

# ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРОЗАВИСИМЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИЙ — КЛЮЧ К СОЗДАНИЮ СОВРЕМЕННЫХ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ (ОБЗОР)

DOI: 10.17691/stm2016.8.3.16

УДК 577.2:616.9:615.014–084

Поступила 23.01.16 г.



**Б.Г. Андриюков**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и микробиологии;

**Л.М. Сомова**, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной биологии и гистопатологии;

**Н.Ф. Тимченко**, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и микробиологии

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, Владивосток, 690087, ул. Сельская, 1

Открытия в молекулярной биологии, сделанные в последние десятилетия, позволили определить ключевую роль Toll-подобных рецепторов (TLRs) в инициации врожденного и приобретенного иммунитета, в патогенезе воспалительных и аутоиммунных реакций. Возрастание клинического значения инфекций, ассоциированных с грамотрицательной флорой, и своеобразие структуры их клеточной мембраны обусловили выбор цели данного обзора — обобщение современных представлений о молекулярных механизмах развития инфекций, вызванных данной категорией микроорганизмов. В качестве актуальной модели для реализации этих молекулярных стратегий авторы рассматривают температурозависимые вариации иммуногенности патогенных видов бактерий рода *Yersinia* в зависимости от количества и типов ацильных групп липида А липополисахарида внешней мембраны, что оказывает модулирующее влияние на чувствительность рецептора TLR4, регулирующего иммунный ответ организма при инфекциях, которые вызваны грамотрицательными бактериями. Результаты многочисленных исследований молекулярных механизмов развития иерсиниозов и других инфекций позволили установить, что паттерны патоген-ассоциированных молекул грамотрицательных бактерий при взаимодействии с распознающими рецепторами передают множественные сигналы на клетки иммунной системы и, следовательно, могут быть использованы как природные, естественные адъюванты, активирующие адаптивный иммунный ответ организма. Эти низкомолекулярные природные адъюванты, напоминающие молекулярные компоненты липополисахарида, в настоящее время рационально использовать для конструирования современных вакцин, призванных активировать работу врожденной иммунной системы и индуцировать производство медиаторов воспаления.

**Ключевые слова:** бактерии; липополисахариды; TLR4; *Yersinia spp.*; иммуногенность; создание вакцины.

**Как цитировать:** Andryukov B.G., Somova L.A., Timchenko N.F. The study of temperature-dependent molecular mechanisms of infection development as a key to the development of modern prophylactic drugs (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2016; 8(3): 137–150, <http://dx.doi.org/10.17691/stm2016.8.3.16>

**Для контактов:** Андриюков Борис Георгиевич, e-mail: andryukov\_bg@mail.ru

## The Study of Temperature-Dependent Molecular Mechanisms of Infection Development as a Key to the Development of Modern Prophylactic Drugs (Review)

**B.G. Andryukov**, MD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Microbiology;

**L.M. Somova**, MD, DSc, Professor, Chief Researcher, Laboratory of Cell Biology and Histopathology;

**N.F. Timchenko**, MD, DSc, Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Microbiology

G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 1 Sel'skaya St., Vladivostok, 690087, Russian Federation

Discoveries in molecular biology made in recent decades enabled to estimate a key role of Toll-like receptors (TLRs) in initiating innate and acquired immunity in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune reactions. The increasing clinical significance of infections associated with gram-negative flora, and structural peculiarity of their cell membranes determined the aim of the review — synthesis of modern ideas about molecular mechanisms of infections caused by microorganisms of this type. As an actual model for the implementation of these molecular strategies the authors considered temperature-dependent immunogenicity variations of pathogenic bacteria, *Yersinia* species, depending on the number and types of acyl groups of lipid A of lipopolysaccharide of the outer membrane that has a modulating effect on the receptor TLR4 sensitivity, regulating the immune response of the body in infections caused by gram-negative bacteria. The results of numerous studies on molecular mechanisms of yersiniosis and other infections enabled to estimate that the patterns of pathogen associated molecules of gram-negative bacteria when interacting with recognizing the receptors transmit numerous signals to immune cells, and can therefore be used as a natural, innate adjuvants activating an adaptive immune response of the body. These low molecular weight natural adjuvants resembling molecular components of lipopolysaccharides are currently efficiently use to develop modern vaccines designed to activate the work of innate immune system and induce the production of inflammatory mediators.

**Key words:** bacteria; lipopolysaccharides; TLR4, *Yersinia spp.*; immunogenicity; vaccine development.

Достижения молекулярной биологии в конце XX в. позволили существенно изменить представление о патогенезе инфекционных заболеваний. Революционное открытие и изучение J. Hoffmann (1996), R. Medzhitov, C.A. Janeway (1997) и R. Steinman (1998) Toll-подобных рецепторов (Toll-like receptors, TLRs) и исследование механизмов их участия в активации клеточного иммунного ответа внесли большой вклад в понимание роли врожденного и приобретенного иммунитета в патогенезе воспаления и аутоиммунных заболеваний, а также предопределили появление новых стратегий в лечении инфекций и новообразований [1, 2], за что авторы и были удостоены Нобелевской премии (2011). В современной парадигме патогенеза инфекционных заболеваний TLRs занимают центральное место в инициации клеточных врожденных иммунных реакций и играют ключевую роль в раннем выявлении патогенов [3–5].

Считается, что каждый из этих рецепторов распознает определенный молекулярный «образ» микроорганизмов для быстрой мобилизации более древней врожденной иммунной эффекторной системы и последующей индукции приобретенного иммунитета [2, 6, 7].

Одной из актуальных проблем современной медицины являются инфекции, обусловленные грамотрицательными бактериями. Им принадлежит ведущая этиологическая роль в возникновении

внутригоспитальных инфекций. Грамотрицательные агенты являются наиболее частой причиной возникновения тяжелого сепсиса, плохо поддающегося антибиотикотерапии вследствие сложных механизмов множественной лекарственной резистентности у возбудителей этой группы. Одним из уникальных свойств грамотрицательных бактерий является структура внешней клеточной мембраны, основной компонент которой — липополисахариды (ЛПС), выполняющие при развитии инфекционного процесса роль эндотоксинов [1, 8, 9].

Патогенные виды рода *Yersinia* — *Y. pestis* (возбудитель чумы), *Y. pseudotuberculosis* (возбудитель псевдотуберкулеза) и *Y. enterocolitica* (возбудитель кишечного иерсиниоза) — являются типичными грамотрицательными бактериями, вызывающими разные по тяжести инфекции, но использующими сходные патогенные стратегии. Несмотря на различия в путях распространения этих инфекций и их тяжесть, все эти виды бактерий обладают сходными патогенетическими механизмами, связанными с функционированием генов хромосомы и плазмиды вирулентности (*pCD1* — у *Y. pestis* и *pYV* — у энтеропатогенных иерсиний), а также имеют систему секреции III типа [10, 11]. Характерным биохимическим признаком патогенных видов *Yersinia* является наличие двух изоферментных систем, функционирующих самостоятельно во внеш-

ней среде и в теплокровном организме и способных переключаться в зависимости от конкретных условий существования микроорганизма [11]. Эти свойства позволяют рассматривать *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* в качестве факультативных психрофилов и перспективных биологических моделей для изучения температурозависимой модуляции патогенности микроорганизмов, связанной с молекулярными механизмами ее индукции.

Целью обзора является обобщение современных представлений о молекулярных механизмах развития инфекций, вызванных грамотрицательными микроорганизмами, и их реализации на основе температурозависимой вариации иммуногенности патогенных видов иерсиний.

### Молекулярные механизмы активации иммунологической защиты

Сохранение гомеостаза на клеточном и молекулярном уровнях организации поддерживается иммунной системой, которая защищает и дает возможность существования многоклеточным организмам в условиях окружения патогенами. До недавнего времени молекулярные механизмы активации иммунологической защиты многоклеточных организмов от инфекционных агентов и их распознавания оставались малоизученными.

Важным шагом к пониманию этих механизмов стало открытие в конце XX в. первого из семейства паттерн-распознающих рецепторов (pattern-recognizing receptors, PRRs) — сигнальных TLRs, которые индуцируют каскад событий, включающий продукцию провоспалительных хемокинов и цитокинов, активацию комплемента, рекрутирование фагоцитирующих клеток и мобилизацию профессиональных антиген-презентирующих клеток [12–15].

В начале XXI в. группа TLRs стала насчитывать более 10 видов рецепторов, которые вошли в многочисленное семейство PRRs. В зависимости от формы существования в семействе PRRs кроме TLRs выделяют еще несколько групп рецепторов: секретрируемые внеклеточные рецепторы, присутствующие как свободные компоненты в бронхоальвеолярном секрете; группа мембранных рецепторов, участвующих в эндоцитозе; рецепторы киназы и группа внутриклеточных цитозольных рецепторов [3, 5, 16, 17].

В задачи врожденного иммунитета входит уничтожение проникающих в организм патогенов на основе генетически закодированной стратегии распознавания «свой–чужой», а приобретенного (адаптивного) иммунитета — выработка специфических антител, основанная на согласованной работе Т- и В-лимфоцитов [10, 18–20]. С развитием понимания роли врожденного иммунитета против микроорганизмов («чужой») и в поддержании клеточного гомеостаза («свой») становится важной оценка его связи с феноменом программированной гибели клетки (ПГК) [3, 7, 21, 22].

Врожденный иммунитет является первой линией обороны организма против патогенных агентов [23]. Он ассоциирован с функцией сигнальных TLRs, находящихся на поверхности многих клеток организма. Функция TLRs — распознать патоген и связаться с общими консервативными молекулярными структурами патогенных микроорганизмов, получившими название патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (pathogen-associated molecular pattern, PAMP) [24]. Это первичное распознавание патогенов является значимым для немедленного врожденного иммунного ответа, продукции провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-12), индукции воспалительной реакции и бактерицидных механизмов и прерывания инфекции, а также для последующего запуска специфического приобретенного иммунного ответа [18, 24–26].

