

УДК 616.98:579.842.14

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

А.Г. Дьяченко, д-р мед. наук, профессор;

А.А. Демьянова, студентка

Медицинский институт Сумского государственного университета,
г. Сумы

Проведен анализ современных литературных данных, касающихся механизмов развития ограниченной и системной сальмонеллезной инфекции. Замечательная способность сальмонелл уже через несколько минут после поглощения инфицированной пищи проникать в фагоциты и энтероциты и далее по всему телу обеспечивается набором из нескольких десятков эффекторов (всего бактериальный геном включает около 4500 генов), чья координированная экспрессия способствует внутриклеточному выживанию и репликации бактерий. Основная часть эффекторов связана с островами патогенности сальмонелл, SPI-1 и SPI-2. Кроме того, многие штаммы сальмонелл содержат в составе геномов другие патогенные локусы, контролирующие бактериальную адгезию, инвазию, инфекцию, устойчивость к антимикробным средствам. Серьезная угроза, которую представляет собой сальмонеллез, является стимулом для дальнейшего его изучения и совершенствования инфраструктуры общественного здравоохранения.

Ключевые слова: сальмонелла, *S.Typhimurium*, *S.Enteritidis*, патогенез.

Проведений аналіз сучасних літературних даних щодо механізмів розвитку обмеженої та системної сальмонельозних інфекцій. Чудова здатність сальмонел вже через кілька хвилин після поглинання інфікованої їжі проникати у фагоцити та ентероцити і далі по всьому організму забезпечується набором із кількох десятків ефекторів (усього бактеріальний геном містить близько 4500 генів), чия координована експресія сприяє внутрішньоклітинному виживанню та реплікації бактерій. Основна частина ефекторів пов'язана з островами патогенності сальмонел, SPI-1 і SPI-2. Крім того, багато штамів сальмонел містять у складі геному інші патогенні локуси, які контролюють бактеріальну адгезію, інвазію, інфекцію, опірність до протимікробних засобів. Серйозна небезпека, якою є сальмонельоз, стимулює подальше його вивчення та вдосконалення інфраструктури охорони здоров'я суспільства.

Ключові слова: сальмонела, *S.Typhimurium*, *S.Enteritidis*, патогенез.

ВВЕДЕНИЕ

Salmonella enterica является членом семейства *Enterobacteriaceae*, большой группы грамотрицательных факультативных анаэробов, большая часть которых входит в состав кишечной микробиоты позвоночных. Из известных на сегодняшний день более чем 2500 сероваров *S.enterica* лишь некоторые ассоциированы с заболеваниями людей, которые обычно протекают в виде самоограниченного гастроэнтерита либо в виде более серьезного гастроэнтерита, либо в виде тифа/паратифа. *S.enterica* серовары *Typhimurium* (*S.Typhimurium*) и *Enteritidis* (*S. Enteritidis*) являются одними из наиболее частых причин диарейных заболеваний у

людей, а также важными патогенами пищевых животных, включая телят, свиней и цыплят. Сальмонеллы являются факультативными внутриклеточными паразитами. В организм человека сальмонеллы поступают с мясом инфицированных животных или как фактор окружающей среды. После поглощения пищи и кишечной колонизации сальмонеллы внедряются в слизистую кишечника несколькими путями: бактерии могут поглощаться примированными М-клетками, они могут быть захвачены в просвете кишечника CD18+ фагоцитами, проникшими через эпителиальный монослой, дендритными клетками (ДК) или могут самостоятельно проникнуть в нефагоцитирующие энтероциты. При интернализации в нефагоцитирующие клетки сальмонеллы формируют внутриклеточное фагосомальное образование, называемое сальмонелла-содержащая вакуоль (Salmonella-containing vacuole, SCV). Созревающая SCV переносится к аппарату Гольджи селективным внутриклеточным путем. Располагаясь в перинуклеарной зоне, заключенные в SCV бактерии размножаются, формируя тубуловезикулярные SCV-структуры, называемые филаментами (Salmonella-induced filaments, Sifs). Хотя большинство инфицирующих сальмонелл остаются локализованными в кишечнике, где они вызывают воспалительные ответы, включая диарею, при системных заболеваниях сальмонеллы достигают субмукозы, интернализуются резидентными макрофагами, частично выживают в них и быстро диссеминируют с кровотоком, накапливаясь в мезентериальных лимфоузлах и, в конечном итоге, в селезенке [1]. Способность бактерий выживать в разных типах клеток хозяина определяет успех инфекции, является атрибутивным признаком паразитизма сальмонелл. Исход сальмонеллезной инфекции зависит от большого набора факторов паразита и хозяина, анализу которых посвящен настоящий обзор.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить общую стратегию и конкретные механизмы отдельных звеньев патогенеза сальмонеллезной инфекции в качестве примера взаимодействия возбудителей бактериальных инфекций и клетки хозяина и для совершенствования эпидемиологического надзора за этой инфекцией.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Инфекция и колонизация кишечника. Сальмонеллезная инфекция передается фекально-оральным путем. Инфекционная доза составляет $30 \geq 10^9$ микроорганизмов и зависит от характера поглощенной пищи и напряженности факторов врожденного иммунитета [2]. Высокое содержание жира в пище уменьшает дозу инфекта [3]. Чтобы достичь места колонизации, сальмонеллы должны преодолеть неблагоприятную среду желудка, включая действие сильных неорганических кислот. Сальмонеллы используют механизмы, которые позволяют выживать при низких значениях pH и в присутствии сильных кислот. Многие из экспрессируемых шоковых белков ассоциированы с участком генома ATR (acid tolerance response), обеспечивающим устойчивость к кислотам. Белки RpoS и PhoP Q важны для выживания при низких значениях pH, вызываемых неорганическими кислотами, в то время как белки Fug и RpoS участвуют в регуляции толерантности к органическим кислотам [4]. Хотя известны и другие пути проникновения сальмонелл в организм через респираторную систему и миндаины, основным остается фекально-оральный путь. Вслед за проникновением в организм бактерии оказываются в состоянии колонизировать множество сайтов, включая тонкий кишечник, толстую и слепую кишки. Адгезия осуществляется посредством ворсинок (фимбрий) или пилей, имеющих на поверхности бактерий. Геном сальмонелл содержит 13 локусов, предположительно

кодирующих ворсинки, многие из которых индуцируются *in vivo* и требуются для образования биопленки, прикрепления к клеткам хозяина и колонизации, но не для выживания внутри этих клеток [5]. Идентифицировано несколько типов фимбрий, участвующих в колонизации, в том числе фимбрии 1-го типа (Fim), длинные полярные фимбрии (Lpf), тонкие фимбрии и кодируемые плазмидами фимбрии (Pef) [6]. Fim связывается со специфическими D-маннозными рецепторами на поверхности клеток разных типов. Эти фимбрии кодируются 7 генами (fimAICDHF). Основная структурная единица – FimA, FimH – субъединица, которая взаимодействует с поверхностными клеточными рецепторами, усиливая присоединение [6]. Этот адгезин также медирует независимое от первой системы третьего типа (T3SS-1) поглощение сальмонелл дендритными клетками [7]. Генетические вариации указанных генов существенны в определении клеточной тропности, которую демонстрируют некоторые патогены [6]. Другие типы фимбрий также обнаруживают определенную тропность: Lpf связывается с поверхностью Пейеровых бляшек и M-клеток, Pef связывается с ворсинками кишечника.

