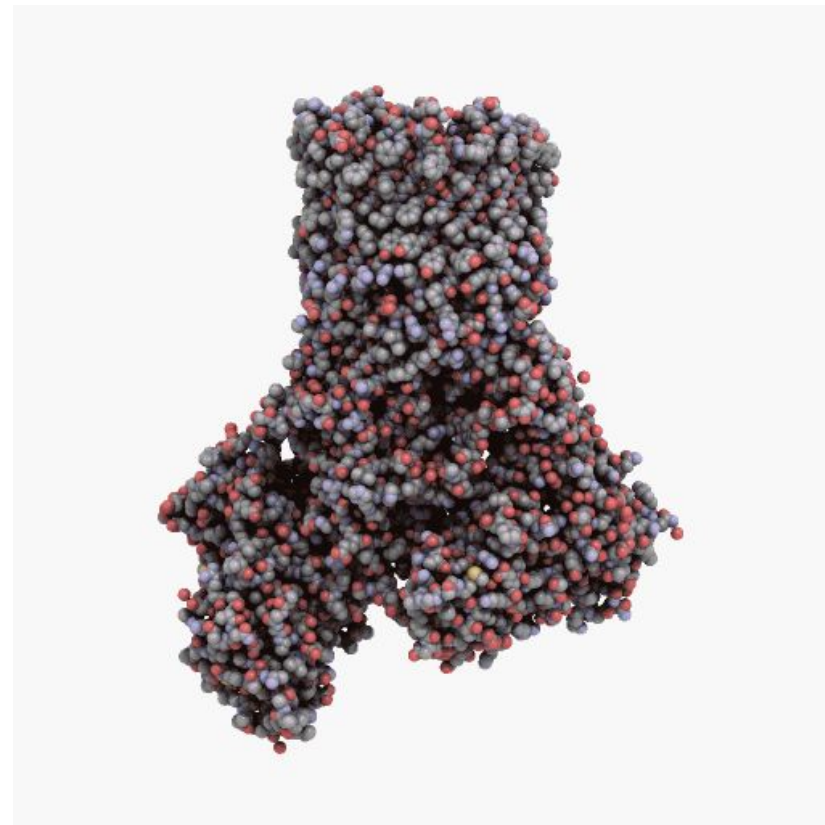
Свободные ионы железа могут катализировать реакции, приводящие к образованию свободных радикалов

В организме практически отсутствуют ионы железа, не связанные с белками

# Системы перехвата железа



**Сидерофоры**  
(пиовердин *Pseudomonas aeruginosa*)

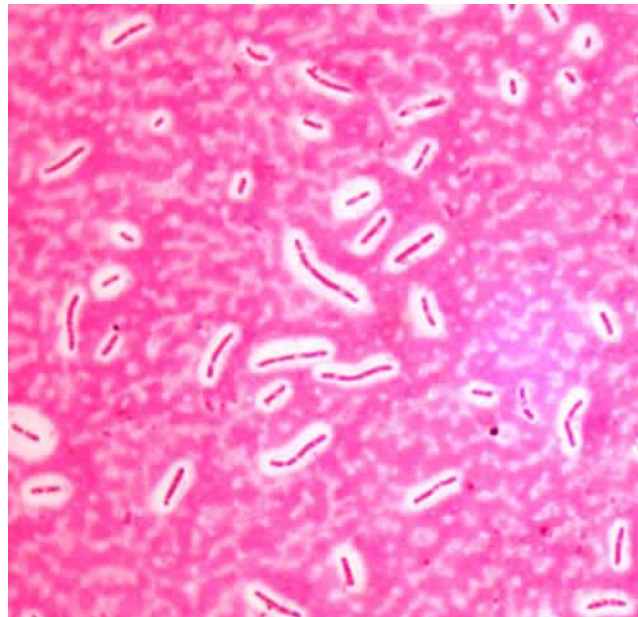


**Рецепторы к  
железосодержащим  
белкам человека**  
(трансферрин-связывающий  
белок)



# Часть III:

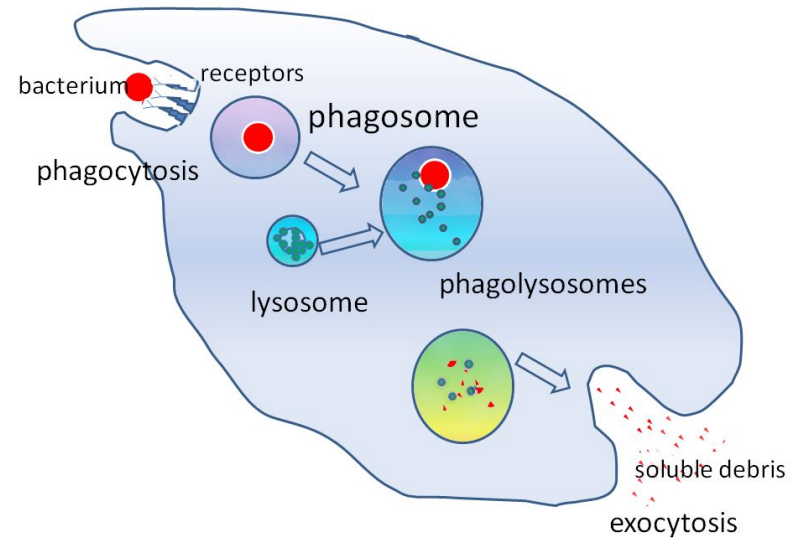
## Антифагоцитарные факторы



# Фагоцитоз

- Ключевую роль в инициации фагоцитоза играет распознавание – образование комплекса **бактериальная структура – опсонин – рецептор фагоцита.**

- Распространенным способом защиты от фагоцитоза является укрытие поверхности клетки от распознавания.



# Капсулы

- **Капсулы** – наиболее распространенный защитный фактор бактерий. Для ряда патогенов (например, пневмококков) потеря способности синтезировать капсулу приводит к полной потере вирулентности.
- Основные функции капсулы:
  - *Маскировка поверхностных молекул;*
  - Защита от высыхания;
  - Депонирование питательных веществ
- Часто капсулы являются *иммуногенными* - против них вырабатываются антитела. Однако существуют и *неиммуногенные* капсулы, которые состоят из веществ, не чужеродных для человеческого организма.

# Химическое строение капсул

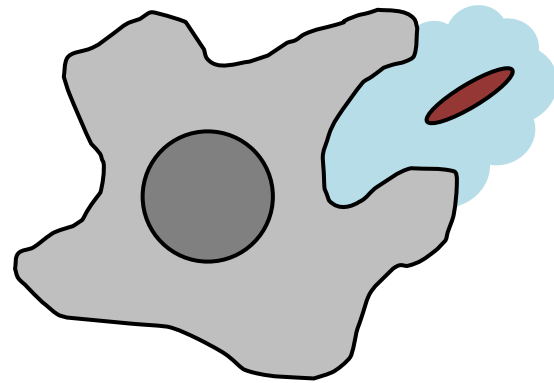
- Как правило, капсулы состоят из **полисахаридов** или, реже, **полипептидов**.

Химический состав капсул некоторых бактерий	
Бактерия	Природа капсулы
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Гиалуроновая кислота
<i>Neisseria meningitidis</i> группы В	Полимер сиаловой кислоты
<i>Bacillus anthracis</i>	Полимер D-глутамата

- У многих бактерий капсулы имеют сложный состав, отличающийся у различных штаммов внутри вида (Например, полисахаридные капсулы *Streptococcus pneumoniae*).

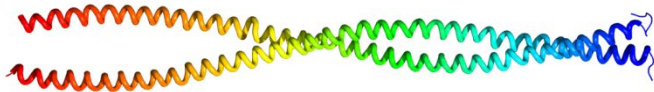
# Слизистые чехлы

- Некоторые бактерии (например, *Pseudomonas aeruginosa*) образуют не плотные капсулы, а легко отделяющиеся от клетки слизистые чехлы.
- Это позволяет бактериям «выскальзывать» при попытке поглощения фагоцитом.



