

Гюлазян Н.М.<sup>1</sup>, Белая О.Ф.<sup>2</sup>, Малов В.А.<sup>2</sup>, Пак С.Г.<sup>2</sup>, Волчкова Е.В.<sup>2</sup>

## ЛИПОПОЛИСАХАРИДЫ/ЭНДОТОКСИНЫ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ: РОЛЬ В РАЗВИТИИ ИНТОКСИКАЦИИ

<sup>1</sup>Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци Министерства образования и науки Армении, Ереван, 0025, ул. Коряна 2;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, 119991, Москва, ул. Трубецкая 8, стр. 2

*Многочисленные клинико-экспериментальные исследования позволяют рассматривать бактериальные эндотоксины как основные факторы, индуцирующие развитие синдрома интоксикации при инфекционных и неинфекционных заболеваниях. Липополисахарид (ЛПС) является мощным структурным компонентом грамотрицательных бактерий, с его действием на организм связывают все объективные клинические проявления интоксикации. Активация иммунных клеток ЛПС ведет к выбросу воспалительных медиаторов: цитокинов, хемокинов, ферментов, эйкозаноидов, адгезивных молекул и свободных радикалов, ответственных за развитие воспалительных реакций и способных вызывать патофизиологические процессы, включая септический шок.*

*В настоящее время разработаны и используются различные методы определения эндотоксина/ЛПС в биологических средах, которые основаны как на детекции его серологических маркеров, так и на регистрации вызываемых им биологических эффектов.*

**Ключевые слова:** острые кишечные инфекции; эндотоксин/липополисахарид; O-антиген; синдром интоксикации; детекция эндотоксинов.

Gyulazyan N.M.<sup>1</sup>, Belaya O.F.<sup>2</sup>, Malov V.A.<sup>2</sup>, Pak S.G.<sup>2</sup>, Volchkova E.V.<sup>2</sup>

LIPOPOLYSACCHARIDES / ENDOTOXINS OF GRAM-NEGATIVE BACTERIA: THEIR ROLE IN DEVELOPING INTOXICATION

<sup>1</sup>Yerevan State Medical University after MkhitarHeratsi of the Ministry of Education and Science of the Republic of Armenia, 2 Koryun street, 0025 Yerevan, Armenia;

<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 8-2 Trubetskaya street, 119991 Moscow, Russia

*Numerous clinical and experimental studies allow us to consider bacterial endotoxins as the main factors inducing the development of intoxication syndrome in infectious and non-infectious diseases.*

*LPS is the major structural component of Gram-negative bacteria; its effect on the body is related to all the objective clinical manifestations of intoxication. The activation of immune cells by LPS results in the release of inflammatory mediators: cytokines, chemokines, enzymes, eicosanoids, adhesion agents and free radicals that are responsible for the progression of inflammatory reactions and may induce pathophysiological processes including septic shock.*

*Currently, various techniques are developed and used for endotoxin /LPS determination in biological environments that are based both on detection of its serological markers and registration of its biological effects.*

**Key words:** acute intestinal infection; endotoxin/lipopolysaccharide; O-antigen; syndrome of intoxication; endotoxin detection.

Более столетия назад Richard Pfeiffer, работающий в лаборатории R. Koch, выделил при лизисе *V. cholerae*-термостабильную субстанцию, которая при введении животным вызывала шок. Поскольку данная субстанция могла быть получена только путем лизиса бактерий в противовес уже тогда известным экзотоксинам, R. Pfeiffer стал обозначать ее как эндотоксин [1]. Именно благодаря относительной простоте получения эндотоксина данная токсическая субстанция оказалась изучена значительно лучше, чем бактериальные экзотоксины.

Но даже сегодня по прошествии значительного времени, интенсивного, глубокого и всестороннего изучения эндотоксинов грамотрицательных бактерий эти молекулы не перестают удивлять исследователей своими многогранными, порой противополо-

жными свойствами [1, 2]. Интерес к фармакологической активности липополисахаридов (ЛПС) не ослабевает в мире по настоящее время [3–10].

По химической структуре эндотоксин представляет ЛПС комплекс с молекулярной массой 2000–20000Da. Молекула ЛПС состоит из бифосфорилированного липида (липид А) и гидрофильного полисахарида. Полисахаридная часть состоит из двух отличных областей: олигосахаридного ядра, содержащего 10–12 сахаров и полисахаридных повторяющихся цепей, формирующих O-специфические цепи – O-антигены (O-Ag). Ядро ковалентно связано кислыми сахарами (обычно 3-deoxy-D-manno-oct-2-улопираносоновая кислота – Kdo) с липидом А.

Дикие типы энтеробактерий, обладающие O-специфическими полисахаридными цепями, по морфологическим признакам формируемых колоний обозначаются как «гладкие» (S-тип). Полная цепь полисахарида может содержать до 50 единиц. Мутантные штаммы энтеробактерий, имеющие де-

Для корреспонденции: Гюлазян Наи́ра Мартуновна, д-р мед. наук, проф. каф. инфекционных болезней ЕГМУ им. М. Гераци, Ереван, Армения, e-mail: g.naira@rambler.ru

фицит О-специфических цепей, формируют отличный морфологический тип колоний и обозначаются как R-типы («грубые»). В зависимости от глубины дефицита О-цепей их принято обозначать Ra, Rb, ... Re в порядке уменьшения длины полисахаридных цепей. Минимальная структура ЛПС, требуемая для роста грамотрицательных энтеробактерий, обнаружена у Re-мутантов, у которых липид А связан только двумя остатками Kdo [11].

