

MAGDALENA SZEWCZYK

*Prywatne Salezjańskie Liceum Ogólnokształcące
Młodych Techników 17, 53-647 Wrocław
Zespół Szkół FUNDACJI Oświatowej EKOLA
Tadeusza Zielińskiego 56, 53-534 Wrocław
E-mail: magdalena.szewczyk@ekola.edu.pl*

ROLA NIEFIMBRIALNYCH ADHEZYN: BIAŁEK BŁONY ZEWNĘTRZNEJ I LIPOPOLISACHARYDU W ADHEZJI I INWAZJI BAKTERII DO KOMÓREK GOSPODARZA

WPROWADZENIE

Do niefimbrialnych adhezyn zalicza się białka błony zewnętrznej i lipopolisacharyd. Są to struktury, które ułatwiają bezpośredni kontakt bakterii z komórkami gospodarza (NATARO i KAPER 1998). To wspólne oddziaływanie czą-

steczek znajdujących się na powierzchni komórek patogenu i zasiedlanych tkanek, jest konieczne także do wprowadzenia do komórek gospodarza zarówno toksyn, jak i cząsteczek sygnałowych (KENNY i współaut. 1996).

BIAŁKA

Do struktur bakteryjnych, pełniących istotne funkcje w komórce bakteryjnej, należą białka błony zewnętrznej. Białka te mogą posiadać aktywność enzymatyczną lub działać jako swoiste albo nieswoiste kanały dyfuzyjne (poriny). Uczestniczą one w procesach transportu różnego typu cząsteczek do wnętrza komórki, a także mogą być związane z ochroną bakterii przed reakcjami immunologicznymi zakażonego organizmu (KOEBNIK i współaut. 2000, WITKOWSKA i współaut. 2009). Wiele białek błony pełni funkcje związane z adhezją bakterii do powierzchni tkanek, a także do sjałowanych oligosacharydów mucyny wydzielanej przez komórki nabłonkowe górnych dróg oddechowych np. białka OmpP2 i OmpP5 *Hemophilus influenzae* (FOXWELL i współaut. 1998, REDDY i współaut. 1996).

UDZIAŁ BIAŁEK BŁONY ZEWNĘTRZNEJ W ADHEZJI BAKTERII DO KOMÓREK EUKARIOTYCZNYCH

Zdolność enteropatogennych szczepów *E. coli* (EPEC) do wywoływania patologicznych

zmian w komórkach gospodarza jest związana ze ścisłą adhezją tych bakterii do enterocytów. Wszystkie dotąd zbadane szczepy enteropatogenne wykazywały obecność adhezyjnego białka – intiminy. Białko to o masie cząsteczkowej 94 kDa jest produktem genu *eaeA*, znajdującego się w obrębie wysp patogenności LEE (ang. locus of enterocyte effacement) (DE VINNEY i współaut. 1999). U enteropatogennych szczepów *E. coli* zdolność do wytwarzania intyminy jest regulowana warunkami wzrostu oraz genami regulatorowymi, aktywującymi intyminę, a znajdującymi się na plazmidzie EAF (ang. *E. coli* adherence factor) (ROSENSHINE i współaut. 1996). Intimina wiąże się swoiście z ufosforylowanym białkiem (Hp90), obecnym na powierzchni enterocytów oraz na komórkach nabłonkowych HEp-2. Receptor dla intyminy, Tir (ang. Translocated intimin receptor), jest syntetyzowany w cytoplazmie komórki bakteryjnej, a następnie jest wbudowywany w błonę komórki gospodarza (HUECK 1998, DE VINNEY i współaut. 1999). Badania potwierdziły, że enterotoksykogenne szczepy *E. coli* (ETEC) wy-

kazują *in vitro* zdolność adhezji i inwazji do komórek nabłonkowych pochodzących z jelit (KNUTTON i współaut. 1985, LUCK i współaut. 2005). Czynnikiem ułatwiającym zajście tych procesów, jest występujące w błonie zewnętrznej białko Tia o masie cząsteczkowej 25 kDa. Jest ono kodowane przez geny obecne w obrębie wysp patogenności szczepu ETEC H10407. Wykazuje ono homologię do białka Ail z *Yersinia* sp. (MAMMARAPPALLIL i ELSINGHORST 2000), a także adhezyny Hra-1, obecnej u *E. coli* O9:H10:K99 i posiadającej zdolność aglutynacji ludzkich erytrocytów (LUTWICHE i współaut. 1994). Enterotoksygenne szczepy *E. coli*, odpowiedzialne za biegunki u ludzi i zwierząt, produkują, oprócz białka Tia, także glikoproteinę Tib o masie 104 kDa. Ma ona zdolność wiązania się z powierzchnią komórek nabłonkowych jelita linii HCT8. AIDA-I jest należącą do klasy autoporterów adhezyną białkową, odpowiedzialną za rozsianą adhezję szczepów *E. coli* do komórek linii HeLa. Zbudowana jest z 3 podjednostek: α – właściwej adhezyny oraz β_1 i β_2 i kodowana jest przez gen plazmidowy *aidA*. Adhezyna ta jest potranslacyjnie modyfikowana poprzez przyłączenie heptozy, co jest istotne dla uzyskania przez nią właściwości adhezyjnych (BENZ i SCHMIDT 2001). Białko AIDA-I wiąże się z glikoproteiną gp119 o masie cząsteczkowej 119 kDa, obecną na powierzchni ludzkich komórek nabłonkowych linii HeLa (LAARMANN i SCHMIDT 2003). Na powierzchni bakterii *E. coli* występują także nefimbrialne adhezyny Afa-I, posiadające zdolność hemaglutynacji. Te szczepy *E. coli*, które mają tę adhezynę, przylegają do ludzkich komórek jelita oraz do komórek wydzielających śluz (LABIGNE-ROUSSEL i współaut. 1984). Kolejną adhezyną z rodziny Afa jest sklonowana w 1988 r. adhezyna Afa-III (LABIGNE-ROUSSEL i FALKOW 1988). Łączy się ona z występującym na komórkach nabłonkowych gospodarza receptorem DAF (ang. decay accelerating factor). Podjednostką strukturalną tej adhezyny jest AfaE-III. Natomiast podjednostka AfaD-III pośredniczy w inwazji przylegających bakterii do komórek nabłonkowych (JOUVE i współaut. 1997).

U pałeczek *E. coli* O157:H7 (ang. Shiga toxin producing *E. coli*, STEC) odkryto 67 kDa białko Iha. Jest ono białkiem błony zewnętrznej, kodowanym chromosomalnie oraz związanym z procesem adhezji *E. coli* do komórek nabłonkowych (TARR i współaut. 2000). Enteropatogenne szczepy *E. coli* są zdolne do wywoływania w komórkach nabłonkowych

jelita zmian histopatologicznych, określanых w języku angielskim terminem „attaching and effacing” (AE), tzn. przyleganie i zacieranie. Powstanie tych zmian zapoczątkowuje adhezja bakterii do enterocytów (ECHEVERRIA i współaut. 1991). Zmiany te charakteryzują się złuszczeniem rąbka szczoteczowego, zacieraniem granic enterocytów oraz utratą glikokaliks. Efektem AE jest zatarcie struktury mikrokosmków oraz wyrzuczenie pod enterocytami, z utworzeniem struktur podobnych do ruchomych piedestałów. W jednym ze szczepów *E. coli* stwierdzono obecność 27,6 kDa białka Paa, które jest odpowiedzialne za zmiany typu AE (BATTISSON i współaut. 2003). Białko Paa zawiera domenę wiążącą się do siarczanu heparanu. Wiele patogenów takich jak: *Neisseria gonorrhoeae*, *Helicobacter pylori* i *Pseudomonas aeruginosa* ma zdolność wiązania się z tkankami gospodarza za pomocą siarczanu heparanu (BATTISSON i współaut. 2003). W błonie zewnętrznej enterokrwotocznych szczepów *E. coli* produkujących toksynę, wykazano obecność białka Saa (ang. STEC autoagglutinating adhesin), kodowanego plazmidowo i związanego z adhezją bakterii do komórek linii HEP-2. Białko to wykazuje 24-27% homologię do białka YadA *Yersinia enterocolitica*, które także odpowiada za adhezję do komórek nabłonkowych (PATON i współaut. 2001). Enterokrwotoczne szczepy *E. coli* produkują również białko Efa1, warunkujące przyleganie do komórek nabłonkowych jajnika chińskiego chomika i komórek nabłonkowych jelit bydła (STEVENS i współaut. 2002). Białkiem błony zewnętrznej, które pełni wiele ważnych funkcji w komórkach pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*, jest strukturalne białko OmpA. Działa ono jako poryna, jest receptorem dla fagów i jest odpowiedzialne za integralność błony komórkowej (KOEBNIK i współaut. 2000, WITKOWSKA i współaut. 2009). Dzięki białku OmpA szczepy *E. coli* K-1 są odporne na działanie surowicy (WEISER i GOTSCHELICH 1991). Wykazano udział OmpA we wnikanii bakterii *E. coli* do śródbłonka naczyń włosowatych mózgu (PRASADARAO i współaut. 1996). Badania dowiodły również, że białko OmpA ma swój udział w adhezji szczepów *E. coli* do komórek linii HeLa i Caco-2 (TORRES i KAPER 2003). Białko OmpA wykazuje homologię do białka OmpU z *Vibrio cholerae*, które także posiada właściwości adhezyjne do komórek linii HeLa, Caco-2, Hep-2 i Henle 407 (SPERANDIO i współaut. 1995). Zidentyfikowano również białko OprF szczepu

