

АНТИГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ ФІБРИНОГЕНЗВ'ЯЗУЮЧИХ БІЛКІВ ТА ЇХНЯ РОЛЬ У ПАТОГЕНЕЗІ СТАФІЛОКОКОВИХ ІНФЕКЦІЙ.

Зовнішньоклітинні фібриногензв'язуючі білки

В. Д. Іванова, В. К. Позур

Київський університет національний імені Тараса Шевченка
Вул. Володимирська, 64, Київ, 01033, Україна

Staphylococcus aureus продукує три зовнішньоклітинних фібриногензв'язуючих білки — коагулаза (Coa), білок адгезії (Eap) та зовнішньоклітинний фібриногензв'язуючий білок (Efb), які діграють важливу роль у розвитку та протіканні стафілококових інфекцій. Імунізація деяких цих білків захищає тварин від інфікування. В даному огляді розглянуто структуру, особливі взаємодії з фібриногеном та біологічні властивості зовнішньоклітинних білків *S. aureus*.

Основними зовнішньоклітинними фібриногензв'язуючими білками *Staphylococcus aureus* є коагулаза (Coa), білок адгезії (Eap) та зовнішньоклітинний фібриногензв'язуючий білок (Efb). Наявні в літературі дані свідчать про певний внесок цих білків у забезпечення патогенності та вірулентності *S. aureus*.

Коагулаза. Білок *S. aureus* з молекулярною масою (м. м.) 87 кДа, виділений з штаму Newman, був ідентифікований як фібриногензв'язуюча коагулаза. Коагулаза кодується геном *coa*, транскрипція якого відбувається у фазі експоненційного росту. Вона є зовнішньоклітинним білком, проте показано [1], що невелика її кількість може бути прикріплена до клітинної поверхні. Крім протромбіну, коагулаза здатна зв'язуватися з фібриногеном [2], але менш інтенсивно, ніж пластівцевоютворюючий фактор (Clf). Адгезія Clf-дефектних (Coa-позитивних) мутантів до іммобілізованого фібриногену відбувається повільніше, ніж адгезія Clf-позитивних батьківських штамів, і є дозозалежним процесом [3].

З'ясовано, що коагулаза *S. aureus* не має ферментативної активності, активація нею протромбіну здійснюється без перетворення його на

тромбін [4]. Стафілокоагулаза діє як алостеричний ефектор, який змінює конформацію молекули протромбіну в такий спосіб, що активуються центри зв'язування фібриногену. Комплекс коагулаза-протромбін (стафілотромбін), утворений внаслідок стехіометричної реакції між протромбіном та коагулазою, здатний перетворювати фібриноген у фібрин, проте механізм цієї реакції відрізняється від такого, що має місце у процесі згортання крові [5].

На сьогодні доведено, що існує кілька типів коагулаз, при цьому один і той же штам *S. aureus* може продукувати кілька різних типів цього ферменту. Коагулази *S. aureus* за здатністю сирової крові нейтралізувати їхню плазмокоагулюючу активність поділяються на вісім серотипів [6]. Автори роботи [6] вважають, що штам *S. aureus* повинні поділятися на типи в залежності від типів коагулаз, які вони продукують.

Первинні структури коагулаз, які належать до серотипів I, II, III визначено. З'ясовано, що величини їхніх молекулярних мас обумовлені розміром області повторів, яка знаходиться на C-кінці молекули. Коагулази штамів Newman та 8325-4 (серотип III, очікувана м. м. 68904 Да) містять п'ять повторів [2], штаму 213 (серотип II, очікувана м. м. 71749 Да) — шість повторів [7], штаму BB (

© В. Д. ІВАНОВА, В. К. ПОЗУР, 2002

ротип I, очікувана м. м. 77377 Да) — вісім повторів [8].

Зрілі молекули коагулаз складаються з трьох різних сегментів. Перший, N-кінцевий, охоплює послідовність, яка варіює у коагулаз різних штамів. Гомологія 1—273 залишків цього білка штамів 8325-4 і ВВ складає 51,4 %, тоді як для 1—153 залишків коагулази штаму 213 цей показник дорівнює 53 %. Варіабельний N-кінець молекули обумовлює антигенну гетерогенність коагулаз різних серотипів, які зв'язують протромбін різного походження (штам ВВ викликає захворювання овець, штам 8325-4 — людей). Центральні частини (другий сегмент молекули) білків характеризуються більшою консервативністю (гомологія амінокислотних залишків складає 90 %). Висококонсервативні С-кінцеві ділянки (третій сегмент) утворені послідовністю з 27 залишків, яка повторюється від п'яти до восьми разів у молекулах коагулаз різних серотипів.