Инвазия в эпителиальные нефагоцитирующие клетки хозяина. Интернализация сальмонелл в клетки хозяина происходит посредством двух различных процессов. Профессиональные фагоциты, такие, как макрофаги, используют фагоцитоз для эффективного распознавания и интернализации бактериальных патогенов. Кроме того, сальмонеллы могут активно внедряться как в фагоцитирующие, так и в нефагоцитирующие клетки, используя т.н. системы секреции. Фагоцитоз грамотрицательных бактерий является сложным процессом, в который вовлечено множество рецепторов, часть из которых повышает эффективность поглощения, а другие активируют различные сигнальные пути фагоцитоза. Специфические рецепторы распознают молекулы, ассоциированные с патогенами, включая липополисахарид (ЛПС) и флагеллин, и связываются с лигандом на поверхности клетки или внутри фагосомы, воздействуя тем самым на созревание фагосомы, экспрессию сигналов и генов [8]. В то время как фагоцитоз является важнейшей функцией врожденного иммунитета, рассчитанной на применение к максимально широкому кругу различных патогенов, опосредованная системами секреции инвазия сальмонелл в эпителиальные клетки – высоко специфический процесс, который зависит от точной регуляции экспрессии ряда бактериальных факторов [9,10]. Известны несколько систем секреции. Так, два больших белка, VarA и SiiE, ассоциированных с поверхностной мембраной, принимают участие в инвазии/адгезии и переносятся посредством *систем секреции 1-го типа*, VarBCD и SiiCDF соответственно [11,12]. SiiE имеет множественные повторы, состоящие из 90 аминокислот, и C-терминальную часть, которая индуцирует сигнал. Этот белок кодируется в пределах четвертого острова патогенности сальмонелл (SPI-4), который координатно регулируется SPI-1 [13,14].

Однако основным механизмом, используемым бактериями для проникновения в клетку, является *T3SS-1 (система секреции 3-го типа)*. Вслед за контактом с клеткой-хозяином сальмонеллы начинают экспрессировать гены, расположенные в пределах первого и второго островов патогенности, SPI-1 и SPI-2. Значительная часть из них входит в состав T3SS, которая принимает самое активное участие в инвазии сальмонелл. Главным регуляторным белком T3SS является HilA, экспрессия которого медируется рядом внешних факторов, важных для выживания клетки. T3SS представляет собой комплекс белков, который обеспечивает транспорт факторов вирулентности прямо в клетку хозяина и ассоциирован по меньшей мере с 20 структурными и регуляторными

белками, участвующими в инвазии. Базовая структура T3SS-комплекса охватывает мембраны бактерии и клетки, а иглоподобная структура выдвигается из базовой, взаимодействуя с клеткой хозяина. Внутри базовой и иглоподобной структур находится палочковидная структура, которая формирует канал между бактериальной цитоплазмой и мембраной клетки хозяина. На цитоплазматической (бактериальной) стороне T3SS-структуры располагаются части экспортной системы, содержащей АТФазный комплекс, который ускоряет транспорт эффекторных молекул через внутренний канал в транслокационный комплекс, находящийся на клеточной мембране [10,15-17]. Гены, кодирующие T3SS-комплекс, ассоциированы с локусом SPI-1, который детерминирует и другие факторы вирулентности (адгезины, инвазины, токсины). Первый остров патогенности (P1) может быть расположен на бактериальной хромосоме или плазмиде, фланкирован повторяющимися последовательностями и по составу ГЦ-пар отличается от окружающего генома. В бактериальном геноме P1 типично ассоциирован с генами тРНК, часто подвижен и может перемещаться к различным локусам тРНК. Некоторые P1-области содержат и другие генетические структуры, такие, как транспозоны, интегроны или вставленные последовательности (IS) [18]. Помимо регуляторных и эффекторных генов расположенный на SPI-1 комплекс T3SS содержит структурные гены *prgHIJK*, *spaMNOPQRS*, *invABCEFGH*.

Сборка T3SS начинается с внутренней кольцевой структуры, которая охватывает клеточную мембрану и собирается из субъединиц PrgH и PrgK [19]. Затем из белков InvA, InvC, SpaP, SpaQ, SpaR, SpaS собирается цитоплазматическое экспортное устройство. Одновременно из белков InvG и InvH на внешней мембране собирается внешняя кольцевая структура, которая соединяется с внутренней при помощи регуляторного белка InvJ. Завершается сборка присоединением иглоподобной и палочковидной структур, составленных из субъединиц PrgJ и PrgI [19]. Завершенная T3SS-структура перемещает эффекторные белки из бактериальной цитоплазмы в клетку хозяина. В бактериальной цитоплазме молекулы-шапероны связываются с эффекторными белками и сопровождают их в экспортную систему T3SS. Шапероны взаимодействуют с АТФазой, что позволяет эффекторам отделяться от шаперонов и проникать в иглоподобную структуру и далее - в клетку хозяина. Процесс переноса осуществляется при помощи транслокационного комплекса, встроенного в мембрану клетки хозяина. Белки этого комплекса продуцируются бактерией и являются частью начальных эффекторных молекул, секретируемых T3SS. Эти белки встраиваются в мембрану клетки хозяина и формируют каналы для доставки дополнительных эффекторных белков в цитоплазму. Белки «иглы» взаимодействуют с транслокационным комплексом в переносе бактериальных белков в цитозоль хозяина [19].

По крайней мере, 15 эффекторов переносятся посредством T3SS-1 в клетки хозяина [15]. В результате этого четко скоординированного процесса небольшая группа эффекторных белков, кодируемых в пределах SPI-1 (*SipA*, *SipC*, *SopB/SigD*, *SopD*, *SopE2* и *SptP*), кооперативно индуцирует деформацию мембраны и драматическую реорганизацию подлежащего актинового цитоскелетона, вследствие чего происходит массивное локальное образование мембранных морщин (*ruffles*), сопровождающееся быстрой интернализацией бактерий в SCVs [15]. Остальные эффекторы связаны с процессами, протекающими после инвазии, включая выживание в клетке-хозяине, биогенез SCV и модулирование воспалительного ответа. Например, инозитолфосфатаза, *SopB*, принимает участие в инвазии, *Akt* – активации, секреции жидкости и образовании, биогенезе и позиционировании SCV [20,21].

C-терминальный компонент SPI-1 T3SS локуса SipC непосредственно управляет сборкой актина, ведущей к быстрому росту филаментов [16]. SipA (SspA) повышает эффективность инвазии в клетки культуры [16] и усиливает проявления энтероколита *in vivo* [17]. SipA способствует полимеризации актина, уменьшая критическую для сборки его концентрацию, и соединяется с F-актином с высокой аффинностью, что приводит к механической стабилизации филаментов [16,22]. Кроме того, SipA потенцирует нуклеацию актина, повышает активность клеточного белка T-пластин (фимбрин) и предотвращает связывание клеточного актин-деполимеризующего белка АДФ/кофилин с F-актином, одновременно разрушая уже образовавшиеся комплексы [22]. В отличие от SipA и SipC, SopE и SopE2 не связывают актин. Они модулируют цитоскелет опосредованно через обмен гуанина наподобие клеточных гуанин-обменных факторов (GEFs) [23]. Они, в частности, катализируют замену связанного ГДФ на ГТФ, что необходимо для активации клеточной Rho-ГТФазы. Это, в свою очередь, запускает сборку актинового цитоскелетона через Arp2/3. *In vitro* SopE и SopE2 имеют различные субстратные специфичности: SopE активирует Rac-1 и Cdc42, а SopE2 обнаруживает специфичность только к Cdc42 [23]. SopE-зависимая активация только Rac-1 кажется вполне достаточной для бактериальной инвазии.

