

УДК 579.869.1:579.842.23

ВАРИАбельность функциональных доменов факторов инвазии как молекулярная основа полигостальности возбудителей сапронозов

С.А. Ермолаева¹, Е.А. Зайцева², Н.Ф. Тимченко², Р.Р. Адамов¹¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН (123098 г. Москва, ул. Гамалеи, 18),² НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1)**Ключевые слова:** *Listeria monocytogenes*, *Yersinia pseudotuberculosis*, факторы инвазии, генетическая вариабельность.

Возбудители сапронозов характеризуются полигостальностью, т.е. способностью существовать и/или вызывать заболевание у широкого круга хозяев. На 86 изолятах *Listeria monocytogenes* и 84 изолятах *Yersinia pseudotuberculosis* изучена вариабельность генов, кодирующих факторы инвазии. У всех генов выявлены несинонимические мутации, приводящие к аминокислотным заменам. У гена *inv*, кодирующего инвазин *Y. pseudotuberculosis*, выявлено две несинонимические мутации, отличающие аллель 1 и аллель 2. Аллель 1 преобладал среди изолятов *Y. pseudotuberculosis*, полученных от больных людей и из окружающей среды, а у изолятов, выделенных от грызунов, аллели 1 и 2 встречались с сопоставимыми частотами. В последовательностях генов *inlA*, *inlB*, *inlC* и *inlE*, кодирующих белки-интерналы *L. monocytogenes*, выявлены 6, 25, 8 и 48 несинонимических мутаций соответственно. Ряд замен присутствовал у всех изолятов относящихся к одной группе сероваров, и отсутствовали у изолятов других сероваров. Кроме того, у изолятов *L. monocytogenes* обнаружена неравномерность распределения аминокислотных замен в зависимости от источника выделения. Одним из возможных следствий полиморфизма факторов инвазии бактерий может быть отбор штаммов, более эффективно взаимодействующих с определенными вариантами эукариотических рецепторов и, соответственно, более эффективно проникающих в клетки конкретного вида млекопитающего.

Широко распространенные в природе, способные к длительному существованию в сапрофитических условиях возбудители сапронозов отличаются разнообразным спектром хозяев, или полигостальностью [1]. Характерными примерами для этой группы возбудителей являются грамположительные бактерии *Listeria monocytogenes* и грамотрицательные бактерии *Yersinia pseudotuberculosis*, являющиеся возбудителями листериоза и псевдотуберкулеза соответственно [2, 3]. Заражение людей листериями и иерсиниями чаще всего происходит алиментарным путем [2, 3]. Пути передачи возбудителей сапронозов в дикой природе мало изучены. Вероятно, они могут передаваться по трофическим цепям, потенциальная возможность такой передачи была доказана в эксперименте [2].

Попав в организм с пищей, *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* способны пересекать барьер кишечного эпителия, проникать в лимфатическое и кровяное русло, что приводит к дальнейшему распространению возбудителей в организме [3, 4]. Пересечение эпителиального барьера кишечника листериями и иерсиниями связано с процессом активной инва-

зии в эукариотические клетки, которая опосредуется специфическим взаимодействием между поверхностными бактериальными белками и эукариотическими рецепторами [5]. У листерий в инвазии участвуют представители семейства интерналинов, прежде всего это белки InlA и InlB, взаимодействующие с рецепторами E-кадхерином и Met соответственно. Семейство интерналинов характеризуется наличием специфических доменов, так называемых LRR (Leucine-Rich Repeat domains), состоящих из повторов 22 аминокислот, среди которых преобладают лейцин и изолейцин [10]. Именно LRR-домены вовлечены в непосредственное белок-белковое взаимодействие с эукариотическими рецепторами, поэтому замены в них могут существенно влиять на интенсивность проникновения листерий в эукариотические клетки [9].

