

УДК 579.882 + 57.082.542

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО ТАКСОНОМІЇ ТА БІОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ МІКРООРГАНІЗМІВ ПОРЯДКУ CHLAMYDIALES (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Гончаренко В.В., Джорасва С. К., Кутова В. В.
ДУ "Інститут дерматології та венерології
АМН України",
м.Харків, вул. Чернишевська 7/9

Унікальний цикл розвитку представників Chlamydiales визначає їх своєрідність і відмінність від інших представників мікроміру та обумовлює таксономічне положення у системі мікроорганізмів на рівні самостійного порядку. Оригінальність біологічних властивостей мікроорганізму постійно викликала дискусію щодо таксономічної класифікації, що базувалася на аналізі окремих фенотипічних, культуральних та морфологічних ознак на рівні видів [1]. Використання сучасних молекулярно-біологічних методів дозволило виявити нові мікроорганізми з характерним для хламідій циклом розвит-

ку. Визначення геному вже відомих видів збудника при використанні методів рестрикції та молекулярної гібридизації, а також результати філогенетичного аналізу привели до необхідності перегляду класифікації мікроорганізмів цього порядку. Хоча слід зауважити, що не усі вчені в галузі хламідіології згодні з рекласифікацією, а саме зі змінами у родині Chlamydiaceae [2]. На 4-му Європейському конгресі „Хламідія-2000” (Хельсінкі, 2000) була прийнята нова міжнародна класифікація хламідій (рис. 1), яка заснована на наявності більш 95 % гомології у нуклеотидній послідовності генів 16S та 23S рРНК для усіх представників роду та більш 90 % - родини [3 - 5]. Згідно з новим визначенням, яке запропоноване Everett K.D.E., “у порядок Chlamydiales об'єднані облигатні внутрішньоклітинні бактерії, які мають подібний до хламідійного цикл розвитку, характеризуються наявністю грампозитивних або грамнегативних елементарних тілець (ЕТ) і володіють більш ніж 80% рівнем гомології за послідовністю 16S та 23S рРНК генів”. Також в основі класифікації лежить порівняльний філогенетичний аналіз 5 структурних генів, що кодують ферменти GroEL і KDO-трансферазу, головний білок зовнішньої мембрани MOMP та ліпопротеїн [6].

