

*Ю.К.Кулаков*

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПЕРСИСТЕНЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ БРУЦЕЛЛЕЗА

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва

Бруцеллез — инфекционное, особо опасное зоонозное заболевание сельскохозяйственных и диких животных, от которых передается человеку и характеризуется хроническим течением с инвалидизацией больных трудоспособного возраста. Бактерии рода *Brucella* — факультативные внутриклеточные патогены, способные размножаться и персистировать в иммунных клетках хозяина с развитием хронической инфекции. Хозяйско-специфичные эволюционные механизмы позволяют бруцеллам скрываться и манипулировать системами врожденного и приобретенного клеточного иммунитета для достижения внутриклеточной персистенции. В обзоре показаны молекулярные механизмы, обеспечивающие персистенцию возбудителя бруцеллеза. Эволюция бруцелл связана с адаптацией внутриклеточного сохранения и персистенции в сформированных гранулематозных структурах. Понимание молекулярных механизмов персистенции возбудителя бруцеллеза следует учитывать в программах по его контролю и элиминации и позволяет разрабатывать новые эффективные средства для профилактики и лечения бруцеллеза.

Журн. микробиол., 2018, № 4, С. 68—76

Ключевые слова: бруцеллез, *Brucella*, персистенция, врожденный и приобретенный иммунитет, эволюция

*Yu.K.Kulakov*

## MOLECULAR MECHANISMS OF *BRUCELLA* PERSISTENCE

Gamaleya National Research Centre of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Brucellosis is an infectious, especially dangerous zoonotic disease of agricultural and wild animals, from which it is transmitted to humans and characterized by a chronic course with disability of working-age patients. Bacteria of the genus *Brucella* are facultative intracellular pathogens capable of multiplying and persisting in the host's immune cells with the development of chronic infection. The host-specific evolutionary mechanisms allow *Brucella* to hide and manipulate the systems of innate and acquired cellular immunity to achieve intracellular persistence. The review describes the molecular mechanisms that ensure the persistence of the causative agent of brucellosis. The evolution of *Brucella* species is associated with the adaptation of intracellular preservation and persistence in the formed granulomatous structures. Understanding the molecular mechanisms of *Brucella* persistence should be considered in programs for its control and elimination, and also allows the development of new effective tools for the prevention and treatment of brucellosis.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 4, P. 68—76

Key words: brucellosis, *Brucella*, persistence, innate and adaptive immunity, evolution

Бруцеллез — инфекционное, особо опасное зоонозное заболевание, вызываемое бактериями рода *Brucella*, которые являются грамотрицательными, факультативными бактериями со способностями к внутриклеточному паразитированию и трансмиссивной передачей от животных к человеку [9, 25, 40].

Бруцеллез представляет актуальную проблему для здравоохранения во всем мире. По данным ВОЗ в мире ежегодно регистрируется более 500 тыс. впервые выявленных случаев бруцеллеза у людей [25], для России этот показатель составляет около 400 человек [42]. Бруцеллез у людей протекает с рецидивами и переходит в хроническую форму, устойчивую к терапии антибиотиками [2, 5, 6, 9, 43].

Наиболее патогенным для человека является вид *B. melitensis* (основной хозяин — мелкий рогатый скот), затем следуют *B. suis* (свиньи, зайцы, олени, грызуны), *B. abortus* (крупный рогатый скот) и вид *B. canis* (собаки), опасный для иммунодефицитных людей [9, 25, 40].

Бруцеллез характеризуется вариабельным инкубационным периодом и заболеванием с тяжелыми клиническими проявлениями, которое требует значительных ресурсов для длительного лечения [6, 9, 42]. Бруцелла демонстрирует выраженный тканевый тропизм и обладает способностью размножаться и персистировать внутри вакуолей макрофагов, дендритных клеток, плацентарных трофобластов и в разнообразных типах клеток млекопитающих: микроглиях, фибробластах, эпителиальных и эндотелиальных клетках [2, 5, 6, 9, 20, 43].

Внутри клеток *Bruceella* ограничивает воздействие хозяйских врожденных и адаптивных иммунных ответов, укрывается от воздействия антибиотиков и вызывает фазовые особенности протекания. Выделяют острую фазу, в течение которой наблюдается бактериемия и патоген проникает и распространяется в тканях хозяина, и хроническую фазу инфекции, которая возникает из способности бруцелл сохраняться и персистировать в клетках лимфоретикулярной системы и вызывать сердечнососудистую, печеночную, лимфоретикулярную, неврологическую и остеоартикулярную патологию [2, 5, 6, 9, 20, 43]. Отличительной чертой бруцеллеза является образование гранулем в пораженных органах, которые содержат эпителиоидные макрофаги, сохраняющие бруцелл во время инфекции [40]. Гранулематозный ответ хозяина позволяет изолировать бактерии, которые были захвачены макрофагами, но остались жизнеспособными [5, 6, 9, 20, 40].

Бруцеллы преодолевают мукозный барьер слизистых оболочек хозяина и подвергаются фагоцитозу макрофагами и дендритными клетками [43], что требует набора нитей актина после активации при взаимодействии их с рецепторами на поверхности клеточной мембраны макрофагов. Опсонизированные бруцеллы интернализируются с помощью рецепторов комплемента, тогда как не опсонизированные бактерии взаимодействуют с лектиновыми и фибронектиновыми рецепторами [43]. Не опсонизированные бруцеллы могут выживать и размножаться внутри клетки, в отличие от этого опсонизация бактерий или IFN  $\gamma$  активация макрофагов способствует внутриклеточному уничтожению бруцелл внутри клетки-хозяина [43]. Липидные плоты содержат богатые холестерином микродомены в клеточной мембране макрофагов, участвуют в бактериальной интернализации и способствуют направленному внутриклеточному передвижению бруцелл [2, 43].

После интернализации бруцелл образуется содержащая бруцелл вакуоль — BCV. Около 90% фагоцитированных бруцелл разрушаются под бактерицидным воздействием свободных радикалов кислорода, оксида азота и ферментов внутри фаголизосом. Остальные бактерии преодолевают эти бактерицидные факторы, взаимодействуют с ранней и поздней эндосомой и после временного короткого процесса слияния с лизосомой могут активно исключать лизосомальные белки и перенаправить BCV в ЭР (эндоплазматический ретикулум), где проис-

ходит размножение бруцелл [1, 26]. Подкисление BCV не повреждает бактерии, но это вызывает экспрессию бактериальных генов, которые необходимы для внутриклеточного выживания на ранних стадиях инфекции [2, 3, 22].

Таким образом, для продолжения внутриклеточного размножения и персистенции *Bruceella* проходит ряд превращений вакуоли. С начальной эндоцитарной eBCV формируется в репликативную вакуоль rBCV, которая завершается специализированной структурой — аутофагической aBCV. При этом связанные с аутофагией белки хозяина BECLIN1, PI3K, ULK1 и Atg14L играют ключевую роль в биогенезе этой вакуоли и способствуют завершению внутриклеточного жизненного цикла с выходом бруцелл из клеток для последующей диссеминации в организме хозяина [36, 37].

Перечисленные особенности фагоцитоза создают условия для персистенции бруцелл в макроорганизме хозяина.

Врожденная иммунная система считается первой линией защиты от патогенов. Хозяин имеет механизмы для обнаружения присутствия бактерий через врожденную систему иммунного надзора. Рецепторы, присутствующие в клеточных мембранах (TLR) или в цитозоле (NLR) способны обнаруживать структуры, считающиеся уникальными для бактерий: ЛПС, липотейхоевые кислоты, липопотеины и флагеллин, что приводит к индукции начального провоспалительного ответа. Бруцеллы имеют пассивные и активные молекулярные механизмы для ускользания от обнаружения врожденной иммунной системой с участием TLR и NLR .

В структуре ЛПС бруцеллы имеют особенности липида А, который содержит большой остаток жирных кислот (С28) по сравнению с ЛПС энтеробактерий (С12-С16), и эта модификация значительно снижает активность его взаимодействия с рецептором TLR4 и позволяет уклоняться от распознавания сигнальными путями через рецептор TLR4 [3, 12]. Активность агониста TLR4 дополнительно снижается путем гликозилирования ядра ЛПС, что снижает его сродство к рецептору TLR4 MD-2 [8, 45].

*Bruceella* также синтезирует модифицированный флагеллин, который не индуцирует TLR5-доменного рецептора для узнавания в иммунных клетках и проведения опосредованных воспалительных реакций [12, 39].

Пути активации комплемента и бактериальных конкретных TLRs действуют совместно и помогают макроорганизму организовывать соответствующий угрозе иммунный ответ (приток нейтрофилов и др.) [46]. Активация системы комплемента включается при контакте с поверхностными бактериальными углеводами ЛПС из грамотрицательных бактерий [3, 12, 17]. ЛПС бруцелл содержит О-полисахарид из гомополимерных остатков, которые не обеспечивают полного связывания С3 системы комплемента и останавливают выработку поколения противоспалительных продуктов системы комплемента С3а и С5а [3, 12, 17].

Важным событием при бруцеллезе становится ингибирование нейтрофильной функции хозяина, что свидетельствует о дополнительной роли ЛПС *B. abortus* в уклонении от врожденного иммунитета. Как только бруцеллы фагоцитируются нейтрофилами, происходит высвобождение ЛПС в вакуоль и в патогенезе это событие вызывает форму невоспалительной гибели клеток, тем самым сохраняется жизнеспособность поглощенных бактерий [4].

Хотя бруцеллы являются неподвижными бактериями, их геномы кодируют структурные компоненты нетрадиционного флагеллина (жгутика) неизвестной функции, который способен избегать обнаружения TLR5, в связи с отсутствием необходимого домена для его распознавания этим рецептором

[2, 12, 22]. Но было показано, что цитозольный рецептор NLCR4 способен обнаруживать флагеллин *Brucella* и важен для контролирования инфекции *in vivo* [39].

В дополнение к TLR4, TLR2 и сигнальный путь через TLR9 участвует в определении бруцеллезной инфекции [21].

Молекулярным механизмом для активного вмешательства в иммунное распознавание бруцелл является синтез белков, которые содержат TIR домен — Vtp1 / VtpA у *B. abortus* и TspB у *B. melitensis* [32, 33].

Vtp1 и TspB негативно воздействуют на проводящую функцию адаптера MyD88 (MAL), который требуется для сигнализации TLR2 и TLR4 [32, 33]. В результате эти белки ингибируют созревание дендритных клеток и продукцию провоспалительных цитокинов, что способствует долгосрочному сохранению и персистенции бруцелл.

Недавно был описан второй эффекторный белок с доменом TIR, названный VtpB [31]. VtpB вмешивается в сигнализацию TLR зависимым MyD88 образом, но его роль в модулировании воспалительных реакций и бактериальной персистенции окончательно не определена.

Таким образом, бруцеллы способны скрывать важные для распознавания молекулярные структуры, которые позволили бы хозяину их обнаружить через TLR и систему комплемента, что предотвращает индукцию соответствующего антибактериального иммунного ответа и значительно ухудшает инфекционный контроль хозяина.

Все виды *Brucella* располагают важным фактором вирулентности для внутриклеточной выживаемости и персистенции T4SS (type IV secretion system), которая кодируется генами *virB1-virB12* [12, 13, 24].

Критическая роль T4SS в персистенции определилась в неспособности *virB* мутантов к внутриклеточному размножению *in vivo* на мышшиной [14, 18] и козьей моделях инфекций [47]. Также T4SS участвует в создании ассоциированной с ЭР специализированной репликативной ниши для бруцелл [7], при этом *virB* мутанты деградируются внутри лизосом макрофагов [2, 7].

T4SS формирует трансмембранную белковую «пушку», которая реализует транслокацию в цитоплазму хозяйской клетки белковых эффекторных молекул, за счет которых обеспечивается многообразие их функций и воздействий на развитие и поддержание внутриклеточной инфекции.

Многочисленные работы определили несколько десятков эффекторных белков T4SS бруцелл при транслокации их в цитоплазму хозяина [10, 11, 19, 23]. Функция большинства этих белков до настоящего времени неизвестна, но последние исследования доказали прямую и опосредованную роль ряда секретруемых эффекторных белков для бруцеллезной инфекции и персистенции [2, 5, 6, 10, 11, 19, 20, 23].

Эффекторный белок VseC обуславливал индукцию воспаления, влияя на выработку цитокина IL-6 в макрофагах *in vitro* путем воздействия на активацию IRE-1 $\alpha$ -зависимого сигнального пути при ответе на неправильную сборку белков, происходящую в ЭР [10].

Недавно было доказано, что белки VtpA (Vtp1/TspB) принадлежат к классу бактериальных белков с долей гомологии с эукариотическим Toll/интерлейкин-1 рецептором — TIR доменом [21, 32] и секретируются при проникновении бруцелл в клетки-хозяина [19]. Консервативный домен TIR присутствует в эукариотических белках TLR и в цитозольном адаптерном белке MAL (MyD88), которые играют важную роль в иммунной сигнализации. Эти эффекторные белки бруцелл вызывают деградацию сигнального проводяще-

го адаптерного белка MAL, в результате которой ингибируются TLR2 и TLR4 сигнализации и активация транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B. В результате снижается выработка важных провоспалительных цитокинов TNF alpha и IL-12 с задержкой созревания и активации дендритных клеток, что обеспечивает условия для развития инфекции и персистенции [40, 41].

Другие T4SS секретируемые, идентифицируемые белки бруцелл, BSPA, BSPB и BSPF необходимы для развития инфекции *in vivo* и влияют на синтез белков в инфицированных клетках [23].

Факторы вирулентности патогенов определяют сигналы, которые позволяют врожденной иммунной системе различать среди бактерий патогенные для организма [5].

Важно отметить двойственную роль T4SS при инфекции, в связи с множеством бактериальных эффекторных молекул, транспортирующихся в клетку-хозяина, не только для установления длительной персистентной инфекции, но и для индукции иммунного ответа Th1 (Т-хелперы 1) *in vivo* [28]. Функционирование T4SS необходимо для созревания В-клеток, активации CD4 + Т-клеток и для начальной секреции IL-12 и IFN gamma [29, 30]. Было показано, что от T4SS эффекторных молекул зависит обнаружение Nod-подобными рецепторами (NLR) [16], что приводит к опосредованной активации каспазы 1 с образованием инфламмосомы и формированием защитного хозяйского ответа.

Между иммунной системой хозяина и структурами бруцелл происходят сигнальные взаимодействия, которые могут приводить к ликвидации возбудителя или к развитию внутриклеточного персистирования.

В защите хозяина от инфекции патогенными видами бруцелл определяющую роль играет клеточно-опосредованный иммунитет — профессиональных антиген презентующих фагоцитов с Th1 поляризацией иммунного ответа и активацией CD8+ Т цитотоксических лимфоцитов (CTL) [27, 28].

Цитокины являются ключевыми эффекторными молекулами, которые организуют иммунный ответ хозяина.

Было обнаружено, что высокий уровень провоспалительных цитокинов TGF $\beta$ 1 и IL-10 способствуют персистенции и хронической инфекции [15, 35, 38], а защитный иммунитет против *B. abortus* напрямую связан с индукцией провоспалительных цитокинов в ответе по Th1 [5, 6, 34].

Поэтому для персистенции и хронического протекания инфекции бруцеллы стремятся избежать защитного ответа типа Th1 [27, 34, 35]. Было показано, что пропил-рацемеза *B. abortus* PrpA стимулирует митогенную активность В-клеток и стимулирует секрецию IL-10 во время инфекции [35], при этом PrpA ассоциируется с пониженной регуляцией INF gamma и TNF alpha и повышенной регуляцией TGF $\beta$ 1 *in vivo*.

Это событие уменьшает защитный провоспалительный ответ по отношению к провоспалительной иммунной реакции, в этой связи, мутант *prpA* имеет значительно сниженную способность к установлению хронической инфекции [34, 35].

IL-10 считается супрессорным фактором, и его относят к противовоспалительным иммунорегуляторным цитокинам, которые продуцируют различные типы клеток [6] и способны функционировать на разных стадиях иммунного ответа с решающей ролью регулятора реакций Th1 и Th2 [44].

Необходимым механизмом для персистентного патогена представляется индукция цитокина, способного модулировать провоспалительный ответ хозяина. Действительно, в дополнение к раннему провоспалительному от-

вету Th1 *B. abortus* во время инфекции также индуцирует противовоспалительный цитокин IL-10 [5, 6, 38, 44], который ослабляет антибруцеллезную активность активированных IFN  $\gamma$  макрофагов и провоспалительных цитокинов.

Эксперименты *in vivo* показали, что продуцирование IL-10 с помощью CD4 + CD25 + Т-клеток является ключом к модуляции функции макрофагов во время инфекции бруцелл. Мыши, лишенные продуцирования IL-10 Т-клетками или не обладающие рецептором к этому цитокину, показывают снижение выживаемости бактерий в селезенке и печени, а также увеличение производства провоспалительных цитокинов и патологию в пораженных органах [44].

В совокупности эти данные указывают на важную роль IL-10 в модуляции исходного иммунного ответа при бруцеллезной инфекции посредством регуляции функции макрофагов, что приводит к увеличению долговременной внутриклеточной выживаемости и персистенции бруцелл.

Наиболее родственные филогенетически бруцеллам виды *Ochrobactrum anthropi* и *O. intermedium* являются почвенными бактериями, которые могут вызывать только оппортунистические инфекции в иммунодефицитных хозяевах и не способны к внутриклеточному размножению. Эволюции генома *Ochrobactrum* со способностями внутриклеточного патогена — бруцеллы способствовали изменения его генома за счет редукции.

При этом конкретные события привели к эволюции их способности размножаться и персистировать в животных клетках. В Alpha-proteobacteria эволюция новых видов связана с уменьшением генома, и типичный геном *Brucella* (3,3 Мб), по меньшей мере, на 30% меньше, чем у *Ochrobactrum* (4,77 Мб). Дальнейшие доказательства уменьшения генома выявились при анализе белковых семейств геномов [41].

Эволюция бруцелл на пути вирулентности и адаптации к внутриклеточной жизни в эукариотических хозяевах также потребовала приобретения новых генов, которые не обнаружены в *Ochrobactrum*. Геном видов *Brucella* имеет 170 генов, которые не найдены ни в одном из двух геномов *Ochrobactrum*, и еще 249 генов, которые являются уникальными для классических штаммов [41].

Многие из этих генов обнаружены на геномных островах, участвуют во внутриклеточном размножении и персистенции и позволяют бактерии получать от хозяина ионы металлов — железо, никель и магний, которые являются важными кофакторами для многих ферментов патогена [5, 41].

Анализ геномов разных видов бруцелл выявил определенные ключевые, важные этапы в формировании внутриклеточного патогенного потенциала, необходимого для персистенции. Основным этапом было приобретение посредством горизонтального переноса, ключевого фактора вирулентности T4SS, что позволило видам *Brucella* адаптироваться к формированию патогенной ниши в ЭР. Адаптация сопровождалась вовлечением генов, кодирующих важные системы для использования ионов металлов, которые необходимы бруцеллам для выживания в хозяйских клетках.

Второй и третий этапы способствовали развитию способности бруцелл ускользать и модулировать иммунную систему хозяина. Эти свойства предусматривались изменением в структуре основного компонента ЛПС — *pegosamine* в структуре О-антигена, который связан с внутриклеточным размножением бруцелл, а также использование белков с доменами TIR, которые модулируют сигнальные пути иммунитета в становлении активных молекулярных механизмов, обеспечивающих персистенцию патогена.

Таким образом, возбудитель бруцеллеза как представитель Alphaproteobacteria вызывает не острую и смертельную инфекцию у хозяина, а хроническую инфекцию, обусловленную персистенцией возбудителя, являющейся ключевым фактором его эволюции.

Внутриклеточная биология развития бруцелл является результатом масштабного и комплексного взаимодействия с их хозяевами, что является необходимым условием для их внутриклеточного выживания, размножения с последующими явлениями диссиминации в органы и устойчивым продолжительным персистированием в сформированных гранулематозных структурах.

Бруцеллы успешно справляются с разными видами стресса внутри клетки (кислая среда и недостаток питательных веществ), которые являются стимулами для индукции генов, необходимых для изменения внутриклеточной среды. Выживаемость внутриклеточной бруцеллы сохраняется после временного слияния BCV с лизосомой и ассоциирования с ЭР, в котором происходит их внутриклеточное размножение [1] и где *Brucella* становится практически незаметной для иммунной системы [3, 5, 43], о чем свидетельствует низкая продукция цитокинов и антител во время хронической фазы инфекции [22, 27]. Таким образом, первоначальный иммунный ответ хозяина не становится ключевым фактором для контроля над внутриклеточным развитием бруцелл и позволяет им обеспечить условия для последующей персистенции.

Бруцеллы используют скрытую стратегию незаметного проникновения в клетки хозяина без полномасштабной воспалительной реакции на начальных стадиях инфекции с супрессией системы врожденного иммунитета хозяина. Хроническое течение бруцеллезной инфекции связано со способностью бруцелл как уклоняться, так и напрямую воздействовать на систему врожденного иммунитета хозяина и с созданием оптимальных условий взаимодействия с макроорганизмом для внутриклеточного размножения и персистенции [3, 5, 6, 11, 12].

До настоящего времени профилактические и терапевтические мероприятия при хроническом бруцеллезе людей являются дорогостоящими и неэффективными, в этой ситуации правильное понимание молекулярных механизмов, ответственных за персистенцию бактериального патогена, будет иметь решающее значение для разработки инновационных средств контроля, профилактики и лечения этой инфекции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson T.D., Cheville N.F. Ultrastructural morphometric analysis of *Brucella abortus* infected trophoblasts in experimental placentitis. Bacterial replication occurs in rough endoplasmic reticulum. *Am. J. Pathol.* 1986, 124:226-237.
2. Atluri V.L., Xavier M.N., de Jong M.F. et al. Interactions of the human Pathogenic *Brucella* Species with Their Hosts. *Ann. Rev. Microb.* 2011, 65:523-541.
3. Barquero-Calvo E., Chaves-Olarte E., Weiss D.S. et al. *Brucella abortus* uses a stealthy strategy to avoid activation of the innate immune system during the onset of infection. *PLoS ONE.* 2007, 2:e631.
4. Barquero-Calvo E., Mora-Cartin R., Arce-Gorvel V. et al. *Brucella abortus* induces the premature death of human neutrophils through the action of its lipopolysaccharide. *PLoS Pathog.* 2015, 11:e1004853.
5. Byndloss M.X., Tsolis R.M. *Brucella* spp. Virulence Factors and Immunity. *Ann. Rev. Anim. Biosci.* 2016, 4:111-127.
6. Byndloss M.X., Tsolis R.M. Chronic Bacterial Pathogens: Mechanisms of persistence. *Microbiol Spectr.* 2016, 4 (2).

7. Celli J., de Chastellier C., Franchini D.M. et al. Brucella evades macrophage killing via VirB-dependent sustained interactions with the endoplasmic reticulum. *J. Exp. Med.* 2003, 198:545-556.
8. Conde-Alvarez R., Arce-Gorvel V., Iriarte M. et al. The lipopolysaccharide core of Brucella abortus acts as a shield against innate immunity recognition. *PLoS Pathog.* 2012, 8:e1002675.
9. Corbel M.J. Brucellosis: an overview. *Emerg. Infect. Dis.* 1997, 3:213-221.
10. de Jong M.F., Starr T., Winter M.G. et al. Sensing of bacterial type IV secretion via the unfolded protein response. *mBio.* 2013, 4:e00418-12.
11. De Jong M.F., Tsolis R.M. Brucellosis and type IV secretion. *Future Microbiol.* 2012, 7(1): 47-58.
12. De Jong M.F., Rolan H.G., Tsolis R.M. Innate immune encounters of the (Type) 4th kind: Brucella. *Cell Microbiol.* 2010, 12(9): 1195-1202.
13. Delrue R.M., Martinez-Lorenzo M., Lestrade P. et al. Identification of Brucella spp. genes involved in intracellular trafficking. *Cell Microbiol.* 2001, 3:487-497.
14. den Hartigh A.B., Rolan H.G., de Jong M.F., Tsolis R.M. VirB3-VirB6 and VirB8-VirB11, but not VirB7, are essential for mediating persistence of Brucella in the reticuloendothelial system. *J. Bacteriol.* 2008, 190: 4427-4436.
15. Fernandes D.M., Baldwin C.L. Interleukin-10 downregulates protective immunity to Brucella abortus. *Infection and Immunity.* 1995, 63:1130-1133.
16. Gomes M.T., Campos P.C., Oliveira F.S. et al. Critical role of ASC inflammasomes and bacterial type IV secretion system in caspase-1 activation and host innate resistance to Brucella abortus infection. *J. Immunol.* 2013, 190:3629-3638.
17. Hoffmann E.M, Houle J.J. Failure of Brucella abortus lipopolysaccharide (LPS) to activate the alternative to activate the alternative pathway of complement. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1983, 5:65-76.
18. Hong P.C., Tsolis R.M., Ficht T.A. Identification of genes required for chronic persistence of Brucella abortus in mice. *Infect. Immun.* 2000, 68:4102-4107.
19. Ke Y., Wang Y., Li W., Chen Z. Type IV secretion system of Brucella spp. and its effectors. *Front Cell Infect. Microbiol.* 2015, 13, 5:72.
20. Kulakov Y. K. Molecular aspects of Brucella persistence. *Mol. Gen. Microbiol. Virusol.* 2016, 1:1-8.
21. Macedo G.C., Magnani D.M., Carvalho N.B. et al. Central role of MyD88-dependent dendritic cell maturation and proinflammatory cytokine production to control Brucella abortus infection. *J. Immunol.* 2008;180:1080-1087.
22. Martirosyan A., Moreno E., Gorvel J.P. An evolutionary strategy for a stealthy intracellular Brucella pathogen. *Immunological Reviews.* 2011, 240:211-234.
23. Myeni S., Child R., Ng T.W. et al. 2013. Brucella modulates secretory trafficking via multiple type IV secretion effector proteins. *PLOS Pathog.* 9:e1003556.
24. O'Callaghan D., Cazeveille C., Allardet-Servent A. et al. A homologue of the Agrobacterium tumefaciens VirB and Bordetella pertussis Ptl type IV secretion systems is essential for intracellular survival of Brucella suis. *Mol. Microbiol.* 1999, 33:1210-1220.
25. Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N. et al. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis.* 2006, 6:91-99.
26. Pizarro-Cerda J., Meresse S., Parton R.G. et al. Brucella abortus transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. *Infect. Immun.* 1998, 66:5711-5724.
27. Rodriguez-Zapata M., Matias M.J., Prieto A. et al. Human brucellosis is characterized by an intense Th1 profile associated with a defective monocyte function. *Infect. Immun.* 2010, 78:3272-3279.
28. Rolón H.G., Tsolis R.M. Inactivation of the type IV secretion system reduces the Th1 polarization of the immune response to Brucella abortus infection. *Infect. Immun.* 2008, 76:3207-3213.
29. Rolan H.G., Tsolis R.M. Mice lacking components of adaptive immunity show increased Brucella abortus virB mutant colonization. *Infect. Immun.* 2007, 75:2965-2973.
30. Roux C.M., Rolan H.G., Santos R.L. et al. Brucella requires a functional type IV secretion system to elicit innate immune responses in mice. *Cell Microbiol.* 2007, 9:1851-1869.
31. Salcedo S.P., Marchesini M.I., Degos C. et al. BtpB, a novel Brucella TIR-containing effector protein with immune modulatory functions. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013,3:28.



32. Salcedo S.P., Marchesini M.I., Lelouard H. et al. Brucella control of dendritic cell maturation is dependent on the TIR-containing protein Btp1. *PLoS Pathog.* 2008, 4:e21.
33. Sengupta D., Koblansky A., Gaines J. et al. Subversion of innate immune responses by Brucella through the targeted degradation of the TLR signaling adapter, MAL. *J. Immunol.* 2010, 184:956-964.
34. Spera J. M., Comerci D. J., Ugalde J. E. Brucella alters the immune response in a prpA-dependent manner. *Microb. Pathog.* 2014, 0: 8-13.
35. Spera J.M., Ugalde J.E., Mucci J. et al. A B lymphocyte mitogen is a Brucella abortus virulence factor required for persistent infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006, 103:16514-16519.
36. Starr T., Ng T.W., Wehrly T.D. et al. Brucella intracellular replication requires trafficking through the late endosomal/lysosomal compartment. *Traffic.* 2008, 9:678-694.
37. Starr T., Child R., Wehrly T.D. et al. Selective subversion of autophagy complexes facilitates completion of the Brucella intracellular cycle. *Cell Host Microbe.* 2012, 11: 33-45.
38. Svetic A., Jian Y.C., Lu P. et al. Brucella abortus induces a novel cytokine gene expression pattern characterized by elevated IL-10 and IFN- $\gamma$  in CD4+ T cells. *Int. Immunol.* 1993; 5:877-883.
39. Terwagne M., Ferooz J., Rolan H.G. et al. Innate immune recognition of flagellin limits systemic persistence of Brucella. *Cell Microbiol.* 2013, 15:942-960.
40. Vershilova P.A., Chernisheva M.I., Knyazeva E.N. Pathogenesis and immunology of brucellosis. 1974, Moscow, Meditsina.
41. Wattam A.R., Foster J.T., Mane S.P. et al. Comparative phylogenomics and evolution of the Brucellae reveal a path to virulence. *J. Bacteriol.* 2014, 196(5): 920-930.
42. Wolfram J.H., Butaev M.K., Dyuyshev A. et al. Epidemiology chapter. *Vaccine.* 2010, 28 Suppl 5:F77-84.
43. Xavier M.N., Paxro T.A., den Hartigh A.B. et al. Pathogenesis of Brucella spp. *The Open Vet. Sci. J.* 2010, 4:109-118.
44. Xavier M.N., Winter M.G., Spees A.M. et al. CD4+ T cell-derived IL-10 promotes Brucella abortus persistence via modulation of macrophage function. *PLoS Pathog.* 2013, 9: e1003454.
45. Yang J., Zhao Y., Shao F. Non-canonical activation of inflammatory caspases by cytosolic LPS in innate immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 2015, 32:78-83.
46. Zhang X., Kimura Y., Fang C. et al. Regulation of Toll-like receptor-mediated inflammatory response by complement in vivo. *Blood.* 2007, 110:228-236.
47. Zygmunt M.S., Hagius S.D., Walker J.V., Elzer P.H. Identification of Brucella melitensis 16M genes required for bacterial survival in the caprine host. *Microbes Infect.* 2006, 8:2849-2854.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*Т.Н. Рыбалкина<sup>1</sup>, Н.В. Каражас<sup>1</sup>, П.А. Савинков<sup>1,2</sup>, Р.Е. Бошьян<sup>1,3</sup>, М.Ю. Лысенкова<sup>1</sup>, М.Н. Корниенко<sup>1</sup>, Е.М. Бурмистров<sup>1</sup>, П.А. Веселовский<sup>1</sup>, И.А. Солдатова<sup>2</sup>*

## **ЗАВИСИМОСТЬ ВЫЯВЛЕНИЯ МАРКЕРОВ ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ ОТ ПРИВЕРЖЕННОСТИ АРВТ У ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫМИ МАТЕРЯМИ**

<sup>1</sup>Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва; <sup>2</sup>Инфекционная клиническая больница №2 Департамента здравоохранения города Москвы; <sup>3</sup>Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

*Цель.* Изучить зависимость выявления маркеров оппортунистических инфекций (ОИ) от приверженности АРВТ у детей, рожденных ВИЧ-инфицированными матерями, на примере герпесвирусных инфекций (ГВИ) и пневмоцистоза. *Материалы и методы.* Были исследованы образцы биологического материала (сыворотки крови и клетки крови) от 66 детей с ВИЧ-инфекцией в возрасте от 1 месяца до 15 лет, находившихся на лечении в Детском боксированном отделении ИКБ №2, с диагнозами «неокончательный тест на ВИЧ» и «ВИЧ-инфекция». Для определения IgM и IgG к герпесвирусам и пневмоцисте был использован метод иммуноферментного анализа; непрямая реакция