

- репродуктивного возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Санкт-Петербург, 2008. 32 с.
18. Ушакова И.Г. Сравнительная оценка эффективности иммунотерапии при папилломавирусной инфекции гениталий у женщин: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Курск, 2009. 36 с.
 19. Akgül B., Cooke J.C., Storey A. HPV-associated skin disease // *J. Pathol.* 2006. Vol. 208. No. 2. P. 165–175.
 20. Buchanan J., Nieland-Fisher N.S. Role of immune function in human papillomavirus infection // *Journal Amer. Med. Assoc.* 2001. Vol. 286, No. 10. P. 1173–1174.
 21. Cripe T., Alderboru A., Anderson R. Human papillomavirus and cervical cancer // *New Biologist.* 1995. Vol. 199. P. 450–463.
 22. De Villiers E.M., Fauquet C., Broker T.R. et al. Classification of papillomaviruses // *Virology.* 2004. Vol. 324. P. 17–27.
 23. Forslund O., Ly H., Reid C. A broad spectrum of human papillomavirus types is present in the skin of Australian patients with non-melanoma skin cancers and solar keratosis // *Brit. J. Dermatol.* 2003. Vol. 149, No. 1. P. 64–73.
 24. Gottsching M., Stamatakis A., Nindl I. Multiple evolutionary mechanisms drive papillomavirus diversify cation // *Mol. Biol. Evolution.* 2007. Vol. 24. P. 1242–1258.
 25. Grassegger A., H?pfl R. Significance of the cytokine interferon gamma in clinical dermatology // *Clin. Experim. Dermatol.* 2004. Vol. 29, No. 6. P. 584–588.
 26. Fauquet C. M., Mayo MA., Maniloff J. Version 4 is based on Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses, 8th ICTV // Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, 2005. 1259 p.
 27. Jenson A.B., Geyer S., Sundberg J.P. Human papillomavirus and skin cancer // *J. Investig. Dermatol. Symposium Proceedings / The Society For Investigative Dermatology, Inc. [And] European Society For Dermatological Research.* 2001. Vol. 6, No. 3. P. 203–206.
 28. Koromilas A.E., Li S., Matlashewski G. Control of interferon signaling in human papillomavirus infection // *Cytokine & Growth Factor Reviews.* 2001. Vol. 12 (2–3). P. 157–170.
 29. Meyer T, Arndt R., Nindl I. Association of human papillomavirus infections with cutaneous tumors in immunosuppressed patients // *Transplant International: Official Journal Of The European Society For Organ Transplantation.* 2003. Vol. 16 (3). P. 146–153.
 30. Wu R., Sun S., Steinberg B.M. Requirement of STAT3 activation for differentiation of mucosal stratified squamous epithelium // *Mol. Med.* 2003. Vol. 9 (3–4). P. 77–84.

Поступила в редакцию 25.02.2010.

CONTEMPORARY KNOWLEDGE OF ETHIOPATHOGENESIS OF PAPILOMAVIRUS INFECTION

I.N. Kizey, G.A. Naumchik, N.B. Sereda

Vladivostok State Medical University (2 Ostryakova Av., Vladivostok, 690950, Russia)

Summary – The paper overviews bibliography devoted to main aetiological aspects of papillomavirus infection, biological properties of human papillomavirus infection, and pathogenesis of productive and integrated papillomavirus infection. More comprehensive knowledge of the immune and cytokine regulation in case of papillomavirus infection will allow broadening and optimizing diagnostic and therapeutic approaches, lowering risk of recurrences and probability of malignant transformation.

Key words: Papillomavirus infection, virology, pathogenesis, immunity.

Pacific medical Journal, 2010, No. 3, p. 10–15.

УДК 579.87

К ВОПРОСУ О БОЛЕЗНЕТВОРНОСТИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

В.Г. Мельников

Международный научно-технический центр (127473 г. Москва, ул. Краснопролетарская, 32–34, а/я 20)

Ключевые слова: условно-патогенные организмы, морфология, патогенный потенциал.