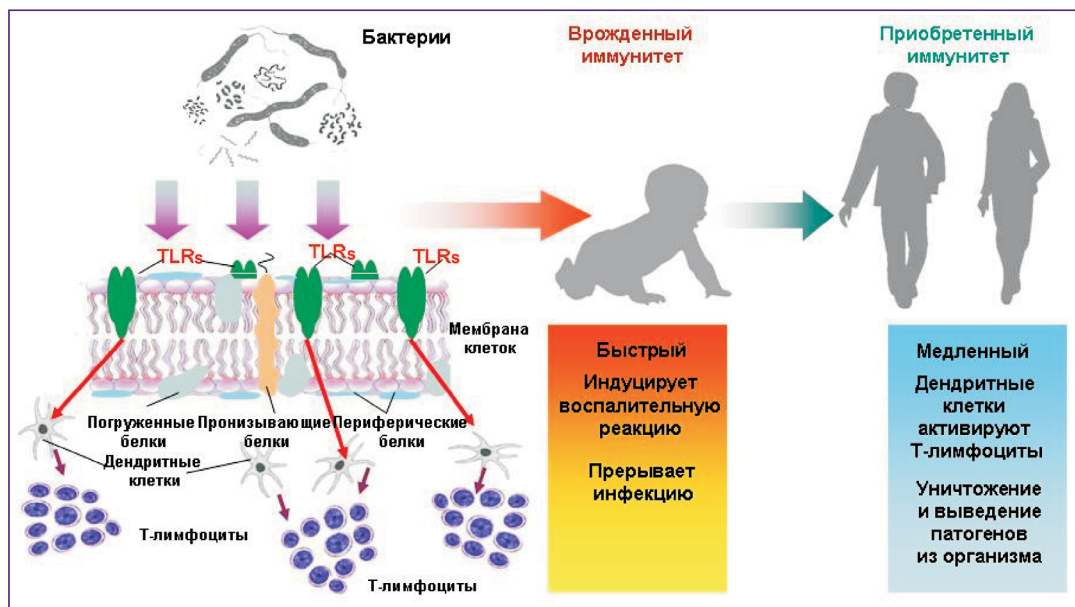
Общие для всего класса микроорганизмов и высококонсервативные PAMP являются своего рода маркерами достаточно больших кластеров микроорганизмов. Они играют решающую роль в патогенезе микробного воспаления, выживания и размножения бактерий [27]. Это делает PAMP отличной мишенью для иммунного распознавания, а соответствующие им PRRs клетки организма-хозяина после распознавания бактериальных, вирусных или грибковых патогенов инициируют последующую активацию приобретенного иммунитета: дендритные клетки стимулируют Т-лимфоциты, индуцирующие каскад иммунных реакций и синтез антител, которые уничтожают бактерии и удаляют их из организма [28–30] (рис. 1).

Важно отметить, что в отличие от факторов патогенности бактерий, молекулярные структуры PAMP не являются уникальными для отдельных видов микроорганизмов — они эволюционировали в соответствии со своими физиологическими функциями, не связанными с взаимодействием хозяин–патоген, и существовали задолго до появления организма-хозяина и его клеточных рецепторов [31]. В отличие от PAMP факторы патогенности микроорганизмов развивались в результате их адаптации к специфическим условиям организма-хозяина [28, 32, 33].

Таким образом, при попадании инфекционных агентов внутрь организма первичный иммунный ответ основан не на идентификации специфических антигенов, а на распознавании определенных паттернов (типов) молекулярных структур PAMP специфическими PRRs клеток организма [31, 34].

Известно, что микроорганизмы выработали различные механизмы молекулярных трансформаций основных компонентов клеточных мембран, способные изменить иммуногенность PAMP, что является важной стратегией в способности уклониться или модулировать иммунный ответ организма-хозяина [28, 32, 35, 36].

Активация TLRs служит пусковым механизмом для формирования инфламماسом (специфического белкового комплекса) в разных видах клеток макроорганизма: макрофагах, нейтрофилах, моноцитах и других [9,



**Рис. 1.** Современная схема иммунного ответа. Инвариантные молекулярные паттерны инфекционных агентов распознаются сигнальными TLRs клеток организма, что инициирует немедленный врожденный иммунный ответ и последующую активацию приобретенного иммунитета

23, 37]. Посредством активации инфламмасом в клетках реализуется секреция интерлейкинов и интерферонов, а также запускаются механизмы ПГК (по типу апоптоза, аутолиза, пироптоза или некроза), приводящие к внутриклеточной деградации и гибели бактерий [9, 37].

Таким образом, биологическая целесообразность формирования инфламмасом и активации форм ПГК рассматривается как ограниченная гибель инфицированных клеток с целью поддержания жизнеспособности многоклеточного организма с последующей индукцией (или без нее) каскада воспалительных и иммунных реакций [31, 38, 39].

Изучение процессов, возникающих после активации TLRs, выявило наличие тесной связи между врожденным и приобретенным иммунитетом, а также механизмами ПГК, что объединило все защитные реакции организма в единую систему [38, 40]. Задача группового подавления патогенов с использованием ограниченного числа рецепторов была решена путем развития системы TLRs, распознающих консервативные молекулярные последовательности микроорганизмов, которые отсутствуют у высших эукариотов и являются общими для основных типов прокариот [39]. Эти сигнальные рецепторы в зависимости от массивности микробного воздействия и патогенности бактерий запускают механизмы активации воспаления, иммунного ответа и гибели инфицированных клеток [39–41].

Данные генетических исследований свидетельствуют об уникальности функций PRRs. Показано, что в случае недостаточно активной или дефектной функции этих рецепторов в организме не развивается полноценная ответная реакция на патоген или

же она принимает избыточные формы, приводя к синдрому системного воспалительного ответа, септическому шоку и полиорганной недостаточности [32, 42]. Напротив, при гиперфункции PRRs возможно развитие хронического воспаления или аутоиммунных заболеваний [32, 40, 43].

### Молекулярные лиганды грамотрицательных бактерий и соответствующие им рецепторы

В настоящее время одной из важнейших областей многочисленных научных исследований является идентификация молекулярных лигандов различных категорий микроорганизмов и выявление соответствующих им рецепторов TLRs.

В медицинской систематике наиболее патогенных для человека бактерий основное значение имеют две их категории: грамотрицательные и грамположительные. Каждой категории микроорганизмов присущи характерные групповые виды PAMP и соответствующие им рецепторы TLRs. В настоящее время известны более 10 специфических рецепторов, расположенных на поверхности клеток организма человека, которые распознают различные молекулярные паттерны [34, 36, 44]. Так, для грамположительных бактерий и дрожжей такими видами PAMP являются липотейхоевая кислота и пептидогликан, которым соответствует рецептор TLR2, для вирусов — двухцепочечная РНК и соответствующий рецептор TLR3, для грамотрицательных бактерий — TLR4, жгутики микроорганизмов распознаются рецепторами TLR5 [45]. Эти рецепторы являются трансмембранными белками, которые состоят из вне-



## Виды молекулярных паттернов (PAMP), лиганды и рецепторы (PRRs) грамотрицательных и грамположительных бактерий [35]

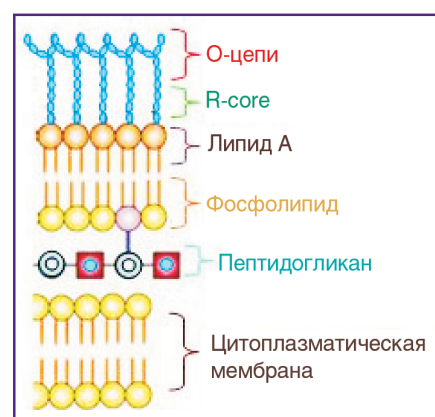
Категории бактерий	Молекулярные паттерны (PAMP)	Лиганды	Рецепторы (TLRs)	Биологические эффекты	Источник
Грамотрицательные	Липополисахарид	Липид А	TLR4 Рецепторный комплекс TLR4–MD-2 Комплекс CD14–LBP: Scavenger-рецептор TLP5 и TLR9	Распознавание ЛПС и инициация воспалительного ответа Усиление воспалительного ответа, инициированного TLR Эндоцитоз ЛПС (невоспалительный), фагоцитоз (?)	Poltorak A. и соавт., 1998; Munford, Varley, 2006; Sjölander и соавт., 2008; Fedele и соавт., 2010; Moranta и соавт., 2010; Zaybert и соавт., 2010; Jin, Lee, 2008; Matsuura, 2013 Dessein и соавт., 2009
В т.ч. <i>Yersinia</i>	Флагеллин, CpG–ДНК	Липид А	TLR4		
Грамположительные	Липотейхоевая кислота, липопротейн, пептидогликан, флагеллин, CpG–ДНК	Не определен	TLR2	Инициация воспалительного ответа	Ru и соавт., 2009; Müller-Anstett и соавт., 2010

клеточной части и внутриклеточного домена, содержащего Toll–IL-1-рецептор (TIR) [18, 25, 31]. Некоторым TLRs для осуществления своих репрезентативных функций требуются вспомогательные белки-коррецепторы для распознавания и связывания лигандов, например для функционирования TLR4 необходим миелоидный фактор дифференцировки 2 (MD-2) [25, 31, 45] (см. таблицу).