Область коагулази, яка зв'язується з протромбіном, локалізована на варіабельному N-термінальному кінці. При цьому виявлено, що коагулазну активність має фрагмент молекули, який охоплює 313 N-кінцевих залишків, тоді як коротші послідовності не здатні взаємодіяти з протромбіном. Фібриногензв'язуючі детермінанти коагулази розташовані на С-кінці молекули [2, 9]. Виявлено [10], що при зв'язуванні з фібриногенами різного походження функціональна активність коагулази змінюється по-різному. Проте вплив, який справляє на активність та специфічність молекули коагулази її зв'язування з фібриногеном, невідомий.

Показано, що коагулаза відіграє важливу роль у зв'язуванні розчинного фібриногену, на відміну від Clf, який зв'язує іммобілізований (твердофазний) фібриноген. При дослідженні внеску Clf та коагулази в забезпечення адгезії *S. aureus* до поверхнево-адсорбованого фібриногену виявлено [3], що ClfA, а не коагулаза збільшує вірогідність прилипання бактерій до вкритої плазмою поверхні, проте обидві субстанції (хоча коагулаза в меншій мірі) обумовлюють зв'язування з поверхнею, вкритою фібриногеном.

Результати досліджень свідчать також про те, що штам, дефектний за Clf, коагулазою або обома білками одночасно, характеризуються значною міцністю зв'язку бактеріальних клітин з іммобілізованим фібриногеном, що підтверджує участь у процесі адгезії до вкритих фібриногеном поверхонь інших фібриногензв'язуючих білків.

При аналізі вторинної структури молекули коагулази виявлено подібність її С-термінальної області повторів до β -складчастих структур білка А

S. aureus та білка G стрептококів. Гомології між амінокислотними послідовностями вказаних структур не спостерігається, але в послідовності ARP-TQNKPSETNAYNVTTTHANGQVSYG, яка складає основу С-кінцевих повторів коагулази, знайдено трипептид NKP, характерний для занурених у клітинну стінку ділянок білка А та білка G. З огляду на те, що невелика кількість коагулази може бути зв'язана з клітинною стінкою бактерії, припускають [2], що області повторів у її молекулі необхідні для зв'язування з пептидогліканом.

Коагулаза — це білок *S. aureus*, наявність якого розглядається як ідентифікаційний критерій для розрізнення представників цього виду від низьковірулентних стафілококів (коагулазонегативних). Проте роль коагулази в патогенезі стафілококових інфекцій залишається нез'ясованою. З одного боку, доведено, що коагулаза є одним з найважливіших факторів вірулентності стафілококів, оскільки введення тваринам очищеного білка [11] викликає значні патологічні зміни у їхньому організмі. Можливо, причиною цього є те, що утворення фібрину внаслідок дії коагулази та прикріплення його до поверхневих адгезинів бактеріальної клітини може підвищувати резистентність *S. aureus* до фагоцитозу.

Окрім того, були повідомлення [12—14] про те, що коагулазодефектні штам *S. aureus* мають значно нижчу вірулентність в експериментальних моделях інфекцій, ніж коагулазопозитивні батьківські штам. З іншого боку, деякі дослідники стверджують, що різниці у вірулентності між батьківськими та мутантними (Coa⁻) штамми *S. aureus* не спостерігається [15, 16] і, оскільки мутанти були отримані за допомогою хімічного мутагенезу, втрата бактерією вірулентності може бути наслідком додаткових мутацій генів, які кодують інші, більш важливі фактори патогенності і вірулентності.

Так, за допомогою сайт-специфічної мутації в *coa* гені, яка призводить до втрати плазмокоагулюючої активності, виявлено [2], що у *coa*⁻ мутантів штамів М60 та 8325-4 не відмічено зниження вірулентності при шкірних та запальних інфекціях (мастити) мишей — вони обумовлюють такі ж патологічні зміни та симптоми захворювання, як і батьківські штам. Крім того, протестовано штам *S. aureus*, дефектний за α - та β -токсинами, оскільки дія останніх може маскувати менш виражений ефект коагулазної активності. Проте зниження вірулентності таких мутантів не зафіксовано, отже, доказів внеску коагулази в забезпечення вірулентності токсигенних та нетоксигенних штамів не знайдено. Таким чином, на моделях шкірних ін-

фекцій та маститів мишей показано, що експресія коагулази не впливає на здатність *S. aureus* розмножуватися та викликати патологічні зміни тканин організму *in vivo*.

Аналогічні дані отримано в роботі [17] на моделі ендокардиту щурів, де стверджується, що коагулаза не впливає на вірулентність бактерій і не бере участі в адгезії до тканин хазяїна — цю роль виконує Clf.