Pseudomonas aeruginosa uczestniczące w adhezji bakterii do nabłonkowych komórek płucnych (AZGHANI i współaut. 2002). Bezotoczkowe szczepy *Hemophilus influenzae* syntetyzują białko Hia o masie cząsteczkowej 115 kDa. Dzięki niemu bakterie te mają zdolność adhezji do różnych linii ludzkich komórek nabłonkowych (ST. GEME i CUTTER 2000). Podobnie białko Hap *H. influenzae* umożliwia przyleganie i wnikanie bakterii do komórek nabłonkowych. Pośredniczy ono także w agregacji bakterii i tworzeniu mikrokolonii (FINK i współaut. 2001, HENDERSON i NATARO 2001). Białka HMW1 i HMW2 (ang. high molecular weight) otoczkowych szczepów *Hemophilus influenzae* są czynnikami adhezyjnymi i umożliwiają zasiedlanie komórek nabłonkowych układu oddechowego człowieka. Białko HMW1 ma ciężar 125 kDa, a białko HMW2 120 kDa (MARRS i współaut. 2001). Mimo podobieństwa sekwencji aminokwasowej adhezyny HMW1 i HMW2 mają różną swoistość wiązania do komórek, co sugeruje, iż rozpoznają one inne struktury receptorowe. HMW1 rozpoznaje sjalowane glikoproteiny i jego adhezja jest hamowana w obecności heparyny i siarczanu dekstranu. Receptor dla HMW2 jest ciągle nieznan (ST. GEME 1994). Białko CF29K ma masę cząsteczkową 29 kDa i pośredniczy w rozsia-nej adhezji pałeczek *Klebsiella pneumoniae*. Adhezyna ta wykazuje zdolność wiązania się do komórek linii Caco-2 i Int-407. Geny kodujące białko CF29K są zlokalizowane na plazmidzie pCFF504 kodującym β laktamazę (DI MARTINO i współaut. 1995). Bakterie *Helicobacter pylori* kolonizujące błonę śluzową żołądka, wykrywane w dwunastnicy, przelyku i płycie nazębnej, mają zdolność wiązania się z receptorami gospodarza: antygenem Lewis b i cząsteczką kwasu sjalowego za pomocą 78-kDa białka BabA2. Oba te receptory występują na powierzchni komórek nabłonkowych żołądka. Adhezyna BabA2 występuje w błonie zewnętrznej bakterii (GERHARD i współaut. 1999). Białko Rck *Salmonella Typhimurium*, tak jak i białko Ail *Yersinia enterocolitica*, należą do białek błony zewnętrznej. Uważa się, że białka te biorą udział w adhezji, wnikaniu do komórek gospodarza, a także są odporne na bakteriobójcze działanie dopełniacza. Białko Rck jest kodowane plazmidowo (CIRILLO i współaut. 1996). *Bordetella pertussis* jest bakterią wywołującą u człowieka krztusiec i wykazuje powinowactwo do nabłonka rzęskowego dróg oddechowych. Proces chorobowy zaczyna się od ad-

hezji bakterii do rzęsek, powodując zabijanie i niszczenie komórek gospodarza. Pertracyna to 69 kDa białko, które bierze udział w adhezji bakterii *Bordetella pertussis* do komórek linii CHO i HeLa (EVEREST i współaut. 1996).

LIPOPOLISACHARYD JAKO ADHEZYNA

Lipopolisacharyd (LPS) jest integralnym i unikatowym składnikiem błony zewnętrznej osłony komórkowej bakterii Gram-ujemnych. W 1892 r. PFEIFFER użył po raz pierwszy terminu endotoksyna dla nazwania wyizolowanej przez siebie z komórek *Vibrio cholerae* substancji powodującej reakcje toksyczne dla świnek morskich (PFEIFFER 1894). Określenie endotoksyna w świecie medycznym, wiąże się z terminami posocznica i wstrząs septyczny (SCHLETTER i współaut. 1995). Lipopolisacharyd stanowi 3 do 5 % suchej masy komórki Gram-ujemnej i pokrywa 70% jej powierzchni, chroniąc komórkę bakteryjną przed mechanizmami obronnymi gospodarza, kwasami żółciowymi i antybiotykami.

STRUKTURA LIPOPOLISACHARYDU

Lipopolisacharyd jest cząsteczką tworzącą agregaty o wysokiej masie cząsteczkowej od 2×10^5 – 1×10^7 . Cząsteczka LPS zawiera lipid A, kowalencyjnie związany z heteropolisacharydem o dwóch różnych regionach: oligosacharyd rdzeniowy i łańcuch O-swoisty (WILKINSON 1996). Wyróżnia się formy lipopolisacharydu w zależności od rodzaju bakterii Gram-ujemnej (WILKINSON 1996).

Formy lipopolisacharydów:

- gładka (S) z wielokrotnie powtarzającymi się jednostkami oligosacharydowymi w łańcuchu O-swoistym;
- półszorstkiej (SR) gdzie łańcuch O-swoisty zawiera tylko pojedynczą jednostkę oligosacharydową;
- szorstkiej (R) pozbawionej łańcucha O-swoistego.

Izolowane preparaty form gładkich bakterii są zbiorem lipopolisacharydów o różnej długości łańcucha O-swoistego. LPS oraz wolny lipid A w wodnych roztworach może agregować tworząc trójwymiarowe struktury zależne od hydrofobowości cząsteczek (ERRIDGE i współaut. 2002). Agregaty LPS mogą przybierać formę kubiczną, lamellarną oraz heksagonalną.

Łańcuch O-swoisty LPS ma zdolność aktywacji dopełniacza na drodze alternatywnej. Region ten może być również receptorem dla fagów podobnie jak zewnętrzna część rdzenia (REEVES 1995). Długość łańcucha O-

swoistego decyduje o wrażliwości bakterii na antybakteryjne białka. Krótsze łańcuchy zwiększają podatność bakterii na bakterio-bójcze działanie białka BPI (ang. bactericidal/permeability-increasing) (ELSBACH i WEISS 1993). Wykazano, że łańcuchy O-swoiste są istotne w pęłaniu bakterii *Proteus mirabilis* (BELAS i współaut. 1995). Region ten bierze także udział w wiązaniu bakterii brodawkowych do receptorów obecnych na komórkach korzeni roślin motylkowych (NOEL i współaut. 2000).

Badania prowadzone w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu doprowadziły do ustalenia struktur antygenów O-swoistych zawierających kwas sjałowy szczepów: *E. coli* O104 (GAMIAN i współaut. 1992), *E. coli* O24 (GAMIAN i współaut. 1994), *E. coli* O56 (GAMIAN i

współaut. 1994), *H. alvei* PCM 2386 (GAMIAN i współaut. 1991), *S. Toucra* O48 (GAMIAN i współaut. 2000), *C. braakii* O37 (GAMIAN i współaut. 1992). Wyniki badań nad tymi lipopolisacharydami przybliżyły rolę kwasu sjałowego w determinowaniu patogenezы bakterii. Kwasy sjałowe regulują przepuszczalność błon, biorą udział w oddziaływaniach międzykomórkowych. Odgrywają też rolę w zjawiskach odpornościowych, ponieważ maskują miejsca antygenowe, chociaż mogą też być składnikami epitopów. Obecność kwasów sjałowych w strukturach powierzchniowych komórek bakteryjnych: *E. coli*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus suis*, *Bordetella pertussis*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, ułatwia adhezję do tkanek gospodarza (KELM i SCHAUER 1997).