Инвазия *Y. pseudotuberculosis* опосредуется белком инвазином, который взаимодействует с β_1 -субъединицей эукариотического рецептора интегрин [12]. Инвазин представляет собой мультидоменный белок, состоящий из 986 аминокислотных остатков [11]. N-концевой домен инвазина локализуется во внешней мембране, обеспечивая представление белка на поверхности бактериальной клетки. Карбоксильный конец включает четыре тандемных домена (D1, D2, D3, D4), имеющих структуру, гомологичную иммуноглобулину. За последним из тандемных следует домен D5, так называемый CTLD (C-type Lectine-like Domain). Домены D4 и D5 формируют структуру, непосредственно взаимодействующую с β_1 -цепью интегрин.

В данной статье изложены результаты изучения вариабельности фрагментов генов, кодирующих функционально-значимые (т.е. непосредственно вовлеченные во взаимодействие с эукариотическими рецепторами) домены факторов инвазии *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis*. Представлен анализ распределения вариантов и аминокислотных замен в зависимости от филогенетического положения штамма и источника его выделения.

Материал и методы. Для выполнения исследований использовано 86 изолятов *L. monocytogenes*, относящихся к сероварам 1/2a, 1/2b и 4b, и 84 изолята *Y. pseudotuberculosis*, относящихся к I и III сероварам. Культуры изолированы на Дальнем Востоке и в Европейской части России в разные годы (1952–2005). В том числе в работу были включены 17 изолятов *L. monocytogenes* и 54 изолята *Y. pseudotuberculosis*, полученные от больных людей с подтвержденным диагнозом, а также 14

Таблица 1

Вариабельность фрагментов генов факторов инвазии *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis*

Возбудитель	Ген	Длина фрагмента, н.п.	Аминокислоты, входящие в фрагмент	Количество замен		Число аллелей
				синонимических	несинонимических	
<i>L. monocytogenes</i>	<i>inlA</i>	648	54–269	14	6	12
	<i>inlB</i>	618	64–269	37	25	18
	<i>inlC</i>	586	70–264	17	8	12
	<i>inlE</i>	558	82–267	45	46	11
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>inv</i>	600	667–866	2	2	3

изолятов *L. monocytogenes* и 9 изолятов *Y. pseudotuberculosis*, выделенные от диких мышевидных грызунов. Остальные культуры получены от носителей без клинических проявлений листериоза, из окружающей среды и/или продуктов питания.

Последовательности генов *inlA*, *inlB*, *inlC*, *inlE*, кодирующих факторы инвазии семейства интерналинов *L. monocytogenes*, и гена *inv*, кодирующего инвазин *Y. pseudotuberculosis*, взяты из базы данных GenBank, что позволило синтезировать специфические праймеры. Последовательности праймеров для генов интерналинов приведены в ранее опубликованной работе [15]. Для анализа гена *inv* использованы праймеры *inv1* (5'-TATGGGGACCCGACGGCTGGC 3') и *inv2* (5'-TGCCGCCATCGTATATCCACCG 3'). Фрагменты генов получены с помощью полимеразной цепной реакции в термоциклере «Терцик» («ДНК-технология», Россия) с использованием бактериальных лизатов в качестве ДНК-содержащей матрицы. Программа амплификации включала 5 циклов с длительностью этапов 5 с и 25 циклов с длительностью этапов 1 с. В конце программы был введен 1 цикл с длительностью этапа элонгации 10 мин. Температуры плавления и элонгации составляли 94 и 72 °С соответственно. Температура отжига праймеров для генов *inl* *monocytogenes* равнялась 55 °С, а для гена *inv* *Y. pseudotuberculosis* – 67 °С. Последовательности фрагментов определены в центре «Геном» Института молекулярной биологии им. Энгельгардта (г. Москва). Нуклеотидные последовательности прочитаны с помощью программы Chromas 1.45 (<http://www.techneysisium.com.au/chromas.html>). Выстраивание последовательностей проведено с помощью программы ClustalW 1.83.XP. Характеристика нуклеотидного состава последовательностей осуществлена с помощью программы DnaSP 4.10.7.

