

25. Stites S. W., Walters B., O'Brien-Ladner A. R., Bailey K., Wesselius L. J. Increased iron and ferritin content of sputum from patients with cystic fibrosis or chronic bronchitis. *Chest*, 1998, vol. 114, no. 3, pp. 814–819.
26. Thomas, M. S. Iron acquisition mechanisms of the *Burkholderia cepacia* complex. *Biometals*, 2007, vol. 20, no. 3–4, pp. 431–452. doi: 10.1007/s10534-006-9065-4.
27. Tullius M. V., Harmston C. A., Owens C. P., Chim N., Morse R. P., McMath L. M., Iniguez A., Kimmey J. M., Sawaya M. R., Whitelegge J. P., Horwitz M. A., Goulding C. W. Discovery and characterization of a unique mycobacterial heme acquisition system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, vol. 108, no. 12, pp. 5051–5056. doi:10.1073/pnas.1009516108.
28. Wiens J. R., Vasil A. I., Schurr M. J., Vasil M. L. Iron-regulated expression of alginate production, mucoid phenotype, and biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *MBio*, 2014, vol. 5, no. 1, e01010-13. doi: 10.1128/mBio.01010-13.
29. Wilschanski M. Novel Therapeutic Approaches for Cystic Fibrosis. *Discovery medicine*, 2013, vol. 15, no. 81, pp. 127–133.
30. Wolz C., Hohloch K., Ocaktan A., Poole K., Evans R. W., Rochel N., Albrecht-Gary A. M., Abdallah M. A., Döring G. Iron release from transferrin by pyoverdinin and elastase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and Immunity*, 1994, vol. 62, no. 9, pp. 4021–4027.

03.02.03 – Микробиология (медицинские науки)

УДК 616.-002.8: 616-008.98
DOI 10.17021/2020.15.1.65.73
© О.В. Кондратенко, 2020

АДАПТАЦИЯ И ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ ШТАММОВ *BURKHOLDERIA CEPACIA* COMPLEX В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ

Кондратенко Ольга Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89, тел.: 8-927-200-55-00, e-mail: helga1983@yandex.ru.

Муковисцидоз является самым частым наследственным заболеванием, его прогноз, а также продолжительность жизни пациентов обусловлены тяжестью респираторной патологии. В ряду наиболее прогностически неблагоприятных возбудителей муковисцидоза лидируют бактерии *Burkholderia cepacia* complex. При бронхопальмональной колонизации они способны приводить к развитию «серасия»-синдрома, являющегося одной из основных причин летальности пациентов. С момента начала колонизации и до ее завершения в микробной популяции происходит большое количество приспособительных изменений, направленных на ее сохранение. Одним из таких процессов можно считать явление гетерогенности, микробиологическое и клиническое значение которого показано в обзоре, отражающем опыт европейских исследователей. Кроме того, освещены и другие адаптационные процессы. Показано, что штаммы, изолированные в начале и в конце инфекции, различаются по морфологическим и культуральным свойствам, чувствительности к антибиотикам и ультрафиолетовому облучению, способности к адгезии и инвазии, а также продукции О-антигена и способности к утилизации железа.

Ключевые слова: гетерогенность, *Burkholderia cepacia* complex, муковисцидоз, адаптация, О-антиген.

ADAPTATION AND HETEROGENEITY OF *BURKHOLDERIA CEPACIA* COMPLEX STRAINS POPULATION IN CONDITIONS OF CHRONIC INFECTION IN CYSTIC FIBROSIS

Kondratenko Olga V., Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of Department, Samara State Medical University, 89 Chapayevskaya St., Samara, 443099, Russia, tel.: 8-927-200-55-00, e-mail: helga1983@yandex.ru.

Cystic fibrosis is the most common hereditary disease, the life expectancy and prognosis of which is determined by the severity of respiratory pathology. One of the most prognostically unfavorable pathogens in this disease are bacteria *Burkholderia cepacia* complex. With bronchopulmonary colonization, they can lead to the development of “cepacia” - a syndrome that is one of the main causes of mortality in patients. From the beginning of colonization until its completion, a significant number of adaptive changes aimed at its preservation occur in the microbial population. One of such

processes can be considered the phenomenon of heterogeneity. The review shows the experience of European researchers, reflecting the microbiological and clinical significance of this phenomenon, as well as a number of other adaptation processes. It is shown that strains isolated at the beginning and end of infection differ in their morphological and cultural properties, sensitivity to antibiotics and ultraviolet radiation, ability to adhesion and invasion, as well as the production of O-antigen and the ability to utilize iron.

Key words: *heterogeneity, Burkholderia cepacia complex, cystic fibrosis, adaptation, O-antigen.*

Муковисцидоз (МВ) является наиболее распространенным наследственным заболеванием, обусловленным мутацией гена, который расположен на длинном плече седьмой хромосомы, и передающимся по аутосомно-рецессивному пути при наследовании двух мутантных аллелей. В результате мутации гена происходит нарушение синтеза, структуры и функции белка трансмембранного регулятора проводимости, поэтому хлорные каналы становятся патологически непроницаемыми для ионов хлора при гиперабсорбции натрия и одновременном поступлении в клетку воды, что вызывает дегидратацию апикальной поверхности секреторного эпителия и увеличение вязкости слизи. Заболевание является мультисистемным, поражающим преимущественно дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, печень, поджелудочную железу, а также слюнные, потовые железы, репродуктивную систему. При этом патология дыхательных путей является основной причиной осложнений и летальности. Генетический дефект, лежащий в основе патогенеза МВ, как известно, приводит к повышению вязкости респираторного секрета, что создает комфортные условия для роста и размножения бактериальной популяции [1, 2, 4, 5].

