

АКТИВАТОР ПЛАЗМИНОГЕНА ЧУМНОГО МИКРОБА

В.В. Евсеева, М.Е. Платонов, П.Х. Копылов, С.В. Дентовская, А.П. Анисимов

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область, Россия

Резюме. Чума была причиной трех пандемий и привела к гибели миллионов людей. Чума — типичный зооноз, и ее возбудитель — *Yersinia pestis*, циркулирует в популяциях диких грызунов, обитающих в природных очагах чумы на всех материках, кроме Австралии. Передача чумы осуществляется укусами блох. Циркуляция *Y. pestis* в природных очагах чумы обеспечивается целым рядом факторов патогенности. В обзоре рассматривается один из них — активатор плазминогена Pla. Этот белок является одним из представителей омптинов — семейства протеаз наружных мембран патогенных энтеробактерий, обеспечивающих колонизацию отдельных органов и даже генерализацию инфекции в результате успешного противостояния врожденному иммунитету хозяина. Описаны история открытия, генетический контроль, условия биосинтеза, выделение, очистка и физико-химические свойства активатора плазминогена. Высокоочищенные препараты активатора плазминогена утрачивают свою ферментативную активность, а ренатурация в присутствии липоолигосахарида *Y. pestis* восстанавливает энзиматические свойства Pla. Этот фактор патогенности отсутствует у наиболее древней филогенетической группы чумного микроба, *bv. saucasica*, а предшественник остальных групп *Y. pestis* subsp. *microtus* получил в результате горизонтального переноса изоформу Pla, близкую по свойствам омптинам менее вирулентных энтеробактерий. Затем в ходе микроэволюции была отобрана «классическая» изоформа Pla с повышенной протеолитической активностью, характерная для всех высоковирулентных для человека штаммов *Y. pestis* subsp. *pestis*. «Классическая» изоформа Pla *Y. pestis* функционально подобна активаторам плазминогена млекопитающих, превращающих плазминоген в плазмин путем ограниченного протеолиза. Протеазу Pla, активирующую плазминоген, а также деградирующую основной ингибитор плазмина — α 2-антиплазмин и, соответственно, определяющую способность чумного микроба лизировать фибриновые сгустки, препятствующие его распространению после укуса инфицированными блохами или подкожного заражения, принято рассматривать в качестве основного фактора *Y. pestis*, обеспечивающего генерализацию инфекционного процесса. Pla-опосредованная способность *Y. pestis* избирательно связываться с внеклеточным матриксом и базальными мембранами может способствовать последующему гидролизу этих структур плазмином хозяина и преодолению патогеном тканевых барьеров. Активатор плазминогена *Y. pestis* также гидролизует С3 компонент комплемента, человеческий антимикробный пептид — кателицидин LL-37 и такие цитокины как фактор некроза опухолей α , интерферон γ , интерлейкин 8 и протеин 1 хемотаксиса моноцитов. Основной эндогенный ингибитор инициации свертывания крови TFPI, также высокочувствителен к протеолитическому действию Pla, причем эффективность инактивации TFPI гораздо выше, чем эффективность активации плазминогена. В обзоре обсуждается возможность использования Pla в качестве молекулярной мишени для профилактики и лечения чумы.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, активатор плазминогена, омптин, фактор патогенности, патогенез, чума.

Адрес для переписки:

Анисимов Андрей Павлович
142279, Россия, Московская область, п. Оболенск,
ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии.
Тел.: (4967) 36-01-17. Факс: (4967) 36-00-10.
E-mail: a-p-anisimov@yandex.ru

Contacts:

Andrey P. Anisimov
142279, Russian Federation, Moscow Region, Obolensk,
State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology.
Phone: (4967) 36-01-17. Fax: (4967) 36-00-10.
E-mail: a-p-anisimov@yandex.ru

Библиографическое описание:

Евсеева В.В., Платонов М.Е., Копылов П.Х., Дентовская С.В.,
Анисимов А.П. Активатор плазминогена чумного микроба //
Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 1. С. 27–36.
doi: 10.15789/2220-7619-2015-1-27-36

Citation:

Evseeva V.V., Platonov M.E., Kopylov P.Kh., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P.
Plasminogen activator of *Yersinia pestis* // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 27–36.
doi: 10.15789/2220-7619-2015-1-27-36

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант 14-15-00599).