RECEPTORY WIAŻĄCE LIPOPOLISACHARYD

Lipopolisacharydy mają zdolność oddziaływania z cząsteczkami o charakterze receptorów na powierzchni komórek eukariotycznych. Dotychczas zidentyfikowano kilka receptorów rozpoznających endotoksynę.

RECEPTOR CD14

Cząsteczka CD14 jest błonową glikoproteiną o masie cząsteczkowej 53 kDa, obecną na powierzchni makrofagów, monocytów, neutrofilów i limfocytów B (WRIGHT i współaut. 1990). Białko to występuje także na powierzchni komórek nabłonkowych jelita linii SW-480, HT-29 i Caco-2 (FUNDA i współaut. 2001). Receptor ten jest rozpoznawany przez kompleks lipopolisacharyd – białko LBP (ang. lipopolysaccharide binding protein). LBP jest glikoproteiną o masie 60 kDa produkowaną w wątrobie i wydzielaną do krwiobiegu. Białko to obecne w surowicy pośredniczy w wiązaniu LPS do białek HDL (ang. high density lipoprotein). Zadaniem LBP jest wychwytywanie pojedynczych cząsteczek LPS i przenoszenie ich do receptora CD14 (HAILMAN i współaut. 1996). Rozpoznanie kompleksu LBP-LPS przez CD14 prowadzi do aktywacji monocytów i makrofagów. Glikoproteiną, która współzawodniczy z białkiem LBP w wiązaniu się z LPS, a tym samym w aktywacji CD14, jest laktoferyna (ELASS-ROCHARD i współaut. 1998). Poznano dwie postacie receptora CD14: postać rozpuszczalną sCD14 (ang. soluble CD14) oraz postać związaną z błoną komórkową mCD14 (ang.

membrane-bound CD14). Obie te postacie receptora konkurują ze sobą w procesie wiązania LPS (LANDMANN i współaut. 2000). Rozpuszczalny receptor wraz z białkiem LBP bierze udział w usuwaniu LPS i jego detoksyzacji. Receptor sCD14 uczestniczy w rozpoznawaniu endotoksyny przez komórki pozbawione receptora mCD14, takie jak: komórki śródbłonna, dendrytyczne oraz mięśni gładkich. Białko CD14 jest receptorem, który nie posiada domeny transmembranowej, co uniemożliwia mu indukowanie wewnątrzkomórkowej kaskady sygnałowej (VAN AMERSFOORT i współaut. 2003). Brak receptora CD14 na komórkach eukariotycznych może być kompensowany przez kompleks CD11/CD18, który może funkcjonować jako receptor transmembranowy (MOORE i współaut. 2000).

RECEPTORY TOLL-LIKE

Receptory TLR (ang. Toll-like), ze względu na swoją strukturę i funkcję, należą do rodziny receptorów, będących strukturami homologicznymi do receptora *Toll* u *Drosophila*. U ssaków zidentyfikowano 10 typów TLR. Cząsteczki te rozpoznają różne bakteryjne ligandy np.: LPS, peptydoglikan, glikolipidy, flagellinę, poryny, lipopoliproteiny (VAN AMERSFOORT i współaut. 2003). Ludzki receptor TLR4 jest 841 aminokwasowym białkiem o masie 82 kDa, a receptor TLR2 jest 85 kDa białkiem. Oba receptory występują na monocytach, komórkach nabłonkowych i śródbłonkowych. Białka TLR4 i TLR2 są obecne

na komórkach nabłonkowych jelita (CARIO i współaut. 2000) i posiadają wewnątrzkomórkową domenę TIR (ang. Toll/interleukin-1R) (RAEBURN 2002). Receptory TLR i CD14 odznaczają się obecnością regionu bogatego w leucynę w zewnątrzkomórkowej domenie (FERRERO i współaut. 1990). Wykazano, że stożkowaty kształt LPS *E. coli* stymuluje produkcję cytokin poprzez receptor TLR4, natomiast bardziej cylindryczny kształt LPS *Porphyromonas gingivalis* indukuje, ale mniej wydajnie, syntezę prozapalnych cytokin po związaniu z receptorami TLR2. Lipopolisacharyd *Neisseria meningitidis* wiąże się z receptorami TLR4, TLR2 i TLR1. Postawiono hipotezę, że endotoksyny różniące się konformacją stymulują różne receptory, co wywołuje różne w skutkach następstwa (NETEA i współaut. 2002). Ludzkie białka TLR4 mają zdolność odróżniania tetraacylowych form lipidu A od heksaacylowych (POLTORAK i współaut. 2000). Receptory TLR4 rozpoznają LPS *Escherichia coli* O111B4 i *Salmonella minnesota* Re595 (TAPPING i współaut. 2000). Częsteczki TLR2 rozpoznają peptydoglikan bakterii Gram-dodatnich, LPS *Leptospira interrogans*, *Porphyromonas gingivalis* i *Helicobacter pylori* (TAKEDA i AKIRA 2005). Receptory TLR4 tworzą wraz z częsteczką MD-2 aktywny zespół białek rozpoznający kompleks LPS-LBP-CD14 (SHIMAZU i współaut. 1999).

Częsteczka CD14 dostarcza LPS bezpośrednio do kompleksu TLR4/MD-2, indukując jego dimeryzację. Proces dimeryzacji TLR4 nie został jeszcze wyjaśniony. Następnie częsteczka CD14 katalizuje wbudowanie LPS do błony komórkowej komórki eukariotycznej. Hydrofobowa część LPS oddziałuje z transmembranową domeną TLR4. LPS zakotwiczony w błonę komórkową powoduje zmiany w jej strukturze (ERRIDGE i współaut. 2002).

W kolejnym etapie procesu następuje przekazanie sygnału przez wewnątrzkomórkową domenę receptora TLR4 do białka MyD88 (ang. myeloid differentiation protein). Został poznany także szlak aktywacji niezależny od białka MyD88, ale zależny od białka TIRAP (ang. Toll-IL-1R adapter protein) (TAKEDA i AKIRA 2005). Białko MyD88 łączy się z kinazą serynową IRAK (ang. associated kinase, IL-1R), która poprzez białko adaptorowe TRAF 6 (ang. tumor necrosis factor receptor-associated factor) rozpoczyna kaskadę reakcji prowadzących przez kinazę TAK1 (ang. TGF- β -activated kinase). Interakcje te prowadzą do aktywacji kinaz:

NIK (ang. NF- κ B-inducing kinase), następnie kinazy IKK (ang. I κ B kinase), która pobudza czynnik jądrowy NF- κ B (ang. nuclear factor- κ B). Kinaza TAK1 aktywuje także poprzez kinazę MKK (ang. mitogen-activated protein kinase kinase) białko JNK (ang. c-Jun N-terminal kinase) i kinazę p38 MAP (ang. mitogen-activated protein kinase), które pobudzają białko c-Jun (VAN AMERSFOORT i współaut. 2003). Białka c-Jun i NF- κ B oraz c-Fos są odpowiedzialne za transkrypcję genów zaangażowanych w wytwarzanie prozapalnych cytokin, co stymuluje mechanizmy odporności nabytej, zniszczenie patogenu i apoptozę komórek gospodarza (ADEREM i ULEVITCH 2000). Rozpoznawanie receptorów TLR przez bakterie prowadzi do wytwarzania prozapalnych cytokin. Zidentyfikowano także białka: MyD88s, IRAK-M, które hamują działanie szlaków sygnałowych, co chroni gospodarza przed nadmierną produkcją mediatorów zapalnych (TAKEDA i AKIRA 2005). Mimo występowania cząsteczek wiążących LPS, istnieje szereg innych elementów mogących pełnić rolę receptorów dla lipopolisacharydu, takich jak β_2 -integryny: CD11a-CD18 oraz CD11b-CD18; białka wstrząsu cieplnego: HSP 70, HSP 90. Białka HSP 70 i HSP 90 nie tylko wiążą i przekazują LPS na kompleks białek TLR4-MD2, ale uczestniczą w kierowaniu kompleksu TLR4-MD2-LPS do aparatu Golgiego (TRIANTAFILOU i TRIANTAFILOU 2004). Inne receptory dla LPS to: receptor dla chemokin CXCR4, czynnik wzrostowy GDF5 (ang. growth differentiation factor) oraz częsteczka regulatorowa DAF (ang. decay-accelerating factor, CD55) (CAROFF i współaut. 2002). Zidentyfikowano również wewnątrzkomórkowe receptory dla wewnątrzkomórkowego LPS takie jak: Nod1 i Nod2. Białka te posiadają, podobnie jak receptory TLR, region bogaty w leucynę, który jest związany z rozpoznawaniem składników bakteryjnych (INOHARA i współaut. 2005). Oba białka rozpoznają też peptydoglikan. Białko Nod1 jest wytwarzane przez makrofagi i komórki nabłonkowe jelita. Pod wpływem kontaktu z wnikałymi bakteriami białko Nod1 aktywuje czynnik NF- κ B w komórkach jelitowych, z pominięciem szlaku sygnałowego wykorzystującego receptory TLR (KIM i współaut. 2004).

RECEPTORY SCAVENGER

Receptory „scavenger” (SR) są to receptory wiążące LPS. Są one obecne na powierzchni makrofagów, komórek śródbł-

ka, mięśni gładkich i komórek Kupffera w wątrobie (VAN AMERSFOORT i współaut. 2003). Komórki wątroby posiadają dwa rodzaje tych receptorów: SR klasy A i klasy B. Receptory SR-A są transmembranowymi białkami. Białko SR-A składa się z trzech zewnątrzkomórkowych, bogatych w cysteinę domen połączonych z transmembranową kolageno-podobną domeną. Wyróżnia się trzy typy receptorów SR-A: SR-AI, SR-AII i SR-AIII. Częsteczki SR klasy B są zdolne do wiązania lipoprotein LDL, HDL.

Receptory MARCO SR (ang. macrophage receptor with collagenous structure) należą do klasy SR-A i rozpoznają bakterie Gram-ujemne i Gram-dodatnie (ELSHOURBAGY i współaut. 2000).

RECEPTORY DLA RESZT HEPTOZY W LPS

Na komórkach wątroby zidentyfikowano receptor, który rozpoznaje reszty heptozy w wewnętrznym rdzeniu lipopolisacharydu (PARENT 1990). Receptor ten może być związany z wychwytywaniem LPS z układu krążenia i transportowaniem go do żółci (VAN BOSSUYT i współaut. 1988).

UDZIAŁ LIPOPOLISACHARYDU W ADHEZJI I INWAZJI BAKTERII DO KOMÓREK EUKARIOTYCZNYCH

Lipopolisacharyd jest strukturą występującą na powierzchni mikroorganizmów, obcą dla organizmów wyższych, rzadko podlegającą mutacjom oraz wywołującą szybką odpowiedź układu odpornościowego. Endotoksyna oddziałuje z komórkami gospodarza np. z monocytami, makrofagami, wielojądrowymi leukocytami, limfocytami B i T, a także różnymi komórkami śródbłonkowymi i nabłonkowymi. Rolą LPS może być ułatwienie zasiedlenia komórek gospodarza przez bakterie na drodze adhezji. W procesie tym mogą brać udział łańcuchy O-swoiste, a także region rdzeniowy LPS. Łańcuchy O-swoiste lipopolisacharydu *Salmonella enterica* odgrywają ważną rolę w wiązaniu się LPS do komórek jelitowych młodych kurczaków (CARROLL i współaut. 2004). Mutanty *Salmonella* Typhimurium nieprodukujące O-swoistych części, cechowały się zmniejszoną zdolnością adhezji do mysich komórek jelitowych (LICHT i współaut. 1996). Ekspresja łańcuchów O-swoistych w LPS *Vibrio cholerae* O139, jest również istotna w procesie zasiedlania komórek jelitowych myszy (NESPER i współaut. 2002). Szorstkie

β_2 INTEGRYNY

Częsteczki CD18, zwane też β_2 integrzynami, mają zdolność wiązania LPS. Są to heterodimery zawierające wspólny łańcuch β (CD18) i jeden z trzech różnych łańcuchów α : CD11a (LFA-1), CD11b (Mac-1, CR3), CD11c (CR4). Integryna CD11a występuje na wszystkich leukocytach, CD11b na monocytach, makrofagach i limfocytach, a CD11c na monocytach i makrofagach (VAN AMERSFOORT i współaut. 2003). Częsteczka CD11/CD18 wykorzystuje białko CD14 i TLR4 do rozpoczęcia szlaku sygnałowego (PERERA i współaut. 2001).

SELEKTYNY

Są to integralne glikoproteiny błonowe występujące na powierzchni większości leukocytów. Selektyny wiążą się z LPS i mogą samodzielnie przekazywać sygnał (MALHOTRA i BIRD 1997, MALHOTRA i współaut. 1998). Mogą one pełnić rolę cząsteczki adhezyjnej zaangażowanej w proces toczenia się neutrofilów po powierzchni śródbłonnika naczyń krwionośnych.

mutanty *Salmonella* Typhi nie były zdolne do adhezji i inwazji do komórek linii HeLa (MROZENSKI-WILDEY i współaut. 1989). Szczepy *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, które miały kompletny LPS wiązały się do lektyn MBL (ang. mannose-binding lectin) w mniejszym stopniu niż szczepy posiadające tylko sam rdzeń. Uniknięcie oddziaływań z lektynami MBL chroni bakterie przed działaniem układu dopełniacza i fagocytozą (DEVYATYAROVA-JOHNSON i współaut. 2000). Lipopolisacharyd bakterii zwiększa przepuszczalność jelit człowieka i usprawnia wnikanie bakterii do komórek. Zakażenie szczurów bakteriami *Salmonella* Enteritidis wraz z podaniem im preparatów LPS z tego gatunku bakterii, wywoływało objawy chorobowe i śmierć zwierząt w ciągu 24 godzin. Natomiast podanie szczurom jedynie komórek bakteryjnych, prowadziło do wniknięcia bakterii do tkanek szczura dopiero po kilku dniach (ISLAM i współaut. 2000). Szczepy *Serratia marcescens*, których LPS był pozbawiony łańcuchów O-swoistych, cechowały się obniżoną zdolnością wiązania się do komórek nabłonkowych układu

moczowego człowieka (PALOMAR i współaut. 1995). Mutanty *Klebsiella pneumoniae*, których LPS był pozbawiony łańcuchów O-swoistych, także zasiedlały komórki układu moczowego, lecz w mniejszym stopniu niż komórki bakterii posiadające kompletny LPS (MERINO i współaut. 1997). Wykazano, że lipopolisacharyd *Pasteurella multocida*, patogenu odpowiedzialnego za choroby zwierząt domowych i ptaków, a także LPS *Actinobacillus pleuropneumoniae* mogą być zaangażowane w adhezję bakterii do komórek układu oddechowego świni (JAQUES i współaut. 1993). Lipooligosacharydy pozbawione łańcucha O-swoistego mogą brać udział w wiązaniu się *Haemophilus ducreyi* do ludzkich keratynocytów (JAQUES i PARADIS 1998), które jako pierwsze spotyka na swej drodze bakteria. Mogą one również uczestniczyć w wiązaniu się tych bakterii do napletkowych fibroblastów (ALFA i DEGAGNE 1997). Zaobserwowano udział LPS w adhezji *Pseudomonas fluorescens* do ludzkiej fibronektyny (DE LIMA PIMENTA i współaut. 2003). Natomiast *Pseudomonas aeruginosa* ma zdolność zasiedlania komórek rogówki bydła, powodując niebezpieczną infekcję, jaką jest zapalenie rogówki. Receptorem gospodarza dla tej bakterii jest glikolipid gangliotetra-loceramid (asjalo GM1) (GUPTA i współaut. 1994). Wykazano, że ligandem, który wiąże bakterie *Pseudomonas aeruginosa* z receptorem na powierzchni komórek rogówki oka gospodarza, jest rdzeń zewnętrzny LPS. Rdzeń lipopolisacharydu okazał się również czynnikiem uczestniczącym we wnikanii szczepów *Pseudomonas* do komórek nabłonkowych rogówki oka królika (ZAIDI i współaut. 1996).