Инозитолфосфатаза SopB (SigD) дефосфорилирует ряд инозитолфосфатных субстратов *in vivo* и *in vitro* [17,23]. Подавление активности SopB инозитолфосфатазы ослабляет индуцированную сальмонеллами реорганизацию цитоскелетона [23]. SopB-зависимая стимуляция клеточного фактора SGEF (SH-содержащий GEF) приводит к активации небольшой ГТФазы RhoG, которая принимает активное участие в перестройке актина, происходящей во время инвазии сальмонелл [24]. Гидролиз P1(4,5)P2 при образовании складок клеточной мембраны усиливает последующее растворение инвагинаций плазмалеммы в окружающее бактерий пространство внутри запечатанной фагосомы (SCV) [23]. Наконец, SopB-зависимое образование P1(3)P на мембране клетки ведет к образованию крупных и более стабильных макропиносом [23] и способствует фагоцитозу бактерий с использованием клеточных белков VAMP8 из группы SNARE [25]. Другой эффектор, SopD, кооперирует с SopB, помогая в расщеплении мембраны и формировании макропиносом [26]. Каждая из этих функций, как полагают, зависит от синтеза специфических фосфатидов в местах локализации SopB, т.е. плазме и SCV-мембранах. Из этого следует, что, возможно, внутриклеточная локализация SopB определяет его специфичность, поскольку субклеточная локализация SopB, а также, возможно, его активность контролируются превращениями убиквитина [21]. Вдобавок к SopB несколько других T3SS-1 и T3SS-2 эффекторных белков пересекаются с убиквитиновыми путями клетки хозяина. T3SS-1-эффектор AvrA является членом семейства убиквитинподобных ацетилтрансферазы/ цистеинпротеазы, синтезируемых бактериальными патогенами, включая YopJ - эффектор *Yersinia*. AvrA удаляет убиквитин из двух ингибиторов метаболического пути ядерного фактора активации NF-κB, IκBα и бета-катенина, ингибируя таким образом воспалительный ответ [27] через активацию сигнала бета-катенина [28] и предотвращение апоптоза эпителиальных клеток тонкого кишечника [27]. Напротив, другой эффектор, SopA, который принимает участие в инвазии [29], является одним из нескольких бактериальных факторов, обладающих НЕСТ-подобной E3-убиквитинлигазной активностью [30].

Другими T3SS-1-эффекторами, участвующими в биогенезе SCV/Sif, являются тирозинфосфатаза SptP, которая дефосфорилирует AAA + АТФазу VCP [31] и требуется для выключения образования

складок после инвазии, и SipA, который причастен к морфологии и перинуклеарному позиционированию SCV, и, как показано, кооперирует с SPI-2-эффектором SifA [32].

После поглощения сальмонелл клеточный цитоскелет возвращается к состоянию покоя. Это событие медируется N-терминальным ГТФаза-активирующим (GAP) доменом SptP. Это стимулирует базальную активность SopE/SopE2/SopB-активированных Cdc42 и Rac-1, приводя к снижению их активности [23].

Созревание и перенос вакуоли, содержащей сальмонеллы. Вслед за интернализацией и формированием SCV на ее поверхности накапливаются ранние эндосомальные клеточные маркеры, например, трансферинный рецептор (TfnR), ранний эндосомальный антиген 1 (EEA1), и несколько Rab ГТФаз, таких, как Rab4, Rab5 и Rab11, а SCV созревает Rab7-зависимым образом [33]. Затем эти маркеры быстро удаляются и через 60-90 мин после инвазии SCV интенсивно обогащаются маркерами поздних эндосом и лизосом, включая Rab7, вакуолярную АТФазу (v-АТФаза) и лизосомальные мембранные гликопротеины (lpgs), в том числе LAMP-1 [33,34]. Для вовлечения Rab5 в созревание SCV требуются SopE и инозитолфосфатазная активность SopB, которые связывают фосфатидинозитол-3-киназу Vps34, необходимую для рекрутирования LAMP-1 [33]. В свою очередь, Vps34 генерирует P1(3)P на мембране SCV, который необходим для включения в сигнальный путь EEA [20]. SopB также ингибирует разрушение рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR) лизосомами [35] и включает сортирующий нексин-1 фактор (SNX-1), который причастен к удалению поздних эндосомально/лизосомальных маркеров, таких, как маннозо-6-фосфатный рецептор, с созревающих SCV [36]. Эти и другие данные предполагают, что SopB играет ключевую роль в реализации собственного, отличного от эндосом пути созревания SCV. Помимо этого SopB требуется для активации Akt [17], который, в свою очередь, деактивирует Rab14 GAP, AS160. Активированный Rab14 повышает репликацию внутриклеточных сальмонелл, возможно, препятствуя слиянию SCV и лизосом. SpiC, как полагают, также предотвращает слияние макрофагальных поздних эндосом/лизосом с SCV [33]. Это позволяет сальмонеллам избежать гибели от воздействия фаголизосом, что играет ключевую роль в инвазивной инфекции. Поэтому способность бактерий выживать и пролиферировать в SCV является главным фактором вирулентности сальмонелл.

SPI-1-эффектор SopA, структурно и функционально напоминающий клеточную НЕСТ E3-убиквитинлигазу [37], способствует выходу бактерий из SCV посредством нарушения ее целостности [33]. Через несколько часов после инфекции клеток хозяина F-актиновая сеть собирается вокруг репликативной SCV и стабилизируется под действием SipA [33,38]. Несколько SPI-2-эффекторов могут также регулировать динамику ассоциированного с SCV актина [38]. В частности, киназа SteC существенна для образования ассоциированного с SCV F-актина [38], в то время как SseI и SspH2 располагаются вместе с SCV-ассоциированным F-актином и связывают клеточный актин-полимеризующий белок филламин [39]. Далее, SspH2 взаимодействует с клеточным G-актин-связывающим белком профилином и снижает скорость полимеризации актина [39]. Кодированный плазмидой эффектор SpvB ADP рибозилирует мономерный актин, предотвращая его полимеризацию, и ингибирует образование ассоциированного с SCV F-актина [39].

Инвазивная сальмонеллезная инфекция ассоциирована с T3SS-2, которая кодируется в пределах SPI-2. Гены T3SS-2 экспрессируют только внутри внутриклеточной SCV. Хотя роли индивидуальных T3SS-2 эффекторов остаются во многом неопределенными, некоторые из них

участвуют в позиционировании SCV и образовании Sifs, которые распространяются с поверхности поздних SCVs (≥ 6 ч после инфекции) в эпителиальные клетки. Другие гены требуются для функционирования структуры T3SS: аппарата секреции (sscG), секреции эффекторов (sseABCDEF), секреции шаперонов (sscAB), секреции регуляторов (ssrAB). Экспрессия генов SPI-2 T3SS регулируется двухкомпонентной регуляторной системой SsrA-SsrB, которая, в свою очередь, регулируется второй двухкомпонентной системой OmpR-EnvZ [40]. Активированные гены в составе T3SS-2-системы принимают участие в переносе эффекторов из цитоплазмы сальмонеллы через SCV-мембрану к мишеням в клетке-хозяине. Многие эффекторный белки T3SS-2 участвуют в образовании и сохранении SCV. Так, SseF и SseG требуются для сохранения SCV при центре организации микротрубочек (microtubule-organizing centre, MTOC) и внутриклеточной репликации [41]. SifA необходим для образования Sif. Этот процесс, очевидно, связан с интегральностью SCV - мембран, поскольку мутанты, лишённые SifA, размножаются в цитозоле [42]. Два других T3SS-2-эффектора, PipB2 и SseJ, кооперируют с SifA с вовлечением нескольких клеточных белков. PipB2 взаимодействует с легкой цепью кинезина, субъединицей двигательного кинезин-1-комплекса [43], который перемещает микротрубочки от поверхности перинуклеарной SCV к периферии клетки-хозяина [44]. Недавние исследования взаимодействия SifA и клеточного белка SKIP помогли идентифицировать малые ГТФазы как потенциальные мишени. Таким образом, SKIP взаимодействует прямо с rab9, ГТФазой, участвующей в функционировании и позиционировании лизосомы и поздней эндосомы, а SifA может замещать rab9 в этом комплексе [45]. SifA может также связываться прямо с rab7 и действовать как замещающий фактор (GEF) для RhoA, малой ГТФазы, активирующей в присутствии SKIP и T3SS-2-эффектора SseJ-образование микротрубочек мембраны клетки-хозяина [46]. SPI-2 эффектор SseJ требуется для реализации вирулентности при системной инфекции мышей и локализации SCV. Эффектор обладает деацетилазной активностью *in vitro*, а во время сальмонеллезной инфекции он эстерифицирует холестерол, входящий в состав SCV-мембран. В эпителиальных клетках, инфицированных мутантом, дефектным по SseJ, накопление холестерола возрастает по сравнению с клетками, инфицированными диким типом бактерий, и это связано с уменьшением внутриклеточной репликации [47]. Интересно, что в клетках с аномально высоким уровнем холестерола содержание rab9 снижается, что приводит к нарушениям мембранного транспорта [48]. Эффектор обладает также фосфолипазной А-активностью [49].