Сучасна класифікація хламідій

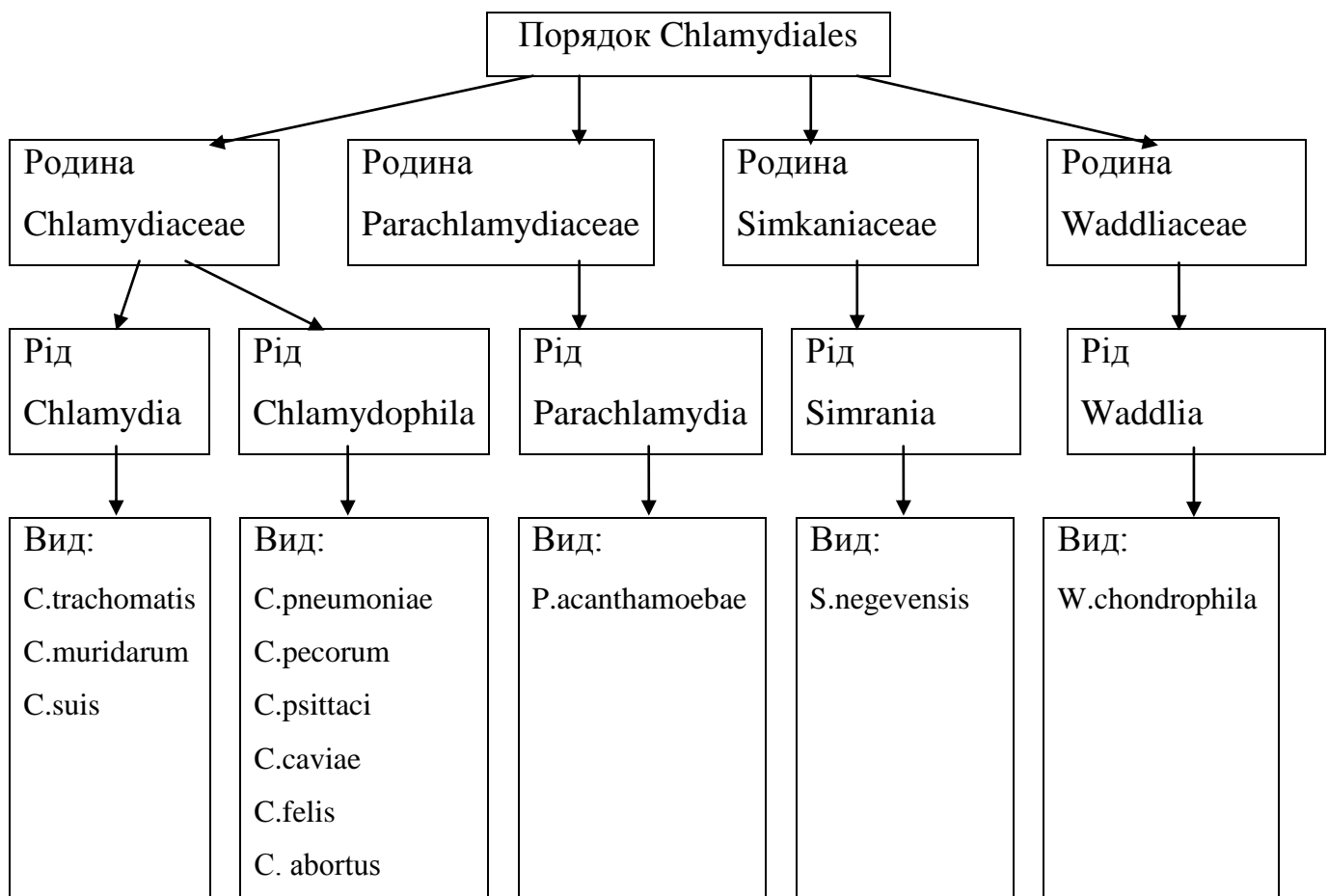


Рис.1 Таксономія мікроорганізмів порядку Chlamydiales.

Порядок Chlamydiales був розподілений на 4 родини, кожна з яких має свою екологічну нішу. Раніш не-класифіковані мікроорганізми були сгруповані у Parachlamydiaceae, Simkaniaceae, Waddiaceae і у теперішній час інтенсивно здійснюються дослідження, спрямовані на визначення ролі та подальше виявлення предста-

вників цих родин у різних екопопуляціях [7]. Найбільш радикальні зміни відбулися у систематиці родини Chlamydiaceae, котра розділена на 2 роди: Chlamydia і Chlamydophila, що розрізняються між собою за фенотипічними та екологічними ознаками (табл. 1).

Таблиця 1. Відповідність видових назв представників родини Chlamydiaceae

Нова класифікація			Попередня класифікація	
Рід	Вид	Хазяїн	Вид	Рід Chlamydia
Chlamydophila	C. abortus	Ссавці	C. psittaci	
	C. psittaci	Птахи		
	C. felis	Кішки		
	C. caviae	Морські свинки		
	C. pecorum	Ссавці	C. pecorum	
	C. pneumoniae		C. pneumoniae	
Chlamydia	C. trachomatis	Людина	C. trachomatis	
	C. suis	Свині		
	C. muridarum	Гризуни		

Найбільш значимими збудниками для медицини вважаються *C. trachomatis* та *C. pneumoniae*. Загальноприйнята характеристика штамів *C. trachomatis* заснована на визначених методом мікроімунофлюоресценції різницях сероварів, які базуються на серологічних розходженнях, що визначаються у різних ділянках хламідійного МOMP, і на розбіжностях послідовностей генів для гена МOMP (*ompA*), точно відповідних сероварам МOMP *C. trachomatis*. Молекулярною основою антигенних різниць між сероварами слугують розходження у послідовності амінокислотних залишків варіабельних доменів МOMP та відповідно різниць у нуклеотидній послідовності генів, які кодують МOMP. Оригінальна класифікація Wang і Grayston визначила 15 сероварів *C. trachomatis* (A, B, Ba, C-K і L1-L3), але вони історично згруповані у біовари трахоми (серовари A-K) і венеричної лімфогранулеми (серовари L1- L3). Далі біовар трахома розділяється на штами ендемічної трахоми (серовари A-C) і окулогенітальні штами (серовари D-K). Наступна ізоляція сероваріантних штамів у сполученні з додатковими даними по послідовностям *ompA* розширила класифікацію хламідійних штамів до >20 генотипів, сероварів та сероваріантів [8 - 10]. Вид *C. pneumoniae* розглядається в основному як респіраторний збудник, здатний спричиняти васкулярні ускладнення, та має біовари, назви яких виникли від джерел виділення. Спочатку *C. pneumoniae* визначали як людський патоген, але згодом здійснено вилучення збудників цього виду від коней, коал, амфібій, змії і навіть собак. Усі штами *C. pneumoniae*, які паразитують у тварин та людини, мають схожі генетичні та антигенні характеристики, що дозволяє розглядати їх як представників одного виду. Аналіз послідовностей ДНК *ompA* показав, що послідовність амінокислот у МOMP усіх штамів *C. pneumoniae* варіює менш ніж на 6%, тоді як інші види відрізняються від них більш ніж на 30%. Усі представники роду *Chlamydophila* виявляють еволюційне споріднення за структурою різних генів, а геном *C. pneumoniae* є достатньо консервативним. Ізоляти, вилучені у різних країнах як у