Stwierdzono, że gładkie szczepy *Pseudomonas aeruginosa* łatwiej niż szczepy szorstkie zasiedlały soczewki kontaktowe (FLETCHER i współaut. 1993). Bakterie *P. aeruginosa* mogą za pomocą rdzenia zewnętrznego LPS wiązać się do cząsteczki CFTR (ang. cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), obecnej na komórkach nabłonkowych płuc i przenikać do ich wnętrza (PIER i współ. 1997). CFTR to białko, które działa jako kanał błonowy dla jonów chloru. Białko to jest także wykorzystywane przez bakterie *Salmonella Typhi* podczas inwazji tych drobnoustrojów do komórek nabłonkowych jelita (PIER i współaut. 1998).

Lipopolisacharyd szorstkiego szczepu *Campylobacter jejuni*, to również ważna adhezyna, odpowiedzialna za wiązanie się bak-

terii do komórek jelitowych linii INT 407 i śluzu jelitowego (MCSWEEGAN i WALKER 1986). Sugeruje się, że mimikra cząsteczkowa, czyli podobieństwo między rdzeniem LPS z *Campylobacter jejuni* a gangliozydami tkanki nerwowej człowieka, może być czynnikiem etiologicznym schorzenia o charakterze autoimmunologicznym jakim określa się zespół Guillaina-Barre (KORZENIOWSKA-KOWAL i współaut. 2001).

Zasugerowano także ważną rolę łańcuchów O-swoistych w rozwoju tej choroby (ASPINALL i współaut. 1994). SPEARS i współaut. (2000) w badaniach *in vivo* i *in vitro* wykazali, że na zasiedlenie układu oddechowego indyków przez bakterie *Bordetella avium* ma wpływ LPS tych bakterii.

Homologiczne preparaty LPS mogą skutecznie hamować adhezję szczepów *E. coli* do śluzu okrężnicy u myszy (COHEN i współaut. 1985). Badania BELANGER i współaut. (1990) potwierdziły, że obecność homologicznego LPS może wpłynąć na obniżenie adhezji szczepu *Actinobacillus pleuropneumoniae* do komórek z tchawicy świni. Lipopolisacharyd z *Pasteurella multocida* może również blokować adhezję tego szczepu do komórek z tchawicy świni (JACQUES i współaut. 1993). Wykazano, że adhezja szczepu *Campylobacter jejuni* do komórek nabłonkowych jelita została zahamowana przez homologiczny LPS (MCSWEEGAN i WALKER 1986). Lipopolisacharyd i fukoza oraz glukoza okazały się najskuteczniejszymi inhibitorami adhezji pałeczek *Shigella flexneri* do komórek nabłonkowych okrężnicy świnki morskiej (IZHAR i współaut. 1982).

Lipopolisacharyd jest cząsteczką oddziaływującą również z komórkami roślin. Szczep *Rhizobium leguminosarum* posiada LPS wiążący się z receptorem na włoskach korzenia koniczyny białej. Rolę receptora dla LPS spełnia trifolina A. Ta lektyna wiąże się z większym powinowactwem do lipopolisacharydu zawierającego N-acetylokwinowozaminę (QuiNAC), która może też hamować to wiązanie (HRABAK i współaut. 1981). Interakcje między lipopolisacharydem a lektynami na zewnętrznej powierzchni włosków korzeniowych prowadzą do zakażenia komórek roślinnych i tworzenia brodawek. Mutanty *Rhizobium leguminosarum* pozbawione łańcuchów O-swoistych nie były zdolne do zakażenia roślin i tworzenia prawidłowych brodawek (DAZZO i współaut. 1991).

PODSUMOWANIE

W adhezji bakterii do komórek eukariotycznych uczestniczą struktury znajdujące się na powierzchni komórek gospodarza i adhezyny bakteryjne, którymi mogą być: fimbrie i adhezyny niefimbrialne. Do adhezyn niefimbrialnych należy lipopolisacharyd i białka błony zewnętrznej. Białka błony zewnętrznej ułatwiają bakteriom adhezję i inwazję do komórek gospodarza. Jedną z ról LPS jest ułatwienie bakteriom zasiedlenia komórek eukariotycznych. W proces ten zaangażowany jest region O-swoisty i rdzeń zewnętrzny. Dane w literaturze wskazują na największy udział łańcuchów O-swoistych w adhezji. Mutanty pozbawione łańcuchów O-swoistych odznaczały się niższym powinowactwem wiązania się z komórkami eukariotycznymi. Obecność kwasów sjałowych może zmieniać adhezję bakterii do tkanek gospodarza. Lipopolisacharyd jest strukturą, która może uczestniczyć w rozpoznawaniu i wiązaniu bakterii z receptorami obecnymi na powierzchni nabłonków

i śródbłonków ludzkich. Zidentyfikowano kilka receptorów współdziałających w wiązaniu LPS ze strukturami powierzchniowymi: białko CD14, scavenger receptor, integryny, receptory Toll like 2 i 4. Związanie LPS bakterii z receptorami prowadzi do aktywacji kaskady wewnątrzkomórkowych sygnałów. Większość patogenów, poprzez silne wiązanie z odpowiednimi receptorami, może wykorzystywać działające w komórkach eukariotycznych mechanizmy endocytozy. Inwazji towarzyszy zwykle reorganizacja cytoszkieletu komórki gospodarza, poprzedzona pobudzeniem odpowiednich receptorów. Wniknięcie do komórek eukariotycznych pozwala bakteriom uniknąć mechanizmów obronnych gospodarza. Wnikliwe poznanie struktur biorących udział w adhezji i inwazji bakterii, może przyczynić się do odkrycia skutecznych inhibitorów tych procesów, co pozwoli na zastosowanie skutecznego leczenia już na początku choroby.

THE ROLE OF NONFIMBRIAL ADHESINS: PROTEINS OF OUTER MEMBRANE AND LIPOPOLYSACCHARIDE IN ADHERENCE AND INVASION OF BACTERIA TO HOST CELLS.

Summary

Specific adhesion to host tissue cells is an essential virulence factor of most bacterial pathogens. Adherence is often an essential step in bacterial pathogenesis or infection, required for colonizing a new host. To effectively adhere to host surfaces, many bacteria produce multiple adherence factors called adhesins.

There are two types of adhesins: fimbrial and nonfimbrial adhesins. Lipopolysaccharide and outer membrane proteins belong to non fimbrial adhesins.

The role of LPS in adherence of Gram-negative organisms to host cells has been evaluated for several bacterial species. The O-specific chain of bac-

teria can lead mostly to an increased tendency for this organism to bind to mammalian cells. The attachment of bacteria could be inhibited by purified LPS. A few receptors responsible for recognizing LPS have been identified: CD 14, scavenger receptor, Toll-like receptors, integrins, selectins. LPS receptors transduce signals from the membrane to the cytosol. Interaction between adhesins and their receptor can lead to invasion to host cells. Adhesins are attractive vaccine candidates because they are often essential to infection and are surface-located, making them readily accessible to antibodies.