PLASMINOGEN ACTIVATOR OF *YERSINIA PESTIS*

Evseeva V.V., Platonov M.E., Kopylov P.Kh., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P.

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Abstract. Plague has been the cause of three pandemics and has led to the death of millions of people. Plague is a typical zoonosis caused by *Yersinia pestis* that circulates in populations of wild rodents inhabiting natural plague foci on all continents except for Australia. Transmission of plague is provided by flea bites. Circulation of *Y. pestis* in natural plague foci is supported by a numerous of pathogenicity factors. This review explores one of them, plasminogen activator Pla. This protein is one of representatives of omptins, a family of enterobacterial outer membrane proteases that are responsible for colonization of specific organs or even infection generalization as a result of successful overcoming of the host innate immunity. The review reflects the history of its discovery and studying of its genetic control, biosynthesis, isolation and purification, physicochemical properties. Highly purified preparations of plasminogen activator are deficient in enzymatic activities but renaturation in the presence of *Y. pestis* lipooligosaccharide restores enzymatic properties of Pla. This pathogenicity factor is absent in representatives of the most ancient phylogenetic group of the plague pathogen, *Y. pestis* subsp. *caucasica*, while the ancestor of other groups of *Y. pestis* subsp. *microtus* obtained in result of horizontal transfer Pla isoform with characteristics similar to properties of omptins from the less virulent enterobacteria. After that in the course of microevolution the “classic” isoform of Pla with increased protease activity was selected that is typical of all highly virulent for humans strains of *Y. pestis* subsp. *pestis*. The “classic” isoform of Pla *Y. pestis* is functionally similar to mammalian plasminogen activators transforming plasminogen into plasmin with the help of limited proteolysis. Pla protease activating plasminogen and also degrading the main plasmin inhibitor — α 2-antiplasmin and, respectively, determining *Y. pestis* ability to lyse fibrin clots preventing bacteria dissemination after bites of infected fleas or subcutaneous challenge is believed to be the main *Y. pestis* factor responsible for generalization of infectious process. Pla-mediated ability of *Y. pestis* for selective binding with extracellular matrix and basal membranes may promote further hydrolysis of these structures by the host’s plasmin and overcoming tissue barriers by the pathogen. *Y. pestis* plasminogen activator also hydrolyses C3 complement component, human antimicrobial peptide — cathelicidin LL-37 and such cytokines as tumor necrosis factor α , interferon γ , interleukin 8 and protein 1 of monocyte chemotaxis. The main endogenous TFPI tissue factor pathway inhibitor also highly susceptible to proteolytic action of Pla, and efficiency of TFPI inactivation is much higher than efficacy of plasminogen activation. The review also debates the possibility of using Pla as a molecular target for prophylaxis and treatment of plague.

Key words: *Yersinia pestis*, plasminogen activator, omptin, pathogenicity factor, pathogenesis, plague.

История открытия, генетический контроль, условия биосинтеза, выделение, очистка и физико-химические свойства активатора плазминогена

В 1936 г. R.R. Madison [48] выявил у *Yersinia pestis* фибринолитическую активность, а в 1944 г. E. Jawetz и K.F. Meyer — способность коагулировать плазму крови [35]. Позднее И.В. Домарадский с соавт. [4, 5] показали, что два этих свойства взаимосвязаны у возбудителя чумы и отсутствуют у *Yersinia pseudotuberculosis*, а R.R. Vrubaker et al. [14, 15] установили, что оба эти признака возбудителя чумы сцеплены с его способностью к продукции пестицина — бактериоцина, активного в отношении *Y. pseudotuberculosis*. Оказалось, что все эти свойства кодируются видоспецифичной плазмидой pPst (pPla, pPCP1 или pYP) [7, 22], причем один продукт гена *pla* (312 аминокислотных остатков вместе с N-концевой сигнальной последовательностью) отвечает за фибринолитическую и плазмокоагулазную активности [62]. Коагулазная активность проявляется при температуре ниже 25°C, а фибри-

нолитическая — выше 30°C [62], что связано с температурозависимым изменением конформации белка Pla [51].