Результаты исследования. При определении нуклеотидных последовательностей участков генов факторов инвазии *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* получены следующие результаты. Размеры и положение изученных фрагментов приведены в табл. 1. Выбор сделан на основе анализа трехмерных структур факторов инвазии [10, 11]. Выбранные фрагменты

генов кодировали функционально-значимые домены бактериальных белков, вовлеченные в непосредственный контакт с эукариотическими рецепторами в ходе процесса инвазии. Для интерналинов *L. monocytogenes* это были LRR-домены [10], для инвазина *Y. pseudotuberculosis* – С-концевые D4 и D5 домены [11].

Анализ нуклеотидных последовательностей выявил существенно более низкую вариабельность гена инвазина *Y. pseudotuberculosis* по сравнению с вариабельностью генов интерналинов *L. monocytogenes*. Наибольшую вариабельность показали гены интерналинов В (*inlB*, 62 замены) и Е (*inlE*, 91 замена). У всех генов выявлены несинонимические замены, приводящие к аминокислотным заменам в последовательностях функционально-значимых доменов факторов инвазии (табл. 1).

Для *L. monocytogenes* обнаружена специфичность распределения аллелей в зависимости от сероварианта: аллели каждого из изученных генов, обнаруженные у изолятов, принадлежащих к серовариантам 4b и 1/2b, не встречались среди изолятов, относящихся к сероварианту 1/2a, и наоборот. Наблюдаемые различия характеризовали ранее описанное разделение вида *L. monocytogenes* на три филогенетические линии, каждая из которых объединяет несколько серовариантов [14, 15]: к первой линии относятся штаммы серовариантов 1/2b, 4b, 4d, 4e, ко второй – 1/2a и 3a, к третьей – редко встречающиеся штаммы серовариантов 4a и 4c. У *Y. pseudotuberculosis* не обнаружено специфичности распределения аллелей в зависимости от сероварианта: изоляты III сероварианта и большинство изолятов, относящихся к I сероварианту, несли один и тот же аллель гена *inv*.

При анализе распределения аллелей в субпопуляциях, сформированных в зависимости от источника выделения, для *Y. pseudotuberculosis* показано, что субпопуляция иерсиний, выделенных от грызунов, достоверно отличалась от субпопуляции этих бактерий, вызвавших инфекционный процесс у людей и у контрольной группы изолятов. Если среди изолятов, полученных от больных и из окружающей среды, преобладал один аллель 1, то среди изолятов, выделенных от грызунов, аллели 1 и 2 встречались с сопоставимыми частотами (табл. 2). Аллель 2 отличался от аллеля 1 двумя подряд расположенными аминокислотными заменами: серина на треонин в положении 768 и валина на аланин в положении 769.

Для *L. monocytogenes* специфичность распределения аллелей среди субпопуляций, сформированных в зависимости от источника выделения, различалась для разных генов. Среди изолятов, полученных из мертворожденных плодов, низкую вариабельность демонстрировали гены *inlA* и *inlC*: распределение их аллелей среди клинических изолятов достоверно отличалось от распределения аллелей среди субпопуляций бактерий, изолированных от грызунов, из продуктов питания и окружающей среды. Среди изолятов, выделенных от диких мышевидных грызунов,

Таблица 2

Распределение аллелей генов инвазии *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* в соответствии с источником выделения

Возбудитель	Ген	Общее число аллелей ¹	Хозяин (источник выделения)										
			пациенты		грызуны		смешанный ²						
			аллель	% ³	аллель	% ³	аллель	% ³					
<i>L. monocytogenes</i>	<i>inlA</i>	12	1 ⁴ 5	75 25	1 2 4 9 10	20 20 20 20	1	17					
							2	17					
							4	8					
							6	8					
							7	16					
							8	8					
							9	16					
							10	8					
							10	8					
							10	8					
	<i>inlB</i>	18	1 3 9 10 14	11 33 33 11 33	1 ⁴ 14 ⁴	40 60	1	17					
							4	8					
							7	8					
							11	8					
							12	8					
<i>inlC</i>	11	1 ⁴ 6 9	67 22 11	1 5 6 8	20 20 40 20	1	17						
						4	17						
						6	24						
						7	8						
						9	16						
						10	8						
						10	8						
						12	8						
						<i>inlE</i>	11	1 3 4 6 8 10	33 22 11 11 11	1 6 8 7	40 20 20	1	24
												2	16
6	24												
8	16												
10	8												
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>inv</i>	3	1 ⁴ 2	96 4	1 2	55 45	1 ⁴ 3	89 11					

¹ При исследовании описываемой коллекции штаммов.