Автори [18], на відміну від попередніх дослідників, на моделі легеневої інфекції мишей, спричиненої внутрішньовенним введенням коагулазопозитивних та коагулазонегативних мутантів *S. aureus*, продемонстрували, що коагулаза є основним фактором вірулентності при цьому типі інфекції. Цими ж авторами з'ясовано, що кількість бактерій, виділених з легеневої тканини вже через 7 днів від початку інфекційного процесу, корелює з титрами коагулази, а інфекція, викликана DU5843 (коагулазодефектним мутантним штамом), в порівнянні з DU5789 (коагулазопозитивним батьківським штамом) супроводжується істотним зменшенням кількості життєздатних бактерій.

Іншими дослідниками [19] показано, що вакцинація коагулазою може бути корисною для зниження проявів стафілококової інфекції. Отже, питання стосовно ролі коагулази в ініціюванні та протіканні стафілококових інфекцій не може бути вирішене остаточно і потребує подальшого вивчення.

Білок адгезії. Зовнішньоклітинний білок з м. м. 60 кДа, що синтезується культурами *S. aureus* під час лог-фази, спочатку був описаний як фібриноген- та протромбінзв'язуюча коагулаза [20]. З огляду на значний внесок у посилення інтенсивності адгезії бактерій цей білок *S. aureus* названо зовнішньоклітинним білком адгезії (Eap). Невідомі дослідження [21] показали, що він має більш широкий діапазон активності: здатний зв'язуватися з кількома різними білками плазми крові, серед яких фібриноген, фібронектин, протромбін, та з поверхнею клітин *S. aureus*. Крім того, він може формувати олігомерні форми і спричинювати агрегацію стафілококових клітин. Незважаючи на свою багатофункціональність, Eap є специфічним до мішені, оскільки не кожний білок плазми крові, супернатанту чи екстракту *S. aureus* зв'язується з ним. Так, сироватковий альбумін людини, колаген та лізоцим не взаємодіють з цим білком. Завдяки афінності одночасно до компонентів організму хазяїна та поверхні бактерій цей білок істотно підвищує адгезивність *S. aureus* і може розглядатися як бактеріальний рецептор з широким спектром активності.

Аналіз амінокислотного складу очищеного Eap виявив високий вміст лізину (11,1% гідрофобних амінокислот (28 %) у його послідовності [22]. Крім того, знайдено суттєву гомологію кислотної послідовності білка адгезії та білків поверхневого аналога білків МНС II класу стафілококів. Eap, виділений з культуральної редовища штаму Newman *S. aureus*, та Маркхневий білок штаму FDA 574, мають суттєві кінцеві послідовності. Відсутність ідентичних кінцевих послідовностей обумовлена варіабельністю кінцевих послідовностей. Вважають [21], що Eap відносяться до однієї родини білків.

S. aureus однаково ефективно взаємодіє з іммобілізованим білком адгезії та зв'язування цих бактерій з коагулазним білком А не відбувається. З'ясовано, і сутність у середовищі розчинного Clf зменшення інтенсивності адгезії бактерій до фібриногену, додавання білка адгезії призводить до її зменшення, оскільки ці білки зв'язуються з сайтами на молекулі фібриногену: Eap — що розташовані на α -ланцюзі, ClfA — з сайту γ -ланцюзі.

Білок адгезії приєднується до клітинно-мембранного білка *S. aureus*, не втрачаючи здатності до взаємодії з іншими білками плазми чи клітинами мазі організму. Взаємодія бактерій з білком адгезії є видоспецифічною: штамми виду *S. aureus* активно зв'язуються з ним, тоді як бактерії *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* та *Escherichia coli* не мають такої здатності. Вивчення Eap з *S. aureus* пригнічується са самим білком, а не коагулазою [21].

Подібне вбудовування зовнішньоклітинних білків у клітинну стінку мікроорганізмів характерне не лише для білка адгезії *S. aureus*. Воно характерне для автолізину пневмококів [23] та інтегрального білка *Listeria monocytogenes* [24]. Інтегральний білок *L. monocytogenes*, при внесенні його у середовище культивування здатний зв'язуватися з поверхнею цього мікроорганізму за рахунок наявності С-кінці його молекули GW-послідовності.

Унікальність білка адгезії полягає у його здатності до олігомеризації. Внаслідок зв'язування олігомерів Eap з поверхнею бактеріальних клітин відбувається їхня агрегація. Цей процес є специфічним та видоспецифічним. Для агрегації бактерій потрібна така кількість Eap, яка утворюється у культуральному середовищі протягом ночі культивування. Вважають, що Eap спричинює суттєву агрегацію клітин, що часто спостерігають у культурах *S. aureus*.

Виявлено, що процес агрегації стафілококів

клітин залежить від концентрації білка Eap: при її надлишку (10 мкг/мл) білок зв'язується лише з невеликою кількістю бактеріальних клітин (біля 2,5 %). Отже, в ситуаціях, коли щільність бактерій у вогнищі інфекції дуже велика та локальна концентрація Eap висока, стимулювання адгезії буде більш ефективним і відіграватиме важливішу роль, ніж при малій кількості бактерій.