Три T3SS-2-эффектора интерферируют с убиквитиновыми путями клетки-хозяина [50]. SspH 1 и SspH 2 являются членами семейства убиквитин-Е3-лигаз, обнаруженных в патогенных бактериях, включая шигеллы и иерсинии [50]. Функция этих двух близких гомологов остается неизвестной, хотя SspH 2 локализуется вместе с актином вокруг SCV [39]. SseL является деубиквитиназой типа AvrA, он ингибирует NF- κ B, супрессирует убиквитинацию киназы I κ B α и модулирует врожденные иммунные ответы, убивая макрофаги [51].

Перемещение SCV и образование сальмонелла-индуцированных филаментов (Sifs). Во время созревания SCV мигрирует от периферии клетки к перинуклеарной области клетки-хозяина, используя взаимодействующий с Rab7 лизосомальный белок (RILP), который, в свою очередь, ассоциирован с микротубулярным мотором – динеином [52,53]. Нахождение SCV в перинуклеарном регионе поблизости от MTOC важно для бактериальной репликации [41,54]. Близость SCV к аппарату Гольджи способствует воздействию на транспортные везикулы. Для

переадресовки транспортных везикул к SCV требуются SifA, SseG и SseF. SseG и SseF удерживают SCV в перинуклеарной области, образуя функциональный комплекс [55], который привязывает SCV к аппарату Гольджи или управляют активностью динеина [56]. Напротив, SifA связывает клеточный белок SKIP (SifA и кинезин-взаимодействующий белок), снижая активность PipB2-индуцированного привлечения двигательного кинезина микротрубочек к SCV [57]. Эффективное присоединение SifA к SCV медируется SPI-1-эффектором SipA [58]. Для удержания SCV в перинуклеарной области клетки требуется также SopB-медирированное фосфорилирование связанной с актином легкой цепи моторного миозина II (MLC) через сигнальный путь Rho/ROCK/MLC [59].

Вслед за позиционированием SCV начинается репликация бактерий. Начало внутриклеточной репликации в некоторых типах клеток сопровождается появлением обогащенных LAMP специализированных тубовезикулярных структур – филаментов (Sifs), исходящих из SCV-сети динамических мембранных трубочек [60]. Как полагают, образование Sifs является результатом расщепления SCV посредством поздних эндосом/лизосом, для чего необходим эффектор SifA [33]. Его временная суперэкспрессия достаточна, чтобы индуцировать набухание и агрегацию поздних эндосом и формирование Sif-подобных структур в животных клетках [33]. Показано, что эффектор SifA взаимодействует с Rab7 и способствует расширению сети Sif посредством отделения Rab7 от RILP, препятствуя привлечению динеина к Sifs [56]. Кодированный SPI-2 эффектор PipB2 также способствует расширению сети Sif в основном за счет прямого взаимодействия с кинезином-1 [57]. SseG и SseF усиливают образование Sif, модулируя агрегацию эндосомального компартмента. Мутанты сальмонеллы, не имеющие sseG, sseF, или другой SPI-2-эффекторный ген, sopD2, индуцируют слабое образование Sifs по сравнению с диким типом бактерий, но формируют большее число филаментных агрегатов с пунктирным распределением LAMP-1 в инфицированных клетках. Напротив, SseJ и SpvB являются антагонистами образования Sif. Мутации в этих генах увеличивают число Sifs [56]. Экспрессия SseJ-фактора приводит также к потере целостности SCV.

Модулирование врожденного иммунного ответа и смерть клетки-хозяина. Одним из главных клинических признаков сальмонеллезной инфекции является диарея, которая вызывается перенесенными посредством T3SS белками. SopB играет важную роль в активации секреторного пути привлечения нейтрофилов к местам инфекции и изменении ионного баланса в клетках. SPI-1-эффекторы дополнительно индуцируют острое кишечное воспаление. Стимуляция Cdc42 под действием SopE/SopE2, SopB во время инвазии сальмонелл ведет к зависимой от Raf1 индукции Erk, Jnk и p38 митоген-активированных протеинкиназных (МАРК) путей и последующей активации факторов транскрипции AP-1 и NF-κB [23,24]. Это приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов, включая IL-8, привлечению полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ). Одновременно N-терминальный регион SipA включает новые сигнальные каскады Arg6 и фосфолипазы D, которые активируют протеинкиназу Ca, что приводит к апикальной секреции мощного ПМЯЛ хемоаттрактанта – гепоксисина A3 [17]. Он способствует трансмиграции ПМЯЛ через эпителий в просвет кишечника, которая, возможно, усиливается E3-убиквитинлигазной активностью SopA [61]. Трансмиграция ПМЯЛ способствует распространению сальмонелл фекально-оральным путем. Продукция Ins(1,4,5,6)P4 через SopB-инозитолфосфатазную активность также вносит вклад в индукцию диареи, усиливая секрецию клеточных ионов хлора и

истечение жидкости [17,23]. Нарушение тесного контакта эпителиальных клеток, который обеспечивается SopE/SopE2, SopB и SipA, также содействует истечению жидкости и трансмиграции ПМЯЛ [62], в то время как другой SPI-1-эффектор, AvrA, противодействует этой активности [63].

Воспалительный эффект далее усиливается гибелью макрофагов, которая индуцируется эффекторами. Как полагают, это является следствием прямой активации каспазы-1 SipB, что вызывает высвобождение провоспалительных цитокинов [17]. Этот процесс зависит также от поступления флагеллина в цитозоль макрофага, возможно, через SPI-1 T3SS [64]. SipB включает также каспаза-1-независимый путь клеточной смерти [17,63]. Наконец, SpvB и SseL индуцируют более медленный SPI-2-зависимый путь клеточной смерти [65].

Сальмонелла вырабатывает эффекторы, подавляющие клеточные иммунные ответы. SptP GAP и тирозинфосфатаза участвуют в реверсии активации MAPK, а AvrA-ацетилтрансферазная активность совместно с MAPK-киназами предотвращают активацию Jnk [27]. SpvC также прямо ингибирует Erk, Jnk и p38 MAPK через свою фосфотреонинлиазную активность [66]. Наконец, сальмонелла подавляет ядерный фактор транскрипции: кодируемая SPI-2 деубиквитиназа SseL подавляет активацию NF-κB, ослабляя убиквитинацию и деградацию IκBα [51]. AvrA обладает подобной активностью [67]. Вдобавок SspH1 ингибирует NF-κB-зависимую экспрессию генов через убиквитинирование клеточной киназы RKN1 [68].

Системная сальмонеллезная инфекция связана с наличием сальмонелл в иммунных клетках, таких, как макрофаги и ДК, куда они могут быть перенесены из кишечного тракта. ДК являются важными мигрирующими фагоцитами, которые широко распределены во всем теле в лимфоидных и нелимфоидных тканях. Способность ДК мигрировать по всему телу потенциально способствует распространению сальмонелл в организме. Внутри ДК сальмонеллы не реплицируют, но сохраняют жизнеспособность в виде небольших колоний. Гены, локализованные в пределах SPI-2 T3SS, супрессируют презентацию антигенов дендритными клетками, что ограничивает интенсивность иммунного ответа на инфицированные клетки, и вносят важнейший вклад в системную инфекцию. Комбинация сниженной метаболической активности и иммуносупрессии приводит, зачастую, к персистенции сальмонелл в клетках хозяина. При контакте инфицированных макрофагов или ДК с неинфицированными клетками сальмонеллы могут перемещаться в примыкающие клетки и включать апоптоз.