Отличительная особенность грамотрицательных бактерий, являющихся предметом настоящего обзора, — наличие двухслойной клеточной мембраны. Наружный слой содержит высокоупорядоченные молекулы ЛПС, являющегося наиболее охарактеризованным PAMP-индуктором врожденного иммунного ответа грамотрицательных бактерий. В организме ЛПС бактерий играет роль эндотоксина — при попадании в кровоток может вызвать каскад событий, в том числе повышение температуры, снижение артериального давления, сепсис, шок [12, 28, 34, 40].

Еще в 30-е годы XX в. было показано, что ЛПС представляет собой термостабильный макромолекулярный комплекс из белка, липида и полисахарида [5]. До недавнего времени считалось, что ЛПС, являясь основным высокоиммуногенным компонентом внешней мембраны, обладает широким спектром биологического действия на организм, запуская, как и все остальные антигены, синтез специфических антител в результате взаимодействия с иммуноглобулиновыми рецепторами В-лимфоцитов [12, 28, 46, 47].

Однако результаты исследований, проведенных в 70-е годы прошлого века J. Andersson с соавт. [48] и G. Weismann с соавт. [49], позволили установить, что ЛПС грамотрицательных бактерий является характерным для этой категории молекулярным паттерном, который при попадании в организм в первую очередь распознается PRRs организма как «чужой». Это активирует врожденный иммунный ответ, имеющий, как правило, защитный характер, однако при формировании эндотоксемии он может стать причиной чрезмер-



**Рис. 2.** Схема основной структуры двухслойной мембраны грамотрицательных микроорганизмов: наружный слой содержит молекулы липополисахарида, состоящие из липида А, основания (R-core) и O-цепей специфических олигосахаридов

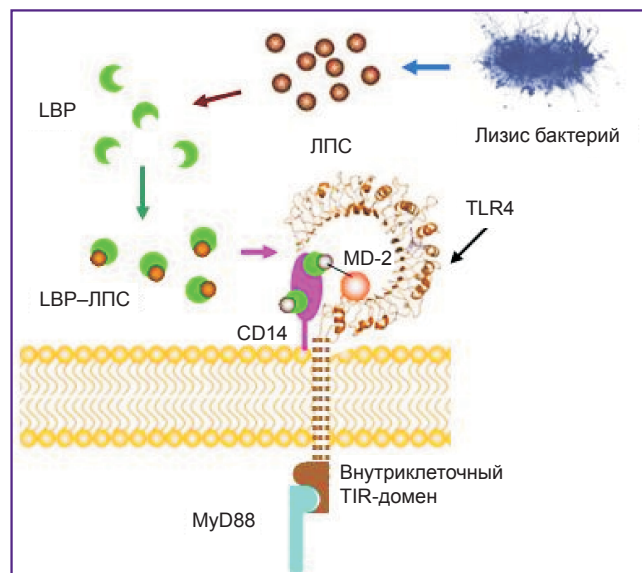
ной активации и нарушения регуляции воспалительных реакций, тем самым вызывая сепсис и нарушение функций органов и систем [50, 51].

Установлено, что ЛПС представляют собой семейство родственных макромолекул, характеризующихся общим строением (рис. 2). При электронной микроскопии ЛПС выглядит как фрагмент клеточной мембраны разнообразной формы с двухслойной структурой — с внешним гидрофильным слоем и внутренним, гидрофобным — липидом А [50, 52, 53]. Полная макромолекула ЛПС состоит из углеводной части, которая направлена в сторону окружающей среды и содержит боковые полисахаридные цепочки (O-цепи), а также основание (R-core), ковалентно связанное с липидной частью, названной липидом А, и закрепляющее ЛПС в наружной мембране [54]. O-цепи характеризуются чрезвычайно высокой структурной вариативностью даже в пределах одного вида бактерий, что является химической основой для серологической классифика-

ции отдельных родов, видов и типов бактерий в соответствии с их О-антигенными детерминантами. К настоящему времени описано множество природных структурных вариантов О-специфических олигосахаридов, обуславливающих антигенные свойства ЛПС, а также специфичность взаимодействия бактериальной клетки с другими биологическими системами, включая иммунную систему [54–56]. Напротив, основание (R-core) и липид А — консервативные в филогенетическом отношении структуры [46, 51, 57].

Строение гидрофобного липида А, являющегося основным структурным компонентом, ответственным за токсичность ЛПС, а также его модификации интенсивно изучались на культурах *E. coli* [28, 42]. Липид А имеет довольно сложную структуру, в состав которой входят жирные кислоты, глюкозамин и остаток фосфорной кислоты [42, 58]. Несмотря на достаточно высокую консервативность этого участка ЛПС, в состав каждого вида микроорганизмов входит несколько типов липида А, отличающихся числом ацильных групп (от 3 до 6). Видовая структура липида А зависит от температуры среды обитания микроорганизма, его жизненного цикла и играет важную роль в стратегии вирулентности грамотрицательных микроорганизмов и провоспалительной активности [12, 59, 60].

Как уже указывалось, сигнальным PRRs-рецептором для структурно-матричных молекул ЛПС



**Рис. 3.** Упрощенная схема распознавания липополисахаридов (ЛПС) грамотрицательных бактерий рецепторным комплексом TLR4–MD-2 клетки организма-хозяина. ЛПС высвобождается сразу после разрушения бактерий и связывается с LBP. Образовавшийся белково-рецепторный комплекс ЛПС–LBP связывается с кластером CD14, который представляет ЛПС рецепторному комплексу TLR4–MD-2. В дальнейшем при участии внутриклеточного TIR-домена сигнального рецептора и цитозольного адаптерного белка MyD88 происходит инициация дальнейшего иммунного ответа организма

является открытым в последние десятилетия рецептор TLR4, который распознает общую картину инфекционного агента и экспрессируется на мембране иммунокомпетентных клеток [34, 55, 61, 62].

Химическая структура и биологические эффекты ЛПС были всесторонне изучены и обсуждены в конце XX в. [11, 19, 26]. Этот характерный компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий высвобождается сразу после разрушения бактериальной клетки или извлекается из бактериальных мембран ЛПС-связывающим протеином (Lipopolysaccharide binding protein, LBP), циркулирующим в сыворотке крови и относящимся к острофазным белкам. Образовавшийся белково-рецепторный комплекс ЛПС–LBP связывается с рецептором CD14 на поверхности моноцитов, макрофагов и гранулоцитов [12, 38, 45, 63], который может находиться в растворимой форме (sCD14) или быть связанным с клеточной мембраной GPI-якорем. Функция CD14 заключается в представлении ЛПС и стимуляции им рецепторного комплекса TLR4–MD-2 [12, 56, 60, 63] (рис. 3).

Стимуляция TLR4 является многоступенчатым процессом, при котором активируется каскад сигнальных путей, индуцирующих с помощью факторов транскрипции NF-κB и AP-1 выработку провоспалительных цитокинов, хемокинов и молекул адгезии [63, 64–66]. В комплексе с белками LBP, CD14 и MD-2 этот сигнальный рецептор изменяет матричную структуру ЛПС, образуя белково-мономерные комплексы ЛПС–LBP, ЛПС–CD14 и ЛПС–MD-2, которые при участии цитозольных адаптерных белков (MyD88, TRIF, TRIF/TRAM) реализуют один из путей передачи сигналов, активируют моноциты, макрофаги, нейтрофилы [36, 66–68]. При электронной микроскопии ЛПС выглядит как фрагмент клеточной мембраны разнообразной формы с двухслойной структурой — внешнего гидрофильного слоя и внутреннего, гидрофобного — липида А. Необходимым кофактором для реакции связывания является альбумин [65, 67, 69–73].

Проиллюстрируем этот механизм на примере патогенных видов рода *Yersinia* семейства *Enterobacteriaceae*. Из 17 видов микроорганизмов, отнесенных к этому роду, только три — *Y. pestis* (возбудитель чумы), *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* (возбудители псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза) — являются патогенными для человека и грызунов [11, 74–77].

Все патогенные виды иерсиний относятся к факультативным психрофилам и характеризуются широким температурным диапазоном, при котором возможен их рост. Несмотря на различия в путях внедрения, они поражают лимфоидные ткани и внутренние органы организма-хозяина. Отличительной чертой иерсиниозов является их клиническая полиморфность, различные варианты характера и длительности течения. Патогенность иерсиний в основном связана с их способностью противостоять механизмам врожденной иммунологической защиты, таким как фагоцитоз, и

индукции воспалительного ответа макрофагами и нейтрофилами [77, 78, 79].

В значительной части исследований молекулярные механизмы инфекционных процессов и патогенетическая роль молекулярных паттернов ЛПС в развитии инфекций, вызванных грамотрицательными агентами, и их распознавание рецепторным комплексом TLR4–MD-2 были изучены на модели липида А патогенных видов из рода *Yersinia* [75, 76, 78, 80].

Сигналы для иммуностимулирующей активности в организме человека или млекопитающих после взаимодействия ЛПС (липид А) с рецепторным комплексом TLR4–MD-2 вызывают определенные изменения рецептора. Содержания внеклеточного домена TLR4 недостаточно для распознавания ЛПС, однако наличие в составе комплекса белка MD-2 является существенным для обнаружения лиганда [81]. При связывании липида А белок-рецептор MD-2 индуцирует димеризацию TLR4–MD-2 путем конформации поверхности рецепторного комплекса, подготавливая зоны взаимодействия и связывание лиганда с С-концевым фрагментом внеклеточного домена молекулы TLR4 [12, 25, 82–86].