Таким чином, білок має унікальні властивості, які дозволяють йому виступати зв'язуючою молекулою між компонентами організму хазяїна та бактерією. Стимулювання адгезії відбувається за рахунок попереднього «підготування» білком адгезії відповідної поверхні. Це підтверджується тим, що попередня інкубація фібробластів та епітеліальних клітин з Eap стимулює адгезію до них бактерій. Подібна стратегія стафілококів покликана підсилити механізми адгезії, які забезпечуються, перш за все, поверхневими білками (такими як Clf, фібронектин-, колаген-, еластин-, вітронектинзв'язуючі білки). Здатність Eap утворювати олігомери, які обумовлюють формування великих бактеріальних агрегатів, також можна розглядати як вдалу пристосувальну ознаку, що дозволяє бактерії обходити захисні механізми макроорганізму (наприклад, уникати фагоцитозу).

Зовнішньоклітинний фібриногензв'язуючий білок (Efb). Цьому білку (м. м. 19 кДа) не притаманна ферментативна активність, він не здатний конкурувати з клітинами *S. aureus* за зв'язування з фібриногеном і не бере участі в адгезії бактерій [25]. Молекули цього білка можуть спонтанно агрегуватися в димери, а при взаємодії з фібриногеном — утворювати преципітати.

Білок у значних кількостях продукується всіма штамми *S. aureus* протягом усіх фаз культивування [26]. І хоча в його молекулі немає ділянок, типових для білків клітинної стінки (області, зануреної у клітинну стінку та LPXTG послідовності), під час секреції невелика кількість Efb може бути тимчасово асоційована з клітинною поверхнею.

Білок Efb кодується геном *efb* (495 п. н.), послідовність якого висококонсервативна. Ген *efb* характерний лише для *S. aureus* і, як вважають, може бути використаний для ідентифікації цього виду [26]. Цей ген експресується у 100 % *S. aureus*, хоча рівень зовнішньоклітинного Efb у культуральних середовищах різних штамів *S. aureus* значно варіює в залежності від рівня продукції протеаз [20].

Білок Efb, як і β -лактамаза та ентеротоксин А, експресується в однакових кількостях в agr^+ і agr^- штамів *S. aureus*. Таким чином, ген, який його кодує, належить до класу генів, які не регулюють-

ся agr -локусом. На відміну від Efb, продукція фібриногензв'язуючої коагулази окремими штамми стафілокока репресується у відповідь на активацію agr -гена так само, як і продукція деяких поверхневих білків: білка А, фібронектинзв'язуючого білка, Clf [27].

Послідовність білка Efb порівняно з послідовністю фібриногензв'язуючого білка М з антифагоцитарними властивостями, розташованого на поверхні клітин стрептококів групи А [28]. С-термінальні ділянки цих білків (у білка М вони зв'язані з клітинною стінкою) характеризуються високим рівнем гомології, тоді як N-кінець, що бере участь у зв'язуванні фібриногену, є варіабельним. Обидва білки містять велику кількість залишків лізину. З'ясовано, що білки М стрептококів взаємодіють з тими ж ділянками фібриногену, що й білки стафілококів.

При порівнянні послідовності Efb з послідовностями інших білків з GenBank виявлено найістотнішу його подібність до коагулази *S. aureus*. У молекулі Efb на N-кінцевій ділянці знайдено два гомологічних повтори з 22 амінокислотних залишків, розділених 9-амінокислотним спейсером. Ця послідовність гомологічна п'яти [2] або восьми [8] повторам з 27 амінокислотних залишків, які знайдені на С-кінці молекули коагулази, де вони відповідають за зв'язування фібриногену та, можливо, за прикріплення до бактеріальної поверхні. Гомології між молекулами Efb та Clf не виявлено.

Автори роботи [29] отримали рекомбінантний білок Efb з м. м. 15,6 кДа, який складається з 165 амінокислотних залишків, включаючи сигнальну послідовність з 29 амінокислотних залишків. Ізоелектрична точка білка дорівнює 10,6, що характерно й для Clf [30]. Перші 23 амінокислотні залишки рекомбінантного білка повністю гомологічні N-термінальній послідовності очищеного нативного білка Efb *S. aureus* [20].