Детерминанты вирулентности сальмонелл, влияющие на их внутриклеточную выживаемость. Вдобавок к вирулентным факторам, локализованным в пределах SPI-1 и SPI-2 T3SS, у сальмонелл имеются и другие факторы, такие, как фимбрии, флагеллы и системы транспорта ионов, которые играют важную роль в установлении и сохранении внутриклеточной ниши. Гены многих из этих факторов находятся на плаزمиде.

Жгутики (флагеллы). Связанная с флагеллами подвижность повышает инвазивность сальмонелл [69]. Структура флагелл включает базальное тело, крюк и филаменты. В сальмонеллах формирование жгутиков контролируют свыше 50 генов. Экспрессия этих генов организована в три уровня. На вершине иерархии находится оперон 1-го класса flhDC, который необходим для экспрессии всех генов флагеллярного каскада. Ряд глобальных регуляторных факторов влияют на экспрессию flhDC. Опероны класса 2 содержат гены, кодирующие структурные белки жгутиков и несколько регуляторных белков, а также компоненты флагелла-специфического T3SS-экспортного механизма.

Гены оперонов 3-го класса участвуют в образовании филаментов, вращении жгутиков и хемотаксисе [70]. Основным белком филаментов, флагеллин, существует в двух антигенно различных формах, кодируемых генами *fliB* *fliC* [70]. Он переносится из цитоплазмы в базальное тело посредством флагеллин-специфической T3SS-1. Там он далее полимеризуется при помощи кэп-белка *FliD* [70]. В то же время флагеллиновые мономеры являются мощными индукторами врожденного иммунитета [71]. *FliC* активирует путь передачи сигнала через Toll-подобные рецепторы 5 (TLR5), что приводит к активации инфламмосомы и медирированной каспазой-1 клеточной смерти [72,73]. В кишечном эпителии флагеллин индуцирует воспаление, ингибируя в то же время апоптоз через TLR5, но флагеллин должен быть перенесен в базолатеральную часть эпителиальных клеток, поскольку этот белок не экспрессирует на апикальной поверхности [74]. Флагеллы обычно ингибированы внутри клеток, хотя предполагается, что внутри макрофагов они могут быть индуцированы через T3SS-1 и использованы для ускользания сальмонелл от воздействия клеток хозяина [75].

Плазмиды вирулентности. Известно, что плазмиды могут переносить кластеры генов, обеспечивающих селективные преимущества своим хозяевам, такие, как вирулентность или устойчивость к антибактериальным препаратам. Очень многие штаммы сальмонелл лишены плазмид вирулентности, однако наиболее важные для здоровья людей серовары, включая *S.typhimurium* и *enteritidis*, имеют такие плазмиды. Эти плазмиды несут генетический локус, содержащий гены *spvRABCD*. Два гена, *spvB* и *spvC*, кодируют главные плазмидные факторы вирулентности, связанные с сероваром *Salmonella typhimurium*. Они переносятся в клетки хозяина через T3SS-2 [66]. *SpvB* ADP рибозилирует актин, дестабилизирует цитоскелетон и связан с цитотоксичностью клеток хозяина [65]. *SpvC* обладает фосфотреонинлиазной активностью и может инактивировать стимулированные митогеном протеинкиназы *Erk1/2*, *JNK* и *p38* в клетках млекопитающих [66]. Другие гены, расположенные на плазмиде вирулентности, кодируют фимбрии (*pefABCDI*) и резистентность к сыворотке (*traT*). Большинство вирулентных плазмид не способны к сампереносу в другие бактерии, хотя некоторые из них содержат полный комплект транспортных генов (*tra*), обеспечивающих такую возможность путем конъюгации, что приводит к повышению вирулентности штамма-реципиента. Плазмиды являются высококонсервативным генетическим образованием, что придает штаммам-носителям значительные преимущества.

Супероксид дисмутаза. Многие клетки хозяина продуцируют высокореактивные дериваты кислорода в основном благодаря активности фагосомальной NADPH-оксидазы (*NOX2*). Эти формы кислорода необходимы для уничтожения внутриклеточных патогенов. Чтобы противостоять этой активности, сальмонеллы используют супероксиддисмутазу, *SodCI*. Этот связанный с периплазмой фермент обладает устойчивостью к протеазам, что позволяет ему функционировать в суровых условиях фагосомы [76].

Транспорт ионов. В эукариотическом хозяине доступность железа ограничена вследствие активности железосвязывающих белков, таких, как трансферин и *Nramp 1/Slc11A1*, дивалентного металлопротонового импортера, находящегося в макрофагах, нейтрофилах и ДК [77]. Чтобы преодолеть это ограничение, сальмонеллы в ответ на нехватку железа продуцируют два сидерофора, энтеробактин и сальмохелин [78]. Сальмохелин – это гликозилированное производное энтеробактина. Эта модификация может быть важной для устойчивости к липокалину-2, противомикробному белку, который предотвращает накопление железа

бактериями в инфицированном кишечном эпителии [79]. Недавние исследования показали, что SCVs в макрофагах содержит достаточно железа для поддержания активности отвечающих на этот металл промоторов независимо от Nrgp 1 [80]. Однако возможно, что потребность в железе может изменяться при различных условиях, например, при лечении интерферонами [81]. Сравнение мутантных штаммов *S.typhimurium*, не имеющих переносчиков железа, кодируемых *feoB* или *sitABCD*, показало, что они оба требуются для выживания в Nrgp 1-негативных (-/-) мышах и репликации в макрофагах, и что гомолог Nrgp 1 MntH, который предпочитает марганец железу, также требуется для оптимальной вирулентности [82].

Сальмонеллы имеют три разные системы для доставки магния: *CorA*, *MgtA* и *MgtB*, каждая из которых необходима для реализации вирулентности [83]. Еще один фактор вирулентности, *MgtC*, кодируется тем же самым опероном, что и *MgtB*. В то же время обеспечение магнием необходимо для выживания сальмонелл в макрофагах и роста в лишенной магния среде [84].

Два других металлоиона, которые имеют отношение к внутриклеточному выживанию сальмонелл, – калий и цинк. Высокоаффинная *ZnuABC* система транспорта Zn^{2+} необходима для роста сальмонелл в дефицитной по цинку среде, а мутанты по *ZnuABC* теряют вирулентность по отношению как к чувствительным, так и резистентным штаммам мышей [85].

Бактерии поддерживают относительно стабильной концентрацию внутриклеточного калия (300-500 мМ), которая необходима для выполнения многих существенных жизненных функций, включая поддержание клеточного тургора и гомеостаза, активацию цитоплазматических ферментов. Поскольку бактерии подвергаются воздействию широкого диапазона внешних концентраций калия, они используют ряд переносчиков и эффлюкс-насосов для стабилизации внутриклеточной концентрации калия. Наиболее хорошо изучены у грам-негативных бактерий транспортные системы *Trk*, *Kdp* и *Kup*. *Trk* – это низкоаффинная транспортная система, переносит калий при нейтральных и щелочных значениях pH [86]. Генные продукты этого мультиединичного комплекса экспрессируют конститутивно. *Kdp* – высокоаффинная транспортная система, которая индуцируется при низких (≤ 5 мМ) концентрациях K^+ в среде. *Kup*-система также имеет низкий аффинитет к K^+ и осуществляет его транспорт при кислых значениях среды. Показано, что *trkA* (*sapG*), который кодирует существенную связывающую NAD^+ субъединицу *Trk*-системы, необходим для устойчивости к антимикробным пептидам [86]. *Trk* участвует в экспрессии и секреции эффекторных белков T3SS-системы, которая кодируется в пределах SPI-1 и которая необходима для внедрения сальмонелл в клетки эпителия кишечника. Более того, внешний калий модулирует патогенные свойства сальмонелл путем повышения экспрессии и секреции эффекторных белков T3SS-системы и путем повышения инвазии эпителиальных клеток. Таким образом, калий активно вовлечен в патогенез сальмонеллеза, а бактерии приобретают преимущество и становятся более вирулентными при высокой концентрации калия внутри клетки и кишечной жидкости, что является обычным следствием диареи [86].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние 20 лет достигнут существенный прогресс в изучении взаимодействия сальмонелл с клеткой-хозяином. Патогенез сальмонеллеза осуществляется путем доставки в клетку-хозяина свыше 30 специализированных эффекторных белков через две различные