² Носители, окружающая среда и продукты питания

³ Доля изолятов, имеющих этот аллель, от общего числа изолятов данной группы (число изолятов для каждой группы приведено в «Материале и методах»).

⁴ Аллели, преобладающие среди определенной группы изолятов.

низкая вариабельность отмечена для гена *inlB*. Распределение *inlE* было равномерным среди всех групп изолятов (табл. 2).

Анализ LRR-доменов интерналинов выявил ряд филогенетически определенных замен, присутствовавших у всех изолятов, относящихся к одной филогенетической линии, и отсутствующих у изолятов, относящихся к альтернативной линии. Кроме того, были найдены замены, не связанные с филогенетическим положением, а наблюдаемые только у отдельных бактериальных культур, принадлежащих к одной или к обеим линиям. Среди замен были как гомологичные – на близкие по строению аминокислоты, например, изолейцина на лейцин или валин, так и замены на аминокислоты, отличающиеся по свойствам. Среди

Таблица 3

Аминокислотные замены в белках-интерналинах *L. monocytogenes*

Белок ¹	Положение	Замена ²	Хозяин (источник выделения), % замен ³		
			пациенты	грызуны	смешанный ⁴
<i>InlA</i>	54	Ala/Pro	22	0	0
	118	Asp/Asn	11	22	58
	142	Ser/Thr	33	20	89
	187	Ser/Asn	22	44	33
<i>InlB</i>	72	Gln/Pro/His	33	0	0
	73	Asn/Ser	44	0	17
	164	Pro/Leu	22	0	11
<i>InlC</i>	197	Glu/Gln	33	60	78
	116	Lys/Asn	0	20	17
	126	Val/Met	0	20	22
	146	Phe/Cys	0	20	0

¹ Белки, среди которых наблюдались хозяинспецифические различия во встречаемости отдельных вариантов.

² Замены, отличающие группы изолятов, выделенных от разных хозяев (т.е. замены, присутствующие у всех изолятов, относящихся к одной филогенетической линии, и отсутствующие у другой), не приведенные замены гомологичных аминокислот (например, Ile/Leu, Ile/Val и т.п.).

³ Доля изолятов, имеющих замены, от общего числа изолятов, относящихся к данной группе.

⁴ Носители, окружающая среда и продукты питания.

последней группы особый интерес представляли замены, которые встречались или, наоборот, отсутствовали у изолятов, полученных от определенного хозяина (табл. 3). Обращал на себя внимание факт, что некоторые позиции являлись более консервативными у культур, выделенных от определенного хозяина. В частности, у *L. monocytogenes* от диких грызунов, консервативными оказались позиции 72, 73 и 164 в *InlB*, а у клинических изолятов – позиции 116, 126 и 146 в *InlC* (табл. 3). Замены в положении 54 у *InlA* и 72 у *InlB* найдены только у клинических изолятов листерий.

Обсуждение полученных данных. Исследуя последовательности генов факторов инвазии возбудителей сапронозов *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis*, мы выявили ряд нуклеотидных замен, часть из которых были синонимическими, в то время как другие приводили к заменам в аминокислотной последовательности функционально-значимых доменов. Проведенный анализ выявил неравномерность распределения аллелей среди культур, выделенных из различных источников. Для гена инвазина *Y. pseudotuberculosis* аллель 1 преобладал среди клинических изолятов, в то время как среди культур, выделенных от грызунов, с равными частотами встречались аллель 1 и аллель 2, отличавшиеся друг от друга двумя аминокислотными заменами. Для генов, кодирующих интернарины *L. monocytogenes*, было выявлено преобладание определенных аллелей среди изолятов, выделенных от определенного хозяина: например, среди изолятов от

людей, но не других групп изолятов, низкая вариабельность характеризовала гены *inlA* и *inlC*, а среди культур, выделенных от грызунов, – *inlB*.