Рекомбінантний білок зв'язує фібриноген, антифібриногенові антитіла і розпізнається поліклональними антисироватками проти нативного Efb. Повна послідовність рекомбінантного білка (136 амінокислотних залишків) та його N-термінальна частина (69 амінокислотних залишків), яка містить два 22-залишкових повтори, зв'язується однаково інтенсивно з розчинним та іммобілізованим фібриногеном. С-кінцева частина молекули (70 амінокислотних залишків), позбавлена ділянки повторів, зв'язується лише з твердофазним фібриногеном. Таким чином, молекула Efb містить два фібриногензв'язуючих сайти, які розташовані: 1) на N-кінці в межах 8—69 амінокислотних залишків; 2) на С-кінці молекули — 70—136 залишків. На від-

міну від Clf білок Efb взаємодіє з α -ланцюгом фібриногену. Проте невідомо, який з двох сайтів Efb бере участь у цій взаємодії.

При взаємодії Efb з фібриногеном утворюються ниткоподібні преципітати. Формування складної просторової структури преципітатів відбувається за рахунок зв'язування двох фібриногензв'язуючих ділянок Efb з двома сайтами на кожній молекулі фібриногену, які розпізнають цей білок стафілокока [25]. Максимальна кількість преципітату утворюється при співвідношенні фібриноген:Efb 1:1. Надлишок одного з компонентів виражається у зменшенні інтенсивності преципітації. Присутність іонів Ca^{2+} і Zn^{2+} активує взаємодію білків, взятих у співвідношенні 1:1. Відомо, що Ca^{2+} здатний зв'язуватися з фібриногеном та бере участь у згортанні крові та загоєнні ран. Сайт, який зв'язує Ca^{2+} , знаходиться на С-кінцевій частині молекули γ -ланцюга фібриногену (DNDNDKFEGNC) та в межах другої області повторів білка Efb [31]. Вірогідно, іони Ca^{2+} сприяють взаємодії між фібриногеном та зовнішньоклітинним фібриногензв'язуючим білком *S. aureus*, обумовлюючи зміни конформації однієї чи обох молекул.

Вважають, що з усіх зовнішньоклітинних білків *S. aureus* найбільше значення має саме білок Efb. Його біологічну активність вивчали на моделях шкіряних інфекцій, викликаних штамами FDA486 та K4.3 *S. aureus* [32]. У останнього ген *efb* було інактивовано за рахунок вбудовування в нього фрагмента (2,0 тис. п. н.), який несе ген резистентності до гентаміцину. Мутантний штам не продукує Efb, проте експресія коагулази, білка адгезії, Clf, зв'язаної з поверхнею коагулази та продукція α -токсину залишається на рівні, характерному для батьківського штаму. Здатність штаму K4.3 взаємодіяти з іммобілізованим фібриногеном не змінюється. Це свідчить про те, що адгезія *S. aureus* до поверхні клітин не залежить від зовнішньоклітинного фібриногензв'язуючого білка.

При порівнянні вірулентності мутантного штаму K4.3 *S. aureus* з батьківським штамом FDA486 на моделі раневої інфекції щурів показано, що мутантний штам характеризується досить невисокою вірулентністю і низькою здатністю викликати важку інфекцію: 67 % щурів, заражених штамом FDA486, мали ознаки важкого захворювання, тоді як при введенні K4.3 — лише 29 %. Крім того, загоєння ран та відновлення маси тіла у інфікованих мутантним штамом *S. aureus* тварин відбувалося швидше.

Отже, наведені дані свідчать про те, що зовнішньоклітинний фібриногензв'язуючий білок відіграє суттєву роль у розвитку раневих інфекцій та

впливає на швидкість відновлення організму після інфекції. Можливим механізмом впливу є його зв'язування з фібриногеном з подальшим перетворенням останнього на фібрин, за процесом загоєння. У такий спосіб досягається поліпшення ефекту — поліпшується загоєння в організмі.

Про значення Efb як важливого фактора патогенності стафілококів свідчить і той факт, що білок продукується в значних кількостях штамом *S. aureus*. Так, при обстеженні 10 штамів *S. aureus*, отриманих з різних джерел (серед яких раневі інфекції, септицемія, змиви з ки, зіва), виявлено [32], що всі вони мають здатність продукувати білок Efb.

Крім того, на моделі експериментальної мастити, який за проявами нагадує велику рогату худобу і раневі інфекції, штамом *S. aureus* продемонстровано [19], що в фібриногензв'язуючими білками Efb та коагулазою призводить до значного зменшення кількості бактерій, виділених з молочних залоз. Це свідчить про здатність антитіл, утворених проти цих білків, попереджувати колонізацію тканин бактеріями. Внаслідок вакцинації зменшується кількість гістопатологічних проявів інфекції. І в інших дослідженнях, вакцинація мишей колагеном не обумовлює захисту проти кокалової інфекції. Спираючись на ці дані, розглядають коагулазу та Efb як можливі компоненти протистафілокової вакцини.

Проте існують і протилежні дані, які свідчать про відсутність впливу Efb на перебіг захворювання. На моделі експериментальної ендокардити у щурів показано [32], що відсутність у штамів білка Efb не знижує здатності бактерій рватися в травмованих аортальних клапанах та захисних систем організму хазяїна та не впливає на здатність бактерій прилипати до клітинних поверхонь. Така ситуація у різних моделях інфекцій зовнішньоклітинного білка Efb може відігравати різну роль. Отже, значення білка Efb *S. aureus* не є повністю з'ясованим і потребує подальшого вивчення.

Дослідження продукції антитіл класу IgG до зовнішньоклітинного фібриногензв'язуючого білка [33] показало, що антитіла виявляються в сироватці крові здорових донорів, що свідчить про експресію цього білка *S. aureus in vivo*. Анти-Efb-антитіл коливається в широкому діапазоні (100-кратне варіювання) і не залежить від кількості антигену. Антитіла до Efb пригнічують зв'язування бактеріальних клітин з іммобілізованим фібриногеном. Зв'язку між продукцією антитіл проти Efb та загоєнням ран не виявлено.

Однак динаміка антитілоутворення до Clf і Efb *S. aureus* під час інфекції різна. Рівні антитіл проти Efb у сироватці пацієнтів з гострою фазою захворювання значно нижчі, ніж у контрольній групі. Гуморальна імунна відповідь проти Ear активується на останніх стадіях інфекції. В разі Clf відмічається швидке утворення великої кількості антитіл під час гострої фази з наступним збільшенням їхньої кількості впродовж захворювання. Пацієнти, хворі на остейти в поєднанні з артритом та на ендокардити, характеризуються більш вираженою гуморальною імунною відповіддю на Efb (80 %), тоді як пацієнти з остейтами та абсцесами — менш вираженою (50 %) [33].

Подібна динаміка продукції антитіл до зовнішньоклітинного фібриногензв'язуючого білка Efb може бути викликана: 1) меншою (у порівнянні з Clf) стимуляцією імунної системи цим антигеном (проте рівні антитіл до обох білків у здорових осіб практично однакові); 2) утворенням імунних комплексів білка з антитілами, які циркулюють в організмі хворих: у цьому випадку антитіла до Efb не визначаються імуноферментним аналізом; 3) більш пізньою появою значної кількості білка Efb під час інфекції. З іншого боку, низька здатність до продукції антитіл проти Efb може бути наслідком індивідуальних особливостей кожного організму та можливою причиною схильності осіб із слабкою імунною відповіддю до розвитку більш важких стафілококових інфекцій.

Таким чином, дані літератури свідчать про те, що взаємодія з фібриногеном, можливо, є єдиною функцією зовнішньоклітинного фібриногензв'язуючого білка *S. aureus*, а його внесок у вірулентність бактерій залежить від локалізації інфекції. Однак з огляду на те, що вакцинація білком Ear зменшує патологічні прояви окремих видів стафілококової інфекції та пригнічує колонізацію тканин бактеріями, він у майбутньому може бути використаний як компонент протистафілококових вакцин. Подальші дослідження, на погляд авторів, повинні бути направлені на з'ясування особливостей формування імунної відповіді на цей білок та виявлення можливих шляхів її посилення.

Зростання інтересу до вивчення імунобіологічних властивостей білків *S. aureus*, які взаємодіють з різними компонентами зовнішньоклітинного матриксу хазяїна (в тому числі з фібриногеном) і є ключовими елементами процесу ініціації інфекції, пов'язано з пошуками нових протистафілококових терапевтичних та профілактичних засобів. У цьому розумінні важливим є не лише вивчення самих білків, їхнього можливого позитивного впливу на хворий організм, але й ретельне дослідження зако-

номірностей імунної відповіді на них (особливо гуморальної її ланки) і встановлення можливих механізмів блокування цих компонентів *in vivo*. Останнє може бути досягнуто різними шляхами, зокрема, вакцинацією проти специфічних бактеріальних детермінант, пасивною імунізацією антитілами проти адгезинів та створенням імплантатів з нових матеріалів з антиадгезивними властивостями.

Подальше всебічне вивчення розглянутих у даному огляді фібриногензв'язуючих білків золотистого стафілокока допоможе знайти найпридатніші бактеріальні мішені для створення нових антистафілококових засобів захисту.

V. D. Ivanova, V. K. Pozur

Antigenic properties of fibrinogen-binding proteins and their role in pathogenesis of staphylococcal infections. Extracellular fibrinogen-binding proteins

Summary

The data on investigation of structure, physical, chemical, antigenic properties and biological activity of staphylococcal extracellular fibrinogen-binding proteins are analysed in the present review. Their role in the development of staphylococcal diseases is described.

