

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

ЛИПОПОЛИСАХАРИДЫ/ЭНДОТОКСИНЫ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ: РОЛЬ В РАЗВИТИИ ИНТОКСИКАЦИИ

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

²ГБОУ 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.¹, Belaya O.F.², Malov V.A.², Pak S.G.², Volchkova E.V.²

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

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

²I.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 ⁺ , CD8 ⁺ , T-регуляторных клеток и клеток памяти
Прямое воздействие на гепатоциты	Изменяется проницаемость ионов Ca ⁺⁺ 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 сочетанное присутствие 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- γ -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, энзимы 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, копрофильtrate, 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, копрофильtrатах, 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 копрофильtrате.

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 коаггутинация.

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-Sharp 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 холестатическим 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.