секреторные системы III типа. Эти эффекторы, аранжированные в единый оркестр, воздействуют на цитоскелетон инфицированной клетки, пути переноса сигналов, мембранный транспорт и провоспалительный ответ. Это позволяет сальмонелле внедряться в нефагоцитирующие эпителиальные клетки, ДК и макрофаги, выживать и размножаться внутриклеточно, а в некоторых случаях диссеминировать, вызывая системные заболевания. Установлено, что для установления и поддержания персистирующей (подострой) инфекции в печени и селезенке требуется экспрессия не менее 118 генов (3% генома), 30% которых сосредоточены в геномных областях SPI-1 и SPI-2, лизогенных фагах и различных плаزمидов [87]. В то же время целый ряд вопросов патогенеза остается пока без ответа. Понятие деталей взаимодействия возбудителя и клетки-хозяина, ускользания патогена от эффекторов иммунной системы и выработки устойчивости к действию противомикробных средств позволит не только заполнить остающиеся пробелы, но и разработать новые, более эффективные средства воздействия на убиквитарный патоген.

SUMMARY

MOLECULAR MECHANISMS OF SALMONELLA INFECTION

A.G. Dyachenko, A.A. Demjanova

Medical Institute of Sumy State University, Sumy

Salmonella pathogenesis relies upon the delivery of over thirty specialized effector proteins into the host cell via two distinct type III secretion systems. These effectors act in concert to subvert the host cell cytoskeleton, signal transduction pathways, membrane trafficking, and proinflammatory responses. This allows Salmonella to invade non-phagocytic epithelial cells, establish and maintain an intracellular replicative niche and, in some cases, disseminate to cause systemic disease. This review focuses on the action of the effectors on their host cell targets during each stage of Salmonella infection.

Key words: *S.Typhimurium, S.Enteritidis, pathogenesis.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Intracellular replication of Salmonella typhimurium strains in specific subsets of splenic macrophages in vivo / S.P. Salcedo, M. Noursadeghi, J. Cohen, D.W. Holden // Cell.Microbiol.-2001. - V.3. - P.587-597.
2. Vought K.J. Salmonella enteritidis contamination of ice cream associated with a 1994 multistate outbreak / K.J.Vought, S.R. Tatini // J.Food Prot. - 1998. - V.61. - P.5-10.
3. de Jong H. The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries / H. de Jong, M.O. Ekdahl // BMC Public Health. - 2006. - V.6. - P.4-12.
4. Bearson S.M. Identification of Salmonella enterica serovar Typhimurium genes important for survival in the swine gastric environment / S.M. Bearson, B.L. Bearson, M.A. Rasmussen // Appl.Environ.Microbiol. - 2006. - V.72. - P.2829-2836.
5. Role of fimbriae as antigens and intestinal colonization factors of Salmonella serovars / A.D.Humphries, S.M.Townsend, R.A. Kingsley [et al.] // FEMS Microbiol.Lett. 2001. - V.201. - P.121-125.
6. Darwin K.H. Molecular basis of the interaction of Salmonella with the intestinal mucosa / K.H. Darwin, V.L. Miller // Clin.Microbiol.Rev. - 1999. - V.12. - P.405-428.
7. Adhesin-dependent binding and uptake of Salmonella enteric serovar Typhimurium by dendritic cells / A.Guo, M.A. Lasaro, J.C. Sirard [et al.] // Microbiology. - 2007. - V.153. - P.1059-1069.
8. Kumar H. Pathogen recognition in the innate immune response / H.Kumar, T.Kawai, S.Akira // Biochem.J. - 2009. - V.420. - P.1-16.
9. Derepression of Salmonella pathogenicity island 1 genes within macrophages leads to rapid apoptosis via caspase-1 and caspase-3-dependent pathways / A.Takaya, A.Suzuki, Y. Kikuchi [et al.] // Cell Microbiol. - 2005. - V.7. - P.79-90.
10. Coordinated regulation of expression of Salmonella pathogenicity island 1 and flagellar type III secretion systems by ATP-dependent ClpXP protease / H.Kage, A.Takaya, M.Ohya, T.Yamamoto // J.Bacteriol. - 2008. - V.190. - P.2470-2478.
11. BapA, a large secreted protein required for biofilm formation and host colonization of Salmonella enteric serovar Enteritidis/ C. Latasa, A. Roux, A. Toledo-Arana [et al.] // Mol. Microbiol. - 2005. - V.58. - P.1322-1339.

12. Salmonella pathogenicity island 4 encodes a giant non-fimbrial adhesion and the cognate type 1 secretion system/ R.G. Gerlach, D. Jackel, B. Stecher [et al.] // Cell Microbiol. - 2007. - V.9. - P.1834-1850.
13. SiiE is secreted by the Salmonella enterica serovar Typhimurium pathogenicity island 4-encoded secretion system and contributes to intestinal colonization in cattle/ E. Morgan, A.J. Bowen, S.C. Carnell [et al.] // Infect.Immunol. - 2007. - V.75. - P.1524-1533.
14. Coordinate regulation of Salmonella pathogenicity island 1 (SPI1) and SPI4 in Salmonella enterica serovar Typhimurium / K.L. Main-Hester, K.M. Colpitts, G.A. Thomas [et al.] // Infect. Immunol. - 2008. - V.76. - P.1024-1035.
15. Salmonella takes control: effector-driven manipulation of the host / E.J. McGhie, L.C. Brawn, P.J. Hume [et al.] // Curr.Opin.Microbiol. - 2009. - V.12. - P.117-124.
16. Hayward R.D. Direct modulation of the host cell cytoskeleton by Salmonella actin-binding proteins / R.D. Hayward, V. Koronakis // Trends Cell Biol. - 2002. - 12. - P.15-20.
17. Layton A.N. Salmonella-induced enteritis: molecular pathogenesis and therapeutic implications / A.N. Layton, E.E. Galyov // Expert Re.Mol.Med. - 2007. - V.9. - P.1-17.
18. Gal-Mor O. Pathogenicity islands: a molecular toolbox for bacterial virulence / O. Gal-Mor, B.B. Finlay // Cell. Microbiol. - 2006. - V.8. - P.1707-1719.
19. Galan J.E. Protein delivery into eukaryotic cells by type III secretion machines / J.E. Galan, H. Wolf-Watz // Nature. - 2006. - V.444. - P.567-573.
20. SopB promotes phosphatidylinositol 3-phosphate formation on Salmonella vacuoles by recruiting Rab5 and Vps34 / G.V. Mallo, M. Espina, A.C. Smith [et al.] // J.Cell Biol.- 2008. - V.182. - P.741-752.
21. Diversification of a Salmonella virulence protein function by ubiquitin-dependent differential localization / J.C. Patel, K. Hueffer, T.T. Lam, J.E. Galan // Cell.-2009. - V.137. - P.283-294.
22. McGhie E.J. Control of actin turnover by a Salmonella invasion protein / E.J. McGhie, R.D. Hayward, V. Koronakis // Mol.Cell. - 2004. - V.13. - P.497-510.
23. Patel G.C. Manipulation of the host actin cytoskeleton by Salmonella – all in the name of entry / G.C. Patel, G.E. Galan // Curr.Opin.Microbiol. - 2005. - V.8. - P.10-15.
24. Patel G.C. Differential activation and function of Rho GTPases during Salmonella-host cell interactions / G.C. Patel, G.E. Galan // J.Cell Biol. - 2006. - V.175. - P.453-463.
25. Bacteria-generated PtdIns(3)P recruits VAMP8 to facilitate phagocytosis / S. Dai, Y. Zhang, T. Weimbs, M.B. Yaffe, D. Zhou // Traffic. - 2007. - V.8. - P.1365-1374.
26. SopD acts cooperatively with SopB during Salmonella enterica serovar Typhimurium invasion / M.A. Bakowski, J.T. Cirulis, N.F. Brown, B.B. Finlay, J.F. Brummel // Cell Microbiol. - 2007. - V.9. - P.2839-2855.
27. Salmonella AvrA coordinates suppression of host immune and apoptotic defenses via JNK pathway blockade / R.M. Jones, H. Wu, C. Wentworth [et al.] // Cell Host Microb. - 2008. - V.3. - P.233-244.
28. Bacterial activation of beta-catenin signaling in human epithelia / J. Sun, M.E. Hobert, A.S. Rao [et al.] // Am.J.Physiol.Gastrointest.Liver Physiol. - 2004. - V.287. - P.G220-G227.
29. SipA, SopA, SopB, SopD, and SopE2 contribute to Salmonella enterica serovar Typhimurium invasion of epithelial cells / M. Raffatellu, R.P. Wilson, D. Chessa [et al.] // Infect.Immun. - 2005. - V.73. - P.146-154.
30. The inflammation-associated Salmonella SopA is a HECT-like E3 ubiquitin ligase / Y. Zhang, W.M. Higashide, B.A. McCormick, J. Chen, D. Zhou // Mol.Microbiol. - 2006. - V.62. - P.786-793.
31. Humphreys D. The Salmonella effector SptP dephosphorylates host AAA+ ATPase VCP to promote development of its intracellular replicative niche/ D. Humphreys, P.J. Hume, V. Koronakis // Cell Host Microbe. - 2009. - V.5. - P.225-233.
32. Brawn L.C. Salmonella SPI-1 effector SipA persist after entry and cooperates with SPI-2 effector to regulate phagosome maturation and intracellular replication/ L.C. Brawn, R.D. Hayward, V. Koronakis // Cell Host Microbe. - 2007. - V.1. - P.63-75.
33. Steel-Mortimer O. The Salmonella-containing vacuole: moving with the time / O. Steel-Mortimer // Curr.Opin.Microbiol. - 2008. - V.11. - P.38-45.
34. Biogenesis of Salmonella typhimurium-containing vacuoles in epithelial cells involves interactions with the early endocytic pathway / O. Steele-Mortimer, S. Meresse, J.P. Gorvell [et al.] // Cell Microbiol. - 1999. - V.1. - P.33-49.
35. The secreted Salmonella dublin SopB localizes to PtdIns(3)P-containing endosomes and perturbs normal endosome to lysosome trafficking / J.D. Dukes, H. Lee, R. Hagen [et al.] // Biochem.J.- 2006. - V.395. - P.239-247.
36. Sorting nexin-1 defines an early phase of Salmonella-containing vacuole-remodeling during Salmonella infection / M.V. Bujny, P.A. Ewels, S. Humphrey [et al.] // J.Cell Sci. - 2008. - V.121. - P.2027-2036.
37. Crystal structure of SopA, a Salmonella effector protein mimicking a eukaryotic ubiquitin ligase / J. Diao, Y. Zhang, J.M. Huibregtse, D. Zhou, J. Chen // Nat.Struct.Mol.Biol.- 2008.- V.15. - P.65-70.
38. Stec C is a Salmonella kinase required for SPI-2 dependent F-actin remodeling / J. Poh, C. Odendall, A. Spanos [et al.] // Cell Microbiol. - 2008. - V.10. - P.20-30.