Структура О-полисахаридной цепи обеспечивает серологическую специфичность штаммов бактерий. Наличие О-полисахаридных цепей, как известно, помогает бактериям уклоняться от действия защитных систем организма, особенно от действия компонентов системы комплемента.

Весьма распространенным является мнение, что структурная общность ЛПС энтеробактерий предопределяет и общие патогенетические механизмы их взаимодействия с гуморально-клеточными системами организма. В последние два–три десятилетия на экспериментальных моделях было установлено, что не все ЛПС идентично взаимодействуют с сигнальными системами, что позволяет говорить о том, что гетерогенность структуры ЛПС определяет особенности его биологической активности [2, 12]. Даже небольшая вариабельность в относительно консервативной области ЛПС – липиде А может иметь огромное влияние на биологическую активность всей молекулы ЛПС [13].

Для индукции *in vivo* таких классических токсических феноменов ЛПС, как пирогенность, реакция Shwartzman на кроликах и летальная токсичность на эмбрионе цыпленка, также требуется наличие в молекуле ЛПС строго определенных структур [12, 14]. Научное понимание и объяснение данного феномена было получено только после открытия ключевой роли Toll-like-рецепторов (TLR) в активации клеток, расшифровки механизмов внутриклеточной передачи сигналов и установления роли корцепторных взаимодействий. В частности, активация макрофагов ЛПС требует содружественного взаимодействия ЛПС-распознающих и сигнальных рецепторов (CD14-, CR3-рецепторы комплемента (CD11b/CD18) и TLR 4) [15]. Причем низкие концентрации ЛПС требуют участия как CD14, так и TLR4, тогда как при высоких концентрациях ЛПС активация может происходить в отсутствие CD14, а CR3 (CD11b/CD18) выполняет функцию своеобразного координатора между CD14 и TLR4 [16]. Сходные результаты были получены и при использовании конфокального анализа и трансфертной резонансной флуоресценции [17].

Длительное время единственным кандидатом на специфический рецептор к ЛПС оставалась молекула CD14, однако отсутствие у нее трансмембранного домена не позволяло объяснить механизм передачи сигнала, также экспериментально было установлено, что CD14-дефицитные клетки все же способны отвечать на ЛПС даже в среде без сыворотки [18].

Только в 1999 г. механизм чувствительности клеток к ЛПС был расшифрован благодаря выделению гена *lps* у гипореактивных к ЛПС мышей линии СЗН/HeJ, продуктом которого является белок, в последующем получивший название «Toll-like-рецепторы» (TLR-4) [19, 20].

Однако полная картина рецепторного комплекса к ЛПС была получена после открытия протеина MD-2, поскольку именно трансфекция клеток с этим протеином восстанавливает чувствительность клеток к ЛПС [21].

В настоящее время исследования продолжаются, и признается, что ЛПС некоторых бактерий, в частности *H. pylori*, *P. gingivalis*, *L. interrogans*, способны активировать клетки посредством TLR-2 [22–24].

ЛПС является одним из наиболее мощных естественных индукторов воспаления [13]. Усиление выработки цитокинов также находится в зависимости от структуры молекулы ЛПС. Хорошо известно, что ЛПС *B. pertussis* менее активен в отношении выработки ИЛ-1 моноцитами/макрофагами, чем ЛПС *N. meningitidis* и *E. coli* [25]. Цитокин-индуцирующая способность ЛПС зависит не только от количества жирно-кислотных остатков в структуре липида А, но и от типа и источника используемых в модельных исследованиях клеток. Именно последним объясняется весьма мозаичная способность определенных ЛПС стимулировать выработку цитокинов различными типами клеток.

Многочисленные клинико-экспериментальные исследования позволяют рассматривать бактериальные эндотоксины как основные факторы, индуцирующие развитие синдрома интоксикации при инфекционных и неинфекционных заболеваниях.

ЛПС является мощным структурным компонентом грамотрицательных бактерий, с его действием на организм связывают все объективные клинические проявления интоксикации [26, 27]. Активация иммунных клеток ЛПС ведет к выбросу воспалительных медиаторов: цитокинов, хемокинов, ферментов, эйкозаноидов, адгезивных молекул и свободных радикалов, ответственных за развитие воспалительных реакций и способных вызывать патологические процессы, включая септический шок. Биологические механизмы, лежащие в основе распознавания ЛПС и ответа на него, более характерны для гормонов, чем токсинов. ЛПС не менее эндотоксин, чем эндогормон, и его нейтрализация потенциально может быть как благоприятна, так и опасна [28]. Эндотоксины реализуют свой потенциал как напрямую, так и опосредованно [29, 30] (см. таблицу).