В структуре основных бактериальных патогенов при МВ можно выделить *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter xylosoxidans*. Однако наиболее «проблемными» возбудителями в настоящее время считаются бактерии *Burkholderia cepacia complex* [1, 2, 3]. Изначально выделенные В. Буркхольдером как фитопатогены, уже через год они были описаны как возбудители инфекций человека, а спустя несколько лет выделены и от пациентов с МВ. Сегодня бактерии группы *Burkholderia cepacia complex* являются одними из самых прогностически неблагоприятных патогенов при МВ, способных к формированию хронической инфекции, которая приводит в 20 % случаев к развитию «серасиа»-синдрома [1, 4].

Виды *Burkholderia cepacia complex* характеризуются высокой пластичностью генома, что дает им большое преимущество в адаптации в стрессовой среде легких [9, 13, 15]. Широко распространенное положительное селективное давление в геноме *Burkholderia cepacia complex* приводит к появлению множества фенотипических клональных вариантов, которые демонстрируют различные паттерны антибиотикорезистентности и другие различия [8, 12, 22]. Понимание основных механизмов, используемых бактериями *Burkholderia cepacia complex* для адаптации к среде дыхательных путей, имеет решающее значение для борьбы с хронической инфекцией и оптимизации терапии. Изучение механизмов и динамики эволюции микробов в среде хозяина и ее взаимосвязи с патогенностью и вирулентностью в настоящее время являются предметом первостепенной важности в науках о здоровье.

Создание в легких популяции буркхольдерий с высокой плотностью способствует накоплению в ней мутаций и участию мутантных клонов в естественном отборе. Известно, что микробная популяция, особенно при культивировании *in vivo*, не может оставаться гомогенной по своим свойствам, даже если изначально вся популяция являлась клональным потомком одной клетки. После определенного числа делений в каждой бактериальной популяции появляются генетически гетерогенные особи. Это происходит в результате обмена генетической информацией как в рамках указанной популяции, так и с другими микроорганизмами, присутствующими в легких при МВ. Обмен информацией при этом происходит за счет явлений трансформации, трансдукции, конъюгации, а также при участии мобильных генетических элементов, в частности R-плазмид. Показано, что данные образования способны не только приводить к распространению лекарственной устойчивости, но и увеличивать сроки выживания патогенов в окружающей среде, что является дополнительным фактором, повышающим вероятность инфицирования в условиях стационара и в быту.

В то же время при хронической легочной инфекции условно-патогенные микроорганизмы в дыхательных путях при МВ развиваются в ответ на стресс-селективное давление, оказываемое средой хозяина, в результате действия факторов иммунной системы, антимикробной терапии, снижения доступности питательных веществ и ограничения кислорода. Это приводит к появлению фенотипических вариантов основной клональной популяции, которые проявляют различные паттерны антимикробной восприимчивости, например, размер образованных биопленок и другие фенотипические различия [9].

Гетерогенность популяции для бактерий является важным фактором для сохранения вида. Она повышает надежность существования вида, особенно в условиях вынужденного противостояния неблагоприятным средовым факторам, одним из которых, при хронической инфекции, ассоциированной с *Burkholderia cepacia* complex, является непрерывная антибактериальная терапия. Появление в составе многомиллионной бактериальной популяции буркхольдерий хотя бы одной особи, устойчивой к применяемому в отношении нее антибактериальному препарату, обеспечивает под его влиянием отбор только резистентных особей и формирование популяции с фенотипом лекарственной устойчивости. По этой причине применение антибактериальных препаратов без изучения и учета клональной структуры популяции может быть объяснено не только отсутствием клинического эффекта от терапии, но и увеличением количества резистентных особей в результате естественного отбора.

Имеющаяся у популяции бактерий изначальная минимальная гетерогенность усиливается и нарастает по мере воздействия на нее неблагоприятных факторов. Возрастает вариабельность клеток по размеру, антибиотикорезистентности, гемолитической активности и другим свойствам.

При этом популяция буркхольдерий, выделенных из мокроты пациентов с МВ, может быть морфологически как гомогенной, так и гетерогенной. Получение при культивировании морфологически однородной культуры не исключает вероятности их генетической неоднородности, в том числе и различий по антибиотикорезистентности. По этой причине определение антибиотикорезистентности только одной колонии может не давать или даже искажать данные об устойчивости популяции в целом. Действие на бактериальную популяцию любых факторов, лимитирующих или снижающих ее численность, а особенно прекращение их воздействия, может приводить к росту численности популяции измененного штамма.

Под действием факторов иммунной системы и антибактериальной терапии в гетерогенной популяции происходят наиболее существенные сдвиги, заключающиеся в селекции клонов с определенным набором биологических признаков. По мере роста и развития часть клонов – определенный фенотип – может исчезать или заменяться другим клональным потомком. Можно предположить, что при МВ исход инфекции, ассоциированной с *Burkholderia cepacia* complex, в том числе и переход в «сераси́а»-синдром, определяется и степенью гетерогенности штамма, колонизирующего дыхательные пути пациента.

Первым случаем описания гетерогенности популяции буркхольдерий при МВ следует считать публикацию исследователей из Португальского центра МВ, где авторы приводят описание двух пар малых и «нормальных» морфотипов данных бактерий, выделенных из мокроты пациентов с МВ. При этом ученые продемонстрировали, что малые колониальные варианты показали себя более устойчивыми к антибактериальным препаратам и ультрафиолетовому облучению. Первое обстоятельство может приводить к неэффективности лечения при использовании стандартных схем терапии, а второе – повышать сроки выживания возбудителей на объектах окружающей среды, тем самым увеличивая вероятность распространения указанного морфотипа среди пациентов. Кроме того, малые колониальные варианты оказались более активными пленкообразователями по сравнению с колониями стандартного размера, а также более вирулентными [8, 9].

Было выяснено, что мутация в гене *mavAsRNA* у буркхольдерий приводит к формированию морфотипа, устойчивого к имипенему, цефтазидиму, тетрациклину и ко-тримоксазолу, тем самым повышая шансы популяции на выживание [8, 9]. Более резистентные клоны были получены после обострения и более агрессивной терапии. Таким образом, стресс, полученный бактериальной популяцией вследствие действия антибактериальной терапии, приводит к появлению устойчивой популяции [9]. Установлено, что низкое содержание кислорода в легочной ткани при МВ также является важным фактором формирования антибиотикорезистентности [9, 17, 33].