LITERATURA

- ADEREM A., ULEVITCH R. J., 2000. *Toll-like receptors in the induction of the innate immune response*. Nature 406, 782-787.
- ALFA M. J., DEGAGNE P., 1997. *Attachment of Haemophilus ducreyi to human foreskin fibroblasts involves LOS and fibronectin*. Microb. Pathog. 22, 39-46.
- ASPINALL G. O., FUJIMOTO S., McDONALD A. G., PANG H., KURJANCZYK L. A., PENNER J. L., 1994. *Lipopolysaccharides from Campylobacter jejuni associated with Guillain-Barre syndrome patients mimic human gangliosides in structure*. Infect. Immun. 62, 2122-2125.
- AZGHANI A. O., IDELL S., BAINS M., HANCOCK R. E., 2002. *Pseudomonas aeruginosa outer membrane protein F is an adhesin in bacterial binding to lung epithelial cells in culture*. Microb. Pathog. 33, 109-114.
- BATISSON I., GUIMOND M. P., GIRARD F., AN H., ZHU C., OSWALD E., FAIRBROTHER J. M., JACQUES M., HAREL J., 2003. *Characterization of the novel factor paa involved in the early steps of the adhesion mechanism of attaching and effacing Escherichia coli*. Infect. Immun. 71, 4516-4525.
- BELANGER M., DUBREUIL D., HAREL J., GIRARD C., JACQUES M., 1990. *Role of lipopolysaccharides in adherence of Actinobacillus pleuropneumoniae to porcine tracheal rings*. Infect. Immun. 58, 3523-3530.
- BELAS R., GOLDMAN M., ASHLIMAN K., 1995. *Genetic analysis of Proteus mirabilis mutants defective*

- in swarmer cell elongation*. J. Bacteriol. 177, 823–828.
- BENZ I., SCHMIDT M. A., 2001. *Glycosylation with heptose residues mediated by the aah gene product is essential for adherence of the AIDA-I adhesin*. Mol. Microbiol. 40, 1403–1413.
- CARIO E., ROSENBERG I. M., BRANDWEIN S. L., BECK P. L., REINECKER H. C., PODOLSKY D. K., 2000. *Lipopolysaccharide activates distinct signaling pathways in intestinal epithelial cell lines expressing Toll-like receptors*. J. Immunol. 164, 966–972.
- CAROFF M., KARIBIAN D., CAVAILLON J. M., HAEFFNER-CAVAILLON N., 2002. *Structural and functional analyses of bacterial lipopolysaccharides*. Microbes Infect. 4, 915–926.
- CARROLL P., LA RAGIONE R. M., SAYERS A. R., WOODWARD M. J., 2004. *The O-antigen of Salmonella enterica serotype Enteritidis PT4: a significant factor in gastrointestinal colonisation of young but not newly hatched chicks*. Vet. Microbiol. 102, 73–85.
- CIRILLO D. M., HEFFERNAN E. J., WU L., HARWOOD J., FIERER J., GUINEY D. G., 1996. *Identification of a domain in Rck, a product of the Salmonella typhimurium virulence plasmid, required for both serum resistance and cell invasion*. Infect. Immun. 64, 2019–2023.
- COHEN P. S., ARRUDA J. C., WILLIAMS T. J., LAUX D. C., 1985. *Adhesion of a human fecal Escherichia coli strain to mouse colonic mucus*. Infect. Immun. 48, 139–145.
- DAZZO F. B., TRUCHET G. L., HOLLINGSWORTH R. I., HRABAK E. M., PANKRATZ H. S., PHILIP-HOLLINGSWORTH S., SALZWEDEL J. L., CHAPMAN K., APPENZELLER L., SQUARTINI A., 1991. *Rhizobium lipopolysaccharide modulates infection thread development in white clover root hairs*. J. Bacteriol. 173, 5371–5384.
- DE LIMA PIMENTA A., DI MARTINO P., LE BOUDER E., HULEN C., BLIGHT M. A., 2003. *In vitro identification of two adherence factors required for in vivo virulence of Pseudomonas fluorescens*. Microbes Infect. 5, 1177–1187.
- DE VINNEY R., GAUTHIER A., ABE A., FINLAY B. B., 1999. *Enteropathogenic Escherichia coli: A pathogen that inserts its own receptor into host cells*. Cell Mol. Life Sci. 55, 961–976.
- DEVYATYAROVA-JOHNSON M., REES I. H., ROBERTSON B. D., TURNER M. W., KLEIN N. J., JACK D. L., 2000. *The lipopolysaccharide structures of Salmonella enterica serovar Typhimurium and Neisseria gonorrhoeae determine the attachment of human mannose-binding lectin to intact organisms*. Infect. Immun. 68, 3894–3899.
- DI MARTINO P., BERTIN Y., GIRARDEAU J. P., LIVRELLI V., JOLY B., DARFEUILLE-MICHAUD A., 1995. *Molecular characterization and adhesive properties of CF29K, an adhesin of Klebsiella pneumoniae strains involved in nosocomial infections*. Infect. Immun. 63, 4336–4344.
- ECHEVERRIA P., ORSKOV F., ORSKOV I., KNUTTON S., SCHEUTZ F., BROWN J. E., LEXOMBOON U., 1991. *Attaching and effacing enteropathogenic Escherichia coli as a cause of infantile diarrhea in Bangkok*. J. Infect. Dis. 164, 550–554.
- ELASS-ROCHARD E., LEGRAND D., SALMON V., ROSEANU A., TRIF M., TOBIAS P. S., MAZURIER J., SPIK G., 1998. *Lactoferrin inhibits the endotoxin interaction with CD14 by competition with the lipopolysaccharide-binding protein*. Infect. Immun. 66, 486–491.
- ELSBACH P., WEISS J., 1993. *The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI), a potent element in host-defense against gram-negative bacteria and lipopolysaccharide*. Immunobiology. 187, 417–429.
- ELSHOURBAGY N. A., LI X., TERRETT J., VANHORN S., GROSS M. S., ADAMOU J. E., ANDERSON K. M., WEBB C. L., LYSKO P. G., 2000. *Molecular characterization of a human scavenger receptor, human MARCO*. Eur. J. Biochem. 267, 919–926.
- ERRIDGE C., BENNETT-GUERRERO E., POXTON I. R., 2002. *Structure and function of lipopolysaccharides*. Microbes Infect. 4, 837–851.
- EVEREST P., LI J., DOUCE G., CHARLES I., DE AZAVEDO J., CHATFIELD S., DOUGAN G., ROBERTS M., 1996. *Role of the Bordetella pertussis P.69/pertactin protein and the P.69/pertactin RGD motif in the adherence to and invasion of mammalian cells*. Microbiology 142, 3261–3268.
- FERRERO E., HSIEH C. L., FRANCKE U., GOYERT S. M., 1990. *CD14 is a member of the family of leucine-rich proteins and is encoded by a gene syntenic with multiple receptor genes*. J. Immunol. 145, 331–336.
- FINK D. L., COPE L. D., HANSEN E. J., ST. GEME J. W. 3rd, 2001. *The Hemophilus influenzae Hap autotransporter is a chymotrypsin clan serine protease and undergoes autolysis via an intermolecular mechanism*. J. Biol. Chem. 276, 39492–39500.
- FLETCHER E. L., FLEISZIG S. M., BRENNAN N. A., 1993. *Lipopolysaccharide in adherence of Pseudomonas aeruginosa to the cornea and contact lenses*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 34, 1930–1936.
- FOXWELL A. R., KYD J. M., CRIPPS A. W., 1998. *Non-typeable Haemophilus influenzae: pathogenesis and prevention*. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62, 294–308.
- FUNDA D. P., TUCKOVA L., FARRE M. A., IWASE T., MORO I., TLASKALOVA-HOGENOVA H., 2001. *CD14 is expressed and released as soluble CD14 by human intestinal epithelial cells in vitro: lipopolysaccharide activation of epithelial cells revisited*. Infect. Immun. 69, 3772–3781.
- GAMIAN A., ROMANOWSKA E., DABROWSKI U., DABROWSKI J., 1991. *Structure of the O-specific, sialic acid containing polysaccharide chain and its linkage to the core region in lipopolysaccharide from Hafnia alvei strain 2 as elucidated by chemical methods, gas-liquid chromatography/mass spectrometry, and 1H NMR spectroscopy*. Biochemistry 30, 5032–5038.
- GAMIAN A., ROMANOWSKA E., ULRICH J., DEFAYE J., 1992. *The structure of the sialic acid-containing Escherichia coli O104 O-specific polysaccharide and its linkage to the core region in lipopolysaccharide*. Carbohydr. Res. 236, 195–208.
- GAMIAN A., KENNE L., MIESZALA M., ULRICH J., DEFAYE J., 1994. *Structure of the Escherichia coli O24 and O56 O-specific sialic-acid-containing polysaccharides and linkage of these structures to the core region in lipopolysaccharides*. Eur. J. Biochem. 225, 1211–1220.
- GAMIAN A., JONES C., LIPINSKI T., KORZENIOWSKA-KOWAL A., RAVENSCROFT N., 2000. *Structure of the sialic acid-containing O-specific polysaccharide from Salmonella enterica serovar Toucra O48 lipopolysaccharide*. Eur. J. Biochem. 267, 3160–3167.
- GERHARD M., LEHN N., NEUMAYER N., BOREN T., RAD R., SCHEPP W., MIEHLKE S., CLASSEN M., PRINZ C., 1999. *Clinical relevance of the Helicobacter pylori gene for blood-group antigen-binding adhesin*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 12778–12783.
- GUPTA S. K., BERK R. S., MASINICK S., HAZLETT L. D., 1994. *Pili and lipopolysaccharide of Pseudomonas aeruginosa bind to the glycolipid asialo GM1*. Infect. Immun. 62, 4572–4579.
- HAILMAN E., ALBERS J. J., WOLFBauer G., TU A. Y., WRIGHT S. D., 1996. *Neutralization and transfer*