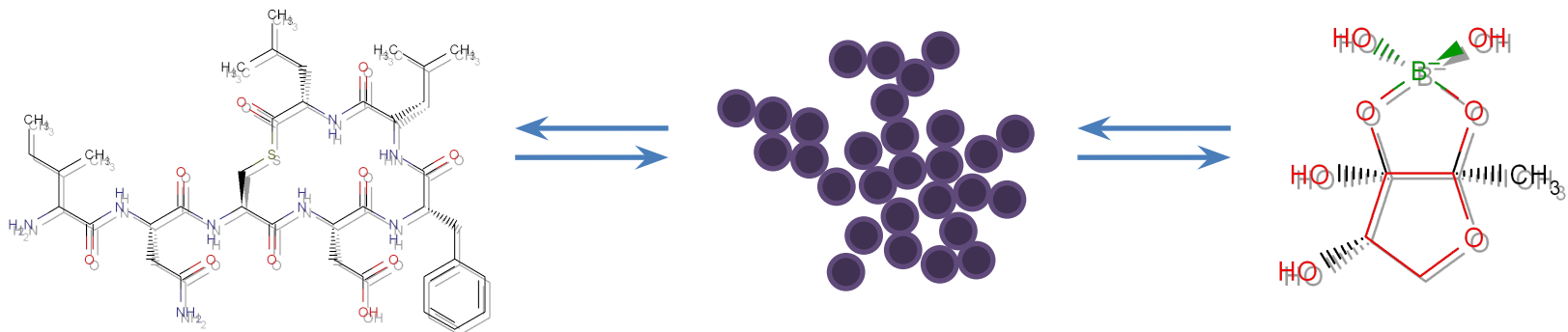
# Укрытие белками организма

- **Плазмокоагулаза *Staphylococcus aureus*** – переводит фибриноген плазмы крови в нерастворимый фибрин, образуя подобие микротромба вокруг поверхности клетки.
- **Белок M *Streptococcus pyogenes*** – связывает фибриноген, фактор H, альбумин и другие белки человека образуя из них защитный слой вокруг бактериальной клетки.



# Координированное поведение клеток

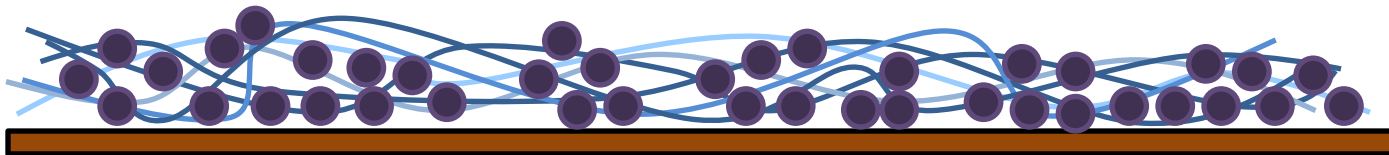
- Многие бактерии способны оценивать собственную численность в месте колонизации (феномен «чувства кворума», или «quorum sensing») и на основе этого проявлять координированное поведение.
- Одним из основных вариантов координированного поведения является образование **биоплёнок**.



*Продукция и рецепция сигнальных молекул*

# Биоплёнки

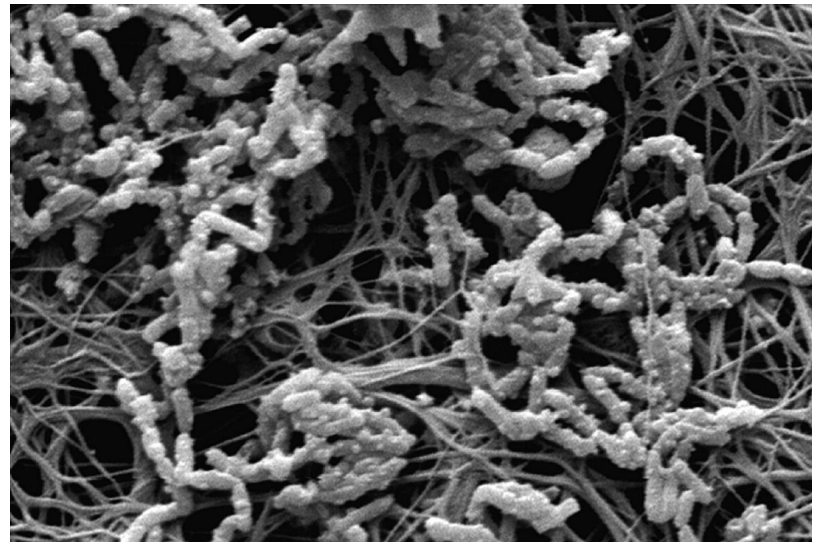
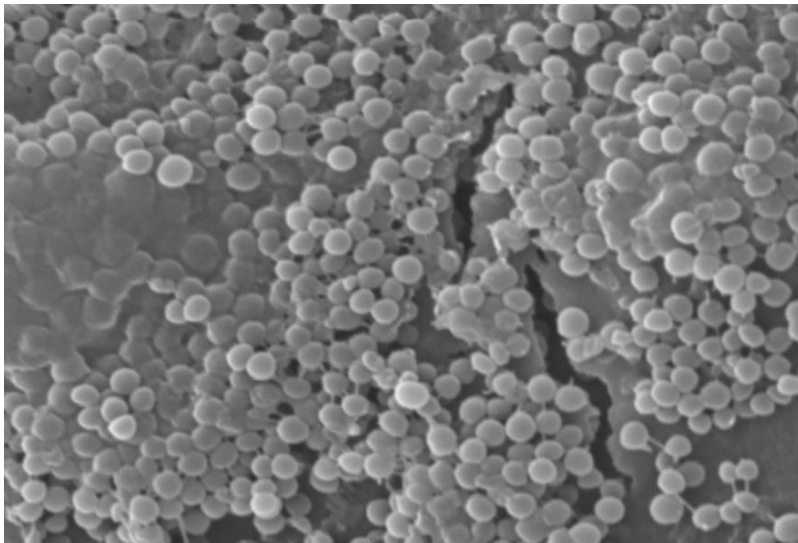
- Биопленки представляют собой сплошные слои из бактериальных клеток и скрепляющего из каркаса из полисахаридов, белков и ДНК.
- В норме биопленки в организме человека существуют на поверхности зубов и слизистой толстого кишечника.
- В ходе патологических процессов они могут образовываться на сердечных клапанах, инородных телах, в респираторном тракте.



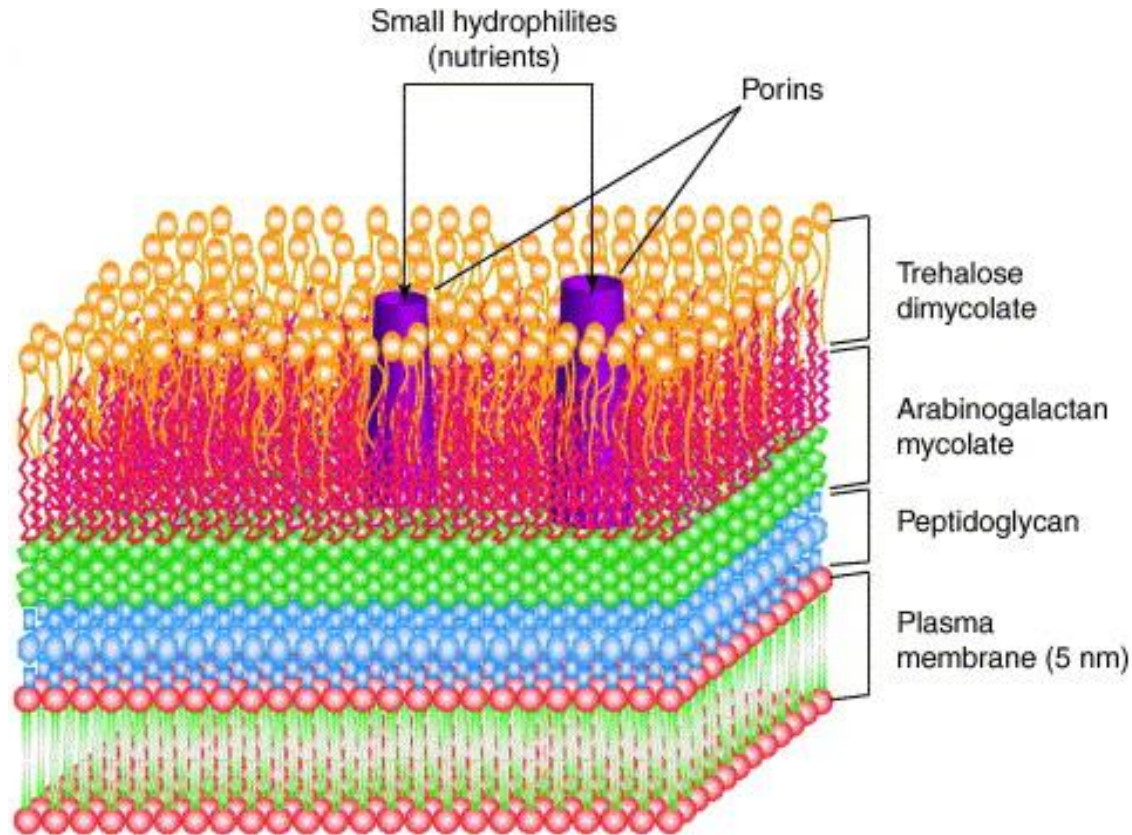


# Биоплёнки как фактор патогенности

- Защита от фагоцитоза
- Устойчивость к антисептикам и дезинфектантам
- Устойчивость к антибиотикам
- Высокая частота горизонтального переноса генов.