Более 50 лет назад был описан V-антиген *Y. pestis* (LcrV), один из важных факторов патогенности *Yersinia*, который кодируется геном *lcrV* [86, 87]. Ген расположен на плазмиде кальцийзависимости pCad, присутствующей у всех патогенных для человека видов иерсиний [83, 88–90]. Установлено, что продукция LcrV коррелирует с вирулентностью [91, 92–94]. В работах A. Sing с соавт. [86, 95] было показано, что LcrV способен модулировать иммунный ответ организма-хозяина, изменяя продукцию макрофагами цитокинов IL-10, а также имеет решающее значение для транспорта эффекторных белков Yops в цитоплазму инфицированных клеток эукариот.

Для этой цели иерсинии, как и другие грамотрицательные бактерии, используют систему секреции III типа, которая срабатывает только при непосредственном контакте бактерий с клетками организмов-хозяев. В результатах исследований A. Sing с соавт. [86] также была доказана роль и участие гена *lcrV* в кодировании системы секреции III типа и непосредственное участие белка LcrV в регуляции секреции YopD [86, 93]. В дальнейшем этими исследователями было показано, что клеточными рецепторами, ответственными за продукцию IL-10, индуцированную LcrV, оказались CD14 и TLR4 [87, 96–98].

Исследования, проведенные в начале XXI в., показали, что изменения ацилирования липида А являются критическими для активации TLR4 и вариации количества ацильных групп могут модулировать активацию рецептора [99, 100]. Было установлено, что реакция клеток человека на измененные структуры липида А более выражена к числу ацильных групп, чем у мышей. Например, гексаацилированная модификация липида А при взаимодействии с TLR4 макрофагов человека и мышей изменяет состояние рецептора,

одинаково увеличивая биологический отклик. В то же время тетра-ацилированная модификация липида А проявляет значительно более слабое агонистическое влияние на мышинные макрофаги, чем на макрофаги человека [97, 99–103].

Общеизвестно, что *Y. pestis* — один из самых опасных бактериальных патогенов, являющийся этиологическим агентом бубонной и легочной чумы и проникающий в организм человека через укусы блох, заразившейся от грызунов, либо контактным или воздушно-капельным путями [104]. В отличие от других представителей этого семейства (и в том числе от *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*), вызывающих кишечные инфекции, *Y. pestis* не способен длительное время существовать и размножаться во внешней среде, циркулируя в природных очагах грызунов-носителей и насекомых-переносчиков (блох) [105–107].

Замечательное свойство *Y. pestis*, характерное для всех видов иерсиний, — способность размножаться при различных температурах, позволяет им приспосабливаться к меняющимся условиям среды обитания. Температура среды для блох, обитающих в норах грызунов или волосах млекопитающих, составляет около 25°C, в то время как температура тела грызунов и человека составляет около 37°C. Таким образом, в инфекционном цикле *Y. pestis* присутствует два температурных режима, при которых этот вид иерсиний не только выживает, но и по-разному использует свой арсенал факторов патогенности [108–110].

Например, активация таких факторов вирулентности *Y. pestis*, как I-антиген [105], рН6-антиген [107], белки Yops [44] системы секреции III типа [111, 112], происходит при температуре 37°C, а продукция мышинного токсина [113], необходимого для репликации бактерий в кишечнике блох, индуцируется при 27°C и ингибируется при 37°C [114].

Высокая патогенность *Y. pestis* в значительной степени определяется уникальной способностью бактерий преодолевать защитные механизмы млекопитающих, обеспечивая тем самым свое выживание в течение всего жизненного цикла [108, 112, 113, 115]. Важный вклад в эту особенность вносит ЛПС иерсиний [98].

В недавно опубликованных обзорах Y.A. Knirel, A.P. Anisimov [115] и M. Matsuura [34] представлены новые сведения о структурном своеобразии ЛПС *Y. pestis* и его биологических свойствах. Результаты исследований, выполненных в последние годы на диких мутантных изогенных штаммах *Y. pestis*, свидетельствуют, что ЛПС этих бактерий являются полифункциональным фактором патогенности, играющим ключевую роль в температурозависимой адаптационной стратегии данного возбудителя [34, 116].

Как и большинство патогенных микроорганизмов, образующих шероховатые колонии, *Y. pestis* продуцирует ЛПС R-типа, углеводная часть которого не содержит полисахаридной цепи — O-антигена и ограничивается основанием (core), в отличие от ЛПС, ха-



рактерного для большинства бактерий, образующих гладкие колонии S-типа, в котором также присутствуют и полисахаридные O-антигенные детерминанты [107, 110]. Такая особенность *Y. pestis* отличает этот патоген от других видов иерсиний и играет важную роль в патогенезе чумы, являясь существенной частью стратегии преодоления бактерией защитных механизмов хозяина на ранних стадиях инфекции [110, 112].

В то же время некоторые особенности строения ЛПС (включая температурозависимые вариации структуры как core, так и липида А) были унаследованы *Y. pestis* от *Y. pseudotuberculosis* без заметных изменений [20, 96, 115].

Строение ЛПС *Y. pestis* и его биологические свойства варьируют в зависимости от внешних условий [115, 117–120]. Выявлены определенные закономерности в вариациях липидных структур у различных видов патогенных иерсиний (как и у других видов грамотрицательных бактерий) при их размножении в различных температурных условиях окружающей среды [115, 117]. Основные структурные и биологические характеристики ЛПС *Y. pestis* детально изучали на субстратах, которые выделяли из бактерий, культивируемых при различных температурах, сходных с условиями их обитания в теле теплокровных млекопитающих (37°C) и пойкилотермных блох (20–28°C) [115, 119].

Структурные изменения липида А, входящего в состав ЛПС *Y. pestis*, ассоциированные с этими двумя температурными диапазонами, также были выявлены с помощью масс-спектрометрического анализа MALDI-TOF [121, 122]. Авторами показано, что содержание различных ацилированных форм липида А в значительной степени зависит от условий культивирования. Оно было представлено различными гипоацилированными типами спектров: от гекса- до три-ацилированных при культивировании *Y. pestis* при температуре 27°C и от тетра- до три-ацилированных — при выращивании бактерий при 37°C [121]. При этом ЛПС, выделенный из *Y. pestis*, выращенных при 37°C, вызывал гораздо меньший иммунологический ответ макрофагов человека, чем ЛПС бактерий, культивируемых при 27°C [122].

В недавнем исследовании А.М. Найжа с соавт. [25] было показано, что стимуляция липидом А рецепторного комплекса TLR4–MD-2 макрофагов при температуре человеческого организма в отличие от температуры пойкилотермных блох вызывала снижение выработки провоспалительных цитокинов, в том числе IL-12p40 и IL-6 [25]. Таким образом, температурозависимая конформация липида А *Y. pestis* позволяет патогену избежать иммунного ответа, связанного со снижением иммуногенности лиганда.

Отмеченные структурные изменения липида А наблюдаются при повышении температуры культивирования бактерий от 21–28°C до 37°C, моделирующем переход от температурных условий в теле пойкилотермных блох к условиям в теле теплокровных млеко-

питающих [98, 102]. Выявленный сдвиг спектра типов липида А в сторону гипоацилированных форм, по-видимому, связан с необходимостью снижения иммуногенности и возможностью уклониться от иммунологической защиты организма-хозяина.

В род *Yersinia* кроме *Y. pestis* входят два важных энтеропатогенных вида — *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, обладающих еще более выраженными факультативными психрофильными свойствами — способностью размножаться при 4°C. Для анализа структурных различий форм липида А иерсинии культивировали при 21 и 37°C [112, 115–120]. Установлено, что при выращивании при 37°C каждый из этих видов синтезирует ЛПС, содержащий главным образом тетра-ацилированную форму липида А, а при 21°C происходит относительное увеличение гекса-ацилированных форм. При этом некоторые отличия были выявлены в количестве и типах ацильных групп у разного вида иерсиний [112, 115, 118].

Кроме того, ЛПС-содержащие экстракты этих видов иерсиний, выращенных при 21°C, гораздо сильнее стимулировали макрофаги человека, чем аналогичные субстраты, приготовленные из культур бактерий, выращенных при 37°C [55, 79, 93]. Полученные результаты свидетельствуют, что выработка менее иммуногенных видов ЛПС после попадания в организм млекопитающего является консервативной термозависимой стратегией бактерий рода *Yersinia*, играющей важную роль в их жизненном цикле, реализации патогенности и развитии инфекционного процесса [55, 79].

Таким образом, способность патогенных иерсиний к температурозависимой модуляции ацилирования липида А, обусловленная их психрофильными свойствами, модулирует иммуногенность рода *Yersinia* (*Yersinia spp.*), а значит, и способность TLR4 организма-хозяина распознавать различные молекулярные модели ЛПС. Это является важной патогенетической особенностью развития актуальных иерсиниозов, возможно, объясняющей клиническую полиморфность, характер и длительность течения инфекций. Многочисленные исследования, выполненные на этих моделях в течение последних десятилетий, выявили сложную взаимосвязь между способностью патогенных видов иерсиний модулировать ацилирование липида А, а также способность организма-хозяина распознавать молекулярные паттерны и дифференцированно реагировать на эти конформационные модификации лигандов [92, 102].

Выявленная способность к термозависимой вариации иммуногенности характерна только для патогенных видов рода *Yersinia*. Другие энтеропатогенные грамотрицательные микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae*, например *Escherichia spp.*, *Salmonellas spp.* и *Shigella spp.*, имеют в составе молекулярных паттернов ЛПС, главным образом в виде гекса-ацилированного липида А, высокоиммуногенного для рецепторного комплекса TLR4–MD-2 человека. Это свидетельствует о том, что в молекулярных меха-



низмах инфекций, ассоциированных с патогенными видами иерсиний, используются более сложные стратегии иммунного уклонения, связанные с температурозависимыми структурными модификациями липида А [121–124].