Адаптивным ответом на рост в условиях гипоксии является снижение степени насыщения клеточных мембран жирными кислотами. У штаммов в процессе многолетней колонизации в легких снижается процент насыщения клеточной стенки насыщенными жирными кислотами и повышается содержание ненасыщенных жирных кислот, что является результатом адаптации бактерий к селективному давлению в условиях окислительного стресса и гипоксии [8].

К фенотипическим признакам, связанным с персистенностью и патогенностью бактерий, относятся, помимо различий в антибиотикорезистентности, эффективность роста при ограничении доступности железа, а также продукция экзополисахаридов.

Свойства исходного изолята и полученного спустя несколько лет после инфицирования отличались. Сравнение штаммов, выделенных в начале инфицирования и спустя 3 года, показало, что у последних имеется более выраженная устойчивость к антибактериальным препаратам, активация

белков и генов, связанных с транспортом железа, более высокая способность к извлечению железа из среды с ограниченным его содержанием. Более высокая способность к поглощению железа является адаптивной чертой, которая способствует повышению устойчивости бактериальной популяции в легочной ткани [9, 37]. В то же время штаммы, выделенные в начале инфицирования, менее приспособлены к росту в условиях ограничения железа.

Изоляты, полученные в последние месяцы жизни пациентов, обнаруживают повышенное содержание белков, поглощающих железо и способных более эффективно захватывать железо из окружающей среды. Четыре белка, участвующих в поглощении железа, более распространены в поздних изолятах. Три из них также сверхэкспрессируются в позднем изоляте по сравнению с ранним. Это предполагаемый белок, взаимодействующий с сидерофором, предполагаемый белок рецептора пиохелина FptA и TonB-зависимый рецептор [25]. OrbC, предполагаемо связанный с транспортом железа АТФ-связывающий белок, экспрессия гена которого повышена за счет OrbS в условиях депривации железа, был сверхэкспрессирован только в последнем изоляте. Значительный уровень сидерофоров секретируется изолятами в течение 2 часов после воздействия обедненной железом среды, демонстрируя способность этого вида быстро приспосабливаться к низкой концентрации железа [8].

К числу важных фенотипических модификаций относится изменение структуры липополисахарида на уровне присутствия O-антигена, влияющее на адгезию, колонизацию и способность уклоняться от действия факторов иммунной системы. Показано, что *Burkholderia cenocepacia* и *Burkholderia multivorans* способны терять O-антиген при хронической инфекции. В то же время *Burkholderia contaminans* и *Burkholderia cepacia* сохраняют свой O-антиген даже по прошествии 10–15 лет с момента инфицирования [8, 9, 11]. Во время хронической инфекции могут происходить изменения в молекуле липополисахарида буркхольдерий, являющегося одним из главных компонентов клеточной стенки, основным фактором вирулентности и способности к адгезии, ускользания от иммунной защиты и адаптации [14, 26, 31]. Структура липополисахарида состоит из трех компонентов: высокоспецифичного липида А, известного как эндотоксин, ковалентно связанного с олигосахаридом центрального ядра, и O-антигена, состоящего из повторяющихся полисахаридных единиц [36]. Большая часть гетерогенности в молекулах липополисахарида обнаруживается в полисахаридных и липидных фрагментах O-антигена [14, 26, 31]. O-антиген важен для подвижности некоторых бактерий, защиты от окислительного стресса и уклонения от иммунной системы хозяина [6, 7, 21, 29, 32, 35]. Считается, что липополисахарид является иммунодоминантной молекулой, которая может модулировать взаимодействие хозяина с патогеном, и предполагается, что он находится под селективным давлением у грамотрицательных бактерий [19, 26]. Исследования изолятов *Pseudomonas aeruginosa* при инфекции у пациентов с МВ выявили переход от гладкого – в начале инфицирования – к грубому липополисахариду с короткой или отсутствующей боковой цепью O-антигена на поздней стадии инфекции, что делает бактерии не типизируемыми [19, 26, 38]. В отношении же штаммов *Burkholderia cepacia* complex описано изменение присутствия или модификация O-антигена во время персистирующей инфекции в легких при МВ, что может повлиять на патогенность *Burkholderia cepacia* complex [16, 22, 26, 34]. Показано, что мутации в гене *manC* нарушают синтез O-антигена у поздних изолятов [32]. Так, при анализе 11 изолятов *Burkholderia cenocepacia* complex, выделенных от пациента с МВ в начале инфицирования и 3,5 года спустя, выявлено, что O-антиген присутствовал только в первом изоляте [16].

В то же время показано, что штаммы *Burkholderia dolosa* очень быстро теряют O-антиген [24]. Этим можно объяснить высокий уровень ранней летальности при инфицировании данным геномным комплексом.

Наличие O-антигена важно для уклонения от иммунного ответа, он индуцирует выработку антител, которые могут активировать систему комплемента по классическому или альтернативному пути. Измененный O-антиген способен мимикрировать под антигены хозяина, тем самым облегчая инвазию. Отмечается, что более низкое его содержание приводит к формированию морфотипа R-колоний. Дефицит O-антигена способствует усилению адгезии к эпителию бронхов [9]. Большинство изолятов, полученных в начале колонизации при культивировании на питательных средах, давало рост в виде S-колоний. Со временем часть популяции приобретала склонность к росту в виде R-колоний, и все поздние изоляты, выделенные у пациентов во время «серасия»-синдрома или незадолго до него, росли в виде R-колоний. Возможно, это обстоятельство могло бы использоваться как предиктор скорого снижения легочной функции. Потеря O-антигена способствует внутриклеточному паразитированию буркхольдерий, тем самым теряется способность бактерий к росту на питательных средах, поэтому данная ситуация может быть клинически неверно расценена как эрадикация. Отсутствие O-антигена способствует повышению выживаемости *Burkholderia cepacia* complex в эукариотических клетках человека, эпителиальных клетках и макрофагах, а также амебах [21, 26, 32]. Потеря

O-антигена для буркхольдерий является важным фактором сохранения вида посредством внутриклеточной выживаемости.