# Клеточная стенка кислотоустойчивых бактерий



- Димиколат трегалозы (также известный как **корд-фактор**) является основным фактором патогенности кислотоустойчивых бактерий (в том числе *Mycobacterium tuberculosis*)

# Корд-фактор

- Толстый гидрофобный слой, создаваемый корд-фактором, обеспечивает защиту от многих антибактериальных веществ.
- Корд-фактор способен встраиваться в мембраны фагосом, блокируя их слияние с лизосомами – происходит **незавершенный фагоцитоз**, в результате которого бактерии могут выживать и размножаться внутри макрофагов.
- Также корд-фактор связывается со специфическим рецептором Mincle, что приводит к активации системы врожденного иммунитета и запуску специфического пролиферативного воспаления.

# Часть IV: ТОКСИНЫ



# Бактериальные токсины

- Токсины – это соединения, синтезируемые бактериями и способные вызывать патологические изменения в организме.

## Бактериальные токсины

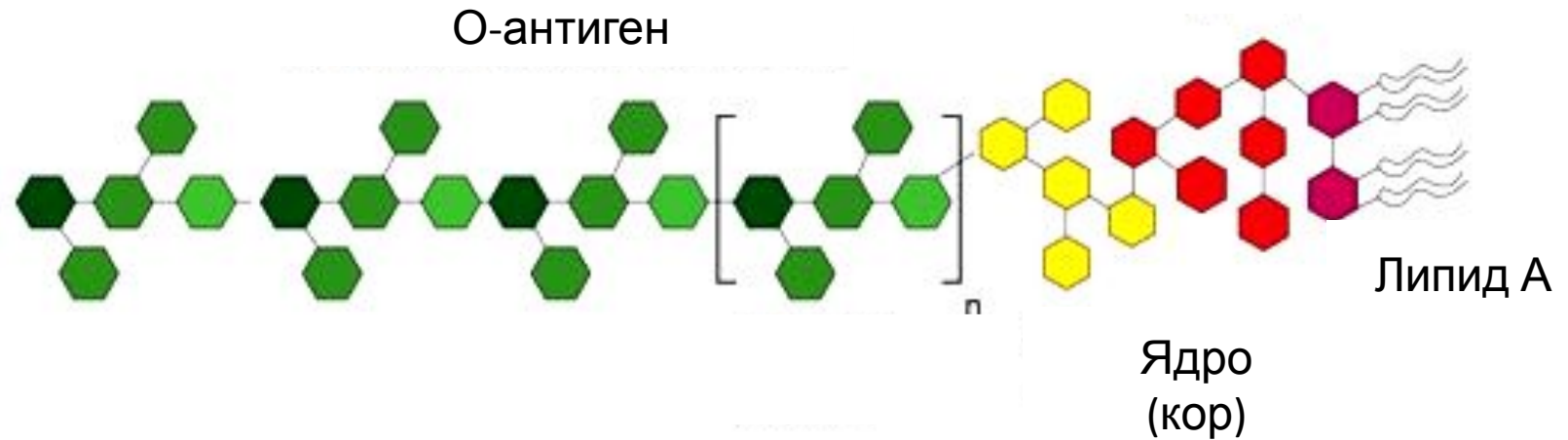
### Эндотоксин

Липополисахарид.  
Является структурным компонентом наружной мембраны грам- бактерий.

### Экзотоксины

Белки и пептиды.  
Секретируются в окружающую среду или накапливаются в цитоплазме бактерий.

# Структура эндотоксина



- Присутствует почти у всех грамотрицательных бактерий, за исключением спирохет из родов *Treponema* и *Borrelia*.
- В ряде случаев в его составе отсутствует О-антиген (например, у представителей рода *Neisseria*).

# Механизм действия эндотоксина

- Эндотоксин не является токсином в эволюционном смысле.
- Его действие обусловлено связыванием липида А с **Toll-like рецепторами**, что приводит к активации системы врожденного иммунитета и запуску воспалительной реакции.
- При системном действии эндотоксин приводит к повышению температуры, синтезу белков острой фазы и снижению артериального давления. Попадание большого количества экзотоксина в кровотоки может привести к смерти от дисрегуляции гемодинамики.

# Экзотоксины

1. Действующие **снаружи** эукариотической клетки
2. Действующие **внутри** эукариотической клетки
  - Токсины, проникающие внутрь клетки, как правило, имеют бинарную (AB) структуру:
    - А-субъединицы (active) обладает токсической ферментативной активностью;
    - В-субъединицы (binding) обеспечивают связывание с клеткой и проникновение А-субъединиц внутрь.

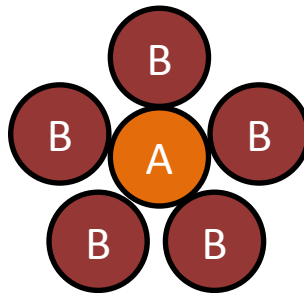


# ЭКЗОТОКСИНЫ

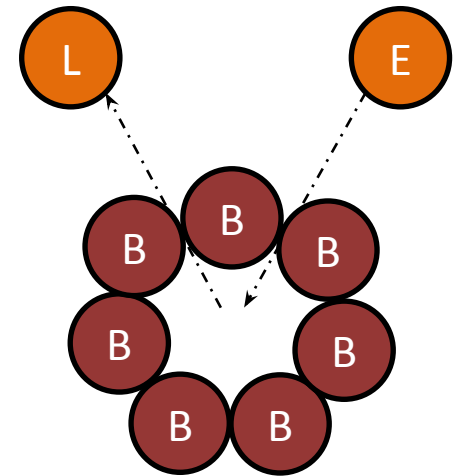
1. Действующие **снаружи** эукариотической клетки
2. Действующие **внутри** эукариотической клетки



Дифтерийный  
ТОКСИН,  
столбнячный токсин,  
ботулинический  
ТОКСИН



Холерный  
ТОКСИН,  
Шига-токсин



Летальный и  
отеchnый  
ТОКСИНЫ  
*B. anthracis*

# Виды экзотоксинов

- Большинство бактериальных токсинов можно отнести к одной из нескольких групп:
  - Мембранотоксины
  - Цитотоксины
  - Нейротоксины
  - Токсины, нарушающие внутриклеточную передачу сигнала
  - Суперантигены



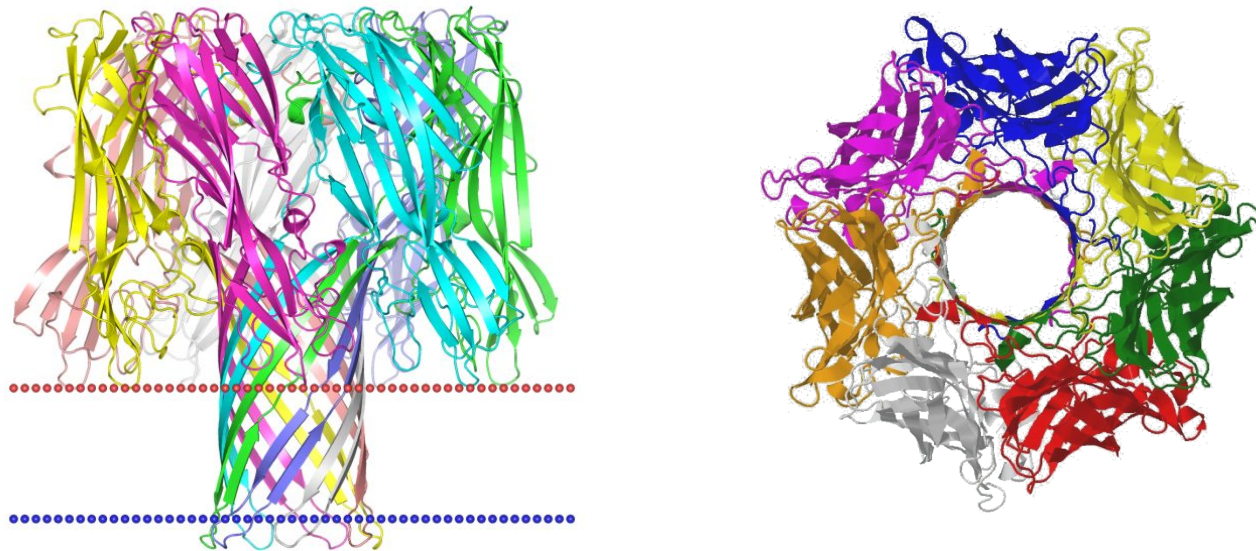
# Мембранотоксины

- **Мембранотоксины** – это белки, нарушающие целостность мембран эукариотических клеток, что приводит к их гибели.
- Это самая широко распространенная группа токсинов.
- Мембранотоксины, способные разрушать эритроциты, образуют вокруг колонии бактерий на кровяном агаре зону  $\beta$ -гемолиза. Такие токсины называются **гемолизины**.