Важную роль в исходе инфекционных заболеваний играет продукция макрофагами и другими клетками иммунной системы ключевых провоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) — основной медиатор септического шока (эндотоксемии), развивающегося под действием ЛПС. У *Y. pestis*, как и у других грамотрицательных бактерий и в том числе энтеропатогенных видов иерсиний (*Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*), цитокин-индуцирующая активность ЛПС передается через клеточный рецептор TLR4 и определяется строением липида А [122].

Ограниченная биологическая активность высокотемпературной низкоацилированной формы ЛПС *Y. pestis* может играть важную роль в преодолении бактериями защитных механизмов теплокровных животных. В то время как система врожденного иммунитета эффективно стимулируется высокоацилированными формами ЛПС, низкоацилированные формы рецептором TLR4 не распознаются и соответственно не активируют врожденный иммунитет по MD-2–TLR4-зависимому пути. Более того, в опытах с макрофагальными клеточными линиями человека [113, 116–118] и дендритными клетками [90, 110–113] ЛПС из клеток *Y. pestis*, выращенных при 37°C, вел себя как антагонист, активно подавляющий TLR4-зависимый провоспалительный ответ.

Однако указанные конформационные изменения ЛПС не дали ответа на главный вопрос: каким образом происходит регулирование метаболизма иерсиний в зависимости от температуры окружающей среды и какие структуры бактериальной клетки ответственны за ее «измерение». Ответ был получен в 2009 г. [125].

Энтеропатогенные иерсинии, жизненный цикл которых связан с циркуляцией в природе между объектами окружающей среды (почва, вода) и организмами млекопитающих и характеризуется чередованием термических условий существования, часто используют механизмы температурного зондирования для регулирования экспрессии генов вирулентности. Немецкие исследователи К. Herbst с соавт. из Центра инфекционных исследований им. Гельмгольца открыли ранее неизвестный механизм контроля температуры патогенными видами *Yersinia* [28, 125]. Было установлено, что энтеропатогенные виды *Yersinia* обладают инструментом со свойствами уникального белкового термометра, в роли которого выступает протейн RovA (один из ДНК-связывающих белков).

В самом общем виде RovA воспринимает изменения температуры непосредственно через изменения в конформации белка, тем самым модулируя его ДНК-связывающую способность. Этот же протейн в зависимости от температуры окружающей среды регулирует

активность биологических функций бактерий, в том числе факторов патогенности. Было выявлено, что RovA представляет собой многофункциональный сенсорный белок, измеряющий температуру окружающей среды и контролирующий широкий спектр метаболических процессов в бактериальной клетке [28, 125, 126].

## Заключение

Врожденный иммунитет и вирулентность микроорганизмов являются чрезвычайно сложными и взаимозависимыми явлениями. Изучение особенностей патогенеза инфекционных заболеваний, вызванных патогенными видами иерсиний, которые связаны с молекулярными механизмами липополисахаридных структур патогенов, может дать ключ к раскрытию механизмов врожденной иммунной защиты организма от патогенных грамотрицательных бактерий. Выявленные в ходе экспериментальных исследований видовые различия в специфике взаимодействия ЛПС–MD-2–TLR4 у *Yersinia spp.* на моделях животных пока не позволяют полностью экстраполировать эти результаты на человека и связать их с клинической полиморфностью и степенью тяжести течения инфекций. Однако, как и в познании любой инфекции, понимание патогенетических механизмов при иерсиниозах является решающим шагом для разработки эффективных профилактических средств.

Результаты многочисленных исследований молекулярных механизмов развития иерсиниозов и других инфекций позволили установить, что PAMP грамотрицательных бактерий передают множественные сигналы на клетки иммунной системы и, следовательно, могут быть использованы как природные, естественные адъюванты, активирующие адаптивный иммунный ответ организма.

К используемым до недавнего времени для создания вакцин очищенным рекомбинантным антигенам иммунная система нередко проявляла толерантность. Объяснением этого явления в определенной мере может служить тот факт, что эти антигены были обеднены молекулярными компонентами PAMP, необходимыми для активации врожденного иммунитета. По этой причине субъединичные антигенные вакцины оказывались менее эффективными в индукции протективного иммунного ответа.

Для конструирования современных вакцин в настоящее время рационально использовать агенты и синтетические низкомолекулярные адъюванты, напоминающие молекулярные компоненты ЛПС — основного лиганда грамотрицательных бактерий, призванные активировать работу врожденной иммунной системы и индуцировать продукцию медиаторов воспаления. Дальнейшее изучение молекулярных механизмов инфекционных процессов позволит разработать и использовать при создании антибактериальных вакцин рациональные конструкции эффективных адъювантов для дополнительной активации иммунной системы,

что важно при разработке профилактических препаратов для детей и пациентов с ослабленной иммунной системой, с последующей экспериментальной проверкой их биологических свойств.

**Финансирование исследования.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российской академии наук (Госсзадание №12-23-239).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Литература/References

1. Degraeve A., Siamer S., Boureau T., Barny M.A. The AvrE superfamily: ancestral type III effectors involved in suppression of pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity. *Mol Plant Pathol* 2015; 16(8): 899–905, <http://dx.doi.org/10.1111/mpp.12237>.
2. Rajamuthiah R., Mylonakis E. Effectors triggered immunity. *Virulence* 2014; 5(7): 697–702, <http://dx.doi.org/10.4161/viru.29091>.
3. Park H.C., Lee S., Park B., Choi W., Kim C., Lee S., Chung W.S., Lee S.Y., Sabir J., Bressan R.A., Bohnert H.J., Mengiste T., Yun D.J. Pathogen associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity is compromised under C-limited growth. *Mol Cells* 2015; 38(1): 40–50, <http://dx.doi.org/10.14348/molcells.2015.2165>.
4. Авдеева М.Г., Лебедев В.В., Шубич М.Г. Молекулярные механизмы развития инфекционного процесса. Клиническая лабораторная диагностика 2007; 4: 15–22. Avdeeva M.G., Lebedev V.V., Shubich M.G. Molecular mechanisms responsible for the development of an infectious process. *Klinicheskaja laboratornaia diagnostika* 2007; 4: 15–22.
5. Boivin A., Mesrobian L. Recherches sur les antigenes somatiques et sur les endotoxines des bacteries. I. Considerations generales et expose des techniques utilisees. *Rev Immunol* 1935; 1: 553–569.
6. Rautema R., Meri S. Complement-resistance mechanisms of bacteria. *Microbes Infect* 1999; 1(10): 785–794, [http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579\(99\)80081-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579(99)80081-1).
7. Bliska J.B., Wang X., Viboud G.I., Brodsky I.E. Modulation of innate immune responses by Yersinia type III secretion system translocators and effectors. *Cell Microbiol* 2013; 15(10): 1622–1631, <http://dx.doi.org/10.1111/cmi.12164>.
8. Авдеева М.Г., Шубич М.Г. Патогенетические механизмы инициации синдрома системного воспалительного ответа (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика 2003; 6: 3–10. Avdeeva M.G., Shubich M.G. Pathogenetic mechanisms of the initiation of systemic inflammatory response syndrome (a literature review). *Klinicheskaja laboratornaia diagnostika* 2003; 6: 3–10.
9. Matusiak M., Van Opendenbosch N., Vande Walle L., Sirard J.C., Kanneganti T.D., Lamkanfi M. Flagellin-induced NLRC4 phosphorylation primes the inflammasome for activation by NAIP5. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(5): 1541–1546, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1417945112>.
10. Cornelis G.R. The type III secretion injectisome, a complex nanomachine for intracellular 'toxin' delivery. *Biol Chem* 2010; 391(7): 745–751, <http://dx.doi.org/10.1515/BC.2010.079>.
11. Сомов Г.П., Покровский В.И., Беседнова Н.Н., Антоненко Ф.Ф. Псевдотуберкулез. М: Медицина; 2001; 256 с. Somov G.P., Pokrovskiy V.I., Besednova N.N., Antonenko F.F. *Psevdotuberkulez* [Pseudotuberculosis]. M: Meditsina; 2001; 256 p.
12. Giannini T.L., Teganemt A., Zhang D., Esparza G., Yu L., Weiss J. Purified monomeric ligand. MD-2 complexes reveal molecular and structural requirements for activation and antagonism of TLR4 by Gram-negative bacterial endotoxins. *Immunol Res* 2014; 59(1–3): 3–11, <http://dx.doi.org/10.1007/s12026-014-8543-y>.
13. Niu D., Wang X., Wang Y., Song X., Wang J., Guo J., Zhao H. Bacillus cereus AR156 activates PAMP-triggered immunity and induces a systemic acquired resistance through a NPR1-and SA-dependent signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 469(1): 120–125, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.11.081>.
14. Boccaro M., Sarazin A., Thiébeaud O., Jay F., Voinnet O., Navarro L., Colot V. Correction: the arabidopsis miR472-RDR6 silencing pathway modulates PAMP- and effector-triggered immunity through the post-transcriptional control of disease resistance genes. *PLoS Pathog* 2015; 11(4): e1004814, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1004814>.
15. Sreekanta S., Bethke G., Hatsugai N., Tsuda K., Thao A., Wang L., Katagiri F., Glazebrook J. The receptor-like cytoplasmic kinase PCRK1 contributes to pattern-triggered immunity against Pseudomonas syringae in Arabidopsis thaliana. *New Phytol* 2015; 207(1): 78–90, <http://dx.doi.org/10.1111/nph.13345>.
16. Shi Q., Febres V.J., Jones J.B., Moore G.A. Responsiveness of different citrus genotypes to the *Xanthomonas citri* ssp. *citri*-derived pathogen-associated molecular pattern (PAMP) flg22 correlates with resistance to citrus canker. *Mol Plant Pathol* 2015; 16(5): 507–520, <http://dx.doi.org/10.1111/mpp.12206>.
17. Андрюков Б.Г., Сомова Л.М., Тимченко Н.Ф. Морфологические и молекулярно-генетические признаки программированной клеточной гибели прокариот. Здоровье. Медицинская экология. Наука 2015; 61(3): 4–22. Andryukov B.G., Somova L.M., Timchenko N.F. Morphological and molecular genetic markers programmed cell death of prokaryotes. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka* 2015; 61(3): 4–22.
18. Abolghait S.K., Iida T., Kodama T., Cantarelli V.V., Akeda Y., Honda T. Recombinant AexU effector protein of *Aeromonas veronii* bv. *sobria* disrupts the actin cytoskeleton by downregulation of Rac1 and induces direct cytotoxicity to  $\beta$ 4-integrin expressing cell lines. *Microb Pathog* 2011; 51(6): 454–465, <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2011.09.006>.
19. Покровский В.И. Иммунология инфекционного процесса. М: Медицина; 1993; 360 с. Pokrovskiy V.I. *Immunologiya infektsionnogo protsessa* [Immunology of infectious process]. Moscow: Meditsina; 1993; 360 p.
20. Brubaker R.R. The recent emergence of plague: a process of felonious evolution. *Microb Ecol* 2004; 47(3): 293–299, <http://dx.doi.org/10.1007/s00248-003-1022-y>.
21. Кувачева Н.В., Моргун А.В., Хилажева Е.Д., Малиновская Н.А., Горина Я.В., Пожиленкова Е.А., Фролова О.В., Труфанова Л.В., Мартынова Г.П., Салмина А.Б. Формирование инфламмасом: новые механизмы регуляции межклеточных взаимодействий и секреторной активности клеток. Сибирское медицинское обозрение 2013; 5: 3–10. Kuvacheva N.V., Morgun A.V., Hilazheva E.D., Malinovskaya N.A., Gorina Y.V., Pozhilenkova E.A., Frolova O.V., Trufanova L.V., Martynova G.P., Salmina A.B. Inflammasomes forming: new mechanisms of intercellular