39. Salmonella effectors translocated across the vacuolar membrane interact with the actin cytoskeleton / F.A. Miao, M. Brittnacher, A. Harada [et al.] // *Mol/Microbiol.* - 2003. - V.48. - P.401-415.
40. The role of SsrA-SsrB and OmpR-EnvZ in the regulation of genes encoding the Salmonella typhimurium SPI-2 type III secretion system / J. Garmendia, C.R. Beuzon, J. Ruiz-Albert, D.W. Holden // *Microbiol.* - 2003. - V.149. - P.2385-2396.
41. Salcedo S.P. SseG, a virulence protein that targets Salmonella to the Golgi network / S.P. Salcedo, D.W. Holden // *EMBO J.* - 2003. - V.22. - P.5003-5014.
42. Beuzone C.R. Growth and killing of a Salmonella enterica serovar Typhimurium sifA mutant strain in the cytosol of different cell lines / C.R. Beuzone, S.P. Salcedo, D.W. Holden // *Microbiol.*-2002. - V.148. - P.2705-2715.
43. The Salmonella effector protein PipB2 is a linker for kinesin-1/ T. Henry, C. Couillault, P. Rockenfeller [et al.] // *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* - 2006. - V.103. - P.13497-13502.
44. Knodler L.A. The Salmonella effector PipB2 affects late endosome/lysosome distribution to mediate Sif extension / L.A. Knodler, O. Steel-Mortimer // *Mol.Biol.Cell.* - 2005. - V.16. - P.4108-4123.
45. The Salmonella virulence protein SifA is a G protein antagonist/ L.K. Jackson, P. Nawabi, C. Hentea, E.A. Roark, K. Haldar // *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* - 2008. - V.105. - P.14141-14146.
46. Structure and function of Salmonella SifA indicate that its interactions with SKIP, SseJ, and RhoA family GTPases induce endosomal tubulation / M.B. Ohlson, Z. Huang, N.M. Alto [et al.] // *Cell Host Microbe.* - 2008. - V.4. - P.434-446.
47. Nawabi P. Esterification of cholesterol by a type III secretion effector during intracellular Salmonella infection / P. Nawabi, D.M. Catron, K. Haldar // *Mol.Microbiol.* - 2008. - V.68. - P.173-185.
48. Ganley I.G. Cholesterol accumulation sequesters Rab9 and disrupts late endosome function in NPC1-deficient cells / I.G. Ganley, S.R. Pfeffer // *J.Biol.Chem.* - 2006. -V.281. - P.17890-17899.
49. The Salmonella SPI-2 effector SseJ exhibits eukaryotic activator-dependent phospholipase A and glycerophospholipid cholesterol acyltransferase activity / N.S. Lossi, N. Rolhion, A.I. Magee, C. Boyle, D.W. Holden // *Microbiology.* - 2008. - V.154. - P.2680-2688.
50. A family of Salmonella virulence factors functions as a distinct class of autoregulated E3 ubiquitin ligases / C.M. Quezada, S.W. Hicks, J.E. Galan, C.E. Stebbins // *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* - 2009. - V.106. - P.4864-4869.
51. Le Negrate G. Salmonella secreted factor L deubiquitinase Salmonella Typhimurium inhibits NF- κ B, suppresses I B ubiquitination and modulates innate immune responses / G. Le Negrate, B. Faustin, K. Welsh // *J.Immunol.* - 2008. - V.180. - P.5045-5056.
52. Microtubule motors control membrane dynamics of Salmonella-containing vacuoles / J. Guignot, E. Caron, C. Beuzon [et al.] // *J.Cell Sci.* -2004. - V.117. - P.1033-1045.
53. Salmonella-containing vacuoles display centrifugal movement associated with cell-to-cell transfer in epithelial cells / J. Szeto, A. Namolovan, S.E. Osborne [et al.] // *Infect.Immun.*-2009.-V.77.-P.996-1007.
54. The translocated Salmonella effector proteins SseF and SseG interact and are required to establish an intracellular replication niche / J. Deiwick, S.P. Salcedo, E. Boucrot [et al.] // *Infect.Immunol.*-2006.-V.74.-P.6965-6972.
55. Kuhle V. Intracellular Salmonella enteric redirect exocytic processes in a SPI-2-dependent manner / V. Kuhle, G.L. Abrahams, M. Hensel // *Traffic.*-2006.-V.7.-P.716-730.
56. The translocated Salmonella effector proteins SseF and SseG interact and are required to establish an intracellular replication niche / J. Deiwick, S.P. Salcedo, E. Boucrot [et al.] // *Infect.Immun.* - 2006. - V.74. - P.6965-6972.
57. The Salmonella effector protein PipB2 is a linker for kinasin-1 / T. Henry, C. Couillault, P. Rockenfeller [et al.] // *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* - 2006. - V.103. - P.13497-13502.
58. Brawn L.C. Salmonella SPI1 effector SipA persist after entry and cooperates with a SPI2 effector to regulate phagosome maturation and intracellular replication / L.C. Brawn, R.D. Hayward, V. Koronakis // *Cell Host Microbe.* - 2007. - V.1. - P.63-75.
59. Role for myosin II in regulating positioning of Salmonella-containing vacuoles and intracellular replication / J.A. Wasylanka, M.A. Bakowski, J. Szeto [et al.] // *Infect.Immun.* - 2008. -V.76. - P.2722-2735.
60. Dynamic behavior of Salmonella-induced membrane tubules in epithelial cells / D. Drecktrah, S. Levine-Wilkinson, T. Dam [et al.] // *Traffic.*-2008.-V.9.-P.2117-2129.
61. Crystal structure of SopA, a Salmonella effector protein mimicking a eukaryotic ubiquitin ligase / J. Diao, Y. Zhang, J.M. Huibregtse, D. Zhou, J. Chen // *Nat.Struct.Mol.Biol.* - 2008. - V.15. - P.65-70.
62. Boyle E.C. Salmonella enterica serovar Typhimurium effectors SopE/SopE2, SopB and SipA disrupt tight junction structure and function / E.C. Boyle, N.F. Brown, B.B. Finlay // *Cell Microbiol.* - 2006. - V.8. - P.1946-1957.
63. Salmonella type III effector AvrA stabilizes cell tight junctions to inhibit inflammation in intestinal epithelial cells / A.P. Liao, E.O. Petrof, S. Kuppipreddi [et al.] // *PLoS ONE.*-2008. - V.3. - P.2369.
64. Fink S.L. Pyroptosis and host cell death responses during Salmonella infection / S.L. Fink, B.T. Cookson // *Cell Microbiol.* - 2007. - V.9. - P.2562-2570.