- of lipopolysaccharide by phospholipid transfer protein. *J. Biol. Chem.* 271, 12172-12178.
- HENDERSON I. R., NATARO J. P., 2001. *Virulence functions of autotransporter proteins.* *Infect. Immun.* 69, 1231-1243.
- HRABAK E. M., URBANO M. R., DAZZO F. B., 1981. *Growth-phase-dependent immunodeterminants of Rhizobium trifolii lipopolysaccharide which bind trifoliin A, a white clover lectin.* *J. Bacteriol.* 148, 697-711.
- HUECK C. J., 1998. *Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants.* *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62, 379-433.
- INOHARA N., CHAMAILLARD M., MCDONALD C., NUNEZ G., 2005. *NOD-LRR proteins: role in host-microbial interactions and inflammatory disease.* *Annu. Rev. Biochem.* 74, 355-83.
- ISLAM A. F., MOSS N. D., DAI Y., SMITH M. S., COLLINS A. M., JACKSON G. D., 2000. *Lipopolysaccharide-induced biliary factors enhance invasion of Salmonella enteritidis in a rat model.* *Infect. Immun.* 68, 1-5.
- IZHAR M., NUCHAMOWITZ Y., MIRELMAN D., 1982. *Adherence of Shigella flexneri to guinea pig intestinal cells is mediated by a mucosal adhesion.* *Infect. Immun.* 35, 1110-1118.
- JAKES M., PARADIS S. E., 1998. *Adhesin - receptor interactions in Pasteurellaceae.* *FEMS Microb. Rev.* 22, 45-59.
- JAKES M., KOBISCH M., BELANGER M., DUGAL F., 1993. *Virulence of capsulated and noncapsulated isolates of Pasteurella multocida and their adherence to porcine respiratory tract cells and mucus.* *Infect. Immun.* 61, 4785-4792.
- JOUE M., GARCIA M. I., COURCOUX P., LABIGNE A., GOUNON P., LE BOUGUENEC C., 1997. *Adhesion to and invasion of HeLa cells by pathogenic Escherichia coli carrying the afa-3 gene cluster are mediated by the AfaE and AfaD proteins, respectively.* *Infect. Immun.* 65, 4082-4089.
- KELM S., SCHAUER R., 1997. *Sialic acids in molecular and cellular interactions.* *Int. Rev. Cytol.* 175, 137-240.
- KENNY B., LAI L. C., FINLAY B. B., DONNENBERG M. S., 1996. *EspA, a protein secreted by enteropathogenic Escherichia coli, is required to induce signals in epithelial cells.* *Mol. Microbiol.* 20, 313-323.
- KIM J. G., LEE S. J., KAGNOFF M. F., 2004. *Nod1 is an essential signal transducer in intestinal epithelial cells infected with bacteria that avoid recognition by toll-like receptors.* *Infect. Immun.* 72, 1487-1495.
- KNUTTON S., LLOYD D. R., CANDY D. C., MCNEISH A. S., 1985. *Adhesion of enterotoxigenic Escherichia coli to human small intestinal enterocytes.* *Infect. Immun.* 48, 824-831.
- KOEBNIK R., LOCHER K. P., VAN GELDER P., 2000. *Structure and function of bacterial outer membrane proteins: barrels in a nutshell.* *Mol. Microbiol.* 37, 239-253.
- KORZENIOWSKA-KOWAL A., WITKOWSKA D., GAMIAN A., 2001. *Mimikra cząsteczkowa bakteryjnych antygenów polisacharydowych i jej rola w etiologii chorób infekcyjnych i autoimmunologicznych.* *Post. Hig. Med. Dośw.* 55, 211-232.
- LAARMANN S., SCHMIDT M. A., 2003. *The Escherichia coli AIDA autotransporter adhesin recognizes an integral membrane glycoprotein as receptor.* *Microbiology* 149, 1871-1882.
- LABIGNE-ROUSSEL A. F., FALKOW S., 1988. *Distribution and degree of heterogeneity of the afimbrial-adhesin-encoding operon (afa) among uropathogenic Escherichia coli isolates.* *Infect. Immun.* 56, 640-648.
- LABIGNE-ROUSSEL A. F., LARK D., SCHOOLNIK G., FALKOW S., 1984. *Cloning and expression of an afimbrial adhesin (AFA-I) responsible for P blood group-independent, mannose-resistant hemagglutination from a pyelonephritic Escherichia coli strain.* *Infect. Immun.* 46, 251-259.
- LANDMANN R., MULLER B., ZIMMERLI W., 2000. *CD14, new aspects of ligand and signal diversity.* *Microbes Infect.* 2, 295-304.
- LICHT T. R., KROGFELT K. A., COHEN P. S., POULSEN L. K., URBANCE J., MOLIN S., 1996. *Role of lipopolysaccharide in colonization of the mouse intestine by Salmonella typhimurium studied by in situ hybridization.* *Infect. Immun.* 64, 3811-3817.
- LUCK S. N., BENNETT-WOOD V., POON R., ROBINS-BROWNE R. M., HARTLAND E. L., 2005. *Invasion of Epithelial Cells by Locus of Enterocyte Effacement-Negative Enterohemorrhagic Escherichia coli.* *Infect. Immun.* 73, 3063-3071.
- LUTWICHE P., RUPPS R., CAVANAGH J., WARREN R. A., BROOKS D. E., 1994. *Cloning, sequencing, and viscometric adhesion analysis of heat-resistant agglutinin 1, an integral membrane hemagglutinin from Escherichia coli O9:H10:K99.* *Infect. Immun.* 62, 5020-5026.
- MALHOTRA R., BIRD M. I., 1997. *L-Selectin-a signaling receptor for lipopolysaccharide.* *Chem. Biol.* 4, 543-547.
- MALHOTRA R., PRIEST R., FOSTER M. R., BIRD M. I., 1998. *P-selectin binds to bacterial lipopolysaccharide.* *Eur. J. Immunol.* 28, 983-938.
- MAMMARAPPALLIL J. G., ELSINGHORST E. A., 2000. *Epithelial cell adherence mediated by the enterotoxigenic Escherichia coli tta protein.* *Infect. Immun.* 68, 6595-6601.
- MARRS C. F., KRASAN G. P., MCCREA K. W., CLEMANS D. L., GILSDORF J. R., 2001. *Haemophilus influenzae - human specific bacteria.* *Front. Biosci.* 6, E41-E60.
- MCSWEEGAN E., WALKER R. I., 1986. *Identification and characterization of two Campylobacter jejuni adhesins for cellular and mucous substrates.* *Infect. Immun.* 53, 141-148.
- MERINO S., RUBIRES X., AGUILAR A., TOMAS J. M., 1997. *The role of O1-antigen in the adhesion to uroepithelial cells of Klebsiella pneumoniae grown in urine.* *Microb. Pathog.* 23, 49-53.
- MOORE K. J., ANDERSSON L. P., INGALLS R. R., MONKS B. G., LI R., ARNAOUT M. A., GOLENBOCK D. T., FREEMAN M. W., 2000. *Divergent response to LPS and bacteria in CD14-deficient murine macrophages.* *J. Immunol.* 165, 4272-4280.
- MROZCZENSKI-WILDEY M. J., DI FABIO J. L., CABELLO F. C., 1989. *Invasion and lysis of HeLa cell monolayers by Salmonella typhi: the role of lipopolysaccharide.* *Microb. Pathog.* 6, 143-152.
- NATARO J. P., KAPER J. B., 1998. *Diarrheagenic Escherichia coli.* *Clin. Microbiol. Rev.* 11, 142-201.
- NESPER J., SCHILD S., LAURIANO C. M., KRAISS A., KLOSE K. E., REIDL J., 2002. *Role of Vibrio cholerae O139 surface polysaccharides in intestinal colonization.* *Infect. Immun.* 70, 5990-5996.
- NETEA M. G., VAN DEUREN M., KULLBERG B. J., CAVAILLON J. M., VAN DER MEER J. W., 2002. *Does the shape of lipid A determine the interaction of LPS with Toll-like receptors?* *Trends Immunol.* 23, 135-139.
- NOEL K. D., FORSBERG L. S., CARLSON R. W., 2000. *Varying the abundance of antigen in Rhizobium etli and its effect on symbiosis with Phaseolus vulgaris.* *J. Bacteriol.* 182, 5317-5324.
- PALOMAR J., LERANOS A. M., VINAS M., 1995. *Serratia marcescens adherence: the effect of O-antigen presence.* *Microbios.* 81, 107-113.