- interactions regulation and secretory activity of the cells. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie* 2013; 5: 3–10.
22. Dwidar M., Leung B.M., Yaguchi T., Takayama S., Mitchell R.J. Patterning bacterial communities on epithelial cells. *PLoS One* 2013; 8(6): e67165, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0067165>.
23. Fields K.A., Nilles M.L., Cowan C., Straley S.C. Virulence role of V antigen of *Yersinia pestis* at the bacterial surface. *Infect Immun* 1999; 67(10): 5395–5408.
24. Потаннев М.П. Аутофагия, апоптоз, некроз клеток и иммунное распознавание своего и чужого. *Иммунология* 2014; 35(2): 95–102. Potapnev M.P. Autophagy, apoptosis, necrosis and immune recognition of self and nonself. *Immunologiya* 2014; 35(2): 95–102.
25. Kanistanon D., Powell D.A., Hajjar A.M., Pelletier M.R., Cohen I.E., Way S.S., Skerrett S.J., Wang X., Raetz C.R., Ernst R.K. Role of Francisella lipid A phosphate modification in virulence and long-term protective immune responses. *Infect Immun* 2012; 80(3): 943–951, <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.06109-11>.
26. Raetz C.R.H. Biochemistry of endotoxins. *Annu Rev Biochem* 1990; 59(1): 129–170, <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.bi.59.070190.001021>.
27. Guo W., Zuo Z., Cheng X., Sun J., Li H., Li L., Qiu J.L. The chloride channel family gene CLC*d* negatively regulates pathogen-associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity in Arabidopsis. *J Exp Bot* 2014; 65(4): 1205–1215, <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/ert484>.
28. Quade N., Mendonca C., Herbst K., Heroven A.K., Ritter C., Heinz D.W., Dersch P. Structural basis for intrinsic thermosensing by the master virulence regulator RovA of *Yersinia*. *J Biol Chem* 2012; 287(43): 35796–35803, <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M112.379156>.
29. Boller T., He S.Y. Innate immunity in plants: an arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens. *Science* 2009; 324(5928): 742–744, <http://dx.doi.org/10.1126/science.1171647>.
30. Göhre V., Jones A.M., Sklenář J., Robatzek S., Weber A.P. Molecular crosstalk between PAMP-triggered immunity and photosynthesis. *Mol Plant Microbe Interact* 2012; 25(8): 1083–1092, <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-11-11-0301>.
31. Lewis J.D., Lo T., Bastedo P., Guttman D.S., Desveaux D. The rise of the undead: pseudokinases as mediators of effector-triggered immunity. *Plant Signal Behav* 2014; 9(1): e27563, <http://dx.doi.org/10.4161/psb.27563>.
32. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2001; 1(2): 135–145, <http://dx.doi.org/10.1038/35100529>.
33. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997; 388(6640): 394–397, <http://dx.doi.org/10.1038/41131>.
34. Matsuura M. Structural modifications of bacterial lipopolysaccharide that facilitate gram-negative bacteria evasion of host innate immunity. *Front Immunol* 2013; 4: 109, <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2013.00109>.
35. Krachler A.M., Woolery A.R., Orth K. Manipulation of kinase signaling by bacterial pathogens. *J Cell Biol* 2011; 195(7): 1083–1092, <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.201107132>.
36. Kurup S.P., Tarleton R.L. Perpetual expression of PAMPs necessary for optimal immune control and clearance of a persistent pathogen. *Nat Commun* 2013; 4: 2616, <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms3616>.
37. Takeuchi O., Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010; 140(6): 805–820, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.022>.
38. Sorci G., Cornet S., Faivre B. Immune evasion, immunopathology and the regulation of the immune system. *Pathogens* 2013; 2(1): 71–91, <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens2010071>.
39. Kobayashi I., Kobayashi Y. Microtubules and pathogen defense. *Plant Cell Monographs* 2008; 11: 121–140, [http://dx.doi.org/10.1007/7089\\_2007\\_144](http://dx.doi.org/10.1007/7089_2007_144).
40. Munford R.S. Sensing gram-negative bacterial lipopolysaccharides: a human disease determinant? *Infect Immun* 2008; 76(2): 454–465, <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00939-07>.
41. Akopyan K., Edgren T., Wang-Edgren H., Rosqvist R., Fahlgren A., Wolf-Watz H., Fallman M. Translocation of surface-localized effectors in type III secretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(4): 1639–1644, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1013888108>.
42. Kopp F., Kupsch S., Schromm A.B. Lipopolysaccharide-binding protein is bound and internalized by host cells and colocalizes with LPS in the cytoplasm: implications for a role of LBP in intracellular LPS-signaling. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1863(4): 660–672, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.01.015>.
43. Stotz H.U., Mitrousis G.K., de Wit P.J., Fitt B.D. Effectors-triggered defense against apoplastic fungal pathogens. *Trends Plant Sci* 2014; 19(8): 491–500, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2014.04.009>.
44. Jensen S.B., Paludan S.R. Sensing the hybrid — a novel PAMP for TLR9. *EMBO J* 2014; 33(6): 529–530, <http://dx.doi.org/10.1002/embj.201487747>.
45. Boccara M., Sarazin A., Thiébeauld O., Jay F., Voinnet O., Navarro L., Colot V. The Arabidopsis miR472-RDR6 silencing pathway modulates PAMP- and effectors-triggered immunity through the post-transcriptional control of disease resistance genes. *PLoS Pathog* 2014; 10(1): e1003883, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1003883>.
46. Tyrer P., Foxwell A.R., Cripps A.W., Apicella M.A., Kyd J.M. Microbial pattern recognition receptors mediate M-cell uptake of a gram-negative bacterium. *Infect Immun* 2006; 74(1): 625–631, <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.74.1.625-631.2006>.
47. Raetz C.R.H., Reynolds C.M., Trent M.S., Bishop R.E. Lipid A modification systems in gram-negative bacteria. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 295–329, <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.biochem.76.010307.145803>.
48. Andersson J., Sjöberg O., Möller G. Mitogens as probes for immunocyte activation and cellular cooperation. *Transplant Rev* 1972; 11(1): 131–177, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-065x.1972.tb00048.x>.
49. *Advances in inflammation research*. Weissmann G. (editor). New York; 1979.
50. Garcia A.V., Charrier A., Schikora A., Bigeard J., Pateyron S., de Tazua-Moreau M.L., Evrard A., Mithöfer A., Martin-Magniette M.L., Virlogeux-Payant I., Hirt H. Salmonella enterica flagellin is recognized via FLS2 and activates PAMP-triggered immunity in Arabidopsis thaliana. *Mol Plant* 2014; 7(4): 657–674, <http://dx.doi.org/10.1093/mp/ss145>.
51. Bergsbaken T., Fink S.L., Cookson B.T. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7(2): 99–109, <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2070>.
52. Blander J.M., Sander L.E. Beyond pattern recognition:



- five immune checkpoints for scaling the microbial threat. *Nat Rev Immunol* 2012; 12(3): 215–225, <http://dx.doi.org/10.1038/nri3167>.
53. Raetz C.R., Reynolds C.M., Trent M.S. Lipid A modification systems in gram-negative bacteria. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 295–329, <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.biochem.76.010307.145803>.
54. Raetz C.R.H., Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu Rev Biochem* 2002; 71(1): 635–700, <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.biochem.71.110601.135414>.
55. Matsuura M., Takahashi H., Watanabe H., Saito S., Kawahara K. Immunomodulatory effects of *Yersinia pestis* lipopolysaccharides on human macrophages. *Clin Vaccine Immunol* 2010; 17(1): 49–55, <http://dx.doi.org/10.1128/CVI.00336-09>.
56. Matsuura M., Kawasaki K., Kawahara K., Mitsuyama M. Evasion of human innate immunity without antagonizing TLR4 by mutant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium having penta-acylated lipid A. *Innate Immun* 2012; 18(5): 764–773, <http://dx.doi.org/10.1177/1753425912440599>.
57. Lloyd S.R., Schoonbeek H.J., Trick M., Zipfel C., Ridout C.J. Methods to study PAMP-triggered immunity in Brassica species. *Mol Plant Microbe Interact* 2014; 27(3): 286–295, <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-05-13-0154-FI>.
58. Kawai T., Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity* 2011; 34(5): 637–650, <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2011.05.006>.
59. Guan X., Buchholz G., Nick P. The cytoskeleton is disrupted by the bacterial effector HrpZ, but not by the bacterial PAMP flg22, in tobacco BY-2 cells. *J Exp Bot* 2013; 64(7): 1805–16, <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/ert042>.
60. Auerbuch V., Golenbock D.T., Isberg R.R. Innate immune recognition of *Yersinia pseudotuberculosis* type III secretion. *PLoS Pathog* 2009; 5(12): e1000686, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1000686>.
61. Miyake K., Ogata H., Nagai Y., Akashi S., Kimoto M. Innate recognition of lipopolysaccharide by Toll-like receptor 4/MD-2 and RP105/MD-1. *J Endotoxin Res* 2000; 6(5): 389–391, <http://dx.doi.org/10.1179/096805100101532324>.
62. Miyake K. Innate recognition of lipopolysaccharide by Toll-like receptor 4-MD-2. *Trends Microbiol* 2004; 12(4): 186–192, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2004.02.009>.
63. Hajjar A.M., Ernst R.K., Fortuno E.S., Brasfield A.S., Yam C.S., Newlon L.A., Kollmann T.R., Miller S.I., Wilson C.B. Humanized TLR4/MD-2 mice reveal LPS recognition differentially impacts susceptibility to *Yersinia pestis* and *Salmonella enterica*. *PLoS Pathog* 2012; 8(10): e1002963, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002963>.
64. Takeuchi O., Kawai T., Mühlradt P.F., Morr M., Radolf J.D., Zychlinsky A., Takeda K., Akira S. Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int Immunol* 2001; 13(7): 933–940, <http://dx.doi.org/10.1093/intimm/13.7.933>.
65. Zhao Q., Liu X., Zhang D., Zhang L., Luo D. Hexa-acylated LPS-lipid A deploys the appropriate level of fibrin to confer protection through MyD88. *Int J Infect Dis* 2015; 33: 142–148, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2015.01.021>.
66. Park B.S., Song D.H., Kim H.M., Choi B.S., Lee H., Lee J.O. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature* 2009; 458(7242): 1191–1195, <http://dx.doi.org/10.1038/nature07830>.
67. Takeuchi O., Hoshino K., Akira S. Cutting edge: TLR2-deficient and MyD88-deficient mice are highly susceptible to *Staphylococcus aureus* infection. *J Immunol* 2000; 165(10): 5392–5396, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.165.10.5392>.
68. Maeshima N., Fernandez R.C. Recognition of lipid A variants by the TLR4-MD-2 receptor complex. *Front Cell Infect Microbiol* 2013; 3: 3, <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2013.00003>.
69. Tsuda K., Katagiri F. Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Curr Opin Plant Biol* 2010; 13(4): 459–465, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2010.04.006>.
70. Liu W., Liu J., Ning Y., Ding B., Wang X., Wang Z., Wang G.L. Recent progress in understanding PAMP- and effector-triggered immunity against the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Mol Plant* 2013; 6(3): 605–620, <http://dx.doi.org/10.1093/mp/ss015>.
71. Gouhier-Darimont C., Schmiesing A., Bonnet C., Lassueur S., Reymond P. Signaling of *Arabidopsis thaliana* response to *Pieris brassicae* eggs shares similarities with PAMP-triggered immunity. *J Exp Bot* 2013; 64(2): 665–674, <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/ers362>.
72. Ishikawa K., Yamaguchi K., Sakamoto K., Yoshimura S., Inoue K., Tsuge S., Kojima C., Kawasaki T. Bacterial effectors modulation of host E3 ligase activity suppresses PAMP-triggered immunity in rice. *Nat Commun* 2014; 5: 5430–5434, <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms6430>.
73. Lozano-Durán R., Bourdais G., He S.Y., Robatzek S. The bacterial effector HopM1 suppresses PAMP-triggered oxidative burst and stomatal immunity. *New Phytol* 2014; 202(1): 259–269, <http://dx.doi.org/10.1111/nph.12651>.
74. Kröner A., Hamelin G., Andrivon D., Val F. Quantitative resistance of potato to *Pectobacterium atrosepticum* and *Phytophthora infestans*: integrating PAMP-triggered response and pathogen growth. *PLoS One* 2011; 6(8): e23331, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0023331>.
75. Laporte J., Savin C., Lamourette P., Devilliers K., Volland H., Carniel E., Créminon C., Simon S. Fast and sensitive detection of enteropathogenic *Yersinia* by immunoassays. *J Clin Microbiol* 2015; 53(1): 146–159, <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02137-14>.
76. Philip N.H., Brodsky I.E. Cell death programs in *Yersinia* immunity and pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2: 149, <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2012.00149>.
77. Galindo C.L., Rosenzweig J.A., Kirtley M.L., Chopra A.K. Pathogenesis of *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* in human yersiniosis. *J Pathog* 2011; 2011: e182051, <http://dx.doi.org/10.4061/2011/182051>.
78. Auerbuch V., Golenbock D.T., Isberg R.R. Innate immune recognition of *Yersinia pseudotuberculosis* type III secretion. *PLoS Pathog* 2009; 5(12): e1000686, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1000686>.
79. Bergsbaken T., Cookson B.T. Macrophage activation redirects *Yersinia*-infected host cell death from apoptosis to caspase-1-dependent pyroptosis. *PLoS Pathog* 2007; 3(11): e161, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.0030161>.
80. Brodsky I.E., Palm N.W., Sadanand S., Ryndak M.B., Sutterwala F.S., Flavell R.A., Bliska J.B., Medzhitov R. A *Yersinia* effector protein promotes virulence by preventing inflammasome recognition of the type III secretion system. *Cell Host Microbe* 2010; 7(5): 376–387, <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2010.04.009>.
81. Cornelis G.R. The *Yersinia* Ysc–Yop ‘type III’ weaponry. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3(10): 742–752, <http://dx.doi.org/10.1038/nrm932>.