На ранних стадиях развития синдрома интоксикации под действием эндотоксинов происходит также активация фактора Хагемана (XII фактора свертывания), который является ключевым ферментом, связывающим в единую функциональную полисистему свертывающую, противосвертывающую и калликреин-кининовую системы, функциональное

## Основные эффекты ЛПС/эндотоксина в организме [29]

Основное действие ЛПС	Патофизиологическая реакция
Прямое действие липида А	Активация фосфолипаз с последующим высвобождением арахидоновой кислоты и ее метаболизмом с образованием эйкозаноидов
Прямое воздействие на иммунокомпетентные клетки	Посредством действия через TLR, без антигенной презентации и клональной экспрессии происходит быстрая активация CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> , T-регуляторных клеток и клеток памяти
Прямое воздействие на гепатоциты	Изменяется проницаемость ионов Ca <sup>++</sup> в цитоплазматической мембране, возникает прямой цитотоксический эффект, запускается пероксидация липидов, поражается цитохром P450
Опосредованное действие	Через клетки-мишени: выброс цитокинов, хемокинов, хемоаттрактантов, изменение функциональной активности клеток (макрофагов, Т- и В-лимфоцитов, дендритных клеток, клеток печени и др.), регуляция апоптоза, воздействия на сердечно-сосудистую, эндокринную и нервную системы, гемостаза и др.

состояние которых определяет параметры кардиогемодинамики, прогноз и исход заболевания [29].

Таким образом, несмотря на то что роль бактериальных ЛПС/эндотоксинов в развитии синдрома интоксикации не вызывает сомнений, тем не менее остаются недостаточно изученными вопросы патогенеза смешанных инфекций, скоординированного действия эндо- и экзотоксинов в условиях развития инфекционного процесса при острых кишечных инфекциях (ОКИ).

В настоящее время получены экспериментальные данные при моноинфекциях о том, что сочетание присутствия ЛПС и экзотоксинов может изменять биологические эффекты каждого из них. Так, предварительная обработка макрофагов и моноцитов В субъединицей холерного токсина уменьшала провоспалительную активность этих клеток на ЛПС [31]; суперантигены, которые запускают поликлональную активацию Т-лимфоцитов с выбросом цитокинов и возможностью развития токсического шока, действуют синергично с ЛПС по интерферон- $\gamma$ -зависимому пути [32]; повторное длительное введение холерного токсина изменяет системный иммунный ответ к ЛПС и вибриоцидную активность сыворотки [33]; ЛПС увеличивает эффект крайне низких доз токсина *A. C. difficile* на клетки Vero, что, вероятно, имеет значение при поражении кишечника клостридиями [34]; шигаподобный токсин sensibilizes эпителиальные клетки к апоптозу, индуцированному бактериальным ЛПС [35].

Биологический эффект сочетаний различных факторов патогенности (ЛПС, токсины, ферменты и др.) при микстинфекциях малоизучен.

Полученные нами данные в результате многолетних исследований свидетельствуют, что при ОКИ чаще одновременно в биопробах больных выявляются О-антиген (О-Аг) нескольких возбудителей, а также несколько экзотоксинов и это приводит к

тому, что бактериологическим методом, как правило, этиология заболевания не устанавливается, при использовании серологических методов выявляются антитела различной специфичности и при этом уровень формирования антитоксических иммунных комплексов при микстинфекциях ниже, чем при моноинфекции. При анализе выраженности клинической картины заболеваний ОКИ получены данные, свидетельствующие о мультипликации патогенного воздействия разных возбудителей (тестируемых по О-Аг и их экзотоксинам), что свидетельствует о необходимости учета и оценки суммарного токсического воздействия возбудителей на организм [36–39].

В настоящее время разработаны и используются различные методы определения эндотоксина/ЛПС в биологических средах, которые основаны как на детекции его серологических маркеров, так и на регистрации вызываемых им биологических эффектов [40]. Иммунологические методы являются наиболее используемыми методами обнаружения эндотоксина прежде всего как удобные и простые [41–46].

Характерно то, что, хотя антигены энтеробактерий определяются в биологических средах макроорганизма, выделить сам возбудитель стандартными методами порой не представляется возможным. При этом сохранение антигенности у пациентов может продолжаться длительно после перенесенного острого эпизода заболевания и при полном отсутствии его клинических проявлений [44, 45]. Есть все основания полагать, что антигенность в составе циркулирующих иммунных комплексов формируется не только после клинически манифестных форм заболеваний, но и после субклинических. Поскольку циркуляция антигенов энтеробактерий происходит не только в сыворотке, но и в составе иммунных комплексов, а также в других биологических жидкостях (слюна, копрофильтрат, моча), иммунологические тесты могут проявлять различную чувствительность с разными биосредами. Многими исследователями была продемонстрирована возможность обнаружения соматических О-Аг энтеробактерий в широком спектре других биологических жидкостей (слюне, копрофильтратах, моче, мокроте) [46–54]. Наиболее хорошо изучена динамика циркуляции в биологических средах соматического О-Аг (О-антигенность) у больных ОКИ, вызванных грамотрицательными бактериями [36, 46, 47, 49, 50, 52]. В конечном итоге наиболее эффективным является одновременное определение О-Аг в сыворотке крови (в составе циркулирующих иммунных комплексов) и копрофильтрата.

Из числа разработанных и используемых для изучения динамики и кинетики *in vivo* эндотоксинов/ЛПС кишечных бактерий следует назвать: ИФА [44, 45, 48], латекс-агглютинацию, коагглютинацию [46, 47, 50, 52–55], LAL (Limulus amoebocyte lysate)-тест [25, 56], варианты ПЦР [57] и т.д.