- PARENT J. B., 1990. *Membrane receptors on rat hepatocytes for the inner core region of bacterial lipopolysaccharide*. J. Biol. Chem. 265, 3455–3461.
- PATON A. W., SRIMANOTE P., WOODROW M. C., PATON J. C., 2001. *Characterization of Saa, a novel autoagglutinating adhesin produced by locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic Escherichia coli strains that are virulent for humans*. Infect. Immun. 69, 6999–7009.
- PERERA P., Mayadas T. N., Takeuchi O., AKIRA S., Zaks-Zilberman M., Goyert S. M., Vogel S. N., 2001. *CD11b/CD18 acts in concert with CD14 and Toll-like receptor (TLR) 4 to elicit full lipopolysaccharide and taxol-inducible gene expression*. J. Immun. 9, 574–581.
- PFEIFFER R., 1894. *Weitere Untersuchungen ueber das Wesen der Choleraimmunität und ueber spezifisch baktericide Prozesse*. Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 18, 1–16.
- PIER G. B., GROUT M., ZAIDI T. S., 1997. *Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is an epithelial cell receptor for clearance of Pseudomonas aeruginosa from the lung*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 12088–12093.
- PIER G. B., GROUT M., ZAIDI T., MELULENI G., MUESCHENBORN S. S., BANTING G., RATCLIFF R., EVANS M. J., COLLEDGE W. H., 1998. *Salmonella typhi uses CFTR to enter intestinal epithelial cells*. Nature 393, 79–82.
- POLTORAK A., RICCIARDI-CASTAGNOLI P., CITTERIO S., BEUTLER B., 2000. *Physical contact between lipopolysaccharide and toll-like receptor 4 revealed by genetic complementation*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 2163–2167.
- PRASADARAO N. V., WASS C. A., KIM K. S., 1996. *Endothelial cell GlcNAc β 1-4GlcNAc epitopes for outer membrane protein A enhance traversal of Escherichia coli across the blood-brain barrier*. Infect. Immun. 64, 154–160.
- RAEBURN C. D., CALKINS C. M., ZIMMERMAN M. A., ARYA J., BARSNESS K. A., HARKEN A. H., 2002. *Toll-like receptors and surgical disease*. Surgery 131, 477–483.
- REDDY M. S., BERNSTEIN J. M., MURPHY T. F., FADEN H. S., 1996. *Binding between outer membrane proteins of nontypeable Haemophilus influenzae and human nasopharyngeal mucin*. Infect. Immun. 64, 1477–1479.
- REEVES P., 1995. *Role of O-antigen variation in the immune response*. Trend. Microbiol. 3, 381–386.
- ROSENSHINE I., RUSCHKOWSKI S., FINLAY B. B., 1996. *Expression of attaching/effacing activity by enteropathogenic Escherichia coli depends on growth phase, temperature, and protein synthesis upon contact with epithelial cells*. Infect. Immun. 64, 966–973.
- SCHLETTER J., HEINE H., ULMER A. J., RIETSCHEL E. T., 1995. *Molecular mechanisms of endotoxin activity*. Arch. Microbiol. 164, 383–389.
- SHIMAZU R., AKASHI S., OGATA H., NAGAI Y., FUKUDOME K., MIYAKE K., KIMOTO M., 1999. *MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4*. J. Exp. Med. 189, 1777–1782.
- SPEARS P. A., TEMPLE L. M., ORNDORFF P. E., 2000. *A role for lipopolysaccharide in turkey tracheal colonization by Bordetella avium as demonstrated in vivo and in vitro*. Mol. Microbiol. 36, 1425–1435.
- SPERANDIO V., GIRON J. A., SILVEIRA W. D., KAPER J. B., 1995. *The OmpU outer membrane protein, a potential adherence factor of Vibrio cholerae*. Infect. Immun. 63, 4433–4438.
- ST. GEME J. W. 3rd, 1994. *The HMW1 adhesin of nontypeable Haemophilus influenzae recognizes sialylated glycoprotein receptors on cultured human epithelial cells*. Infect. Immun. 62, 3881–3889.
- ST. GEME J. W. 3rd, CUTTER D., 2000. *The Haemophilus influenzae Hia adhesin is an autotransporter protein that remains uncleaved at the C terminus and fully cell associated*. J. Bacteriol. 182, 6005–6013.
- STEVENS M. P., VAN DIEMEN P. M., FRANKEL G., PHILLIPS A. D., WALLIS T. S., 2002. *Efa1 influences colonization of the bovine intestine by shiga toxin-producing Escherichia coli serotypes O5 and O111*. Infect. Immun. 70, 5158–5166.
- TAKEDA K., AKIRA S., 2005. *Toll-like receptors in innate immunity*. Int. Immunol. 17, 1–14.
- TAPPING R. I., AKASHI S., MIYAKE K., GODOWSKI P. J., TOBIAS P. S., 2000. *Toll-like receptor 4, but not toll-like receptor 2, is a signaling receptor for Escherichia and Salmonella lipopolysaccharides*. J. Immunol. 165, 5780–5787.
- TARR P. I., BILGE S. S., VARY J. C., JELACIC S., HABEEB R. L., WARD T. R., BAYLOR M. R., BESSER T. E., 2000. *Iha: a novel Escherichia coli O157:H7 adherence-conferring molecule encoded on a recently acquired chromosomal island of conserved structure*. Infect. Immun. 68, 1400–1407.
- TORRES A. G., KAPER J. B., 2003. *Multiple elements controlling adherence of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 to HeLa cells*. Infect. Immun. 71, 4985–4995.
- TRIANTAFILOU M., TRIANTAFILOU K., 2004. *Heat-shock protein 70 and heat-shock protein 90 associate with Toll-like receptor 4 in response to bacterial lipopolysaccharide*. Biochem. Soc. Trans. 32, 636–639.
- VAN AMERSFOORT E. S., VAN BERKEL T. J., KUIPER J., 2003. *Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock*. Clin. Microbiol. Rev. 16, 379–414.
- VAN BOSSUYT H., DE ZANGER R. B., WISSE E., 1988. *Cellular and subcellular distribution of injected lipopolysaccharide in rat liver and its inactivation by bile salts*. J. Hepatol. 7, 325–337.
- WEISER J. N., GOTSCHLICH E. C., 1991. *Outer membrane protein A (OmpA) contributes to serum resistance and pathogenicity of Escherichia coli K-1*. Infect. Immun. 59, 2252–2258.
- WILKINSON S. G., 1996. *Bacterial lipopolysaccharides: themes and variations*. Prog. Lipid Res. 35, 283–343.
- WITKOWSKA D., BARTYŚ A., GAMIAN A., 2009. *Białka ostony komórkowej pałeczek jelitowych i ich udział w patogenności oraz odporności przeciwbakteryjnej*. Post. Hig. Med. Dośw. 63, 176–199.
- WRIGHT S. D., RAMOS R. A., TOBIAS P. S., ULEVITCH R. J., MATHISON J. C., 1990. *CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein*. Science 249, 1431–1433.
- ZAIDI T. S., FLEISZIG S. M., PRESTON M. J., GOLDBERG J. B., PIER G. B., 1996. *Lipopolysaccharide outer core is a ligand for corneal cell binding and ingestion of Pseudomonas aeruginosa*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 37, 976–986.