онных реакций, что свидетельствует о критических резервах компенсаторных механизмов. При этом существующие традиционные методы ведения больных в данный период лечения не обеспечивают эффективной защиты от внешних и внутренних раздражителей. Это определяет актуальность поиска средств медикаментозной стимуляции собственных защитных сил организма, с одной стороны, или попытки протективного влияния за счет купирования явлений эндотоксикоза во время проведения полихимиотерапии. Например, проведение курса энтеросорбции.

Работа представлена на III научную конференцию с международным участием «Гомеостаз и эндоэкология», 19-26 февраля 2005г. Хургада (Египет) Поступила в редакцию 19.01.05 г.

ЭФФЕКТОРНЫЕ YOPS: ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ЭНТЕРОПАТОГЕННЫМИ ИЕРСИНИЯМИ В ИНТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ УСЛОВИЯХ

Петрова А.В., Федорова В.А, Девдариани З.Л.
Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Подобно *Y. pestis*, энтеропатогенные иерсинии несут в геноме pCad, продукты которой позволяют бактериям противостоять защитным механизмам макроорганизма со стороны клеточного звена иммунной системы. Благодаря этому клетки чумы способны выживать внутри фагоцита и активно пролиферировать [Cornelis *et al*., 1998-2004]. Известно участие в этом процессе ряда белков внешней мембраны (Yops), кодируемых pCad, шесть из них являются эффекторными (Yop E, Yop H, Yop M, Yop P, Yop T, Yop O), поскольку их действие направлено на подавление фагоцитарной активности иммунной системы макроорганизма [Rosqvist *et al*., 1991]. Большинство из них синтезируется бактериями чумы в условиях, имитирующих фаголизосому *in vitro* [Федорова с соавт., 2004]. О взаимодействии других патогенных иерсиний с макрофагальным звеном организма хозяина до сих пор нет точных сведений.

Целью настоящей работы явилось изучение *in vitro* особенностей биосинтеза Yop E, Yop H, Yop M, Yop P и Yop T бактериями псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза в условиях, приближенных к внутренней среде фаголизосомы макрофагов млекопитающих.

Для этого микроорганизмы плазмидсодержащих штаммов *Y. pseudotuberculosis* 7_1 и *Y. enterocolitica* КМ-33 выращивали при 37°С в течение 0,5-12 ч на рутинных питательных средах с добавлением 20 mM ионов магния и 0,1 % галактозы [Коробова с соавт., 1985; Straley *et al*., 1982, 1984, и др.] и снижением pH до 4,0 [Janeway, Travers, 1997], а также при pH 7,0 без добавок для контроля. Продукцию Yops определяли в ДИА с помощью сывороток, полученных ранее [Feodorova, Devdariani, 2001] и путем иммунизации мышей очищенными препаратами Yop H/M и Yop E [Микеров, 1999].

Белок Yop E выявлялся в условиях, имитирующих фаголизосому, только в культуральной жидкости (секретируемая форма) у *Y. enterocolitica*. У *Y. pseudotuberculosis* этот белок обнаруживался в следовых количествах. В нейтральных условиях, что, на наш взгляд, больше соответствует внутренней среде фагосомы [Janeway, Travers, 1997], антиген экспрессировался у возбудителя псевдотуберкулеза на поверхности микробной клетки (м. кл.) (мембраносвязанная форма). Кишечноиерсиниозными бактериями белок продуцировался в обеих формах, но в меньших количествах.

Yop H/M не выявлялся у изучаемых микроорганизмов в кислых условиях, однако при нейтральном pH среды он обнаруживался в следовых количествах. Характерно, что у *Y. enterocolitica* его синтезировалось несколько больше, хотя он определялся преимущественно на поверхности м. кл.

Yop T у обоих штаммов экспрессировался независимо от условий культивирования. Однако при pH 7,0 у *Y. enterocolitica* белок присутствовал в культуральной жидкости и на клеточной мембране бактерий, у *Y. pseudotuberculosis* – только в мембраносвязанной форме. В фаголизосомальных условиях значительное количество белка определялось на поверхности клеток, продукция продолжалась и в культуральную жидкость, но в следовых количествах у обоих микроорганизмов.

Обе формы Yop P у энтеропатогенных иерсиний выявлялись в условиях, имитирующих фагосому. Секретируемая форма антигена обнаруживалась у псевдотуберкулезных бактерий только на ранних этапах культивирования (через 30 мин). У кишечноиерсиниозных бактерий превалировала мембраносвязанная форма белка, секретируемая форма регистрировалась спустя 3 ч. При закислении среды до 4,0 полипептид обнаруживался только на поверхности м. кл. обоих штаммов.

Т.о., в отличие от возбудителей чумы, бактерии вирулентных штаммов псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза в условиях, приближенных *in vitro* к фаголизосомальным, синтезируют только 2 белковые субстанции (Yop P и Yop T). Однако отсутствие положительной реакции Yop H/M с гомологичными антителами, на наш взгляд, не может говорить об утрате способности микробных клеток синтезировать белок в вышеуказанных условиях. Возможно, указанные антигены, подобно Yop E или фибринолизину [Федорова с соавт., 2004], экспрессируются в какой-либо другой форме, детектируемой иными методами иммунохимического анализа, что открывает перспективу для дальнейших исследований.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 03-04-48067.

Работа представлена на научную конференцию с международным участием «Фундаментальные и прикладные проблемы медицины и биологии», ОАЭ (Дубай) 11-18 марта 2005 г.