Несмотря на удаленность филогенетического положения, *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* характеризуются схожей экологией как с точки зрения их широкого распространения в различных природных объектах, в том числе почве, воде, растениях и теплокровных животных, относящихся к разным видам, так и с точки зрения способности активно проникать в эукариотические клетки экто- и эндотермных организмов. Пересечение названными микроорганизмами эпителиального барьера кишечника путем активной инвазии в клетки является критическим моментом в развитии как листериозной, так и иерсиниозной инфекций.

Эукариотические рецепторы, узнаваемые бактериальными факторами инвазии, консервативны и встречаются практически у всех многоклеточных организмов. Однако вариации в последовательностях этих рецепторов наблюдаются даже среди разных видов млекопитающих. Е-кадхерин, узнаваемый поверхностным белком *InlA* *L. monocytogenes*, относится к семейству белков кадхеринов, играющих важную роль в установлении межклеточных контактов и поддержании структуры тканей. Семейство кадхеринов включает несколько членов (Е, N, Р и др.), которые экспрессируются в разных типах клеток. Е-кадхерин представлен на поверхности эпителиальных клеток, в том числе энтероцитов, выстилающих кишечник. Кадхерины – консервативные белки, однако для них известно существование межвидовой вариабельности, например, Е-кадхерин мышевидных грызунов отличается от такового у людей рядом аминокислотных замен, причем одна из них – замена пролина на глутаминовую кислоту в 16-м положении – приводит к нарушению его взаимодействия с *InlA* *L. monocytogenes* [8]. Белок Met, известный как рецептор фактора роста гепатоцитов, помимо них имеется и на поверхности других клеток, в том числе некоторых эпителиальных и эндотелиальных. Как и Е-кадхерин, Met относится к числу консервативных белков, которые встречаются у всех видов млекопитающих. Межвидовые вариации в последовательности Met определяют эффективность взаимодействия белка *InlB* с этим рецептором, в частности, *InlB* эффективно взаимодействует с человеческим и мышинным Met, но не связывается с этим белком морских свинок и кроликов [7].

Интегрин, с которым взаимодействует инвазин *Y. pseudotuberculosis*, как и белки семейства кадхеринов, находится в местах плотных контактов, участвуя в поддержании целостности эпителиальной выстилки [6]. Интегрины характеризуются высокой вариабельностью, например, у млекопитающих найдено 19 α -субъединиц и 8 β -субъединиц, которые, взаимодействуя в различных комбинациях, приводят к созданию около 25 тканеспецифических двухсубъединичных белков. Интегрины также характеризуются

достаточно высоким уровнем межвидовой вариабельности, однако до настоящего времени данных о видовой специфичности взаимодействия между инвазином *Y. pseudotuberculosis* и видоспецифическими вариантами интегрин опубликовано не было.

Большинство бактериальных белков, в том числе поверхностные, также характеризуется определенной вариабельностью. В частности, гены *L. monocytogenes*, кодирующие белки семейства интерналинов, высоковариабельны [13, 15]. Анализ фрагмента гена *InlB* среди изолятов, выделенных на территории России, выявил 56 полиморфных сайтов [15]. В данной работе в последовательностях *inlA*, *inlB*, *inlC* и *inlE* мы выявили 6, 25, 8 и 48 несинонимических (т.е. приводящих к изменениям в последовательности белка) нуклеотидных замен соответственно. В последовательности гена инвазина *Y. pseudotuberculosis* из четырех выявленных мутаций две приводили к аминокислотным заменам.

Одним из возможных следствий вариабельности бактериальных факторов инвазии может быть отбор вариантов, более эффективно взаимодействующих с рецепторами определенного вида млекопитающих и, соответственно, позволяющих имеющему данный аллельный вариант штамму более эффективно проникать в клетки конкретного вида животных. Функционирование такой системы будет особенно эффективно при низких дозах заражения, что, вероятно, имеет место в дикой природе. Эффективная инвазия в конкретный вид млекопитающих позволяет возбудителю повысить свою численность и может становиться причиной более широкого распространения данного штамма в природных очагах.