Белки, ответственные за синтез липополисахарида, а именно – фосфоманномутаза ManB и NAD-зависимой эпимеразы, имеют более низкое содержание в поздних изолятах. Фосфоманномутаза ManB участвует в синтезе липида A, а NAD-зависимая эпимераза – в синтезе олигосахарида ядра и O-антигена, которые являются компонентами липополисахарида. Обе формы фактора сборки белка YaeT, которые участвуют в экструзии белка на наружную мембрану, поддерживая гомеостатическое отношение липополисахарида к белку, имеют более высокое содержание в поздних изолятах [27, 30].

Помимо этого, выявлена повышенная регуляция многих генов, связанных с синтезом и трансляцией белков в более позднем изоляте, что может способствовать росту устойчивости к отдельным классам антибактериальных препаратов [8, 9]. Изоляты, извлеченные из мокроты одного и того же пациента в разные сроки инфекции, имели разные аллельные профили [9]. Генетическая адаптация буркхольдерий в легочной ткани при MB находит свое подтверждение при сравнении протеомов и транскриптомов клональных вариантов [9].

Проведенные исследования эпителиальных взаимодействий клональных изолятов демонстрируют, что штаммы, выделенные во время последней стадии заболевания, обладают значительно большей способностью к эпителиальной инвазии и нарушению целостности эпителиального монослоя по сравнению со штаммами, полученными в начале инфицирования. При этом исходные изоляты снижали трансэпителиальную резистентность через 8 часов, а поздние – через 4 часа. Кроме того, в поздних изолятах зарегистрировано более высокое содержание белков, участвующих в синтезе пурина и пиримидина, а также белков, участвующих в трансляции. В то же время в ранних изолятах был больше представлен белок аденилосукцинатсинтетаза, который катализирует первую стадию превращения инозината в аденозинмонофосфат. Также показано более высокое содержание белков в поздних изолятах, в том числе белка-шаперона DnaK, белка теплового шока, и триггерного фактора Tig. Белок DnaK был описан у *Brucella suis* как фактор, играющий роль в репарации белка, защищающего бактерии от окружающей среды в фагосоме макрофага [20].

Кроме того, в течение колонизации большинство штаммов утрачивает свою подвижность, что также является адаптивной реакцией бактериальной популяции [8].

Таким образом, в процессе хронической колонизации легких бактерии *Burkholderia cepacia complex* сталкиваются со стрессорными и измененными условиями окружающей среды как следствием действия со стороны иммунной системы, воспалительных реакций, антибактериальных препаратов, активных форм кислорода, высокой осмолярности, низкого значения pH, роста биопленки и присоединения других микроорганизмов [10, 18]. Исходная популяция во время длительной инфекции накапливает генетические изменения, приводящие к генотипической и фенотипической диверсификации, образуя гетерогенное бактериальное сообщество, которое очень сложно ликвидировать терапевтически [22, 23, 25, 28, 34].

Описанные динамические сдвиги, являющиеся следствием бактериальной адаптации, следует учитывать врачам-бактериологам при микробиологической диагностике, осуществляемой в виде учета гетерогенности культуры и морфотипа колоний, а также врачам-клиницистам при корректировке терапии и прогнозировании рисков возможных осложнений.

Список литературы

1. Афанасьева, М. В. Выживаемость взрослых больных муковисцидозом с хронической инфекцией респираторного тракта, обусловленного микроорганизмами *Burkholderia cepacia complex* / М. В. Афанасьева, Е. Л. Амелина, А. В. Черняк, И. Н. Бутюгина, О. Ю. Грачева, И. А. Шагинян, С. В. Поликарпова, М. Ю. Чернуха, Л. Р. Аветисян, Е. И. Кондратьева, А. В. Аверьянов, С. А. Красовский // Практическая пульмонология. – 2018. – № 1. – С. 60–64.
2. Воронина, О. Л. Характеристика генотипов штаммов *Burkholderia cepacia complex*, выделенных от больных в стационарах Российской Федерации / О. Л. Воронина, М. Ю. Чернуха, И. А. Шагинян, М. С. Кунда, Л. Р. Аветисян, А. А. Орлова, В. Г. Лунин, Л. В. Авакян, Н. И. Капранов, Е. Л. Амелина, А. Г. Чучалин, А. Л. Гинцбург / Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2013. – № 2. – С. 22–30.
3. Красовский, С. А. Динамика показателей национального регистра больных муковисцидозом за 2011-2017 года / С. А. Красовский, Е. Л. Амелина, Н. Ю. Каширская, А. Ю. Воронкова, О. Г. Зоненко // Сибирское медицинское обозрение. – 2019. – № 2. – С. 14–18.