Лекция, посвященная механизмам реализации условно-патогенными микроорганизмами болезнетворных свойств. Собственные исследования показали, что у актиномицетов полости рта признаки патогенности проявляются на ранней стадии развития микробной популяции. Предполагается, что микроорганизмы, населяющие в норме слизистые оболочки и кожу, характеризуются завершенным циклом развития и потому авирулентны для хозяина. Под воздействием факторов среды обитания происходит накопление особей с незавершенным циклом развития, способных к реализации патогенного потенциала. Переход от резидентного к патогенному состоянию у актиномицетов и других условно-патогенных микроорганизмов, по мнению автора, может быть обусловлен изменением регуляции цикла их развития.

В современном мире значительная часть патологии человека связана с так называемыми условно-патогенными микроорганизмами (УПМ). Изучение механизмов реализации данными микроорганизмами болезнетворных свойств представляет собой непростую задачу. В первую очередь это объясняется тем, что между патогенным и апатогенным состоя-

ниями УПМ не наблюдается существенных различий. В очагах поражения и в здоровых тканях, как правило, выявляются морфологически, физиологически и генетически неотличимые варианты УПМ. Установление маркеров патогенного состояния позволило бы продвинуться в деле оценки их роли в развитии заболеваний. Определенный прогресс в этой области достигнут при исследовании патогенеза воспалительных заболеваний пародонта.

Известно, что патологический процесс в тканях пародонта развивается в результате нарушения взаимоотношений между микрофлорой полости рта и макроорганизмом. Воспаление инициируют *Actinomyces naeslundii* – актиномицеты, составляющие значительную часть микрофлоры зубной бляшки. При микроскопии зубной бляшки у человека, хомяков и крыс с клинически здоровым пародонтом обнаруживаются только палочко- и кокковидные бактерии. У больных гингивитом людей и животных в зубной бляшке содержится огромное количество нитевидных бактериальных клеток [18]. Нитевидные клетки, очевидно, принадлежат актиномицетам, поскольку только они обладают диморфизмом – способностью образовывать

как палочковидные, так и нитевидные ветвящиеся клетки. От здоровых и от больных гингивитом людей и животных выделяются только палочковидные S-формы (smooth) актиномицетов, образующие гладкие колонии маслянистой консистенции. Отсутствие нитевидных форм при высеве из очага поражения исследователи объясняют тем, что подобное состояние актиномицетов возникает в результате фенотипической изменчивости, связанной с условиями микроокружения в зубной бляшке, и теряется при высеве бактерий на питательные среды [19].

Нами было проведено сравнительное изучение состава актиномицетов у людей со здоровым пародонтом и больных гингивитом. Материал зубной бляшки высевали на модифицированную питательную среду, селективность которой обеспечивалась добавлением сульфата кадмия [8, 9, 17]. От здоровых людей при этом выделялся S-вариант *A. naeslundii*. От всех пациентов с гингивитом, наряду с типичными гладкими S-колониями, впервые были выделены шероховатые, плотные R-колонии (rough) *A. naeslundii*, состоящие из нитевидных клеток. Отсутствие нитевидных вариантов актиномицетов при высеве на неселективные среды может объясняться подавлением их роста стрептококками, которые всегда обнаруживаются на поверхности нитевидных клеток в материале зубной бляшки в виде так называемых кукурузных початков [10].