Существование спектра штаммов, несущих отличающиеся по тропности варианты ключевых факторов патогенности, обеспечит эффективное взаимодействие вида с широким кругом хозяев. Таким образом, вариабельность функциональных доменов факторов инвазии может быть одним из механизмов, лежащих в основе полигостальности возбудителей сапронозов.

Литература

1. Ермолаева С.А., Литвин В.Ю., Пушкарева В.И. Современное развитие идей Н.Ф. Гамалеи в области изучения возбудителей сапронозов // 150 лет со дня рождения Николая Федоровича Гамалеи: сб. работ. М., 2009. С. 22–31.
2. Псевдотуберкулез / Сомов Г.П., Покровский В.И., Беседнова Н.Н., Антоненко Ф.Ф. М.: Медицина, 2001. 254 с.
3. Тартаковский И.С., Малеев В.В., Ермолаева С.А. Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика. М.: Медицина для всех, 2002. 200 с.
4. Тимченко Н.Ф., Недашковская Е.П., Долматова Л.С., Сомова-Исачкова Л.М. Токсины *Yersinia pseudotuberculosis*. Владивосток: Примполиграфкомбинат, 2004. 219 с.
5. Cossart P., Sansonetti P.J. Bacterial invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens // Science. 2004. Vol. 304. P. 242–248.
6. Holzmann B., Weissman IL. Integrin molecules involved in lymphocyte homing to Peyer's patches // Immunol. Rev. 1989. Vol. 108. P. 45–61.
7. Khelef N., Lecuit M., Bierne H., Cossart P. Species specificity of the *Listeria monocytogenes* *InlB* protein // Cell Microbiol. 2006. Vol. 8, No. 3. P. 457–470.

8. Lecuit M., Dramsi S., Gottardi C. et al. A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen *Listeria monocytogenes* // *EMBO J.* 1999. Vol. 18, No. 14. P. 3956–3963.
9. Machner M.P., Frese S., Schubert W.D. et al. Aromatic amino acids at the surface of InlB are essential for host cell invasion by *Listeria monocytogenes* // *Mol Microbiol.* 2003. Vol. 48, No. 6. P. 1525–1536.
10. Marino M., Braun L., Cossart P., Ghosh P. A framework for interpreting the leucine-rich repeats of the *Listeria internalins* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97, No. 16. P. 8784–8788.
11. McGraw E.A., Li J., Selander R.K., Whittam T.S. Molecular evolution and mosaic structure of alpha, beta, and gamma intimins of pathogenic *Escherichia coli* // *Mol. Biol. Evol.* 1999. Vol. 16, No. 1. P. 12–22.
12. Van Nhieu G.T., Isberg R.R. The *Yersinia pseudotuberculosis* invasion protein and human fibronectin bind to mutually exclusive sites on the alpha 5 beta 1 integrin receptor // *J. Biol. Chem.* 1991. Vol. 266, No. 36. P. 24367–24375.
13. Tsai Y.H., Orsi R.H., Nightingale K.K., Wiedmann M. *Listeria monocytogenes internalins* are highly diverse and evolved by recombination and positive selection // *Infect. Gen. Evol.* 2006. Vol. 6, No. 5. P. 378–389.
14. Wiedmann M., Bruce J.L., Keating C. et al. Ribotypes and virulence gene polymorphisms suggest three distinct *Listeria monocytogenes* lineages with differences in pathogenic potential // *Infect. Immun.* 1997. Vol. 65, No. 7. P. 2707–2716.
15. Zaytseva E., Ermolaeva S., Somov G.P. Low genetic diversity and epidemiological significance of *Listeria monocytogenes* isolated from wild animals in the far east of Russia // *Infect. Gen. Evol.* 2007. Vol. 7, No. 6. P. 736–742.

Поступила в редакцию 20.02.2010.