хворих з респіраторною патологією, так і з атеросклерозом, виявилися гомогенними та мали 94-95% гомології. [11 - 13].

Мікроорганізми порядку Chlamydiales є високоспеціалізованими грамнегативними внутрішньоклітинними паразитами еукаріотів, для яких є характерним облігатне внутрішньоклітинне існування та унікальний двохфазний життєвий цикл з конвертацією між двома морфологічно і функціонально дискретними формами: ретикулярними (РТ) та елементарними (ЕТ) тільцями [1]. Цикл розмноження хламідій реалізується при їх взаємодії з чутливою клітиною хазяїна. Базовий цикл включає наступні етапи: адсорбція та інтерналізація ЕТ; диференціація ЕТ в РТ; ремоделювання паразитофорної вакуолі і бактеріальна реплікація; експансія включення і перетворення РТ в ЕТ; звільнення бактерій з клітини хазяїна та інфікування нових клітин-мішеней [13]. Інфекційний процес розпочинається з високоспеціалізованого етапу адсорбції ЕТ до специфічних сайтів на поверхні еукаріотичних клітин за допомогою життєво важливого для паразиту процесу взаємодії рецептор-ліганд, де глікозрамінноглікан виконує роль зв'язуючої ланки між поверхневими білками хламідій (МOMP або ОмсВ) і комплексним рецептором на поверхні клітини-хазяїна, у результаті чого утворюється тримолекулярна сендвіч-структура. Звичайно збудник прикріплюється до клітини у мікроросинок. Важливу роль при взаємодії інфекційного ЕТ хламідій та клітини-хазяїна грають електростатичні сили. Для прикріплення до клітини потрібні позитивно заряджені іони (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+}) для нейтралізації негативного заряду на поверхні ЕТ. Таким чином, здійснюється взаємодія багатьох факторів для ініціації інвазії ЕТ [10, 14, 15]. У початковий період на ділянці прикріплення ЕТ спостерігається інвагінація з наступним замиканням плазмалемми та утворенням мікровезикули. Інтерналізація мікроорганізму залежить від типу клітин або виду самого паразиту, але загальною рисою є індукція активації скорочувального білку актину у сайтах прикріплення. Цьому процесу сприяє бактеріальний білок-ефектор Tagр, котрий активується за допомогою опосе-