Поскольку между усилением нитевидности микрофлоры зубной бляшки и интенсивностью клинических проявлений гингивита прослеживается отчетливая взаимосвязь [20], важным условием понимания этиологии и патогенеза заболеваний пародонта является определение таксономического положения нитевидных бактериальных клеток, которые обнаруживаются у больных гингивитом. С этой целью материал зубной бляшки исследовали в реакции непрямой иммунофлюоресценции с помощью кроличьих иммунных сывороток, содержащих в высоком титре антитела против цельных клеток соответственно S- и R-вариантов *A. naeslundii*. Установлено, что нитевидные клетки, составляющие строму наддесневой зубной бляшки у больных гингивитом, реагируют только с сывороткой к R-варианту *A. naeslundii* [4]. Следовательно нитевидные образования, ассоциируемые с повреждением тканей пародонта, представляют собой клетки R-варианта *A. naeslundii*. На основании приведенных данных можно предположить, что нитевидность актиномицетов является признаком их патогенности. Подтверждением этому является способность нитевидного R-варианта *A. naeslundii*, в отличие от палочковидного S-варианта, вызывать образование множественных абсцессов при внутрибрюшинном заражении мышей [3]. Нитевидные варианты *A. israelii*, *A. bovis*, *Arachnia propionica* также оказались значительно более патогенными для мышей, чем их палочковидные формы [14]. Здесь уместно упомянуть и о том, что штамм *A. naeslundii* T14V, образующий мицелиальные скопления

при росте на жидкой питательной среде, является высоковирулентным и вызывает активный пародонтит у крыс, а штамм *A. naeslundii* T14aV, представленный палочковидными клетками, авирулентен [23].

Вопрос о сущности различий между S- и R-вариантами микроорганизмов до сих пор остается нерешенным. В. Браун [1] указывал, что коррелятивные изменения морфологии колоний, антигенных свойств и вирулентности бактерий, наблюдаемые при S-R диссоциации, часто обусловлены одним основным изменением, которое происходит в оболочке микробной клетки. У различных грамположительных микроорганизмов S-R-переход сопровождается утратой капсулы. Результаты электронно-микроскопических исследований свидетельствуют о том, что S-вариант *A. naeslundii* обладает отчетливо выраженным капсульным слоем. Клетки R-варианта не имеют никаких экстрацеллюлярных образований [7]. Присутствием гликокаликса на поверхности S-клеток можно объяснить многие различия между S- и R-вариантами *A. naeslundii*: а) по культуральным признакам – слизистый капсульный слой устраняет «сдерживающее» влияние плотной среды на делящиеся клетки и обуславливает перераспределение клеток внутри колонии, тем самым способствуя образованию гладкого типа колоний; б) по антигенной структуре и вирулентности – капсульный слой экранирует поверхностные антигенные детерминанты и факторы патогенности. Однако наличием капсульного слоя на поверхности бактерий невозможно объяснить различия в морфологии клеток и химической структуре микробных биополимеров. Биохимические исследования показали, что между S- и R-вариантами *A. naeslundii* в структуре липотейхоевой кислоты, компонента клеточной стенки и возможного фактора патогенности актиномицетов полости рта имеются количественные и качественные отличия – по содержанию моно- и аминокислот, лизина, орнитина и ненасыщенных жирных кислот [5].

Среди возможных механизмов диссоциации у бактерий называют внутригеномные перестройки: мутации, рекомбинации и др. [22]. Однако, учитывая изменение большого числа признаков в процессе фазовой вариации у *A. naeslundii* и их сцепленность, объяснить высокую частоту встречаемости S-R-переходов случайной перестройкой генетического материала бактерий весьма затруднительно.

Как уже упоминалось, актиномицеты полости рта имеют более сложный цикл развития, чем другие бактерии. Диморфизм данных бактерий проявляется в том, что палочковидные клетки, попадая в свежую питательную среду, образуют на начальной стадии роста (в lag-фазу) первичный мицелий. Затем наступает фрагментация нитевидных ветвящихся клеток, и в дальнейшем размножение культуры происходит путем простого деления палочковидных форм с образованием S-колонии