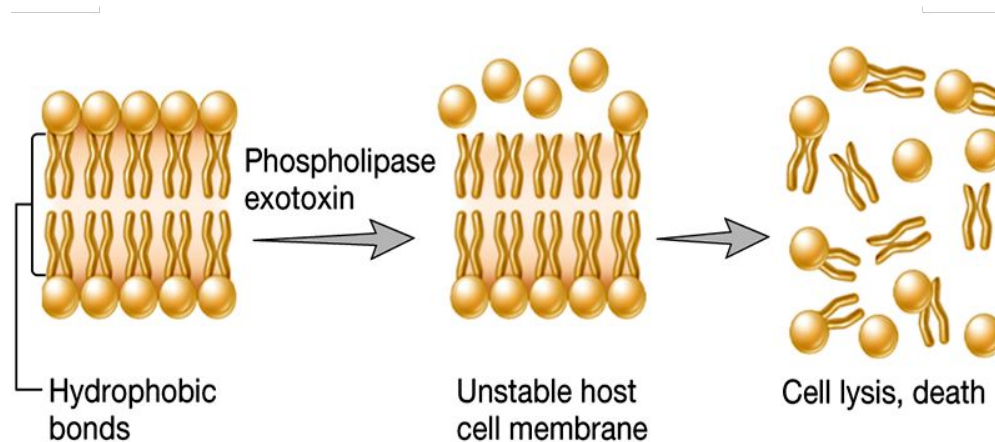
# Мембранотоксины

- Мембранотоксины можно разделить на группы:
  - **Порообразующие токсины** – встраиваются в мембрану клетки и олигомеризуются, образуя пору, способную пропускать ионы.  
Пример:  $\alpha$ -токсин *Staphylococcus aureus*.



# Мембранотоксины

- Мембранотоксины можно разделить на группы:
  - **Липазы** – ферментативно расщепляют фосфолипиды и сфинголипиды мембран, приводя к их разрушению. При этом продукты гидролиза могут запускать регуляторные каскады, приводящие к отёку и агрегации тромбоцитов.  
Пример: α-токсин *Clostridium perfringens*.

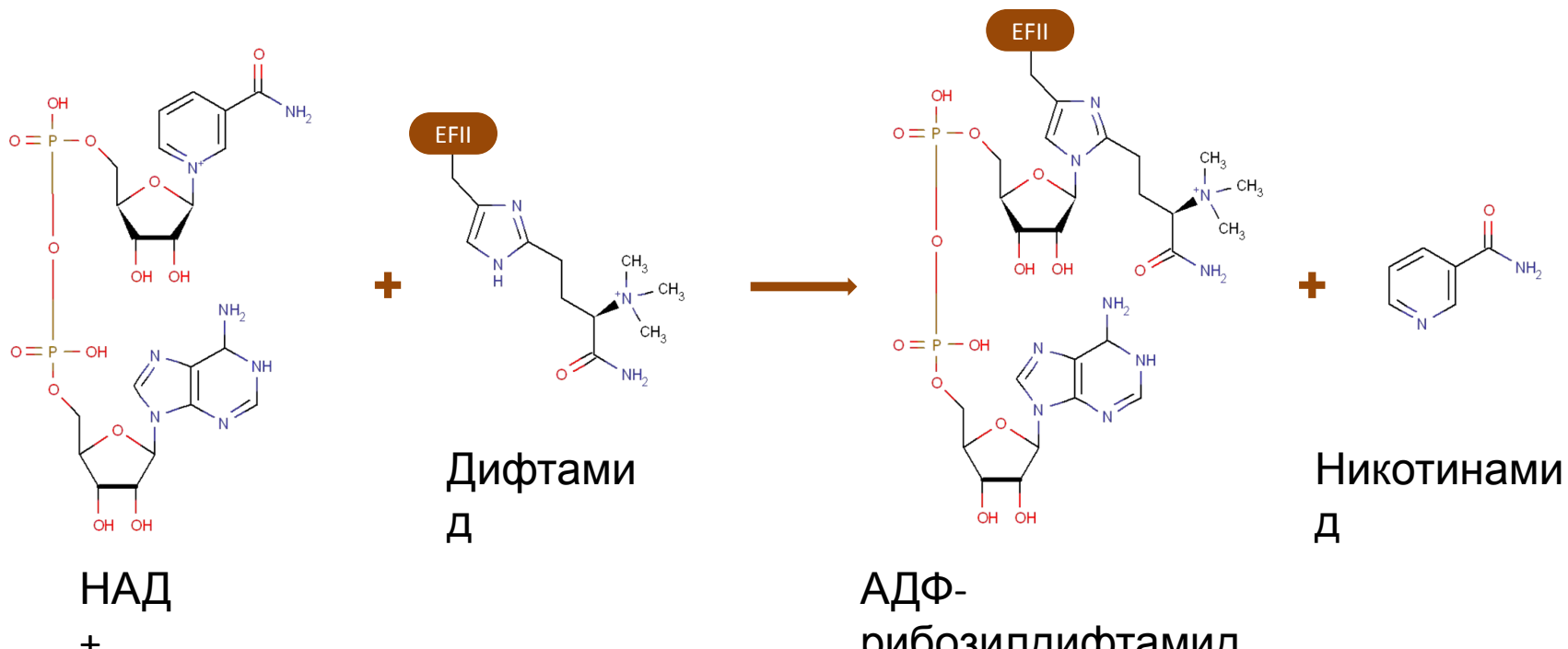


# Цитотоксины

- **Цитотоксины** – это токсины, подавляющие жизненно важные процессы в клетках эукариот. Они приводят к нарушению выполнения клетками их функции, к некробиотическим процессам и в конечном счёте к их гибели.
- Примеры:
  - **Цитолетальный токсин** может продуцироваться *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Shigella dysenteriae*, *Campylobacter jejuni* и некоторыми другими бактериями. Данный токсин является ДНКазой: проникая в ядра эукариотических клеток, он ферментативно расщепляет молекулы ДНК (что ведет к остановке клеточного цикла и апоптозу).

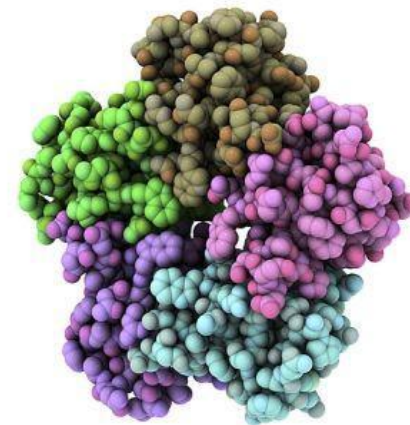
# Цитотоксины

- **Дифтерийный токсин** вырабатывается штаммами *Corynebacterium diphtheriae*, содержащими *tox+* профаг. Данный токсин является АДФ-рибозилтрансферазой. Он специфически инактивирует фактор элонгации II – один из белков, вовлеченных в процесс синтеза белка.



# ЦИТОТОКСИНЫ

- **Шига-токсин** вырабатывается *Shigella dysenteriae*,  
**Шига-подобные токсины** вырабатываются энтерогеморрагическими *Escherichia coli*.

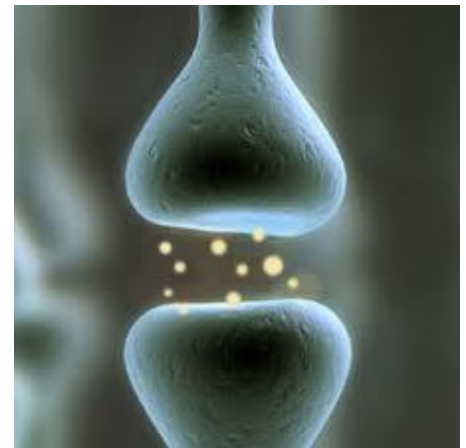


Данная группа токсинов является N-гликозидазами: они отщепляют остаток аденина в специфической позиции 28s рРНК (что приводит к остановке синтеза белка), а также могут отщеплять остатки аденина в молекулах ДНК (что ведет к остановке клеточного цикла и апоптозу).