V. D. Ivanova, V. K. Pozur

Антигенные свойства фибриногенсвязывающих белков и их роль в патогенезе стафилококковых инфекций. Внеклеточные фибриногенсвязывающие белки

Резюме

В обзоре обобщены данные исследований структуры, физико-химических, антигенных свойств и биологической активности внеклеточных фибриногенсвязывающих белков *S. aureus*. Освещена их роль в процессе протекания стафилококковых инфекций.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Boden M. K., Flock J.-I. Fibrinogen-binding protein/clumping factor from *Staphylococcus aureus* // *Infect. Immunol.*—1989.—57, N 8.—P. 2358—2363.
2. Phonimdaeng P. O., O'Reilly M., Nowlan P., Bramley A. J., Foster T.-J. The coagulase of *Staphylococcus aureus* 8325-4. Sequence analysis of virulence of site-specific coagulase deficient mutants // *Mol. Microbiol.*—1990.—4, N 3.—P. 393—404.
3. Dickinson R. B., Nagel J. A., McDevitt D., Foster T. J., Proctor R. A., Cooper S. L. Quantitative comparison of clumping factor-and coagulase-mediated *Staphylococcus aureus* adhesion to surface-bound fibrinogen under flow // *Infect. Immunol.*—1995.—63, N 8.—P. 3143—3150.
4. Hemker H. C., Bas B. M., Muller A. D. Activation of a pro-enzyme by a stoichiometric reaction with another protein. The reaction between prothrombin and staphylocoagulase // *Biochim. et biophys. acta.*—1975.—379, N 1.—P. 180—188.
5. Jeljaszewicz J. Staphylocoagulase and clumping factor // *Staphylococci and staphylococcal infections* / Eds C. S. F. Easmon, C. Adlan.—London: Acad. press, 1983.—Vol. 2.—P. 525—543.