редкованого тирозин-кіназного фосфорилування, що приводить в результаті до залучення актину для індукції ендочитозу хламідійних ЕТ. Після прикріплення мікроорганізм поглинає у клітину завдяки власній системі секреції 3 типу, шляхом адсорбційного ендочитозу, при якому важлива роль для проникнення хламідій у клітину надається клатрину [15]. Для виживання у хламідій існують адаптивні механізми для захисту від впливу клітини хазяїна шляхом вибірного перешкодження процесу злиття лізосом із паразитофорною вакуолею і утворенню фаголізосоми. ЕТ є стійкою морфологічною формою у позаклітинному існуванні за рахунок поперечно зв'язаних дисульфідних білків зовнішньої мембрани, котрі редукуються підчас інтерналізації, з наступною деконденсацією нуклеоїда та ініціацією бактеріальної транскрипції. Протягом 15 хвилин починається продукція нових бактеріальних протеїнів, упродовж години визначається експресія РНК, а через декілька годин продукти синтезу самих хламідій обумовлюють злиття з везикулами клітини, які утримують сфінгомелін, необхідний для синтезу клітинних стінок та мембран збудника. Бактерія створює власну цитоплазматичну мікровезикулу і транспортується у перинуклеарний простір за допомогою транспортної системи, зв'язаною з апаратом Гольджи, уздовж мікротрубочок клітини, де починається процес селективної взаємодії з органелами для отримання необхідних поживних речовин, включаючи сфінголіпіди, холестерол і гліцерофосфоліпіди, що забезпечує процес експансії паразитофорної вакуоли. Усередині включення елементарні тільця упродовж визначеного часу після інфікування диференціюються у ретикулярні тільця. Час генерації нових поколінь збудника варіює у різних видів. Під час переходу ЕТ у РТ гексагональні структури внутрішнього шару клітинної оболонки зникають та існують лише у фрагментованому стані. Ретикулярні тільця шляхом бінарного поділу створюють близько 50-100 поколінь. Цикл розвитку завершується редиференціацією РТ у ЕТ нового покоління. Для виходу збудника у міжклітинний простір існують два механізми: лізис клітини-хазяїна за допомогою бактеріальних білків-цитолізінів або екструзія патогену без руйнування клітин. [10, 16 - 20] Усередині клітини, інфікованої хламідіями, протікають складні біосинтетичні процеси, які характеризують своєрідність відносин паразита та клітини хазяїна, визначену як енергозалежний паразитизм. Однак, при повній розшифровці геному хламідій були визначені гени, котрі передбачають здібність до синтезу і використання обмеженої кількості власного АТФ. Таким чином, хламідії, являючись облигатними внутрішньоклітинними паразитами, виробили надзвичайно ефективні механізми адаптації до існування як усередині клітини-хазяїна, так і поза її межами. Вони легко проникають у клітину, уникають впливу захисних механізмів, перебудовують клітинний метаболізм і забезпечують власне виживання [10].

Література

1. Шаткин А. А. Урогенитальные хламидиозы [Текст] / А. А. Шаткин, И. И. Мавров. – Киев : Здоров'я, 1983. – 200 с.
2. Radical changes to chlamydial taxonomy are not necessary just yet [Text] / J. Schachter, R. S. Stephens, P. Timms [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2001. - № 51. – P. 249.
3. Use of the broad range PCR assay for the identification and classification of bacteria in the order Chlamydiales / A. Meijer, J. M Roholl, J. M. Osserwaarde. // Proceedings 4th Meeting of the European Society Chlamydia Reseach Aug. 20–23, 2000 : Helsinki (Finland), 2000. – P. 9.
4. Белозоров А. П. Новая классификация микроорганизмов порядка Chlamydiales [Текст] / А. П. Белозоров // Журнал дерматологии та венерологии. – 2001. – № 2 (12). – С. 10–13.
5. Материалы 4-го Европейского конгресса по хламидиям Европейского общества по изучению хламидий, 20-23 августа 2000, Хельсинки, Финляндия // ИППП. – 2000. – Т. 6. – С. 37-44.
6. Everett K. D. E. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaeaceae fam.nov. and Simkaniaceae fam.nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species standards for the identification of organisms [Text] / K. D. E. Everett, R. M. Bush, A. A. Andersen // International Journal of Systematic Bacteriology. – 1999. – № 49. – P. 415–440.
7. Diversity of bacterial endosymbionts of environmental Acanthamoeba isolates [Text] / S. Schmitz-Esser, E. R. Toenshoff, S. Haider et al // Applied and Environmental Microbiology. – 2008. – Vol. 74. – P. 5822-5831.
8. Byrne G. I. Chlamydia trachomatis strains and virulence: rethinking links to infection prevalence and disease severity [Text] / G. I. Byrne // J. Infect. Dis. – 2010. – Vol. 201. – P. 126-133.
9. Different growth rates of Chlamydia trachomatis biovars reflect pathotype [Text] / I. Miyairi, O. S. Mahdi. S. P. Ouellette [et al.] // J. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 194. – P. 350-357.
10. Мавров Г. І. Хламідійні інфекції: біологія збудників, патогенез, клініка, діагностика, лікування та профілактика [Текст] / Г. І. Мавров. – К., 2005. – 524 с. – Рос.мовою.
11. Blasi F. Chlamydia pneumoniae [Text] / F. Blasi, P. Tarsia, S. Aliberti // Clin. Microbiol. Infect. – 2009. - № 15. – P. 29-35.
12. Erkkila L. Pulmonary infection and atherosclerosis in experimental Chlamydia pneumoniae model [Text] / L. Erkkila // Publications of National Public Health Institute, Finland. - A 17/2005.
13. Wyrick P. B. Intracellular survival by Chlamydia: micro-review [Text] / P. B. Wyrick // Cellular Microbiology. / 2000. – Vol. 2, № 4. – P. 275-282.
14. Fadel S. Chlamydia trachomatis OmcB protein is a surface-exposed glycosaminoglycan-dependent adhesion [Text] / S. Fadel, A. Eley // J. Med. Microbiol. – 2007. –Vol. 56. P. 15-22.
15. Hybiske K. Mechanisms of Chlamydia trachomatis entry into nonphagocytic cells [Text] / K. Hybiske, R. S. Stephens // Infection & Immunity. – 2007. – Vol. 75, № 3. – P.3925-3934.
16. Abdelrahman Y. M. The chlamydial developmental cycle [Text] / Y. M. Abdelrahman, R. J. Belland // FEMS Microbiol. Rev. – 2005. – Vol. 29. – P. 949-959.
17. Abromaitis S. Attachment and entry of Chlamydia have distinct requirements for host protein disulfide isomerase

[Text] / S. Abromaitis, R. S. Stephens // PLoS Pathol. – 2009. – № 5 – P. 1000-1357.

18. Chlamydia causes fragmentation of the Golgi compartment to ensure reproduction [Text] / D. Heuer, A. R. Lipinski, N. Machuy [et al.] // Nature. – 2009. – Vol. 457. – P. 731-735.

19. Cocchiari J. L. New insights into Chlamydia intracellular survival mechanisms [Text] / J. L. Cocchiari, R. H. Valdivia // Cellular Microbiology. – 2009. – Vol. 11. – P. 1571-1578.

20. Кутовая В. В. Общая характеристика хламидий и их жизненный цикл [Текст] / В. В. Кутовая // Дерматология та венерология. – 2001. – № 1 (11). – С. 44-45.

The reclassification data and name species conformity of the family Chlamydiaceae, which was subjected most radical changes was shown in the article. The generally accepted characteristics of the serovars *C. trachomatis* in according divergences of genovar sequence for MOMP gene (*ompA*) were examined. The study result of antigenic variability MOMP *C. pneumoniae* was analyzed. Common features of the microorganism with the developmental cycle realization were shown.

Key words: microorganism taxonomy of the order Chlamydiales, the biological peculiarities, the developmental cycle.

УДК 579.882 + 57.082.542

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ТАКСОНОМИИ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЯХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОРЯДКА CHLAMYDIALES (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Гончаренко В.В., Джораева С.К., Кутовая В.В.

В статье приводятся данные о пересмотре таксономических критериев и новой классификации возбудителей порядка Chlamydiales, описывается соответствие видовых названий представителей семейства Chlamydiaceae, в котором произошли наиболее радикальные изменения. Рассматривается общепринятая характеристика сероваров *C. trachomatis* на основании расхождений последовательностей геноваров для гена MOMP (*ompA*). Анализируются результаты изучения антигенной вариабельности MOMP *C. pneumoniae*. Показаны общие черты, характерные для микроорганизма, при реализации цикла развития.

Ключевые слова: таксономия микроорганизмов порядка Chlamydiales, биологические особенности, цикл развития.

УДК 579.882 + 57.082.542

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО ТАКСОНОМІЇ ТА БІОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ МІКРООРГАНІЗМІВ ПОРЯДКУ CHLAMYDIALES (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Гончаренко В.В., Джораєва С. К., Кутова В. В.

В статті приведено дані щодо перегляду таксономічних критеріїв та нової класифікації збудників порядку Chlamydiales, наведено відповідність видових назв представників родини Chlamydiaceae, у якій відбулися найбільш радикальні зміни. Розглядається загальноприйнята характеристика сероварів *C. trachomatis* на основі розбіжностей послідовностей геноварів для гену MOMP (*ompA*). Анализуються результати вивчення антигенної вариабельності MOMP *C. pneumoniae*. Показано загальні риси, притаманні мікроорганізму, при реалізації циклу розвитку.

Ключові слова: таксономія збудників порядку Chlamydiales, біологічні особливості, цикл розвитку.

UDK 579.882 + 57.082.542

CURRENT NOTIONS ABOUT TAXONOMY AND BIOLOGICAL PECULIARITIES OF MICROORGANISMS OF ORDER CHLAMYDIALES (LITERATURE OVERVIEW)

Goncharenko V.V., Dzhoraeva S.K., Kutova V.V.