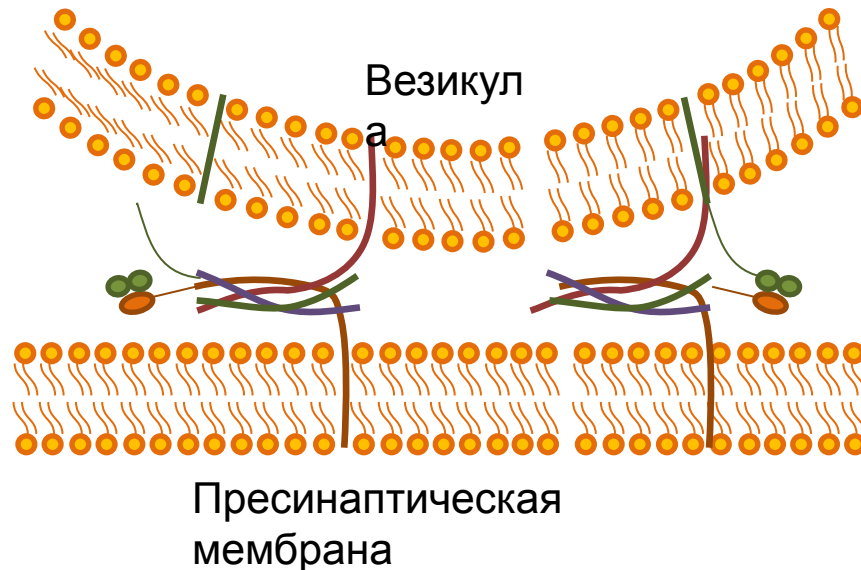


# Нейротоксины

- Группа бактериальных белковых нейротоксинов включает в себя всего два представителя:
  - Столбнячный токсин *Clostridium tetani*;
  - Ботулинический токсин *Clostridium botulinum*.
- Это сильнейшие из известных токсинов: летальная доза (LD50)  $\approx 1$  нг/кг веса.
- Механизм действия данных токсинов – блокирование выброса нейромедиаторов в синаптическую щель.



# Нейротоксины



В слиянии мембран везикулы, содержащей нейромедиатор, и пресинаптической мембраны принимает участие четырехспиральный SNARE-комплекс, состоящий из белков синаптобrevина, синтаксина и SNAP-25.

- Нейротоксины клостридий являются протеазами, специфически расщепляющими белки SNARE-комплекса, что приводит к невозможности выброса нейромедиатора в синаптическую щель.

# Нейротоксины

- **Столбнячный токсин (тетаноспазмин)** нарушает высвобождение тормозных неромедиаторов (ГАМК и глицина) из вставочных нейронов спинного мозга. Это приводит к развитию спастических параличей.
- **Ботулинический токсин** нарушает высвобождение ацетилхолина из моторных нейронов. Это приводит к развитию вялых параличей.



# Нейротоксины



спастических параличей.

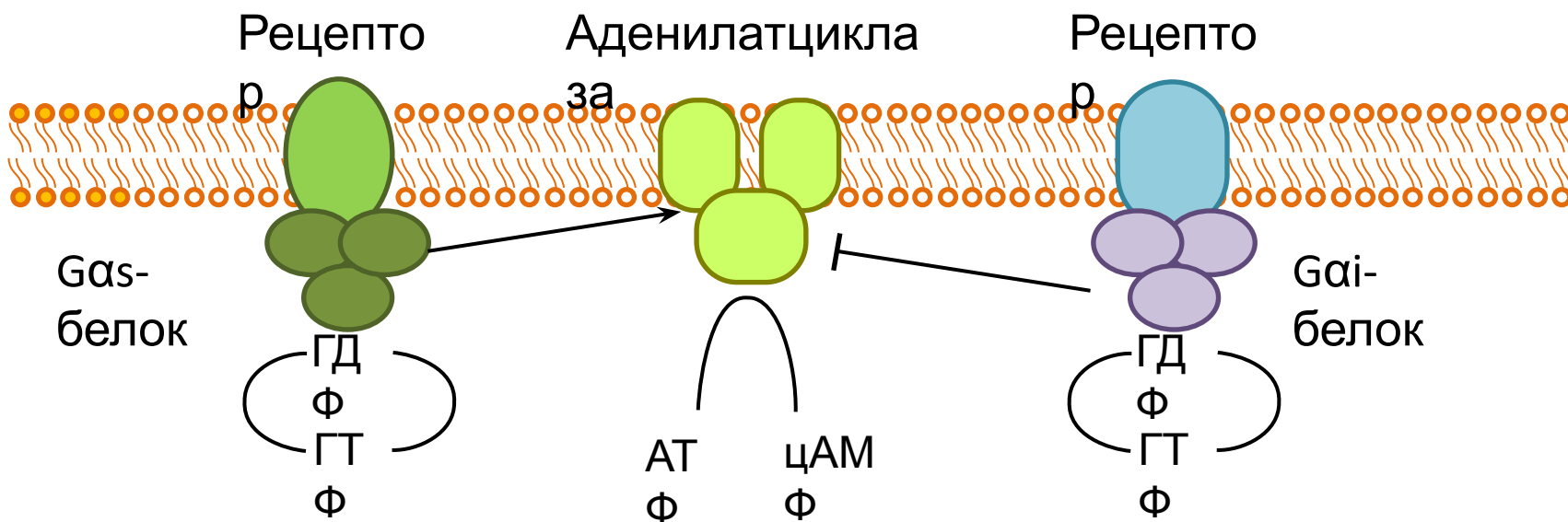
- **Ботулинический токсин** нарушает высвобождение ацетилхолина из моторных нейронов. Это приводит к развитию вялых параличей.



Использование  
В  
косметологических  
и лечебных целях

# Токсины, нарушающие внутриклеточную передачу сигнала

- Действуют на уровне **вторичных мессенджеров**.



# Токсины, нарушающие внутриклеточную передачу сигнала

Холерный  
ТОКСИН

*Vibrio cholerae*

АДФ

рибозилирование  
Gas белка,  
блокирующее его в  
«активном» состоянии

Коклюшный  
ТОКСИН

*Bordetella pertussis*

АДФ

рибозилирование  
Gai белка,  
блокирующее его в  
«неактивном»

состоянии

Отечный  
ТОКСИН

*Bacillus anthracis*

Прямая  
аденилатциклазная  
активность

Повышение уровня цАМФ в  
клетке

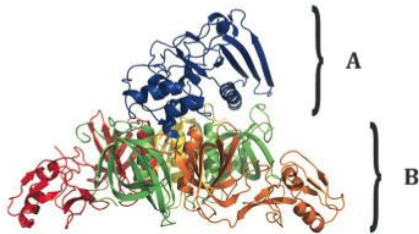
Повышенная  
секреция ионов и  
воды кишечным  
эпителием –  
водянистая диарея

Нарушение  
хемотаксиса  
лейкоцитов,  
ингибирование  
фагоцитоза

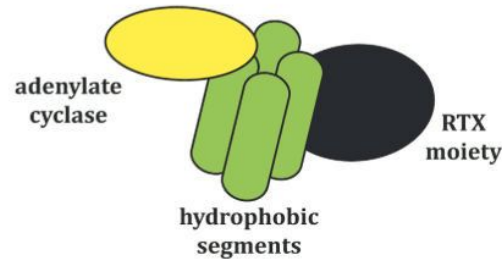
Отёк тканей,  
ингибирование  
фагоцитоза