Основная проблема диагностики ОКИ по О-Аг

связана с полиэтиологичностью заболеваний и необходимостью в связи с этим использования в этих целях наборов диагностикумов для тестирования разных видов возбудителей (энтеробактерий, вибрионов, кампилобактерий и др.), т. е. создание мультиплексных тест-систем, и наиболее перспективны в этом направлении молекулярно-генетические методы, а из простых – такие методы, как латекс-агглютинация и коагглютинация.

## ЛИТЕРАТУРА

- Caroff M., Karibian D., Cavaillon J.-M., Haeflner-Cavaillon N. Structural and functional analyses of bacterial lipopolysaccharides. *Microb. Infect.* 2002; 4: 915–26.
- Erridge C., Bennett-Guerrero E., Poxton I.R. Structure and function of lipopolysaccharides. *Microb. Infect.* 2002; 4: 837–51.
- Deiters U., Gumenscheimer M., Galanos C., Mühlradt P.F. Toll-like receptor 2- and 6-mediated stimulation by macrophage-activating lipopeptide 2 induces lipopolysaccharide (LPS) cross tolerance in mice, which results in protection from tumor necrosis factor alpha but in only partial protection from lethal LPS doses. *Infect. Immun.* 2003; 71: 4456–62.
- Gutsmann T., Müller M., Carroll S.F. et al. Dual role of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein in neutralization of LPS and enhancement of LPS-induced activation of mononuclear cells. *Infect. Immun.* 2001; 69: 6942–50.
- Hajishengallis G., Martin M., Schifferle R.E., Genco R.J. Counteracting interactions between lipopolysaccharide molecules with differential activation of Toll-like receptors. *Infect. Immun.* 2002; 70: 6658–64.
- Hamann L., Alexander C., Stamme C. et al. Acute-phase concentrations of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein inhibit innate immune cell activation by different LPS chemotypes via different mechanisms. *Infect. Immun.* 2005; 73: 193–200.
- Iwagaki A., Porro M., Pollack M. Influence of synthetic antiendotoxin peptides on lipopolysaccharide (LPS) recognition and LPS-induced proinflammatory cytokine responses by cells expressing membrane-bound CD14. *Infect. Immun.* 2000; 68: 1655–63.
- Levels J.H.M., Abraham P.R., van den Ende A., van Deventer S.J.H. Distribution and kinetics of lipoprotein-bound endotoxin. *Infect. Immun.* 2001; 69: 2821–8.
- Suzuki M., Hisamatsu T., Podolsky D.K. Gamma interferon augments the intracellular pathway for lipopolysaccharide (LPS) recognition in human intestinal epithelial cells through coordinated up-regulation of LPS uptake and expression of the intracellular Toll-like receptor 4-MD-2 complex. *Infect. Immun.* 2003; 71: 3503–11.
- Varma T.K., Toliver-Kinsky T.E., Lin C.Y. et al. Cellular mechanisms that cause suppressed gamma interferon secretion in endotoxin-tolerant mice. *Infect. Immun.* 2001; 69: 5249–63.
- Rietschel E.T., Kirikae T., Schade F.U. et al. The chemical structure of bacterial endotoxin in relation to bioactivity. *Immunobiology.* 1993; 187: 169–90.
- Din Z.Z., Mukerjee P., Kastowsky M., Takayama K. Effect on solubility and ionic state of lipopolysaccharide obtained from the deep rough mutant of *E. coli*. *Biochemistry.* 1993; 32 (17): 4579–86.
- Bäckhed F., Normark S., Schweda E.K.H. et al. Structural requirements for TLR4-mediated LPS signalling: a biological role for LPS modifications. *Microb. Infect.* 2003; 5: 1057–63.
- Takada H., Kotani S. Bacterial endotoxic lipopolysaccharides. In: Morrison D.C., Ryan J.L., eds. *Bacterial endotoxic lipopolysaccharides*. Boca Raton: CRC Press; 1992: 107–34.
- Perera P.Y., Mayadas T.N., Takeuchi O. et al. CD11b/CD18 acts in concert with CD14 and Toll-like receptor (TLR) 4 to elicit full lipopolysaccharide and taxol-inducible gene expression. *J. Immunol.* 2001; 166: 574–81.
- Munford R.S. Sensing gram-negative bacterial lipopolysaccharides: A human disease determinant? *Infect. Immun.* 2008; 76 (2): 454–65.
- Götz A., Orso G., Rothe G., Schmitz G. Ligand specific heteromeric CD14-clustering in inflammation. *J. Endotoxin Res.* 2000; 6: 106–10.
- Akashi S., Ogata H., Kirikae F. et al. Regulatory roles for CD14 and phosphatidylinositol in the signaling via Toll-like receptor 4 – MD-2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 268: 172–7.
- Hoshino K., Takeuchi O., Kawai T. et al. Toll-like receptor 4 deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR-4 as the *Ips* gene product. *J. Immunol.* 1999; 162: 3749–52.
- Qureshi S.T., Lariviere L., Leveque G. et al. Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr 4). *J. Exp. Med.* 1999; 189: 615–25.
- Shimazu R., Akashi S., Ogata H. et al. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.* 1999; 189: 1777–82.
- Lagunes-Servin H., Torres J., Maldonado-Bernal C. et al. Toll-like receptors and cytokines are upregulated during *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter.* 2013; 18 (6): 423–32.
- Hirschfield M., Weis J.J., Toshchakov V. et al. Signalling by Toll-like receptor 2 and 4 agonists results in differential gene expression in murine macrophages. *Infect. Immun.* 2001; 69: 1477–82.
- Werts C., Tapping R.I., Mathison J.C. et al. Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. *Nature Immunol.* 2001; 2: 346–52.
- Laude-Sarp M., Haeflner-Cavaillon N., Caroff M. et al. Dissociation between the interleukin 1 – inducing capacity and limulus reactivity of lipopolysaccharides from gram-negative bacteria. *Cytokine.* 1990; 2: 253–8.
- Morrison D.C., Ulevitch R.J. The effects of bacterial endotoxins on host mediation systems. *Am. J. Pathol.* 1978; 93 (2): 526–617.
- Ulevitch R.J., Tobias P.S. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu. Rev. Immunol.* 1995; 13: 437–57.
- Marshall J.C. Lipopolysaccharide: an endotoxin or an exogenous hormone? *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41 (7): S470–80.
- Пак С.Г., Грачев С.В., Белая О.Ф. и др. Патогенетические аспекты синдрома интоксикации в клинической картине инфекционных заболеваний. *Вестник РАМН.* 2008; 11: 33–41.
- West M.A., Heagy W. Endotoxin tolerance: a review. *Crit. Care Med.* 2002; 30 (1): S64–73.
- Burkart V., Kim Y.E., Hartmann B. et al. Cholera toxin B pretreatment of macrophages and monocytes diminishes their proinflammatory responsiveness to lipopolysaccharide. *J. Immunol.* 2002; 168 (4): 1730–7.
- Dalpe A.H., Heeg K. Synergistic and antagonistic interactions between LPS and superantigens. *J. Endotoxin Res.* 2003; 9 (1): 51–4.
- Fernandez-Miyakawa M.E., Brero M.L., Mateo N.A. Cholera toxin modulates the systemic immune responses against *Vibrio cholera* surface antigens after repeated inoculations. *Microbiol. Immun.* 2006; 50 (8): 607–19.
- Sanchez-Hutado K., Poxton I.R. Enhancement of the cytotoxic activity of *Clostridium difficile* toxin A by surface-associated antigens. *J. Med. Microbiol.* 2008; 57 (6): 739–44.
- Erwert R.D., Winn R.K., Harlan J.M., Bannerman D.D. Shiga-like toxin inhibition of FLICE-like inhibitory protein expression sensitizes endothelial cells to bacterial lipopolysaccharide-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (43): 40567–74.
- Гюлазян Н.М., Белая О.Ф., Пак С.Г. Частота и уровень выявления маркера Шига-токсина при различных вариантах течения острых кишечных инфекций. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2008; 4: 42–5.
- Белая О.Ф., Черкасвов В.Л., Тимакова В.П., Титовец И.И. Диагностическая ценность коаггутинации и скринингового теста клеточной миграции при кишечных инфекциях. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 1997; 4: 12–6.
- Зуевская С.Н., Белая О.Ф., Кокорева Л.Н., Подуэктова В.Б., Туркадзе К.А. Корреляция уровней антигена Шига токсина в циркулирующих иммунных комплексах и показателей О-антигенной нагрузки у больных острыми вирусными гепатитами. *Инфекционные болезни.* 2012; 10 (Прил. 1): 155–6.
- Белая О.Ф., Пак С.Г. Пути совершенствования лабораторной