4. Красовский, С. А. Инфицирование респираторного тракта микроорганизмами *B. cenocepacia* complex как неблагоприятный прогностический фактор у больных муковисцидозом / С. А. Красовский, М. В. Афанасьева, Е. Л. Амелина, А. В. Черняк, И. А. Шагинян, С. В. Поликарпова, Л. Р. Аветисян, М. Ю. Чернуха, О. Г. Зоненко, И. Н. Бутюгина // *Сибирское медицинское обозрение*. – 2019. – № 2. – С. 89–94.
5. Сергиенко, Д. Ф. Особенности клинического течения и механизмы иммунной регуляции у детей с муковисцидозом / Д. Ф. Сергиенко, О. А. Башкина, Х. М. Галимзянов. – Астрахань. : АГМА, 2010. – 138 с.
6. Berry, M. C. Effect of a *waaL* mutation on lipopolysaccharide composition, oxidative stress survival, and virulence in *Erwinia amylovora* / M. C. Berry, G. C. McGhee, Y. Zhao, G. W. Sundin // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2009. – Vol. 291, № 1. – P. 80–87.
7. Bowden, S. D. Surface swarming motility by *Pectobacterium atrosepticum* is a latent phenotype that requires O antigen and is regulated by quorum sensing / S. D. Bowden, N. Hale, J. C. S. Chung, J. T. Hodgkinson, D. R. Spring, M. Welch // *Microbiology*. – 2013. – Vol. 159. – P. 2375–2385.
8. Coutinho, C. P. *Burkholderia cenocepacia* phenotypic clonal variation during a 3.5-year colonization in the lungs of a cystic fibrosis patient / C. P. Coutinho, C. C. De Carvalho, A. Madeira, A. Pinto-De-Oliveira, I. Sá-Correia // *Infect. Immun.* – 2011. – Vol. 79, № 7. – P. 2950–2960.
9. Coutinho, C. P. Long-term colonization of the cystic fibrosis lung by *Burkholderia cepacia* complex bacteria: epidemiology, clonal variation, and genome-wide expression alterations / C. P. Coutinho, S. C. dos Santos, A. Madeira, N. P. Mira, A. S. Moreira, I. Sá-Correia // *Front Cell Infect. Microbiol.* – 2011. – Vol. 1. – P. 1–11.
10. Cullen, L. Bacterial adaptation during chronic respiratory infections / L. Cullen, S. McClean // *Pathogens*. – 2015. – Vol. 4, № 1. – P. 66–89.
11. Cunha, M. V. Molecular analysis of *Burkholderia cepacia* complex isolates from a Portuguese cystic fibrosis center: a 7-year study / M. V. Cunha, J. H. Leitão, E. Mahenthiralingam, P. Vandamme, L. Lito, C. Barreto, M. J. Salgado, I. Sá-Correia // *J. Clin. Microbiol.* – 2003. – Vol. 41, № 9. – P. 4113–4120.
12. Cunha, M. V. Studies on the involvement of the exopolysaccharide produced by cystic fibrosis-associated isolates of the *Burkholderia cepacia* complex in biofilm formation and in persistence of respiratory infections / M. V. Cunha, S. A. Sousa, J. H. Leitão, L. M. Moreira, P. A. Videira, I. Sá-Correia // *J. Clin. Microbiol.* – 2004. – Vol. 42, № 7. – P. 3052–3058.
13. Döring, G. Differential adaptation of microbial pathogens to airways of patients with cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease / G. Döring, I. G. Parameswaran, T. F. Murphy // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2011. – Vol. 35, № 1. – P. 124–146.
14. Faure, E. *Pseudomonas aeruginosa* in chronic lung infections: how to adapt within the host? / E. Faure, K. Kwong, D. Nguyen // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 2416.
15. Harrison, F. Microbial ecology of the cystic fibrosis lung / F. Harrison // *Microbiology*. – 2007. – Vol. 153. – P. 917–923.
16. Hassan, A. A. Structure of O-antigen and hybrid biosynthetic locus in *Burkholderia cenocepacia* clonal variants recovered from a cystic fibrosis patient / A. A. Hassan, R. F. Maldonado, S. C. dos Santos, F. Di Lorenzo, A. Silipo, C. P. Coutinho // *Front. Microbiol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 1027.
17. Hoboth, C. Dynamics of adaptive microevolution of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* during chronic pulmonary infection in patients with cystic fibrosis / C. Hoboth, R. Hoffmann, A. Eichner, C. Henke, S. Schmoldt, A. Imhof, J. Heesemann, M. Hogardt // *J. Infect. Dis.* – 2009. – Vol. 200, № 1. – P. 118–130.
18. Hogardt, M. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* during persistence in the cystic fibrosis lung / M. Hogardt, J. Heesemann // *Int. J. Med. Microbiol.* – 2010. – Vol. 300, № 8 – P. 557–562.
19. King, J. D. Review: Lipopolysaccharide biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa* / J. King, D. Kocincova, E. L. Westman, J. S. Lam // *Innate Immunity* – 2009. – Vol. 15, № 5. – P. 261–312.
20. Köhler, S. Induction of *dnaK* through its native heat shock promoter is necessary for intramacrophagic replication of *Brucella suis* / S. Köhler, E. Ekaza, J. Y. Paquet, K. Walravens, J. Teyssier, J. Godfroid, J. P. Liatard // *Infect. Immun.* – 2002. – Vol. 70, № 3. – P. 1631–1634.
21. Kotrange, S. *Burkholderia cenocepacia* O polysaccharide chain contributes to caspase-1-dependent IL-1 β production in macrophages / S. Kotrange, B. Kopp, A. Akhter, D. Abdelaziz, A. Abu Khweek, K. Caution, B. Abdulrahman, M. D. Wewers, K. McCoy, C. Marsh, S. A. Loutet, X. Ortega, M. A. Valvano, A. O. Amer // *J. Leukoc. Biol.* – 2011. – Vol. 89, № 3. – P. 481–488.
22. Lieberman, T. D. Parallel bacterial evolution within multiple patients identifies candidate pathogenicity genes / T. D. Lieberman, J. B. Michel, M. Aingaran, G. Potter-Bynoe, D. Roux, M. R. Davis Jr., D. Skurnik, N. Leiby, J. J. LiPuma, J. B. Goldberg, A. J. McAdam, G. P. Priebe, R. Kishony // *Nat. Genetics*. – 2011. – Vol. 43, № 12. – P. 1275–1280.
23. Lieberman, T. D. Genetic variation of a bacterial pathogen within individuals with cystic fibrosis provides a record of selective pressures / T. D. Lieberman, K. B. Flett, I. Yelin, T. R. Martin, A. J. McAdam, G. P. Priebe, R. Kishony // *Nat. Genetics*. – 2014. – Vol. 46, № 1. – P. 82–87.
24. Lorenzo, F. D. Chemistry and biology of the potent endotoxin from a *Burkholderia dolosa* clinical isolate from a cystic fibrosis patient / F. D. Lorenzo, L. Sturiale, A. Palmigiano, L. Lembo-Fazio, I. Paciello, C. P. Coutinho, I. Sá-Correia, M. Bernardini, R. Lanzetta, D. Garozzo, A. Silipo, A. Molinaro // *Chem. Biochem.* – 2013. – Vol. 14, № 9. – P. 1105–1115.

25. Madeira, A. Quantitative proteomics (2-D DIGE) reveals molecular strategies employed by *Burkholderia cenocepacia* to adapt to the airways of cystic fibrosis patients under antimicrobial therapy / A. Madeira, P. M. Santos, C. P. Coutinho, A. Pinto-de-Oliveira, I. Sá-Correia // *Proteomics*. – 2011. – Vol. 11, № 7. – P. 1313–1328.
26. Maldonado, R. F. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection / R. F. Maldonado, I. Sá-Correia, M. A. Valvano // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2016. – Vol. 40, № 4. – P. 480–493.
27. Malinverni, J. C. YfiO stabilizes the YaeT complex and is essential for outer membrane protein assembly in *Escherichia coli* / J. C. Malinverni, J. Werner, S. Kim, J. G. Sklar, D. Kahne, R. Misra, T. J. Silhavy // *Mol. Microbiol.* – 2006. – Vol. 61, № 1. – P. 151–164.
28. Moreira, A. S. *Burkholderia dolosa* phenotypic variation during the decline in lung function of a cystic fibrosis patient during 5.5 years of chronic colonization / A. S. Moreira, C. P. Coutinho, P. Azevedo, L. Lito, J. Melo-Cristino, I. Sá-Correia // *J. Med. Microbiol.* – 2014. – Vol. 63, Pt 4. – P. 594–601.
29. Murray, G. L. Regulation of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide O antigen chain length is required for virulence; identification of FepE as a second Wzz / G. L. Murray, S. R. Attridge, R. Morona // *Mol. Microbiol.* – 2003. – Vol. 47, № 5. – P. 1395–1406.
30. Nikaïdo, H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited / H. Nikaïdo // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2003. – Vol. 67, № 4. – P. 593–656.
31. Pier, G. B. *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide: a major virulence factor, initiator of inflammation and target for effective immunity / G. B. Pier // *Int. J. Med. Microbiol.* – 2007. – Vol. 297, № 5. – P. 277–295.
32. Saldias, M. S. *Burkholderia cenocepacia* O antigen lipopolysaccharide prevents phagocytosis by macrophages and adhesion to epithelial cells / M. S. Saldias, X. Ortega, M. A. Valvano // *J. Med. Microbiol.* – 2009. – Vol. 58, Pt. 12. – P. 1542–1548.
33. Schobert, M. Contribution of oxygen-limiting conditions to persistent infection of *Pseudomonas aeruginosa* / M. Schobert, P. Tielen // *Future Microbiol.* – 2010. – Vol. 5, № 4. – P. 603–621.
34. Silva, I. N. Mucoïd morphotype variation of *Burkholderia multivorans* during chronic cystic fibrosis lung infection is correlated with changes in metabolism, motility, biofilm formation and virulence / I. N. Silva, A. S. Ferreira, J. D. Becker, J. E. Zlosnik, D. P. Speert, J. He, D. Mil-Homens, L. M. Moreira // *Microbiology*. – 2011. – Vol. 157, Pt. 11. – P. 3124–3137.
35. Toguchi, A. Genetics of swarming motility in *Salmonella enterica* serovar typhimurium: critical role for lipopolysaccharide / A. Toguchi, M. Siano, M. Burkart, R. M. Harshey // *J. Bacteriol.* – 2000. – Vol. 182, № 22. – P. 6308–6321.
36. Vinion-Dubiel, A. D. Lipopolysaccharide of *Burkholderia cepacia* complex / A. D. Vinion-Dubiel, J. B. Goldberg // *J. Endotoxin Res.* – 2003. – Vol. 9, № 4. – P. 201–213.
37. Weaver, V. B. *Burkholderia* spp. alter *Pseudomonas aeruginosa* physiology through iron sequestration // V. B. Weaver, R. Kolter // *J. Bacteriol.* – 2004. – Vol. 186, № 8. – P. 2376–2384.
38. Winstanley, C. *Pseudomonas aeruginosa* evolutionary adaptation and diversification in cystic fibrosis chronic lung infections / C. Winstanley, S. O'Brien, M. A. Brockhurst // *Trends Microbiol.* – 2016. – Vol. 24, № 5 – P. 327–337.

References

1. Afanas'eva M. V., Amelina E. L., Chernyak A. V., Butyugina I. N., Gracheva O. Yu., Shaginyan I. A., Polikarpova S. V., Chernukha M. Yu., Avetisyan L. R., Kondrat'eva E. I., Aver'yanov A. V., Krasovskiy S. A. Vyzhivaemost' vzroslykh bol'nykh mukovistsidozom s khronicheskoy infektsiyey respiratornogo trakta, obuslovlennogo mikroorganizmami *Burkholderia cepacia* complex [Survival of adult cystic fibrosis patients with chronic respiratory tract infection caused by *Burkholderia cepacia* complex microorganisms]. *Prakticheskaya pul'monologiya*. [Practical pulmonology], 2018, no. 1, pp. 60–64.
2. Voronina O. L., Chernukha M. Yu., Shaginyan I. A., Kunda M. S., Avetisyan L. R., Orlova A. A., Lunin V. G., Avakyan L. V., Kapranov N. I., Amelina E. L., Chuchalin A. G., Gintsburg A. L. Kharakteristika genotipov shtammov *Burkholderia cepacia* complex, vydelennykh ot bol'nykh v statsionarakh Rossiyskoy Federatsii [Characteristics of genotypes of *Burkholderia cepacia* complex strains isolated from patients in hospitals of the Russian Federation]. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya* [Molecular genetics, Microbiology and Virology.], 2013, no. 2, pp. 22–30.
3. Krasovskiy S. A., Amelina E. L., Kashirskaya N. Yu., Voronkova A. Yu., Zonenko O. G. Dinamika pokazateley natsional'nogo registra bol'nykh mukovistsidozom za 2011–2017 goda [Dynamics of indicators of the national register of patients with cystic fibrosis for 2011–2017]. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie* [Siberian Medical Review], 2019, no. 2, pp. 14–18.
4. Krasovskiy S. A., Afanas'eva M. V., Amelina E. L., Chernyak A. V., Shaginyan I. A., Polikarpova S. V., Avetisyan L. R., Chernukha M. Yu., Zonenko O. G., Butyugina I. N. Infitsirovanie respiratornogo trakta mikroorganizmami *B. cepacia* complex kak neblagopriyatnyy prognosticheskiy faktor u bol'nykh mukovistsidozom [Infection of the respiratory tract by *B. cepacia* complex microorganisms as an unfavorable prognostic factor in patients with cystic fibrosis]. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*. [Siberian Medical Review], 2019, no. 2, pp. 89–94.

5. Sergienko D. F., Bashkina O. A., Galimzyanov Kh. M. Osobnosti klinicheskogo techeniya i mekhanizmy immunoy regulyatsii u detey s mukovistsidozom [Features of the clinical course and mechanisms of immune regulation in children with mucoviscidosis]. Astrakhan', Astrakhan State Medical Academy, 2010, 138 p.
6. Berry M. C., McGhee G. C., Zhao Y., Sundin G. W. Effect of a waaL mutation on lipopolysaccharide composition, oxidative stress survival, and virulence in *Erwinia amylovora*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2009, vol. 291, no. 1, pp. 80–87.
7. Bowden S. D., Hale N., Chung J. C. S., Hodgkinson J. T., Spring D. R., Welch M. Surface swarming motility by *Pectobacterium atrosepticum* is a latent phenotype that requires O antigen and is regulated by quorum sensing. *Microbiology*, 2013, vol. 159, pp. 2375–2385.
8. Coutinho C. P., De Carvalho C. C., Madeira A., Pinto-De-Oliveira A., Sá-Correia I. *Burkholderia cenocepacia* phenotypic clonal variation during a 3.5-year colonization in the lungs of a cystic fibrosis patient. *Infect. Immun.*, 2011, vol. 79, no. 7, pp. 2950–2960.
9. Coutinho C. P., dos Santos S. C., Madeira A., Mira N. P., Moreira A. S., Sá-Correia I. Long-term colonization of the cystic fibrosis lung by *Burkholderia cepacia* complex bacteria: epidemiology, clonal variation, and genome-wide expression alterations. *Front Cell Infect. Microbiol.*, 2011, vol. 1, pp. 1–11.
10. Cullen L., McClean S. Bacterial adaptation during chronic respiratory infections. *Pathogens*, 2015, vol. 4, no. 1, pp. 66–89.
11. Cunha M. V., Leitão J. H., Mahenthalingam E., Vandamme P., Lito L., Barreto C., Salgado M. J., Sá-Correia I. Molecular analysis of *Burkholderia cepacia* complex isolates from a Portuguese cystic fibrosis center: a 7-year study. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, vol. 41, no. 9, pp. 4113–4120.
12. Cunha M. V., Sousa S. A., Leitão J. H., Moreira L. M., Videira P. A., Sá-Correia I. Studies on the involvement of the exopolysaccharide produced by cystic fibrosis-associated isolates of the *Burkholderia cepacia* complex in biofilm formation and in persistence of respiratory infections. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, vol. 42, no. 7, pp. 3052–3058.
13. Döring G., Parameswaran I. G., Murphy T. F. Differential adaptation of microbial pathogens to airways of patients with cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2011, vol. 35, no. 1, pp. 124–146.
14. Faure E., Kwong K., Nguyen D. *Pseudomonas aeruginosa* in chronic lung infections: how to adapt within the host? *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9, p. 2416.
15. Harrison F. Microbial ecology of the cystic fibrosis lung. *Microbiology*, 2007, vol. 153, pp. 917–923.
16. Hassan A. A., Maldonado R. F., dos Santos S. C., Di Lorenzo F., Silipo A., Coutinho C. P., Cooper V. S., Molinaro A., Valvano M. A., Sá-Correia I. Structure of O-antigen and hybrid biosynthetic locus in *Burkholderia cenocepacia* clonal variants recovered from a cystic fibrosis patient. *Front. Microbiol.*, 2017, vol. 8, p. 1027.
17. Hoboth C., Hoffmann R., Eichner A., Henke C., Schmoltdt S., Imhof A., Heesemann J., Hogardt M. Dynamics of adaptive microevolution of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* during chronic pulmonary infection in patients with cystic fibrosis. *J. Infect. Dis.*, 2009, vol. 200, no. 1, pp. 118–130.
18. Hogardt M., Heesemann J. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* during persistence in the cystic fibrosis lung. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2010, vol. 300, no. 8, pp. 557–562.
19. King J. D., Kocincova D., Westman E. L., Lam J. S. Review: Lipopolysaccharide biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Innate Immunity*, 2009, vol. 15, no. 5, pp. 261–312.
20. Köhler S., Ekaza E., Paquet J. Y., Walravens K., Teyssier J., Godfroid J., Liautard J. P. Induction of *dnaK* through its native heat shock promoter is necessary for intramacrophagic replication of *Brucella suis*. *Infect Immun.*, 2002, vol. 70, no. 3, pp. 1631–1634.
21. Kotrange S., Kopp B., Akhter A., Abdelaziz D., Abu Khweek A., Caution K., Abdulrahman B., Wewers M. D., McCoy K., Marsh C., Loutet S. A., Ortega X., Valvano M. A., Amer A. O. *Burkholderia cenocepacia* O polysaccharide chain contributes to caspase-1-dependent IL-1 β production in macrophages. *J. Leukoc. Biol.*, 2011, vol. 89, no. 3, pp. 481–488.
22. Lieberman T. D., Michel J. B., Aingaran M., Potter-Bynoe G., Roux D., Davis M. R. Jr., Skurnik D., Leiby N., LiPuma J. J., Goldberg J. B., McAdam A. J., Priebe G. P., Kishony R. Parallel bacterial evolution within multiple patients identifies candidate pathogenicity genes. *Nat. Genetics*, 2011, vol. 43, no. 12, pp. 1275–1280.
23. Lieberman T. D., Flett K. B., Yelin I., Martin T. R., McAdam A. J., Priebe G. P., Kishony R. Genetic variation of a bacterial pathogen within individuals with cystic fibrosis provides a record of selective pressures. *Nat. Genetics*, 2014, vol. 46, no. 1, pp. 82–87.
24. Lorenzo F. D., Sturiale L., Palmigiano A., Lembo-Fazio L., Paciello I., Coutinho C. P., Sá-Correia I., Bernardini M., Lanzetta R., Garozzo D., Silipo A., Molinaro A. Chemistry and biology of the potent endotoxin from a *Burkholderia dolosa* clinical isolate from a cystic fibrosis patient. *Chem. Biochem.*, 2013, vol. 14, no. 9, pp. 1105–1115.
25. Madeira A., Santos P. M., Coutinho C. P., Pinto-de-Oliveira A., Sá-Correia I. Quantitative proteomics (2-D DIGE) reveals molecular strategies employed by *Burkholderia cenocepacia* to adapt to the airways of cystic fibrosis patients under antimicrobial therapy. *Proteomics*, 2011, vol. 11, no. 7, pp. 1313–1328.
26. Maldonado R. F., Sá-Correia I., Valvano M. A. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2016, vol. 40, no. 4, pp. 480–493.

27. Malinverni J. C., Werner J., Kim S., Sklar J. G., Kahne D., Misra R., Silhavy T. J. YfiO stabilizes the YaeT complex and is essential for outer membrane protein assembly in Escherichia coli. Mol. Microbiol., 2006, vol. 61, no. 1, pp. 151–164.
28. Moreira A. S., Coutinho C. P., Azevedo P., Lito L., Melo-Cristino J., Sá-Correia I. Burkholderia dolosa phenotypic variation during the decline in lung function of a cystic fibrosis patient during 5.5 years of chronic colonization. J. Med. Microbiol., 2014, vol. 63, pt. 4, pp. 594–601.
29. Murray G. L., Attridge S. R., Morona R. Regulation of Salmonella typhimurium lipopolysaccharide O antigen chain length is required for virulence; identification of FepE as a second Wzz. Mol. Microbiol., 2003, vol. 47, № 5, pp. 1395–1406.
30. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 2003, vol. 67, no. 4, pp. 593–656.
31. Pier G. B. Pseudomonas aeruginosa lipopolysaccharide: a major virulence factor, initiator of inflammation and target for effective immunity. Int. J. Med. Microbiol., 2007, vol. 297, no. 5, pp. 277–295.
32. Saldias M. S., Ortega X., Valvano M. A. Burkholderia cenocepacia O antigen lipopolysaccharide prevents phagocytosis by macrophages and adhesion to epithelial cells. J. Med. Microbiol., 2009, vol. 58, pt. 12, pp. 1542–1548.
33. Schobert M., Tielen P. Contribution of oxygen-limiting conditions to persistent infection of Pseudomonas aeruginosa. Future Microbiol., 2010, vol. 5, no. 4, pp. 603–621.
34. Silva I. N., Ferreira A. S., Becker J. D., Zlosnik J. E., Speert D. P., He J., Mil-Homens D., Moreira L. M. Mucoid morphotype variation of Burkholderia multivorans during chronic cystic fibrosis lung infection is correlated with changes in metabolism, motility, biofilm formation and virulence. Microbiology, 2011, vol. 157, pt. 11, pp. 3124–3137.
35. Toguchi A., Siano M., Burkart M., Harshey R. M. Genetics of swarming motility in Salmonella enterica serovar typhimurium: critical role for lipopolysaccharide. J. Bacteriol., 2000, vol. 182, no. 22, pp. 6308–6321.
36. Vinion-Dubiel A. D., Goldberg J. B. Lipopolysaccharide of Burkholderia cepacia complex. J. Endotoxin Res., 2003, vol. 9, no. 4, pp. 201–213.
37. Weaver V. B., Kolter R. Burkholderia spp. Alter Pseudomonas aeruginosa physiology through iron sequestration. J. Bacteriol., 2004, vol. 186, no. 8, pp. 2376–2384.
38. Winstanley C., O'Brien S., Brockhurst M. A. Pseudomonas aeruginosa evolutionary adaptation and diversification in cystic fibrosis chronic lung infections. Trends Microbiol., 2016, vol. 24, no. 5, pp. 327–337.

14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология
(медицинские науки)

УДК 611.018.1

DOI 10.17021/2020.15.1.73.84

© В.С. Красовский, А.К. Ажикова, Л.Г. Сентюрова,
Б.В. Фельдман, М.А. Самотруева, 2020

БИОМАРКЕРЫ РЕГУЛЯЦИИ ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА В ПЕЧЕНИ

Красовский Виктор Сергеевич, старший преподаватель кафедры биологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: 8-965-452-09-03, e-mail: vsk-ss@ Rambler.ru.

Ажикова Альфия Кадыровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и ботаники, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: 8-909-372-17-66, e-mail: alfia-imacheva@mail.ru.

Сентюрова Людмила Георгиевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой биологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: 8-927-284-20-47, e-mail: sentlj2012@yandex.ru.

Фельдман Бронислав Владимирович, доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой биологии и ботаники, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: 8-960-857-96-81, e-mail: agmafarm@gmail.com.

Самотруева Марина Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: 8-960-865-11-78, e-mail: ms1506@mail.ru.