# Токсин-опосредованная вирулентность *Bordetella spp*

(a) pertussis toxin

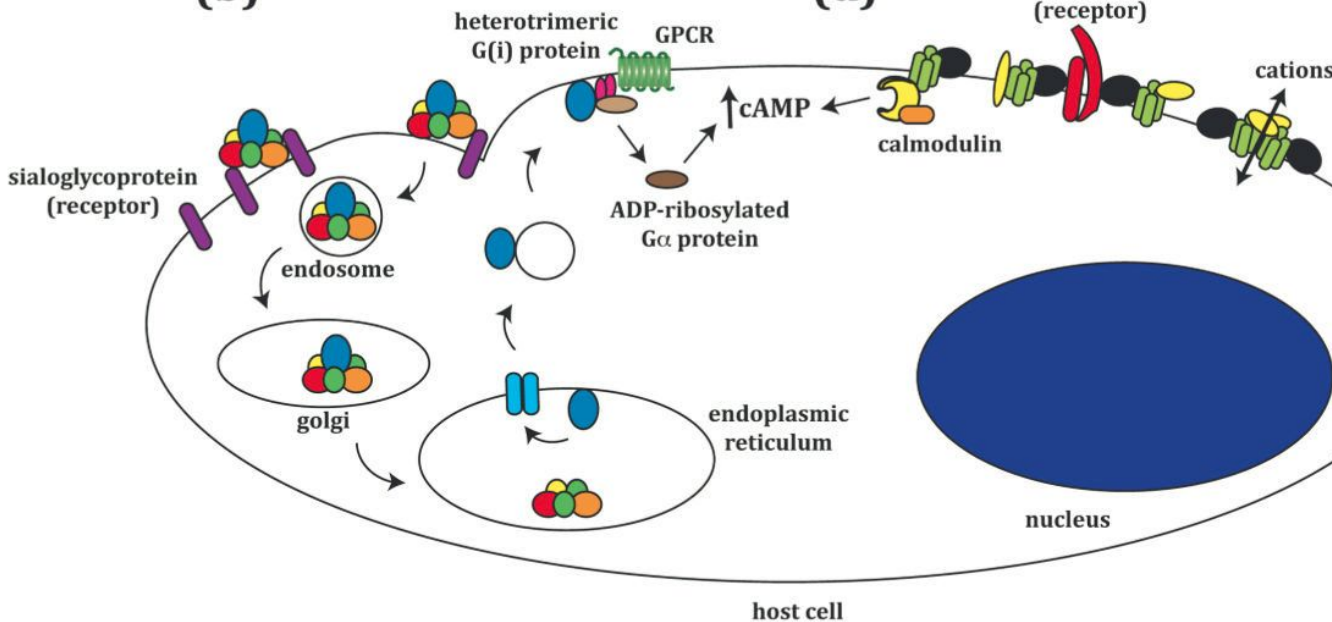


(c) adenylate cyclase toxin



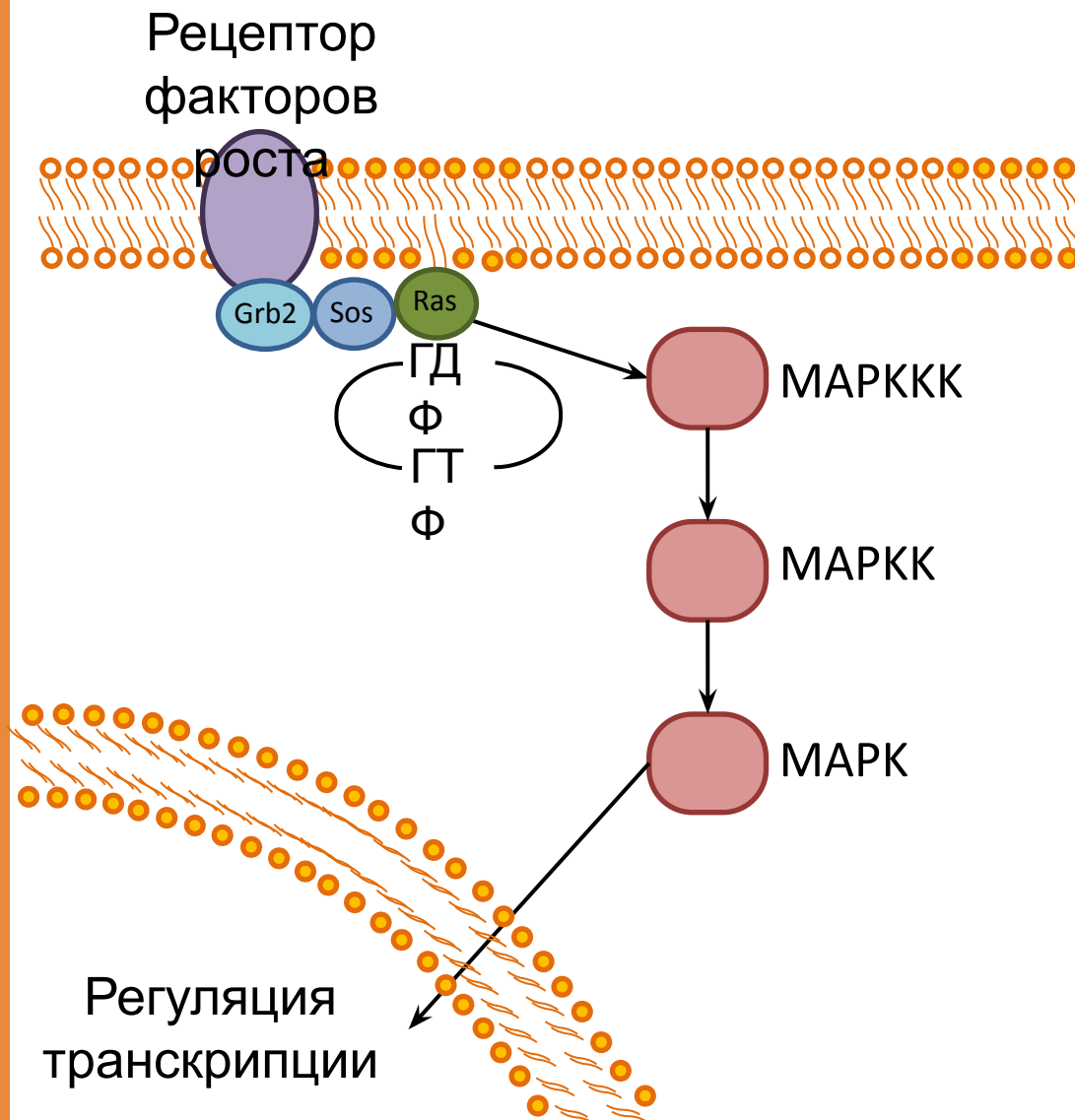
(b)

(d)



Комбинированное воздействие РТ и АСТ интоксикации и порообразования проявляется в ингибировании комплемент-зависимого фагоцитоза, индукции **противовоспалительных** цитокинов, подавлении **провоспалительных** цитокинов и ингибировании рекрутирования иммунных клеток к месту инфицирования.

# Токсины, нарушающие внутриклеточную передачу сигнала



## Летальный токсин

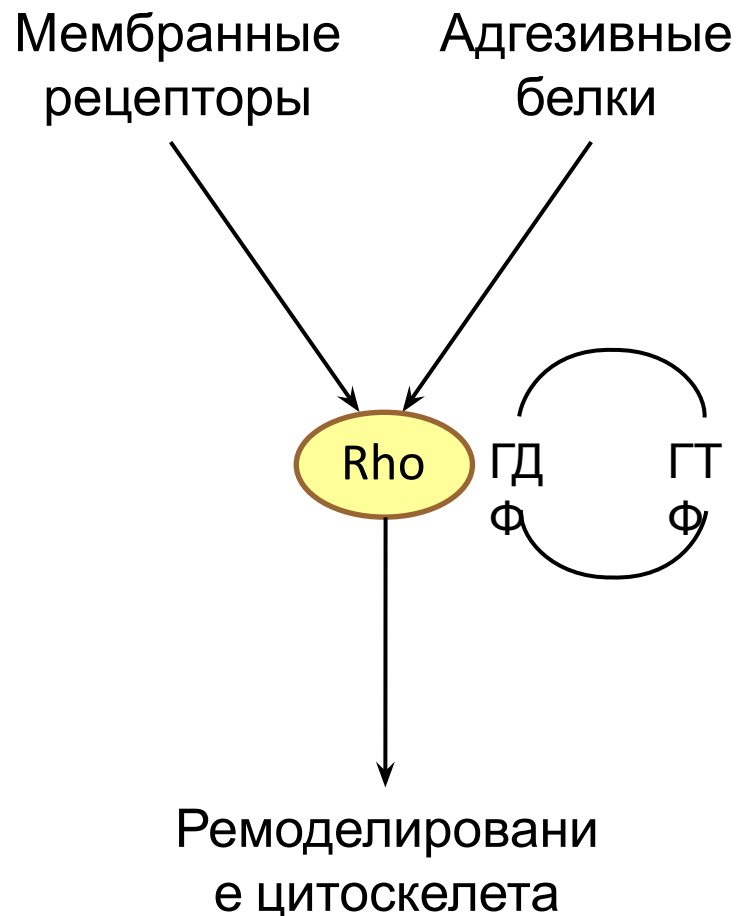
*Bacillus anthracis* – это протеаза, расщепляющая киназы киназ MAP (MAPKK), которые участвуют в передаче сигнала от рецепторов факторов роста.

Это приводит к запрограммированной клеточной гибели.