VARIABILITY OF FUNCTIONAL DOMAINS OF INVASION FACTORS AS MOLECULAR BASIS FOR POLYHOSTALITY OF SAPRONOSIS-INDUCED MICROORGANISMS

S.A. Ermolaeva¹, E.A. Zaitseva², N.F. Timchenko², R.R. Adgamov¹
¹ Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamalei (18 Gamalei St. Moscow 123098 Russia), Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of RAMS (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia)

Summary – The sapronosis pathogens are characterised by polyhostality, in other words, by a capability of existing and/or causing disease in a wide range of hosts. The authors study variability of genes encoding invasion factors using 86 *Listeria monocytogenes* isolates and 84 *Yersinia pseudotuberculosis* isolates. All genes have non-synonymous mutations causing amino-acid replacements. The gene *inv* that encodes *Y. pseudotuberculosis* invasions has two non-synonymous mutations that differ allele 1 from allele 2. Allele 1 dominates among *Y. pseudotuberculosis* isolates derived from sick people and the environment. The isolates derived from gnawing animals have alleles 1 and 2 to be observed with the same frequency. The gene sequences *inlA*, *inlB*, *inlC* and *inlE* encoding internaline proteins *L. monocytogenes* have 6, 25, 8 and 48 non-synonymous mutations, respectively. A range of replacements is characterised by all isolates belonging to one serovar group. No replacements are observed in isolates of other serovars. Besides, *L. monocytogenes* isolates are characterised by uneven distribution of amino-acid replacements, depending on the source of excretion. One of possible consequences of polymorphism of invasion factors can be sampling of strains that more effectively interact with certain variants of eukaryotic receptors and thus more efficiently penetrate the cells of a mammal.

Key words: *Listeria monocytogenes*, *Yersinia pseudotuberculosis*, invasion factors, genetic variability.

Pacific Medical Journal, 2010, No. 4, p. 24–28.

УДК 616.24-036.12-085:613.25

СОСТОЯНИЕ НУТРИТИВНОГО СТАТУСА И ОПЫТ ЕГО КОРРЕКЦИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

В.А. Невзорова¹, Д.А. Бархатова¹, Т.А. Бродская¹, В.А. Кудрявцева², Т.К. Каленик³, Е.В. Моткина¹, П.А. Лукьянов⁴

¹ Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),

² Городской аллергореспираторный центр (690034, г. Владивосток, ул. Спортивная, 10),

³ Тихоокеанский государственный экономический университет (690091 г. Владивосток, Океанский пр-т, 19),

⁴ Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН (690022 г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 159)

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, нутритивный статус, питание, антиоксиданты.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) характеризуется прогрессирующей необратимой бронхиальной обструкцией, развитием системного воспаления и формированием питательной недостаточности. Оксидативный стресс, дисбаланс системы цитокинов, апоптоза, повышение активности воспалительных клеток, как основные составляющие системного воспаления, требуют больших белково-энергетических затрат, приводя к формированию питательной недостаточности [14, 15]. Причинами потери преимущественно мышечной массы тела при ХОБЛ является нарушение структуры и функции миоцитов вследствие воздействия оксидантов, усиления катаболизма белка в условиях недостаточного потребления питательных веществ [8, 12]. Питательная недостаточность нарушает легочную функцию, воздействуя на мышцы диафрагмы, ослабляя защитные механизмы дыхательной системы и создавая порочный патологичный круг [4]. Это

приводит к ухудшению течения и прогноза заболевания, значительному снижению удовлетворенности пациентов ХОБЛ качеством жизни [6].

С целью коррекции метаболических нарушений применяется дополнительное питание, его сочетание с программами физической нагрузки и анаболическими стероидами, антиоксидантные препараты [5, 7, 9, 10, 13]. Перечисленные подходы улучшают функцию скелетной мускулатуры, показатели внешнего дыхания, нутритивного статуса и качество жизни больных ХОБЛ [4, 5, 9, 13]. Более глубокое понимание механизмов формирования питательной недостаточности помогут разработать новые стратегии лечения, направленные на торможение и купирование бронхообструкции, системного воспаления и ухудшения нутритивного статуса у пациентов с ХОБЛ [1, 4].

Невзорова Вера Афанасьевна – д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой терапии ФПК и ППС ВГМУ; тел.: 8 (4232) 45-17-02; e-mail: vgm.u.nauka@mail.ru