диагностики инфекционных заболеваний. Вестник РАМН. 2010; 11: 50–3.

40. McCabe W.R. Endotoxin: microbiological, chemical, pathophysiologic and clinical correlations. *Semin. Infect. Dis.* 1980; 3: 38–88.
41. Малов В.А., Грачев С.В., Нехаев С.Г. и др. Динамика уровней некоторых белков острой фазы и липополисахарид-связывающая активность для нейтрофилов периферической крови у больных с острыми кишечными инфекциями. *Терапевтический архив.* 1996; 11: 23–7.
42. Opal S.M., Scannon P.J., Vincent J.-L. et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. *J. Infect. Dis.* 1999; 180: 1584–89.
43. Покровский В.И., Гордиенко С.П., Литвинова В.И., ред. *Инфекционная антигенемия. Иммунология инфекционного процесса: Руководство для врачей.* М.: РАМН; 1994.
44. Воронов А.В., Малов В.А., Пак С.Г. и др. Иммуноферментный метод определения О-антигена шигелл Зонне с использованием аффинно выделенных антител. *Лабораторное дело.* 1989; 9: 66–70.
45. Черкасов В.Л., Еровиченков А.А., Рубцов И.В. Определение активности сывороточных антител в сопоставлении с инфекционной О-антигенемией у больных паратифом В. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1987; 5: 61–4.
46. Белая Ю.А., Белая О.Ф., Николаева Л.Г., Быстрова С.М. Диагностическая ценность реакции коагулирования у больных с диарейным синдромом. *Журнал гигиены, эпидемиологии, микробиологии и иммунологии (Прага).* 1989; 2: 183–90.
47. Бунин К.В., Белая О.Ф., Юсова Г.А. и др. Специфические антигены возбудителей и антитела к ним в составе циркулирующих иммунных комплексов при острой дизентерии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1985; 8: 78–80.
48. Gragg S.E., Loneragan G.H., Nightingale K.K. et al. Substantial within-animal diversity of *Salmonella* isolates from lymph nodes, feces, and hides of cattle at slaughter. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79 (15): 4744–50.
49. Малов В.А., Воронов А.В., Серебряков М.Ю. и др. Особенности экскреции с мочой соматического антигена шигелл у больных острой дизентерией. В кн.: *Материалы III Всероссийского съезда инфекционистов «Синдром интоксикации в инфекционной патологии».* М.; Смоленск; 1989: 50–2.
50. Черкасов В.Л., Белая О.Ф., Лиенко А.Б. и др. Скрининговое выявление антигенов некоторых патогенных энтеробактерий в биологических жидкостях у больных с хроническими заболеваниями кишечника. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1993; 5: 78–82.
51. Пак С.Г., Белая О.Ф., Малов В.А., Волчкова Е.В., Еровиченков А.А. Опыт и перспективы изучения синдрома интоксикации в инфекционной патологии. *Журнал инфектологии.* 2009; 1 (1): 9–12.
52. Белая Ю.А., Белая О.Ф., Перепелкин В.С. Диагностическая ценность реакции коагулирования при тифо-паратифозных заболеваниях. *Военно-медицинский журнал.* 1987; 7: 36–9.
53. Парфенов А.И., Ручкина И.Н., Атауллаханов Р.И., Белая О.Ф. и др. Постинфекционный синдром раздраженного кишечника. *Терапевтический архив.* 2009; 81 (2): 39–44.
54. Зуевская С.Н., Белая О.Ф., Волчкова Е.В., Андрейкайте Н.А. Маркеры возбудителей кишечных инфекций у больных острыми вирусными гепатитами с холестагическим синдромом. *Терапевтический архив.* 2011; 83 (11): 34–8.
55. Бунин К.В., Белая О.Ф. Определение антигенов шигелл и сальмонелл реакцией коагулирования у больных острыми кишечными инфекционными заболеваниями. *Советская медицина.* 1981; 5: 2–9.
56. Rossignol D., Lynn M., Wittek A., Rose J. Elevated plasma levels of limulus amoebocyte lysate – reactive material. *J. Infect. Dis.* 2006; 194: 1340.
57. Клинико-лабораторная диагностика инфекционных болезней / Финогеев Ю.П., Лобзин Ю.В., Винакмен Ю.А. и др. под ред. Ю.В. Лобзина, СПб: Фолиант; 2001.

## REFERENCES

1. Caroff M., Karibian D., Cavaillon J.-M., Haeffner-Cavaillon N. Structural and functional analyses of bacterial lipopolysaccharides. *Microb. Infect.* 2002; 4: 915–26.