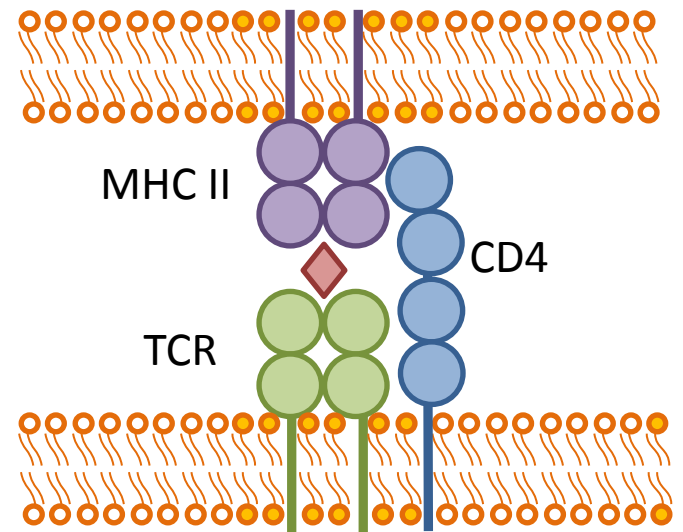
# Токсины, нарушающие внутриклеточную передачу сигнала

- **Токсины  $\alpha$  и  $\beta$  *Clostridium difficile*** – являются гликозилтрансферазами. Они гликозилируют белки Rho, блокируя их в «неактивном» состоянии. При их действии на кишечный эпителий теряются межклеточные контакты, нарушается адгезия, и в конечном счёте наступает апоптоз.



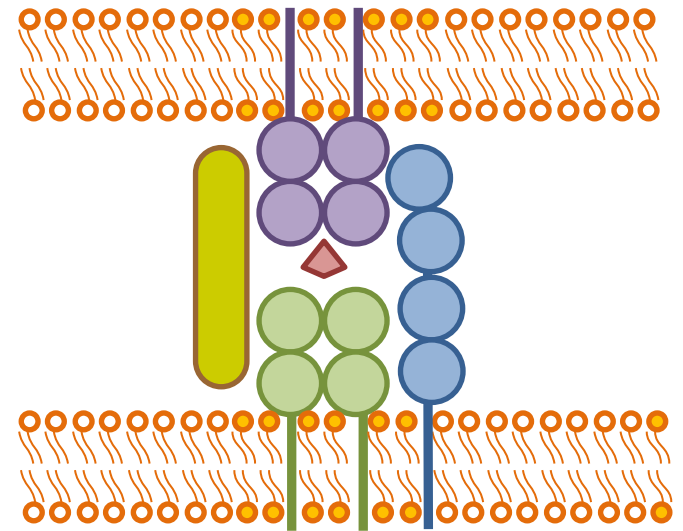
# Суперантигены

- Активация Т-лимфоцитов не может происходить при простом контакте рецептора с антигеном.
- Короткий фрагмент антигена должен быть *презентирован* в составе молекулы главного комплекса гистосовместимости (**МНС**, или **HLA**).
- В норме Т-лимфоциты должны активироваться только тогда, когда наблюдается прочное связывание антигена с Т-клеточным рецептором (**TCR**)



# Суперантигены

- Суперантигены – это токсины бактерий, которые перекрестно связывают TCR и MHC II класса независимо от силы связывания рецептор-антиген.
- Это приводит к *поликлональной* активации Т-хелперов и выраженной воспалительной реакции.
- Примеры: скарлатинозный токсин *Streptococcus pyogenes*, энтеротоксины *Staphylococcus aureus*.

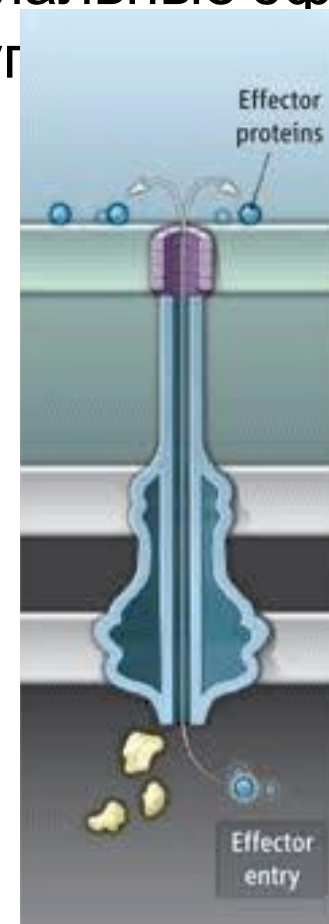


# Часть V: Инъецируемые эффекторные белки

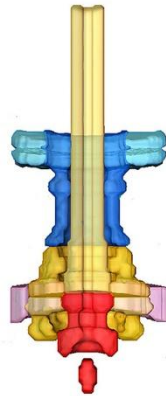
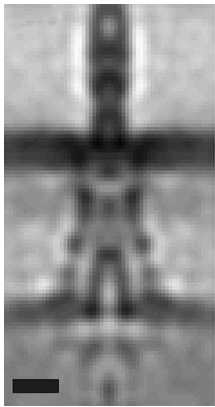


# Механизмы инъекции

- Среди грамотрицательных патогенных бактерий широко распространены **системы секреции** белков, позволяющие инъектировать бактериальные эффекторы (bacterial effectors) *в цитоплазму* других клеток.
  - Система секреции III типа (T3SS)
  - Система секреции IV типа (T4SS)
  - Система секреции VI типа (T6SS)

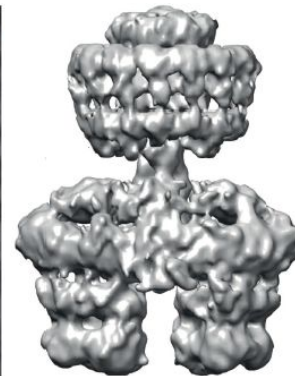
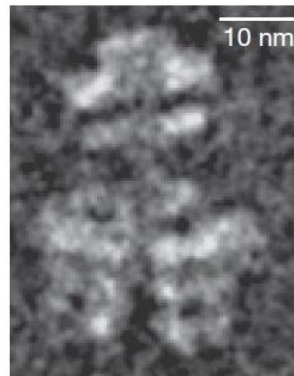


# Строение и происхождение



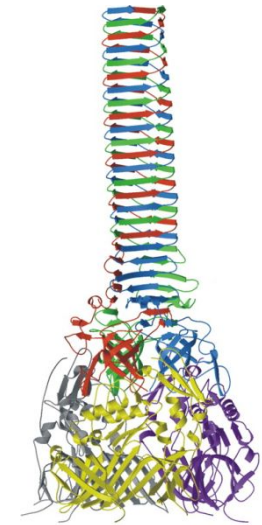
T3SS

Гомологичны  
бактериальны  
м  
жгутикам



T4SS

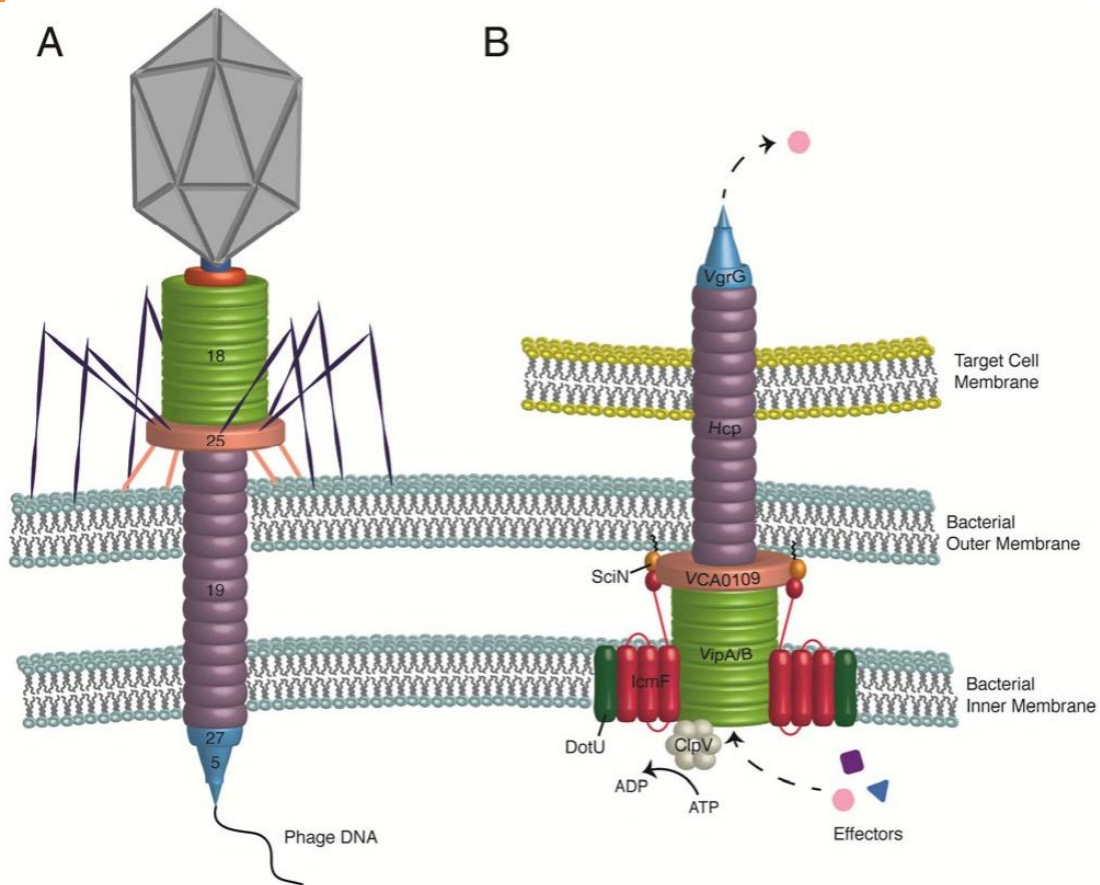
Гомологичны  
конъюгативном  
у  
аппарату



T6SS

Гомологичны  
хвосту  
бактериофага  
T4

# Схематическое строение бактериофага Т4 и предполагаемой структуры впрыска у бактерий - системы секреции VI типа (Т6SS).