[21]. Для решения вопроса о возможном сходстве между R-вариантом *A. naeslundii* и S-вариантом на ранней стадии роста по антигенной структуре были использованы иммунные сыворотки к клеткам этих вариантов. Культуру палочковидного S-варианта клеток *A. naeslundii* выращивали на тонком слое питательной среды, нанесенном на предметное стекло. Рост культуры останавливали на стадии образования мицелия. Стекла обрабатывали кроличьей сывороткой к R- или S-варианту *A. naeslundii*, а затем – антителами против иммуноглобулинов кролика. Установлено, что культура S-варианта, находящаяся в ранней, нитевидной фазе роста, взаимодействует с сывороткой к поверхностным антигенам R-варианта и не реагирует с сывороткой к антигенам исходного палочковидного S-варианта [6]. Следовательно, между S-вариантом на ранней стадии роста и R-вариантом *A. naeslundii* имеется сходство не только по морфологии клеток, но и по антигенной структуре их поверхностных компонентов. Поскольку нитевидное состояние актиномицетов, вероятно, связано с их болезнетворным действием, можно предположить, что S-вариант *A. naeslundii* тоже является патогенным для макроорганизма, но только на ранней стадии развития. Такое предположение оказывается справедливым в отношении других групп актиномицетов и грибов. В. Veaman и S. Moring [13] установили, что штамм *Nocardia asteroides* в период ранней (мицелиальной) стадии развития обладает значительно большей патогенностью для мышей, чем в период стационарного (фрагментированного) роста. Причем изменения в вирулентности сопровождаются структурными изменениями бактериальной поверхности, аналогичными таковым S- и R-вариантов *A. naeslundii*. Клетки *Candida albicans* в патологическом материале от больных кандидозом животных реагируют только с моноклональными антителами против антигенов ростовых трубок, свойственных ранней стадии развития микробной популяции [15]. Складывается впечатление, что вирулентные варианты актиномицетов, а возможно, и других УПМ, отличаются от исходных резидентных форм незавершенностью цикла развития.

Феномен блокирования морфогенеза микроорганизмов на одной из стадий известен довольно давно [1]. В.Н. Егорова и К.Л. Лахчев [2], исследуя процесс S–R-диссоциации у грибов, обнаружили, что R-вариант обладает одинаковыми свойствами с S-вариантом, находящимся на ранней (мицелиальной) стадии развития. Авторы полагают, что при блокировании морфогенеза у грибов имеет место своеобразная фиксация различных свойств и признаков, присущих определенным этапам развития данных микроорганизмов. Аналогичную картину стойкого нарушения регуляции генов, ответственных за микробный онтогенез, мы наблюдаем у R-варианта *A. naeslundii*. Скорее всего, он представляет собой S-вариант бактерий, у которого цикл развития бло-

кирован на ранней стадии при сохранении способности клеток к размножению. Недифференцированный R-вариант обладает такими наследственно закрепленными признаками, как нитевидная форма клеток, шероховатые и плотные колонии, особые биохимические и антигенные свойства, патогенность.

Вышеизложенное наводит на мысль о том, что именно ранняя стадия роста микроорганизмов является наиболее важной с точки зрения механизмов реализации ими патогенного потенциала и вместе с этим наименее изученной. Основная трудность в изучении lag-фазы роста связана с невозможностью накопления в достаточном количестве микробной биомассы, поскольку культура на этой стадии не размножается.

Для объяснения природы процессов, происходящих с микробной клеткой в lag-фазу, попытаемся привлечь закономерности, свойственные многоклеточным системам. В последние годы появляется все больше данных в пользу общности процессов развития эу- и прокариотических организмов [16].

По существующим в настоящее время представлениям, клетки периодической микробной культуры в lag-фазу не размножаются вследствие того, что они адаптируются к новым условиям роста. Тем не менее микробные клетки в этот период растут, то есть увеличиваются в размерах, и порой очень существенно [21]. Для lag-фазы характерно проявление «гигантизма юных форм» с наличием нитевидных бактерий, что обусловлено многократной репликацией ДНК в этой фазе роста периодической культуры, предшествующей активному делению микроорганизмов [11]. Lag-фаза начинается с момента внесения микроорганизмов в свежую питательную среду. Если для посева используют клетки, находящиеся в стационарной фазе роста, то это означает, что в питательную среду вносятся зрелые, специализированные микробы, которые приспособлены к длительному существованию (сохранению вида) в неблагоприятных для роста условиях.