6. Ushioda H., Terayama T., Sakai S., Zen-Yoji H., Nishiwaki M., Hidano A. Coagulase typing of *Staphylococcus aureus* and its application in routine work // *Staphylococci and staphylococcal diseases* / Ed. J. Jeljaszewicz.—Stuttgart: Gustav Fisher, 1981.—Suppl. 10.—P. 77—83.
7. Kaida S. T., Miyata T., Yoshizawa Y., Igarashi H., Iwanaga S. Nucleotide and deduced amino acid sequences of staphylocoagulase gene from *Staphylococcus aureus* strain 213 // *Nucl. Acids Res.*—1989.—17, N 21.—P. 8871.
8. Kaida S. T., Miyata T., Yoshizawa Y., Kawabata S., Morita T., Igarashi H., Iwanaga S. Nucleotide sequence of the staphylocoagulase gene: its unique COOH-terminal 8 tandem repeats // *J. Biochem.*—1987.—102, N 5.—P. 1177—1186.
9. McDevitt D., Vaudaux P., Foster T. J. Genetic evidence that bound coagulase of *Staphylococcus aureus* is not clumping factor // *Infect. Immunol.*—1992.—60, N 4.—P. 1514—1523.
10. Raus J., Love D. N. Comparison of the affinities to bovine and human prothrombin of the staphylocoagulases from *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus aureus* of animal origin // *J. Clin. Microbiol.*—1991.—29, N 3.—P. 570—572.
11. Jeljaszewicz J. Staphylocoagulase and clumping factor. Action *in vivo* // *Staphylococci and staphylococcal infections* / Eds C. S. F. Easmon, C. Adlan.—London: Acad. press, 1983.—Vol. 2.—P. 543—544.
12. Hasegawa N., San Clemente C. L. Virulence and immunity of *Staphylococcus aureus* BB and certain deficient mutants // *Infect. Immunol.*—1978.—22, N 2.—P. 473—479.
13. Jonsson P., Lindberg M., Haraldsson I., Wadstrom T. Virulence of *Staphylococcus aureus* in a mouse mastitis model: studies of alpha hemolysin, coagulase and protein A as possible virulence determinants with protoplast fusion and gene cloning // *Infect. Immunol.*—1985.—49, N 3.—P. 765—769.
14. Seki K., Ogasawara M., Sakurada J., Murai M., Masuda S. Altered virulence of a pleiotropic *Staphylococcus aureus* mutant with a low producibility of coagulase and other factors in mice // *Microbiol. Immunol.*—1989.—33, N 12.—P. 981—990.
15. Cawdery M., Foster W., Hawgood B., Taylor C. The role of coagulase in the defence of *Staphylococcus aureus* against phagocytosis // *Brit. J. Exp. Pathol.*—1969.—50, N 4.—P. 408—412.
16. Baddour L., Tayidi M., Walker E., McDevitt D., Foster T. Virulence of coagulase-deficient mutants of *Staphylococcus aureus* in experimental endocarditis // *J. Med. Microbiol.*—1994.—41, N 4.—P. 259—263.
17. Moreillon P., Entenza J. M., Francioli P., McDevitt D., Foster T. J., Francois P., Vaudaux P. Role of *Staphylococcus aureus* coagulase and clumping factor in pathogenesis of experimental endocarditis // *Infect. Immunol.*—1995.—63, N 12.—P. 4738—4743.
18. Sawai T., Tomono K., Yanagihara K., Yamamoto Y., Kaku M., Hirakata Y., Koga H., Tashiro T., Kohno S. Role of coagulase in a murine model of hematogenous pulmonary infection induced by intravenous injection of *Staphylococcus aureus* enmeshed in agar beads // *Infect. Immunol.*—1997.—65, N 2.—P. 466—471.
19. Mato W., Boden M., Flock J.-I. Vaccination with *Staphylococcus aureus* fibrinogen binding proteins (FgBP_s) reduces colonization of *S. aureus* in a mouse mastitis model // *FEMS Immunol. and Med. Microbiol.*—1994.—10.—P. 47—54.
20. Boden M. K., Flock J.-I. Evidence for three different fibrinogen proteins with unique properties from *Staphylococcus aureus* strain Newman // *Microbiol. Pathol.*—1992.—12, N 4.—P. 289—298.
21. Palma M., Hagggar A., Flock J.-I. Adherence of *Staphylococcus aureus* is enhanced by an endogenous secreted protein with broad binding activity // *J. Bacteriol.*—1999.—181, N 9.—P. 2840—2845.
22. McGavin M., Krajewska-Pietrasik D., Ryden C., Hook M. Identification of *Staphylococcus aureus* extracellular matrix-binding protein with broad specificity // *Infect. Immunol.*—1993.—61, N 6.—P. 2479—2485.
23. Holtje J., Tomasz A. Specific recognition of choline residues in the cell wall teichoic acid by the N-acetyl-L-alanine amidase of *Pneumococcus* // *J. Biol. Chem.*—1975.—250, N 15.—P. 6072—6076.
24. Braun L., Dramsi S., Dehoux P., Bierne H., Lindahl G., Cossart P. InlB: an invasion protein of *Listeria monocytogenes* with a novel type of surface association // *Mol. Microbiol.*—1997.—25, N 2.—P. 285—294.
25. Palma M., Wade D., Flock M., Flock J.-I. Multiple binding sites in the interaction between an extracellular fibrinogen-binding protein from *Staphylococcus aureus* and fibrinogen // *J. Biol. Chem.*—1998.—273, N 21.—P. 13177—13181.
26. Boden M. K., Flock J.-I. Incidence of the highly conserved fibrinogene and expression of the fibrinogen-binding protein among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* // *J. Clin. Microbiol.*—1995.—33, N 9.—P. 2347—2352.
27. Novick R., Ross H., Projan S., Kornblum J., Kreiswirth B., Moghazeh S. Synthesis of staphylococcal virulence factors is controlled by regulatory RNA molecule // *EMBO J.*—1993.—12, N 10.—P. 3967—3975.
28. Horstmann R., Sievertsen H., Leippe M., Fischetti V. Role of fibrinogen in complement inhibition by streptococcal M protein // *Infect. Immunol.*—1992.—60, N 12.—P. 5036—5041.
29. Boden M. K., Flock J.-I. Cloning and characterization of a gene for a 19 kDa fibrinogen-binding protein from *Staphylococcus aureus* // *Mol. Microbiol.*—1994.—12, N 4.—P. 599—606.
30. Switalski L. M. Isolation and purification of staphylococcal clumping factor // *Staphylococci and staphylococcal diseases* / Ed. J. Jeljaszewicz.—Stuttgart: Gustav Fisher, 1976.—P. 413—425.
31. Wade D., Palma M., Lofving-Arvholm I., Sallberg M., Silbering J., Flock J.-I. Identification of functional domains in Efb, a fibrinogen binding protein of *Staphylococcus aureus* // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1998.—248, N 3.—P. 690—695.
32. Palma M., Nozohoor S., Schennings T., Heimdahl A., Flock J.-I. Lack of the extracellular 19-kilodalton fibrinogen-binding protein from *Staphylococcus aureus* decreases virulence in experimental wound infection // *Infect. Immunol.*—1996.—64, N 12.—P. 5284—5289.
33. Colque-Navarro P., Palma M., Soderquist B., Flock J.-I. Antibody responses in patients with Staphylococcal septicemia against two *Staphylococcus aureus* fibrinogen binding proteins: clumping factor and an extracellular fibrinogen binding protein // *Clin. and Diagn. Lab. Immunol.*—2000.—7, N 1.—P. 14—20.

УДК 579.86.861.2:616-092.18
Надійшла до редакції 26.01.01