2. Erridge C., Bennett-Guerrero E., Poxton I.R. Structure and function of lipopolysaccharides. *Microb. Infect.* 2002; 4: 837–51.
3. Deiters U., Gumenscheimer M., Galanos C., Mühlradt P.F. Toll-like receptor 2- and 6-mediated stimulation by macrophage-activating lipopeptide 2 induces lipopolysaccharide (LPS) cross tolerance in mice, which results in protection from tumor necrosis factor alpha but in only partial protection from lethal LPS doses. *Infect. Immun.* 2003; 71: 4456–62.
4. Gutschmann T., Müller M., Carroll S.F. et al. Dual role of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein in neutralization of LPS and enhancement of LPS-induced activation of mononuclear cells. *Infect. Immun.* 2001; 69: 6942–50.
5. Hajishengallis G., Martin M., Schifferle R.E., Genco R.J. Counteracting interactions between lipopolysaccharide molecules with differential activation of Toll-like receptors. *Infect. Immun.* 2002; 70: 6658–64.
6. Hamann L., Alexander C., Stamme C. et al. Acute-phase concentrations of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein inhibit innate immune cell activation by different LPS chemotypes via different mechanisms. *Infect. Immun.* 2005; 73: 193–200.
7. Iwagaki A., Porro M., Pollack M. Influence of synthetic antiendotoxin peptides on lipopolysaccharide (LPS) recognition and LPS-induced proinflammatory cytokine responses by cells expressing membrane-bound CD14. *Infect. Immun.* 2000; 68: 1655–63.
8. Levels J.H.M., Abraham P.R., van den Ende A., van Deventer S.J.H. Distribution and kinetics of lipoprotein-bound endotoxin. *Infect. Immun.* 2001; 69: 2821–8.
9. Suzuki M., Hisamatsu T., Podolsky D.K. Gamma interferon augments the intracellular pathway for lipopolysaccharide (LPS) recognition in human intestinal epithelial cells through coordinated up-regulation of LPS uptake and expression of the intracellular Toll-like receptor 4-MD-2 complex. *Infect. Immun.* 2003; 71: 3503–11.
10. Varma T.K., Toliver-Kinsky T.E., Lin C.Y. et al. Cellular mechanisms that cause suppressed gamma interferon secretion in endotoxin-tolerant mice. *Infect. Immun.* 2001; 69: 5249–63.
11. Rietschel E.T., Kirikae T., Schade F.U. et al. The chemical structure of bacterial endotoxin in relation to bioactivity. *Immunobiology.* 1993; 187: 169–90.
12. Din Z.Z., Mukerjee P., Kastowsky M., Takayama K. Effect on solubility and ionic state of lipopolysaccharide obtained from the deep rough mutant of *E. coli*. *Biochemistry.* 1993; 32 (17): 4579–86.
13. Bäckhed F., Normark S., Schweda E.K.H. et al. Structural requirements for TLR4-mediated LPS signalling: a biological role for LPS modifications. *Microb. Infect.* 2003; 5: 1057–63.
14. Takada H., Kotani S. Bacterial endotoxic lipopolysaccharides. In: *Morrisson D.C., Ryan J.L., eds. Bacterial endotoxic lipopolysaccharides.* Boca Raton :CRC Press; 1992: 107–34.
15. Perera P.Y., Mayadas T.N., Takeuchi O. et al. CD11b/CD18 acts in concert with CD14 and Toll-like receptor (TLR) 4 to elicit full lipopolysaccharide and taxol-inducible gene expression. *J. Immunol.* 2001; 166: 574–81.
16. Munford R.S. Sensing gram-negative bacterial lipopolysaccharides: A human disease determinant? *Infect. Immun.* 2008; 76 (2): 454–65.
17. Götz A., Orso G., Rothe G., Schmitz G. Ligand specific heteromeric CD14-clustering in inflammation. *J. Endotoxin Res.* 2000; 6: 106–10.
18. Akashi S., Ogata H., Kirikae F. et al. Regulatory roles for CD14 and phosphatidylinositol in the signaling via Toll-like receptor 4 – MD-2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 268: 172–7.
19. Hoshino K., Takeuchi O., Kawai T. et al. Toll-like receptor 4 deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR-4 as the *lps* gene product. *J. Immunol.* 1999; 162: 3749–52.
20. Qureshi S.T., Lariviere L., Leveque G. et al. Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr 4). *J. Exp. Med.* 1999; 189: 615–25.
21. Shimazu R., Akashi S., Ogata H. et al. MD-2, a molecule that

- confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.* 1999; 189: 1777–82.
22. Lagunes-Servin H., Torres J., Maldonado-Bernal C. et al. Toll-like receptors and cytokines are upregulated during *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter*. 2013; 18 (6): 423–32.
  23. Hirschfield M., Weis J.J., Tschachakov V. et al. Signalling by Toll-like receptor 2 and 4 agonists results in differential gene expression in murine macrophages. *Infect. Immun.* 2001; 69: 1477–82.
  24. Werts C., Tapping R.I., Mathison J.C. et al. Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. *Nature Immunol.* 2001; 2: 346–52.
  25. Laude-Sharp M., Haeffner-Cavaillon N., Caroff M. et al. Dissociation between the interleukin 1 – inducing capacity and limulus reactivity of lipopolysaccharides from gram-negative bacteria. *Cytokine*. 1990; 2: 253–8.
  26. Morrison D.C., Ulevitch R.J. The effects of bacterial endotoxins on host mediation systems. *Am. J. Pathol.* 1978; 93 (2): 526–617.
  27. Ulevitch R.J., Tobias P.S. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu. Rev. Immunol.* 1995; 13: 437–57.
  28. Marshall J.C. Lipopolysaccharide: an endotoxin or an exogenous hormone? *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41 (7): S470–80.
  29. Pak S.G., Grachev S.V., Belaya O.F. et al. Pathogenetic aspects of intoxication syndrome in the clinical picture of infectious diseases. *Vestnik RAMN.* 2008; 11: 33–41 (in Russian).
  30. West M.A., Heagy W. Endotoxin tolerance: a review. *Crit. Care Med.* 2002; 30 (1): S64–73.
  31. Burkart V., Kim Y.E., Hartmann B. et al. Cholera toxin B pretreatment of macrophages and monocytes diminishes their proinflammatory responsiveness to lipopolysaccharide. *J. Immunol.* 2002; 168 (4): 1730–7.
  32. Dalpke A.H., Heeg K. Synergistic and antagonistic interactions between LPS and superantigens. *J. Endotoxin Res.* 2003; 9 (1): 51–4.
  33. Fernandez-Miyakawa M.E., Brero M.L., Mateo N.A. Cholera toxin modulates the systemic immune responses against *Vibrio cholera* surface antigens after repeated inoculations. *Microbiol. Immun.* 2006; 50 (8): 607–19.
  34. Sanchez-Hutado K., Poxton I.R. Enhancement of the cytotoxic activity of *Clostridium difficile* toxin A by surface-associated antigens. *J. Med. Microbiol.* 2008; 57 (6): 739–44.
  35. Erwert R.D., Winn R.K., Harlan J.M., Bannerman D.D. Shiga-like toxin inhibition of FLICE-like inhibitory protein expression sensitizes endothelial cells to bacterial lipopolysaccharide-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (43): 40567–74.
  36. Gyulazyan N.M., Belaya O.F., Pak S.G. The frequency and level of detection of Shiga-toxin marker in different types of the course of acute intestinal infections. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni.* 2008; 4: 42–5 (in Russian).
  37. Belaya O.F., Cherkasov V.L., Timakova V.P., Titovets I.I. The diagnostic significance of coagglutination and screening test of cell migration in intestinal infections. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni.* 1997; 4: 12–6 (in Russian).
  38. Zuevskaya S.N., Belaya O.F., Kokoreva L.N., Poluektova V.B., Turkadze K.A. The correlation of Shiga toxin antigen levels in circulating immune complexes and indicators of O-antigen load in patients with acute viral hepatitis. *Infeksionnye bolezni.* 2012; 10 (1): 155–6 (in Russian).
  39. Belaya O.F., Pak S.G. Approaches to improvement of laboratory diagnosis of infectious diseases. *Vestnik RAMN.* 2010; 11: 50–3 (in Russian).
  40. McCabe W.R. Endotoxin: microbiological, chemical, pathophysiological and clinical correlations. *Semin. Infect. Dis.* 1980; 3: 38–88.
  41. Malov V.A., Grachev S.V., Nekhaev S.G. et al. The dynamic levels of acute-phase proteins and of the lipopolysaccharide-binding activity of the peripheral blood neutrophils in patients with acute intestinal infections. *Terapevticheskiy arkhiv.* 1996; 11: 23–7 (in Russian).
  42. Opal S.M., Scannon P.J., Vincent J.-L. et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. *J. Infect. Dis.* 1999; 180: 1584–89.