Согласно общебиологической закономерности дифференцированные клетки не способны к делению. Они выполняют свою функцию, а затем отмирают. И все же некоторые дифференцированные клетки, например В-лимфоциты, сохраняют способность к размножению. После встречи с чужеродным антигеном В-лимфоциты делятся и превращаются в плазматические клетки, образующие антитела к данному антигену. Но прежде чем В-лимфоцит начнет размножаться, он подвергается процессу обратного развития, дедифференцировке, поскольку только недифференцированные клетки могут быстро делиться. Этот процесс превращения В-лимфоцита в крупную бластную клетку носит название бласттрансформации [12]. По всей вероятности, подобный процесс образования «бластных клеток» имеет место и в микробной культуре. Зрелые, дифференцированные микробные клетки, будучи помещены в свежую питательную среду, размножаться не могут. Прежде чем приступить

к делению, они должны подвергнуться дедифференцировке. Процесс превращения зрелой микробной клетки в «бласт» занимает определенное время, очевидно, совпадающее с lag-фазой роста. В итоге зрелая клетка преобразуется в крупную «эмбриональную», или «стволовую», недифференцированную клетку, обладающую в этом состоянии патогенным потенциалом. Итак, ключевым в нашей гипотезе является положение о том, что патогенные свойства проявляются на определенной (ранней) стадии развития УПМ. Такое состояние фиксируется под влиянием факторов среды обитания (например, агрессии со стороны организма хозяина). Отмена внешнего воздействия приводит к восстановлению цикла развития условно-патогенного микроорганизма, что делает его непатогенным. У некоторых особей происходит стойкое, наследуемое нарушение дифференцировки, которое сохраняется и в отсутствие внешнего воздействия. Предположение об образовании особых «бластных» форм на ранней стадии роста популяции УПМ полностью согласуется с результатами изучения роли актиномицетов полости рта в развитии воспалительных заболеваний пародонта [4].

Учитывая упомянутые выше особенности морфофизиологических, биохимических, антигенных и вирулентных свойств УПМ, находящихся на ранних стадиях развития популяции, их сходство со свойствами микроорганизмов, выявляемых в пораженных тканях человека и животных, специальный интерес приобретают углубленные исследования lag-фазы микробного роста, а также недифференцированных культур бактерий и грибов, подобных R-варианту *A. naeslundii*. В результате проведения таких исследований могут быть усовершенствованы методы контроля заболеваний, вызываемых УПМ, а также описаны процессы, лежащие в основе эволюции данных микроорганизмов, поскольку, следуя общепризнанной закономерности повторения филогенеза в онтогенезе, в процессе индивидуального развития микробной культуры в lag-фазе роста могут экспрессироваться «древние» гены.

Литература

1. Браун В. Генетика бактерий / пер. с англ. М.: Мир, 1968. 446 с.
2. Егорова В.Н., Лахчев К.Л. Генетический контроль морфологии дрожжевой клетки // *Генетика*. 1994. Т.30. С. 1036–1042.
3. Кудряшова Е.Б., Мельников В.Г. Сравнительное изучение патогенности *Actinomyces* spp. на белых мышах // *Бюллетень ВИЭВ*. 1990. Т. 71. С. 61–64.
4. Мельников В.Г. Изучение роли актиномицетов в развитии воспалительных заболеваний пародонта: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1990. 28 с.
5. Мельников В.Г. Амфипатические полимеры *Actinomyces naeslundii*. Деп. ВИНТИ 05.02.90. 642-В90. 4 с.
6. Мельников В.Г. Признаки и факторы патогенности актиномицетов полости рта // *Материалы 6-го Всерос. конгр. эпидемиол., микробиол., паразитол.* Н. Новгород, 1991. С. 262–263.
7. Мельников В.Г. Изучение характера клеточной поверхности вирулентного и авирулентного вариантов *Actinomyces naeslundii* // *Проблемы стоматологии*. 1994. № 1. С. 69–72.
8. Мельников В.Г., Олейник И.И. Ориентировочная идентификация актиномицетов полости рта по комплексу ключевых морфофизиологических признаков // *Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол.* 1989. № 12. С. 15–22.
9. Мельников В.Г., Олейник И.И., Лернер Л.Е. Питательные среды для ферментирующих актиномицетов // *Лабораторное дело*. 1990. № 5. С. 67–70.
10. Олейник И.И., Мельников В.Г. Роль актиномицетов в развитии патологических процессов в полости рта // *Стоматология*. 1990. Т. 69. С. 92–95.
11. Сомова Л.М., Бузолева Л.С., Плехова Н.Г. Ультроструктура патогенных бактерий в разных экологических условиях. Владивосток: Медицина ДВ, 2009. 200 с.
12. Ярилин А.А., Добротина Н.А. Введение в современную иммунологию. Н. Новгород, 1997. 237 с.
13. Beamman B.Z., Moring S.E. Relationship among cell wall composition, stage of growth, and virulence of *Nocardia asteroides* GUH-2 // *Infect. Immun.* 1988. Vol. 56. P. 557–563.
14. Behbehani M.J., Jordan H.V. Comparative pathogenicity of *Actinomyces* species in mice // *J. Med. Microbiol.* 1982. Vol. 15. P. 465–473.
15. Fortier B., Hopwood V., Poulain D. Electric and chemical fusions for the production of monoclonal antibodies reacting with the in vivo growth phase of *Candida albicans* // *J. Med. Microbiol.* 1988. Vol. 27. P. 239–245.
16. Hooshangi S., Bentley E. From unicellular properties to multicellular behavior // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2008. Vol. 19. P. 550–555.
17. Kornman K.S., Loesche W.J. New medium for isolation of *A. viscosus* and *A. naeslundii* from dental plaque // *J. Clin. Microbiol.* 1978. Vol. 7. P. 514–518.
18. Listgarten M.A. Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study // *J. Periodontol.* 1976. Vol. 47. P. 1–18.
19. Listgarten M.A. The role of dental plaque in gingivitis and periodontitis // *J. Clin. Periodontol.* 1988. Vol. 15. P. 915–922.
20. Loesche W.J., Syed S.A. Bacteriology of human experimental gingivitis: effect of plaque and gingivitis score // *Infect. Immun.* 1978. Vol. 21. P. 830–839.
21. *The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria*. 3rd Ed: Vol. 3: Archaea, Bacteria: Firmicutes, Actinomycetes. Ed. by Dworkin M., Springer, 2006.
22. Van Woude M., Baumber A.J. Phase and antigenic variation in bacteria // *Clin. Microbiol. Rev.* 2004. Vol. 17. P. 581–611.
23. Yeung M.K., Raqsdale P.A. Synthesis and function of *Actinomyces naeslundii* T14V type 1 fimbriae require the expression of additional fimbria-associated genes // *Infect. Immun.* 1997. Vol. 65. P. 2629–2639.

Поступила в редакцию 17.03.2010

ON PATHOGENICITY OF OPPORTUNISTIC PATHOGENS

V.G. Melnikov

International Science and Technology Centre (pob 20, 32—34

Krasno proletarskaya St. Moscow 127473 Russia)

Summary – This lecture discusses mechanisms of activation of disease-causing properties in the opportunistic microorganisms. The author's studies indicate that the signs of pathogenicity of actinomycetes known to inhabit the oral cavity appear at the early development stage of microbial population. As supposed, the microorganisms known to inhabit mucous tunic and skin are characterized by full life cycle, and therefore are host-avirulent. Exposed to the environment, there is evident accumulation of microorganisms with incomplete life cycle capable of activating pathogenic potential. In author's opinion, transformation in actinomycetes and other opportunistic microorganisms from resident into pathogenic state can be caused by changes in regulation of their life cycle.

Key words: opportunistic microorganisms, morphology, disease-causing potential.

Pacific Medical Journal, 2010, No. 3, p. 15–18.