65. Identification of Salmonella SPI-2 secretion system components required for SpvB-mediated cytotoxicity in macrophages and virulence in mice / S.H. Browne, P. Hasegawa, S. Okamoto, J. Fiere, D.G. Guiney // FEMS Immunol.Med.Microbiol. - 2008. - V.52. - P.194-201.
66. SpvC is a Salmonella effector with phosphothreonine lyase activity on host mitogen-activated protein kinases / P. Mazurkiewicz, J. Thomas, J.A. Thompson [et al.] // Mol.Microbiol. - 2008. - V.67. - P.1371-1383.
67. Salmonella effector AvrA regulation of colonic epithelial cell inflammation by deubiquitination / Z. Ye, E.O. Petrof, D. Boone, E.C. Claud, J. Sun // Am.J.Pathol. - 2007. - V.171. - P.882-892.
68. Type III secretion effectors of the IpaH family are E3 ubiquitin ligases / J.R. Rohde, A. Breikreutz, A. Chenal, P.J. Sansonetti, C. Parsot // Cell Host Microbe. - 2007. - V.1. - P.77-83.
69. Absence of all components of the flagella export and synthesis machinery differentially alters virulence of Salmonella enterica serovar Typhimurium in models of typhoid fever, survival in macrophages, tissue culture invasiveness, and calf enterocolitis / C.K. Schmitt, J.S. Ikeda, S.C. Darnell [et al.] // Infect.Immun. - 2001. - V.69. - P.5619-5625.
70. Macnab R.M. Type III flagellar protein export and flagella assembly / R.M.Macnab // Biochem. Biophys.Acta. - 2004. - V.1694. - P.207-217.
71. Cytoplasmic flagellin activates caspase-1 and secretion of IL-1 via Ipaf / E.A. Miao, C.M. Alpuche-Aranda, M. Dors [et al.] // Nat.Immunol. - 2006. - V.7. - P.569-575.
72. TLR5 and Ipaf: dual sensors of bacterial flagellin in the innate immune system / E.A. Miao, E. Andersen-Nissen, S.E. Warren, A. Aderem // Semin.Immunopathol. - 2007. - V.29. - P.275-288.
73. Sun Y.H. Injection of flagellin into the host cell cytosol by Salmonella enterica serovar Typhimurium / Y.H. Sun, H.G. Rolan, R.M. Tsolis // J.Biol.Chem. - 2007. - V.282. - P.33897-33901.
74. Flagellin suppresses epithelial apoptosis and limits disease during enteric infection / M. Vijay-Kumar, H. Wu, R. Jones [et al.] // Am.J.Pathol. - 2006. -V.169. -P.1686-1700.
75. Flagella facilitate escape of Salmonella from oncotic macrophages / G. Sano, Y. Takada, S. Goto [et al.] // J.Bacteriol. - 2007. - V.189. - P.8224-8232.
76. Periplasmic Cu, Zn superoxide dismutase and cytoplasmic Dps occur in protecting Salmonella enterica serovar Typhimurium from extracellular reactive oxygen species / F. Pacello, P. Ceci, S. Ammendola [et al.] // Biochim.Biophys.Acta. - 2008. - V.1780. - P.226-232.
77. Sle11a1 limits intracellular growth of Salmonella enterica serovar Typhimurium by promoting macrophage immune effector functions and impairing bacterial iron acquisition / M. Nairz, G. Fritsche, M.L. Crouch [et al.] // Cell Microbiol. - 2009. - V.11. - P.1365-1381.
78. Muller S.I. Salmochelin, the long-overlooked catecholate siderophore of Salmonella / S.I. Muller, M. Valdebenito, K. Hantke // Biometals. - 2009. - V.22. - P.691-695.
79. Lipocalin-2 resistance confers an advantage to Salmonella enterica serovar Typhimurium for growth and survival in the inflamed intestine / M. Raffatellu, M.D. George, Y. Akiyama [et al.] // Cell Host Microbe. - 2009. - V.5. - P.476-486.
80. Taylor C.M., Osman D., Cavet J.S. Differential expression from two iron-responsive promoters in Salmonella enterica serovar Typhimurium reveals the presence of iron in macrophage-phagosomes / C.M. Taylor, D. Osman, J.S. Cavet // Microb.Pathol. - 2009. - V.46. - P.114-118.
81. Interferon-gamma limits the availability of iron for intramacrophage Salmonella Typhimurium / M. Nairz, G. Fritsche, P. Brunner [et al.] // Eur.J.Immunol. - 2008. - V.38. - P.1923-1936.
82. Salmonella enterica serovar Typhimurium divalent cation transport systems MntH and SitABCD are essential for virulence in an Nramp1G169 murine typhoid model / M.L. Zaharik, V.L. Cullen, A.M. Fung [et al.] // Infect. Immun. -2004. - V.72. - P.5522-5525.
83. The CorA Mg²⁺ channel is required for the virulence of Salmonella enterica serovar Typhimurium / K.M. Papp-Wallace, M. Nartea, D.G. Kehres [et al.] // J.Bacteriol. - 2008. - V.190. - P.6517-6523.
84. Alix E. Peptide-assisted degradation of the Salmonella MgtC virulence factor / E. Alix, A.B. Blanc-Potard // EMBO J. - 2008. - V.27. - P.546-557.
85. High-affinity Zn²⁺ uptake system ZnuABC is required for bacterial zinc homeostasis in intracellular environments and contributes to the virulence of Salmonella enteric / S. Ammendola, P. Pasquali, C. Pistoia [et al.] // Infect.Immun.-2007.-V.75.-P.5867-5876.
86. The potassium transporter Trk and external potassium modulate Salmonella enteric protein secretion and virulence / J. Su, H. Gong, J. Lai, A. Main, S. Lu // Infect.Immun. - 2009. - V.77. - P.667-675.
87. Host transmission of Salmonella enterica serovar Typhimurium is controlled by virulence factors and indigenous intestinal microbiota / T.D. Lawley, D.M. Bouley, Y.E. Hoy [et al.] // Infect.Immun.-2008. - V.76. - P.403-416.

Поступила в редакцию 25 декабря 2009 г.