  43. Pokrovskiy V.I., Gordienko S.P., Litvinova V.I., ed. Infectious an-  
tigenemia. Immunology of infectious process. A doctor's guide. Moscow: RAMN; 1994 (in Russian).
  44. Voronov A.V., Malov V.A., Pak S.G. et al. An immunoenzyme method for determining the O-antigen of Sonne's shigella with the use of affinity isolated antibodies. *Laboratornoye Delo.* 1989; 9: 66–70 (in Russian).
  45. Cherkasov V.L., Erovichenkov A.A., Rubtsov I.V. Determination of serum antibody avidity compared to infectious O-antigenemia in paratyphoid B patients. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1987; 5: 61–4 (in Russian).
  46. Belaya Yu.A., Belaya O.F., Nikolaeva L.G., Bystrova S.M. Diagnostic significance of the coagglutination reaction in patients with the diarrhoea syndrome. *Zhurnal gigiyeny, epidemiologii, mikrobiologii i immunologii (Prague).* 1989; 2: 183–90 (in Russian).
  47. Bunin K.V., Belaya O.F., Yusova G.A. et al. Specific antigens of the causative agents and their antibodies in the circulating immune complexes in acute dysentery. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1985; 8: 78–80 (in Russian).
  48. Gragg S.E., Loneragan G.H., Nightingale K.K. et al. Substantial within-animal diversity of *Salmonella* isolates from lymph nodes, feces, and hides of cattle at slaughter. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79 (15): 4744–50.
  49. Malov V.A., Voronov A.V., Serebryakov M.Yu. et al. The features of urinary excretion of shigella somatic antigen in patients with acute dysentery. In: *Materialy III Vserossiyskogo s'ezda infektionistov "Sindrom intoksikatsii v infeksionnoy patologii"*. Moscow; Smolensk; 1989: 50–2 (in Russian).
  50. Cherkasov V.L., Belaya O.F., Lienko A.B. et al. The screening detection of the antigens of pathogenic enterobacteria in the biological fluids of patients with chronic intestinal diseases. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1993; 5: 78–82 (in Russian).
  51. Pak S.G., Belaya O.F., Malov V.A., Volchkova E.V., Erovichenkov A.A. The experience and prospects of studying the intoxication syndrome in infectious pathology. *Zhurnal infektologii.* 2009; 1 (1): 9–12 (in Russian).
  52. Belaya Yu.A., Belaya O.F., Perepelkin V.S. Diagnostic value of the slide coagglutination reaction in typhoid-paratyphoid diseases. *Voenno-meditsinskiy zhurnal.* 1987; 7: 36–9 (in Russian).
  53. Parfenov A.I., Ruchkina I.N., Ataulkhanov R.I., Belaya O.F. et al. Post-infectious irritable bowel syndrome. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2009; 81 (2): 39–44 (in Russian).
  54. Zuevskaya S.N., Belaya O.F., Volchkova E.V., Andrekayte N.A. Markers of intestinal infection agents in patients with acute viral hepatitis with cholestatic syndrome. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2011; 83 (11): 34–8 (in Russian).
  55. Bunin K.V., Belaya O.F. Determination of Shigella and *Salmonella* antigens by the coagglutination reaction in patients with acute intestinal infectious diseases. *Sovetskaya meditsina.* 1981; 5: 2–9 (in Russian).
  56. Rossignol D., Lynn M., Wittek A., Rose J. Elevated plasma levels of limulus amoebocyte lysate – reactive material. *J. Infect. Dis.* 2006; 194: 1340.
  57. Finogeev Yu.P., Lobzin Yu.V., Vinakmen Yu.A. et al. Clinical and laboratory diagnosis of infectious diseases. Lobzin Yu.V., ed. Saint Petersburg: Foliant; 2001 (in Russian).

Поступила 06.02.14

Received 06.02.14

#### Сведения об авторах:

**Белая Ольга Федоровна**, д-р мед. наук, проф., зав. лаб. по изучению токсических и септических состояний НИИ молекулярной медицины ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова; **Малов Валерий Анатольевич**, д-р мед. наук, проф. каф. инфекционных болезней Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; **Пак Сергей Григорьевич**, д-р мед. наук, проф., член-корр. РАМН, почетный зав. каф. инфекционных болезней МПФ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова; **Волчкова Елена Васильевна**, д-р мед. наук, зав. каф. инфекционных болезней МПФ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова.