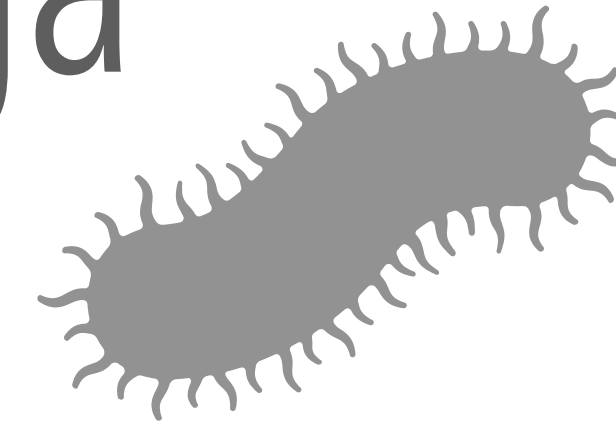


To be or not to be...?

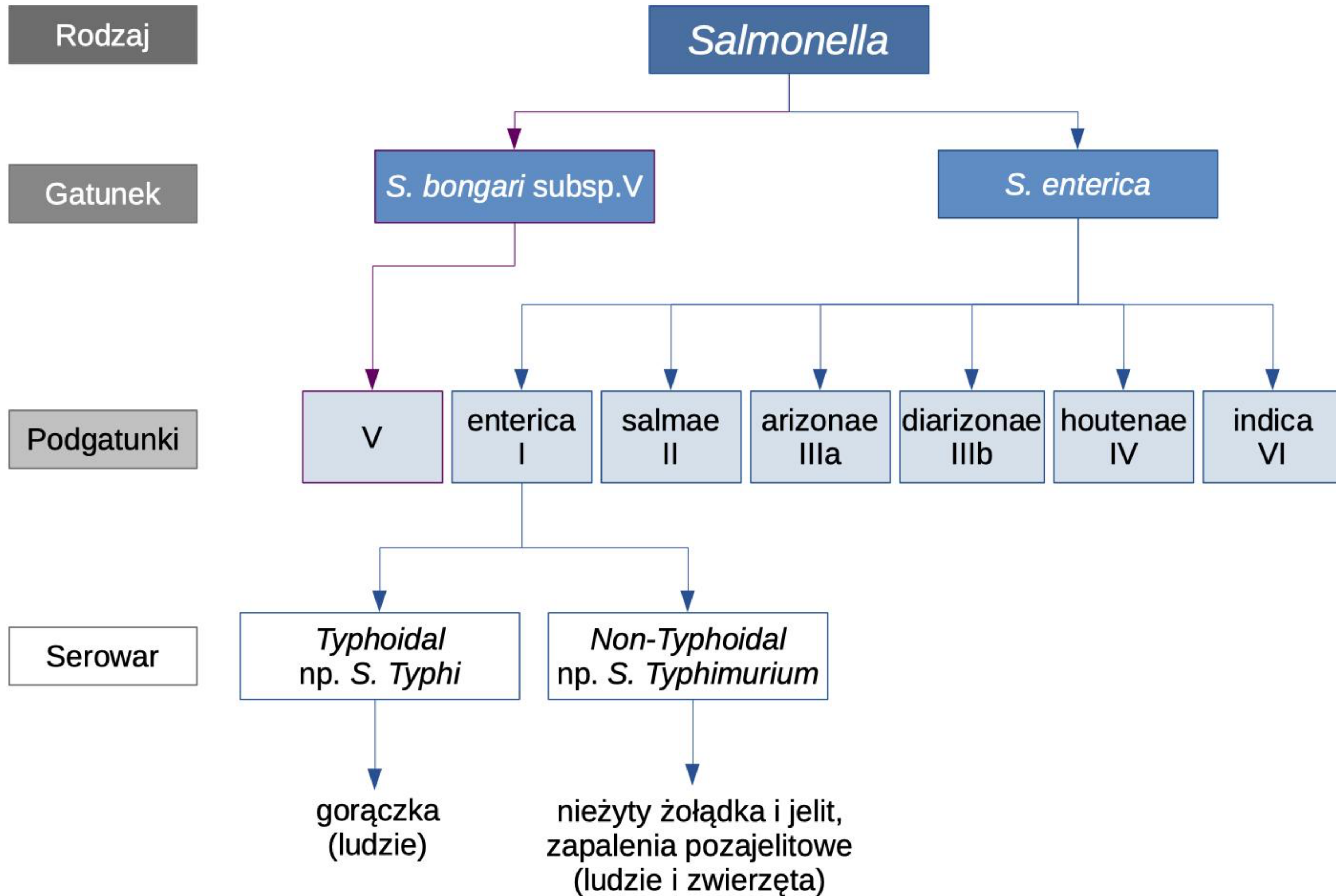
Czyli o mechanizmie patogenezy *Salmonella typhimurium*

PAULINA SMARUJ
ZAKŁAD GENETYKI BAKTERII
INSTYTUT MIKROBIOLOGII
WYDZIAŁ BIOLOGII
UNIwersytet Warszawski

Salmonellae - rozpoznanie wojsk wroga

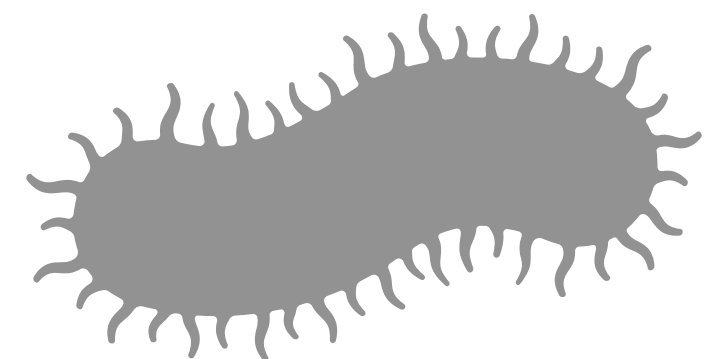


- Bakterie Gram-ujemne
 - Niesporujące fakultatywne anaeroby
 - Należą do rodziny *Enterobacteriaceae* (bliskie pokrewieństwo z *Escherichia coli*)
 - Skomplikowana klasyfikacja taksonomiczna
 - Walcowany kształt
 - Rzęski politrychalne
 - Dostają się do organizmu wraz z zanieczyszczoną wodą i pokarmem [1,2,3]
-



Jeden rodzaj - wiele chorób

- Bakterie należące do rodzaju *Salmonella* mogą powodować różne jednostki chorobowe, zależnie od serowaru i gospodarza.
- Podgatunek I *S. enterica* atakuje stałocieplne kręgowce. Jest odpowiedzialny za większość infekcji człowieka bakteriami *Salmonellae*.
- *S. enterica* serowar *Typhimurium* (*Salmonella typhimurium*) jest jednym z najczęstszych czynników etiologicznych nieżytu żołądka i jelit w krajach rozwiniętych i rozwijających się (w USA diagnozuje się 40.000 przypadków salmonellozy w ciągu roku) [2]
- Infekcja jagniąt *Salmonella typhimurium* jest wykorzystywana w badaniach - stanowi model nieżytu żołądka i jelit człowieka [1].

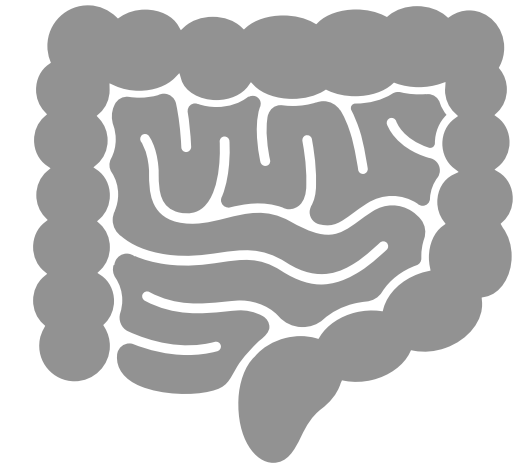


Salmonella Typhimurium - Pierwsza Przeszkoda

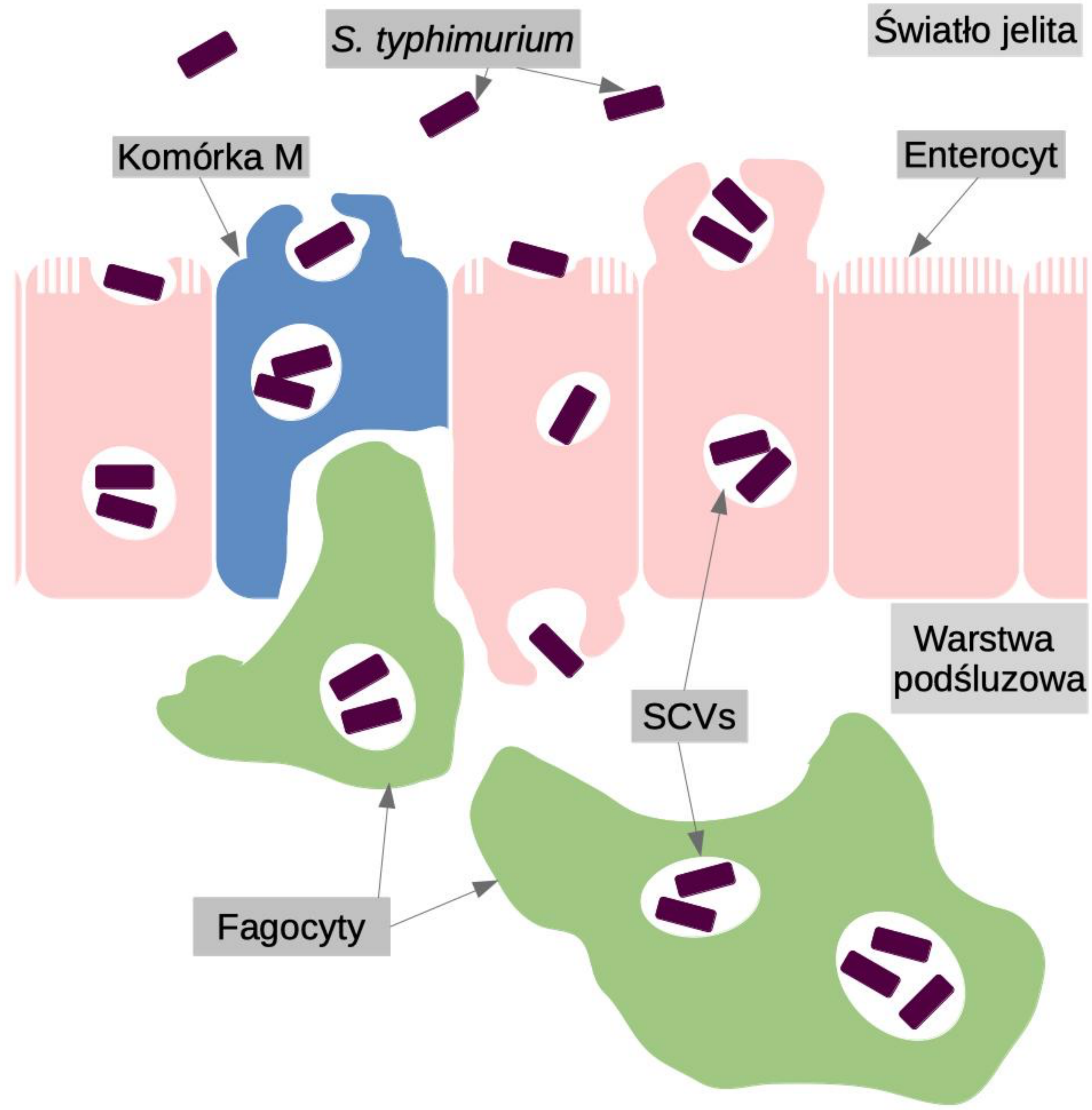
- Bakterie dostają się do żołądka wraz z zakażoną wodą lub pokarmem.
- Po dostaniu się do kwaśnego środowiska, *Salmonella typhimurium* aktywuje odpowiedź na niskie pH (*acid tolerance response*, ATR).
- Odpowiedź ATR pełni funkcję homeostatyczną względem pH wewnątrz komórki - zapewnia utrzymanie znacznie niższego stężenia jonów wodorowych niż w środowisku zewnętrznym [2].



Jelito Cienkie - „Not Bad, Not Terrible”

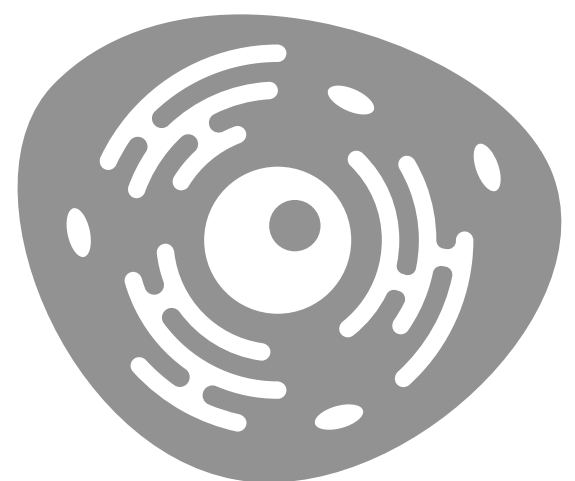


- Najlepszym rozwiązaniem dla *S. typhimurium* po dotarciu do jelita cienkiego jest przekroczenie warstwy śluzowej (co zapobiega mechanicznemu usunięciu z organizmu wraz z treścią pokarmową) oraz adhezja do enterocytów.
 - U myszy bakterie *Salmonellae* preferencyjnie infekują komórki M oraz kępki Peyera (*Peyer's patches*, PPs) [5].
 - W wyniku zaburzeń szlaków sygnałowych komórki gospodarza, dochodzi do drastycznych zmian w strukturze cytoszkieletu [2].
 - Indukowany zostaje proces formowania wypukłości przez błonę komórkową, które otaczają i pochłaniają bakterię. Pęcherzyki są określane jako *Salmonella-containing vacuoles* (SCVs) [6].
-



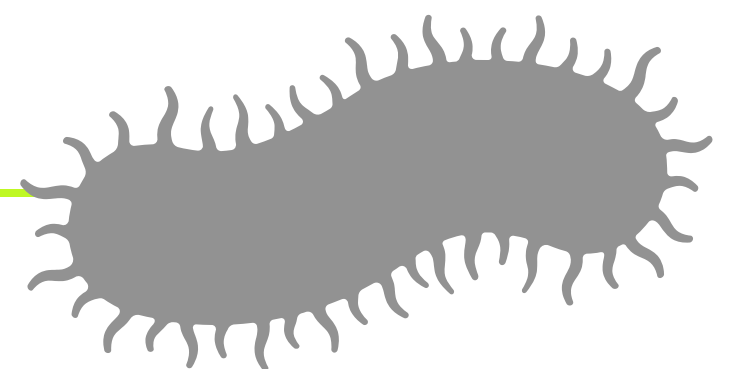
Rycina własna na podstawie *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Skills To Succeed in the Host: Virulence and Regulation oraz Regulatory principles governing *Salmonella* and *Yersinia* virulence

-
- Podczas dojrzewania SCVs, *Salmonella* indukuje agregację F-aktyny wokół wakuol. Zjawisko określane jako *vacuole-associated actin polymerization* (VAP) ma wpływ na utrzymanie integralności pęcherzyka i zabezpiecza przed fuzją z lizosomem [8].
 - SVCs wędrują do przestrzeni perinuklearnej, w pobliże Aparatu Golgiego. Prawdopodobnie specyficzna lokalizacja umożliwi im fuzję z pęcherzykami transportu komórkowego i pozyskiwanie zarówno substancji odżywczych jak i fragmentów błon. *Salmonella* ma więc warunki do wydajnego namnażania w obrębie SCV [9].
 - Zaobserwowano, że w zainfekowanych komórkach mogą występować długie filamentowe struktury błonę nazwane (*Salmonella-induced filaments*, SIFs). Wychodzą one z pęcherzyków SCVs i rozciągają się w cytoplazmie wzdłuż mikrotubul. Ich funkcja w patogenezie nie została określona [10].



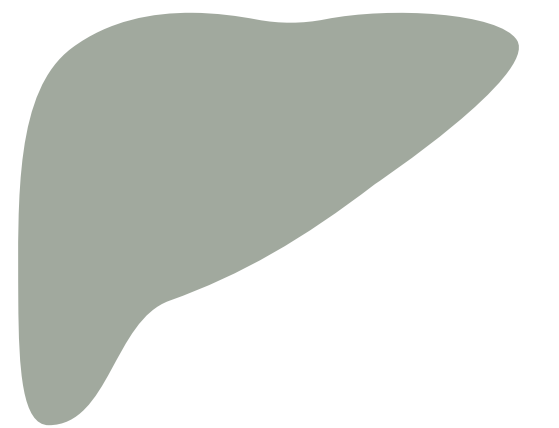
Wędrowki Część Dalsza

- Po przekroczeniu warstwy nabłonka Salmonella są fagocytowane przez komórki żerne [2]:
 - Makrofagi
 - Neutrofile
 - Komórki dendrytyczne } napływają w miejsce infekcji z krwią
- Większość bakterii pokonuje warstwę enterocytów wykorzystując komórki M. Następnie dostają się do kępek Peyera oraz węzłów chłonnych mezenterycznych, wątroby i śledziony drogą węzłów limfatycznych (głównie transportowane wewnątrz komórek dendrytycznych) [10].



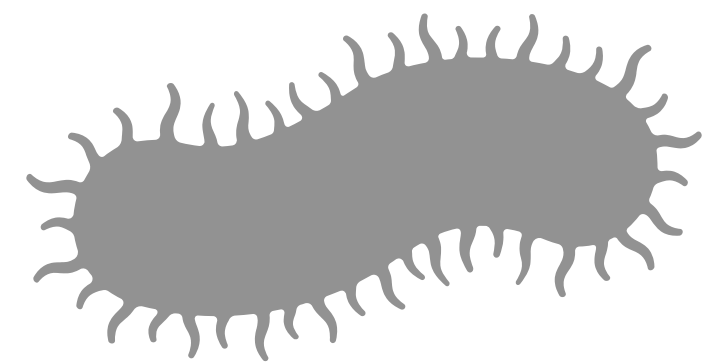
Wątroba i Śledziona

- Kilka genów promujących modyfikację struktury LPS (*lipopolysaccharide*) i oporność na polimyksyny (amfifilowe antybiotyki) może być zaangażowanych w obronę komórek bakteryjnych przed mechanizmami odpornościowymi aktywowanych neutrofilii i makrofagów [12].
- Geny wirulencji zlokalizowane na plazmidzie *Salmonella* wspierają replikację w tkankach wątroby i śledziony [13].
- W czasie dalszego rozwoju infekcji bakterie produkują lipid A, co wzmacnia produkcję cytokin zapalnych oraz wybuch tlenowy. Ostra odpowiedź układu immunologicznego może doprowadzić do śmierci gospodarza [14].



Spostrzeżenia I Wnioski

- Bakterie z rodzaju *Salmonella* infekujące organizm gospodarza stoją przed trudnym zadaniem, a dostanie się do limfy i krwi nie jest łatwe.
- Żeby infekcja była skuteczna, bakterie muszą przetrwać i replikować się w tak trudnych środowiskach jak wewnątrz żołądka czy fagocyt makrofaga.
- *S. typhimurium* wykazuje wiele przysosowań, które umożliwiają jej infekcję i rozprzestrzenianie się po organizmie gospodarza. Ekspresja szerokiego zakresu czynników wirulencji musi być regulowana - uzależniona od warunków środowiska i etapu infekcji.

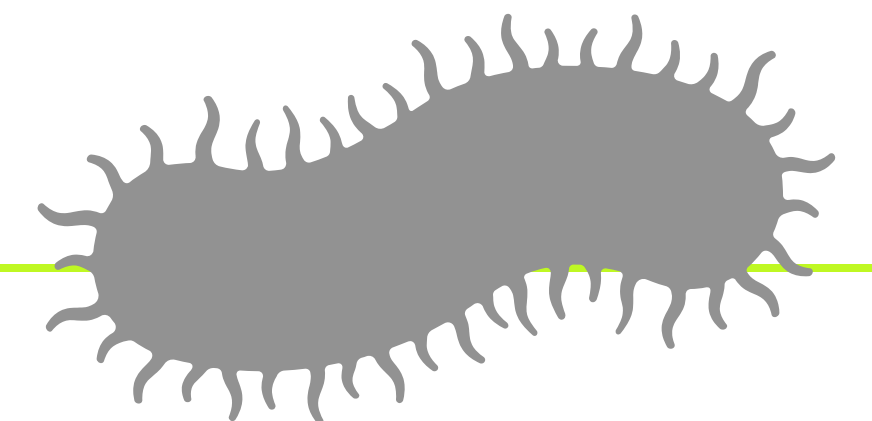




Czynniki wirulencji *Salmonella typhimurium*

Czynniki Wirulencji

- Strategia życiowa *S. typhimurium* wymaga wielu czynników wirulencji by przezwyciężyć bariery fizyczne i immunologiczne w różnych lokalizacjach na różnych etapach infekcji [1].
- Większość genów wirulencji jest zlokalizowanych w obrębie wysoko konserwowanych wysp genetycznych - *Salmonella pathogenicity islands* (SPIs), podczas gdy inne - na plazmidzie pSLT oraz niezależnie w obrębie chromosomu [2].
- Produkty wszystkich zidentyfikowanych do tej pory wysp SPI są powiązane z patogenezą, podobnie jak operon *spv* zlokalizowany na pSLT, kilka typów adheryn, białek rzęsek i czynników biorących udział w formowaniu struktury biofilmu [2].

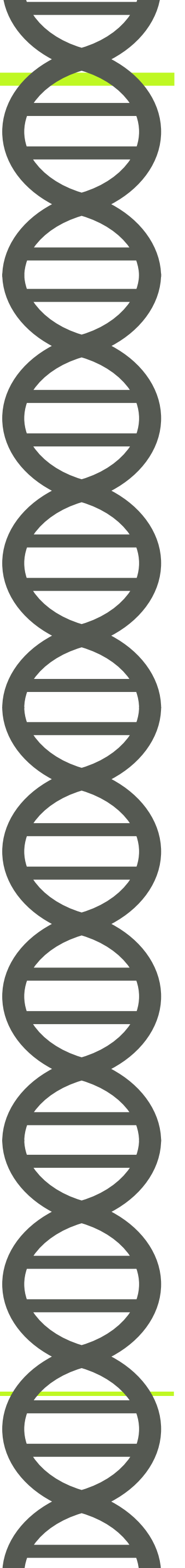


Lokalizacja	Niekorzystne warunki środowiska	Geny wirulencji	Funkcja produktów
żołądek	niskie pH	<i>atr</i>	<i>acid tolerance response, ATR</i>
jelito cienkie	osmolarność pH stężenie tlenu	geny związane z fimbriami SPI1 SPI4 (<i>svr</i>) SPI5 (<i>sopB, pips</i>) <i>sopE</i> <i>entF</i>	inwazja produkcja chemokin apoptoza
jelito cienkie	niska zawartość żelaza w środowisku	<i>entF</i>	pobieranie żelaza z zewnątrz

<p>makrofagi</p>	<p>stężenie kationów i fosforu nieorganicznego</p>	<p><i>mgtCB</i> SPI2 Gifsy-2</p>	<p>pobór magnezu replikacja w makrofagach obrona przed mechanizmami zabijającymi makrofagów</p>
<p>wątroba śledziona</p>	<p>stężenie kationów pH</p>	<p>geny zależne od PmrA (<i>pags</i>) <i>sprABCD</i> <i>awwN</i></p>	<p>oporność na białka kationowe replikacja poza jelitem stymulacja produkcji cytokin prozapalnych indukcja śmierci komórek gospodarza</p>

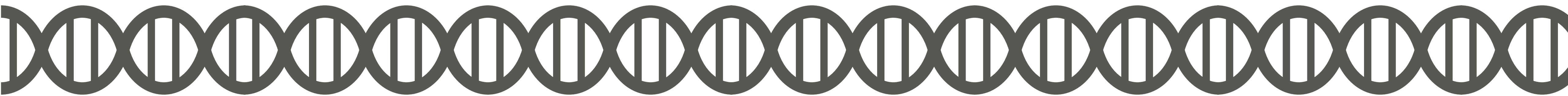
Salmonella Pathogenicity Islands (SPIs)

- **SPI1**
 - geny zaangażowane głównie w inwazję komórek jelita cienkiego
 - system sekrecji typu III (T3SS) [15]
- **SPI2**
 - 2 części: operon *ttrRSBCA* i 7 ORF-ów o nieznannej funkcji
 - kluczowe znaczenie dla przeżycia wewnątrz komórek gospodarza [16]
- **SPI3, SPI4, SPI5**
 - produkty większości ORF-ów nie zostały powiązane z żadną konkretną funkcją [2]



pSLT

- Wśród wysokiej liczby serowarów rodzaju *Salmonella*, tylko nieliczne posiadają plazmidy kodujące czynniki wirulencji.
- Większość klinicznych szczepów *Salmonella typhimurium* jednak je posiada. Ich wielkość zazwyczaj wynosi około 95 kb i jest określana jako pSLT [2].
- Region o długości 8 kb jest wysoce konserwawany i koduje 5 genów (*spvRABCD locus*) [17].



Bibliografia

1. Lucas, RL; Lee CA; Unravelling the mysteries of virulence gene regulation in *Salmonella typhimurium*; *Molecular microbiology* (2002); 36, 5.
 2. Fàbrega, A; Vila, J; *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium* Skills To Succeed in the Host: Virulence and Regulation; *Clinical Microbiology Reviews* (2013).
 3. Hurley, D; McCusker, MP; Fanning, S; Martins, M; *Salmonella*-host interactions - modulation of the host innate immune system; *Frontiers in immunology* (2014) 5, 481.
 4. Foster, JW; Hall, HK; Inducible pH homeostasis and the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium*; *Journal of Bacteriology* (1991); 173 (16) 5129-5135.
 5. Takeuchi, A; Electron microscope studies of experimental *Salmonella* infection. I. Penetration into the intestinal epithelium by *Salmonella typhimurium*; *Am. J. Pathol.* (1967) 50, 109–136.
 6. Francis, CL; Ryan, TA; Jones, BD; Smith, SJ; Falkow, S; Ruffles induced by *Salmonella* and other stimuli direct macropinocytosis of bacteria; *Nature* (1993) 364, 639–642.
 7. Erhard, M; Dersch, P; Regulatory principles governing *Salmonella* and *Yersinia* virulence; *Frontiers in Microbiology* (2015); (6) 949.
 8. Meresse, S; Unsworth, KE; Habermann, A; Griffiths, G; Fang, F; Martinez-Lorenzo, MJ; Waterman, SR; Gorvel, JP; Holden, DW; Remodelling of the actin cytoskeleton is essential for replication of intravacuolar *Salmonella*; *Cell. Microbiol.* (2001) 3, 567–577.
 9. Salcedo, SP; Holden, DW; SseG, a virulence protein that targets *Salmonella* to the Golgi network. *EMBO J.* (2003) 22:5003–5014.
 10. Garcia-del Portillo, F; Zwick, MB; Leung, KY; Finlay, BB; *Salmonella* induces the formation of filamentous structures containing lysosomal membrane glycoproteins in epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (1993) 90:10544–10548.
 11. Niess, JH; Reinecker, HC; Dendritic cells in the recognition of intestinal microbiota; *Cell. Microbiol.* (2006) 8, 558–564.
 12. Groisman, EA; The ins and outs of virulence gene expression: Mg²⁺ as a regulatory signal. *Bioessays* (1998) 36: 96–101.
 13. Guiney, DG; Libby, S; Fang, FC; Krause, M; Fierer, J; Growth–phase regulation of plasmid virulence genes in *Salmonella*; *Trends Microbiol* (1995); 36: 275–279.
 14. Khan, SA; Everest, P; Servos, S; Foxwell, F; Zähringer, U; Brade, H; et al.; A lethal role for lipid A in *Salmonella* infections; *Mol Microbiol* (1998) 36: 571–579.
 15. Lostroh CP, Lee CA; The *Salmonella* pathogenicity island-1 type III secretion system; *Microbes Infect.* (2001); 3:1281–1291.
 16. Ochman H, Soncini FC, Solomon F, Groisman EA; Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* survival in host cells; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (1996); 93:7800–7804.
 17. Rotger, R; Casadesus, J; The virulence plasmids of *Salmonella*; *Int. Microbiol.* (1999) 2:177–184.
-