82. Kawahara K., Tsukano H., Watanabe H., Lindner B., Matsuura M. Modification of the structure and activity of lipid A in *Yersinia pestis* lipopolysaccharide by growth temperature. *Infect Immun* 2002; 70(8): 4092–4098, <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.70.8.4092-4098.2002>.
83. Brodsky I.E., Monack D. NLR-mediated control of inflammasome assembly in the host response against bacterial pathogens. *Semin Immunol* 2009; 21(4): 199–207, <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2009.05.007>.
84. Du Y., Rosqvist R., Forsberg A. Role of fraction 1 antigen of *Yersinia pestis* in inhibition of phagocytosis. *Infect Immun* 2002; 70(3): 1453–1460, <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.70.3.1453-1460.2002>.
85. Edelmann K.H., Richardson-Burns S., Alexopoulou L., Tyler K.L., Flavell R.A., Oldstone M.B. Does Toll-like receptor 3 play a biological role in virus infections? *Virology* 2004; 322(2): 231–238, <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2004.01.033>.
86. Sing A., Reithmeier-Rost D., Granfors K., Hill J., Roggenkamp A., Heesemann J. A hypervariable N-terminal region of *Yersinia* LcrV determines Toll-like receptor 2-mediated IL-10 induction and mouse virulence. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(44): 16049–16054, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0504728102>.
87. Du Y., Koh H., Park C.G., Dudziak D., Seo P., Mehandru S., Choi J.H., Cheong C., Park S., Perlin D.S., Powell B.S., Steinman R.M. Targeting of LcrV virulence protein from *Yersinia pestis* to dendritic cells protects mice against pneumonic plague. *Eur J Immunol* 2010; 40(10): 2791–2796, <http://dx.doi.org/10.1002/eji.201040511>.
88. Saitoh S., Akashi S., Yamada T., Tanimura N., Kobayashi M., Konno K., Matsumoto F., Fukase K., Kusumoto S., Nagai Y., Kusumoto Y., Kosugi A., Miyake K. Lipid A antagonist, lipid IVa, is distinct from lipid A in interaction with Toll-like receptor 4 (TLR4)-MD-2 and ligand-induced TLR4 oligomerization. *Int Immunol* 2004; 16(7): 961–969, <http://dx.doi.org/10.1093/intimm/dxh097>.
89. Jin M.S., Lee J.O. Structures of the Toll-like receptor family and its ligand complexes. *Immunity* 2008; 29(2): 182–191, <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2008.07.007>.
90. Hawn T.R., Verbon A., Lettinga K.D., Zhao L.P., Li S.S., Laws R.J., Skerrett S.J., Beutler B., Schroeder L., Nachman A., Ozinsky A., Smith K.D., Aderem A. A common dominant TLR5 stop codon polymorphism abolishes flagellin signaling and is associated with susceptibility to legionnaires' disease. *J Exp Med* 2003; 198(10): 1563–1572, <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20031220>.
91. Nagai Y., Akashi S., Nagafuku M., Ogata M., Iwakura Y., Akira S. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. *Nat Immunol* 2002; 3(7): 667–672, <http://dx.doi.org/10.1038/ni809>.
92. Hayashi F., Smith K.D., Ozinsky A., Hawn T.R., Yi E.C., Goodlett D.R., Eng J.K., Akira S., Underhill D.M., Aderem A. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 2001; 410(6832): 1099–1103, <http://dx.doi.org/10.1038/35074106>.
93. Hoshino K., Takeuchi O., Kawai T., Sanjo H., Ogawa T., Takeda Y., Takeda K., Akira S. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol* 1999; 162(7): 3749–3752.
94. Wright S.D., Ramos R.A., Tobias P.S., Ulevitch R.J., Mathison J.C. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide and LPS binding protein. *Science* 1990; 249(4975): 1431–1433, <http://dx.doi.org/10.1126/science.1698311>.
95. Sing A., Roggenkamp A., Geiger A.M., Heesemann J. *Yersinia enterocolitica* evasion of the host innate immune response by V antigen-induced IL-10 production of macrophages is abrogated in IL-10-deficient mice. *J Immunol* 2002; 168(3): 1315–1321, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.168.3.1315>.
96. Kusumoto S., Fukase K., Fukase Y., Kataoka M., Yoshizaki H., Sato K., Oikawa M., Suda Y. Structural basis for endotoxic and antagonistic activities: investigation with novel synthetic lipid A analogs. *J Endotoxin Res* 2003; 9(6): 361–366, <http://dx.doi.org/10.1177/09680519030090060901>.
97. Lembo A., Pelletier M., Iyer R., Timko M., Dudda J.C., West T.E., Wilson C.B., Hajjar A.M., Skerrett S.J. Administration of a synthetic TLR4 agonist protects mice from pneumonic tularemia. *J Immunol* 2008; 180(11): 7574–7581, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.180.11.7574>.
98. Dentovskaya S.V., Bakhteeva I.V., Titareva G.M., Shaikhutdinova R.Z., Anisimov A.P., Kondakova A.N., Bystrova O.V., Nirel Y.A., Lindner B. Structural diversity and endotoxic activity of the lipopolysaccharide of *Yersinia pestis*. *Biochemistry (Moscow)* 2008; 73(2): 192–199, <http://dx.doi.org/10.1134/s0006297908020119>.
99. Schromm A.B., Brandenburg K., Loppnow H., Moran A.P., Koch M.H., Rietschel E.T., Seydel U. Biological activities of lipopolysaccharides are determined by the shape of their lipid A portion. *Eur J Biochem* 2000; 267(7): 2008–2013, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01204.x>.
100. Schromm A.B., Lien E., Henneke P., Chow J.C., Yoshimura A., Heine H., Latz E., Monks B.G., Schwartz D.A., Miyake K., Golenbock D.T. Molecular genetic analysis of an endotoxin nonresponder mutant cell line: a point mutation in a conserved region of MD-2 abolishes endotoxin-induced signaling. *J Exp Med* 2001; 194(1): 79–88, <http://dx.doi.org/10.1084/jem.194.1.79>.
101. Bergsbaken T., Cookson B.T. Innate immune response during *Yersinia* infection: critical modulation of cell death mechanisms through phagocyte activation. *J Leukoc Biol* 2009; 86(5): 1153–1158, <http://dx.doi.org/10.1189/jlb.0309146>.
102. Rebeil R., Ernst R.K., Gowen B.B., Miller S.I., Hinnebusch B.J. Variation in lipid A structure in the pathogenic *Yersinia*. *Mol Microbiol* 2004; 52(5): 1363–1373, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04059.x>.
103. Pérez-Gutiérrez C., Llobet E., Llompert C.M., Reinés M., Bengoechea J.A. Role of lipid A acylation in *Yersinia enterocolitica* virulence. *Infect Immun* 2010; 78(6): 2768–2781, <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.01417-09>.
104. Perry R.D., Fetherston J.D. *Yersinia pestis* — etiologic agent of plague. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10(1): 35–66.
105. Chain P.S., Carniel E., Larimer F.W., Lamerdin J., Stoutland P.O., Regala W.M., Georgescu A.M., Vergez L.M., Land M.L., Motin V.L., Brubaker R.R., Fowler J., Hinnebusch J., Marceau M., Medigue C., Simonet M., Chenal-Francisque V., Souza B., Dacheux D., Elliott J.M., Derbise A., Hauser L.J., Garcia E. Insights into the evolution of *Yersinia pestis* through whole-genome comparison with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(38): 13826–13831, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0404012101>.
106. Montminy S.W., Khan N., McGrath S., Walkowicz M.J., Sharp F., Conlon J.E., Fukase K., Kusumoto S., Sweet C., Miyake K., Akira S., Cotter R.J., Goguen J.D., Lien E. Virulence factors of *Yersinia pestis* are

overcome by a strong lipopolysaccharide response. *Nat Immunol* 2006; 7(10): 1066–1073, <http://dx.doi.org/10.1038/ni1386>.

107. Kiljunen S., Datta N., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Knirel Y.A., Bengoechea J.A., Holst O., Skurnik M. Identification of the lipopolysaccharide core of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* as the receptor for bacteriophage  $\phi$ A1122. *J Bacteriol* 2011; 193(18): 4963–4972, <http://dx.doi.org/10.1128/JB.00339-11>.

108. Ke Y., Chen Z., Yang R. *Yersinia pestis*: mechanisms of entry into and resistance to the host cell. *Front Cell Infect Microbiol* 2013; 3: 106, <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2013.00106>.

109. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiyoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(24): 14043–14048, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.96.24.14043>.

110. Андрюков Б.Г., Тимченко Н.Ф. Апоптоз-модулирующие стратегии детерминант патогенности иерсиний. Здоровье. Медицинская экология. Наука 2015; 1(59): 29–41. Andryukov B.G., Timchenko N.F. Apoptosis-modulating strategy determinants of virulence of *Yersinia*. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka* 2015; 1(59): 29–41.

111. Cornelis G. *Yersinia* type III secretion: send in the effectors. *J Cell Biol* 2002; 158(3): 401–408, <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.200205077>.

112. Kopp E., Medzhitov R. A plague on host defense. *J Exp Med* 2002; 196(8): 1009–1012, <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20021311>.

113. Kolodziejek A.M., Schnider D.R., Rohde H.N., Wojtowicz A.J., Bohach G.A., Minnich S.A., Hovde C.J. Outer membrane protein X (Ail) contributes to *Yersinia pestis* virulence in pneumonic plague and its activity is dependent on the lipopolysaccharide core length. *Infect Immun* 2010; 78(12): 5233–5243, <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00783-10>.

114. Sun W., Six D.A., Reynolds C.M., Chung H.S., Raetz C.R., Curtiss R. 3rd. Pathogenicity of *Yersinia pestis* synthesis of 1-dephosphorylated lipid A. *Infect Immun* 2013; 81(4): 1172–1185, <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.01403-12>.

115. Knirel Y.A., Anisimov A.P. Lipopolysaccharide of *Yersinia pestis*, the cause of plague: structure, genetics, biological properties. *Acta Naturae* 2012; 4(3): 46–58.

116. Reinés M., Llobet E., Dahlström K.M., Pérez-Gutiérrez C., Llompарт C.M., Torrecabota N., Salminen T.A., Bengoechea J.A. Deciphering the acylation

pattern of *Yersinia enterocolitica* lipid A. *PLoS Pathog* 2012; 8(10): e1002978, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002978>.

117. Ohto U., Fukase K., Miyake K., Shimizu T. Structural basis of species-specific endotoxin sensing by innate immune receptor TLR4/MD-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(19): 7421–7426, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1201193109>.

118. Kumar H., Kawai T., Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 388(4): 621–625, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.08.062>.

119. Mikula K.M., Kolodziejczyk R., Goldman A. *Yersinia* infection tools-characterization of structure and function of adhesins. *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2: 169, <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2012.00169>.

120. Muszyński A., Rabsztyń K., Knapska K., Duda K.A., Duda-Grychtoł K., Kasperkiewicz K., Radziejewska-Lebrecht J., Holst O., Skurnik M. Enterobacterial common antigen and O-specific polysaccharide coexist in the lipopolysaccharide of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3. *Microbiology* 2013; 159(Pt 8): 1782–1793, <http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.066662-0>.

121. Zhang Y., Bliska J.B. Role of Toll-like receptor signaling in the apoptotic response of macrophages to *Yersinia* infection. *Infect Immun* 2003; 71(3): 1513–1519, <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.71.3.1513-1519.2003>.

122. Qureshi S.T., Larivière L., Leveque G., Clermont S., Moore K.J., Gros P., Malo D. Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr4). *J Exp Med* 1999; 189(4): 615–625, <http://dx.doi.org/10.1084/jem.189.4.615>.

123. Darveau R.P. Lipid A diversity and the innate host response to bacterial infection. *Curr Opin Microbiol* 1998; 1(1): 36–42, [http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5274\(98\)80140-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5274(98)80140-9).

124. Kuznetsova T.A., Somova L.M., Plekhova N.G., Drobot E.I. Pathogenetic role of *Yersinia pseudotuberculosis* endotoxin in hemostasis and microcirculation disturbances. *Bull Exp Biol Med* 2011; 150(5): 619–623, <http://dx.doi.org/10.1007/s10517-011-1205-3>.

125. Herbst K., Bujara M., Heroven A.K., Opitz W., Weichert M., Zimmermann A., Dersch P. Intrinsic thermal sensing controls proteolysis of *Yersinia* virulence regulator RovA. *PLoS Pathog* 2009; 5(5): e1000435, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1000435>.

126. McNally A., Thomson N.R., Reuter S., Wren B.W. 'Add, stir and reduce': *Yersinia* spp. as model bacteria for pathogen evolution. *Nat Rev Microbiol* 2016; 14(3): 177–190, <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro.2015.29>.