А. Молекулярная архитектура бактериофага Т4  
Компоненты имеют маркировку с указанием числа генных продуктов.  
Б. Модель Т6SS основана на предугадывании субклеточной локализации белков и на гомологии между Т6SS и фаговыми белковыми последовательностями. Т6SS белки с гомологией фаговым белкам окрашены такими же цветами, как их аналоги у фага Т4.

# Бактериальные эффекторы

---

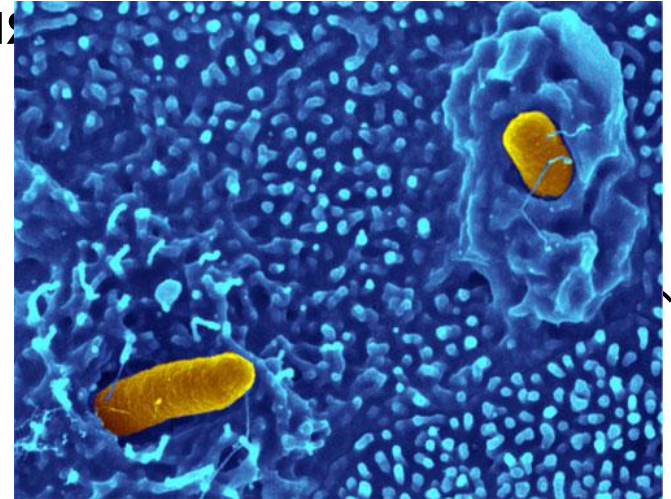
- Бактерии чаще всего невыгодно уничтожать клетку, на которой она адгезирована.
- Бактериальные эффекторы обычно действуют на уровне внутриклеточной передачи сигнала, *изменяя поведение клетки*. При этом они могут выступать как протеазы, киназы, фосфатазы, убиквитин-лигазы, АДФ-рибозилтрансферазы и. т. д.
- Как правило, одна бактериальная клетка инъецирует сразу десятки эффекторов, обеспечивая сложные эффекты.



# Распространенные эффекты

- Самые распространенные действия бактериальных эффекторов:

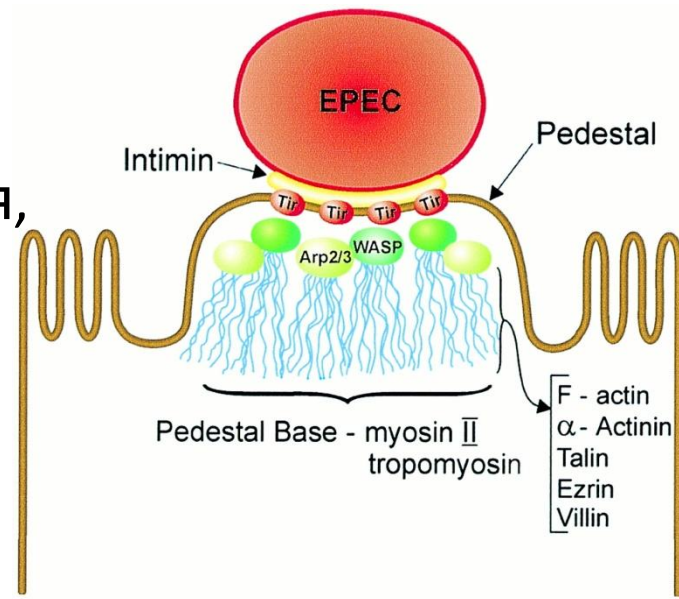
- *Захват бактерий нефагоцитирующими клетками с использованием “trigger mechanism”.*



- *Ингибирование фагоцитоза на стадиях захвата бактерий или внутриклеточного переваривания.*
  - *Ингибирование или стимулирование апоптоза в зависимости от необходимости остаться в клетке или покинуть её.*
  - *Ингибирование синтеза провоспалительных*

# Участие в адгезии: энтеропатогенные *Escherichia coli*

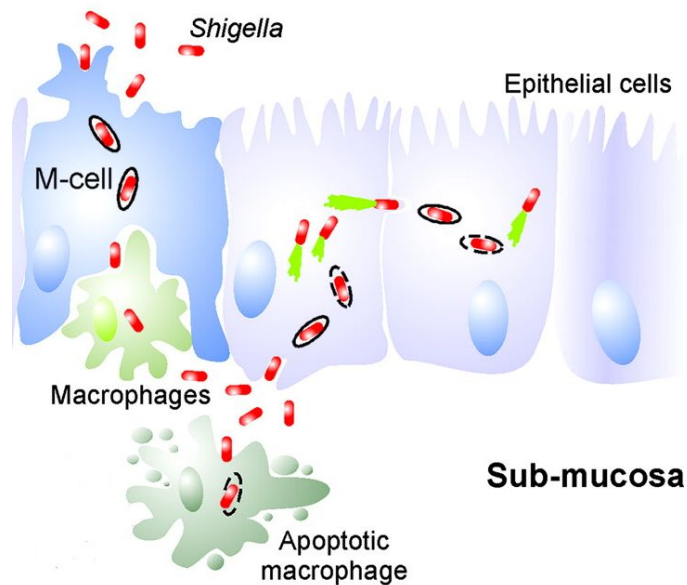
- Энтеропатогенные *E. coli* способны образовывать «пьедесталы» на поверхности кишечного эпителия, и прочно прикрепляться к ним. Это осуществляется с помощью системы секреции III типа.
- Самый важный эффектор в данном процессе – белок **Tir**, который после инъекции встраивается в мембрану и связывает ряд белков, запускающих полимеризацию актина. С наружной стороны с ним прочно связывается бактериальный адгезин **ИНТИМИН**.



# Участие в инвазии:

## энтероинвазивные *Escherichia coli* и *Shigella* spp.

- Вирулентность данных бактерий в первую очередь обеспечивается системами секреции III типа.
- У них присутствует около 25 эфффекторов, воздействующих на различные регуляторные механизмы клеток человека.

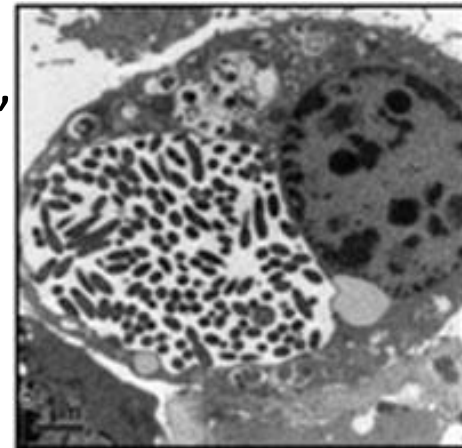


Эти бактерии через М-клетки проникают в подслизистый слой, вызывая апоптоз макрофагов. Оттуда они осуществляют инвазию клеток кишечного эпителия.

# Участие в процессе выживания в макрофагах:

## *Legionella pneumophila*

- Данные бактерии способны синтезировать около 300 эфффекторов, доставляемых в клетки с помощью системы секреции IV типа.
- После фагоцитоза легионелл не происходит слияния лизосомы с фагосомой. Вместо этого с фагосомой сливаются везикулы эндоплазматического ретикулума (образуется **легионелла-содержащая вакуоль, LCV**). Усиление протеолиза в клетке приводит к увеличению содержания свободных аминокислот, служащих питанием для легионелл. Ингибирование апоптоза позволяет бактериям длительное время размножаться в макрофагах.



**Спасибо за внимание!**