Pla относительно термостабилен — при кипячении клеточного дробиса в течение 15 мин фибринолитическая и плазмокоагулазные активности снижались только на 50% [10]. Для выделения и очистки Pla «дикого» типа ранее использовали гель-фильтрацию экстрактов клеточных мембран с использованием Sephadex G-200. В процессе выделения препараты сохраняли фибринолитическую, но утрачивали коагулазную активности [10]. Позже было установлено, что продукт гена *pla*, ренатурированный в присутствии липополисахарида (ЛПС) *Y. pestis*, сохраняет все изученные свойства молекулы «дикого» типа [47, 49, 59].

По данным R.R. Madison [48], наибольшую фибринолитическую активность клетки *Y. pestis* проявляли в отношении фибрина крысы. Литическая активность в отношении фибрина человека и морской свинки была примерно в шесть раз меньше. Еще большей устойчивостью к лизису обладал фибрин суслика, кошки, кролика, коровы и обезьяны. Не было отмечено лизиса фибринов лошади, барана и свиньи.

Проведенные под руководством И.В. Дома-радского [5] исследования фибринов различных видов животных показали, что *Y. pestis* лизирует их с одинаковой эффективностью, а отличия в чувствительности разных фибринов к фибринолитической активности бактерии определяются видовыми колебаниями концентрации ингибиторов плазмина — фибринолитического фермента крови. Кроме того, было установлено, что «фибринолизин» *Y. pestis* на самом деле является активатором плазминогена — Pla (plasminogen activator) [5]. Позднее было установлено, что и коагулазная активность Pla связана с его способностью гидролизовать в определенных участках основной эндогенный ингибитор инициации системы свертывания крови — ингибитор каскадной системы тканевого фактора (tissue factor pathway inhibitor — TFPI), а также фактор FVII, тем самым ингибируя первый и активируя второй [74].

Pla — протеаза *Y. pestis*, состоящая из 292 аминокислотных остатков (без N-концевой сигнальной последовательности) и связанная с внешней мембраной бактерии [64]. Так как этот белок обладает высокой гомологией с четырьмя другими поверхностными протеазами энтеробактерий: PgtE — *Salmonella enterica* [26], OmpT — *Escherichia coli* [25], OmpP — *E. coli* [36] и SopA — *Shigella flexneri* [19], то все они объединены в одно семейство омптиновых (omptin — outer-membrane protein — белок внешней мембраны) сериновых протеаз [29, 50].

При удалении сигнального пептида из Pla образуется α -Pla — 37-kDa зрелый белок, который в результате дальнейшего протеолиза превращается в ассоциированные с внешней мембраной формы β -Pla (35 kDa) и γ -Pla (31 kDa) [41, 63]. В публикации В.В. Кутырева с соавт. [41] приводятся данные о существовании варианта σ -Pla (23 kDa), однако в работах других исследователей подобные сведения отсутствуют. Так, β -Pla образуется в результате аутопроцессинга C-концевой поверхностной петли молекулы Pla по аминокислотному остатку K262 [40]. Формы α и β не отличаются по своей способности активировать плазминоген [40]. Принято считать [40], что γ -Pla — альтернативная форма фолдинга α -Pla. Действительно кипячение образцов в присутствии SDS вело к исчезновению γ -Pla [59].

Pla⁺ бактерии индуцируют образование активного плазмина в присутствии основного ингибитора человеческого плазмина, α 2-антиплазмина, причем происходит протеолиз α 2-антиплазмина. Напротив, OmpT⁺ бактерии не способны расщеплять α 2-антиплазмин и обладают очень слабой способностью активировать плазминоген. Четвертичная структура Pla и OmpT представляет собой десять трансмембранных β -спиралей и пять расположен-

ных на клеточной поверхности петель — L1-L5. Анализ гибридных Pla-OmpT белков, сконструированных путем обмена поверхностными петлями между Pla и OmpT, показал, что за субстратную специфичность Pla в отношении α 2-антиплазмина отвечают L3 и L4 петли. Замена 25 поверхностно расположенных аминокислотных остатков позволила установить, что остатки H101, H208, D84, D86, D206 и S99 необходимы для протеолитической активности Pla. Расщепление α 2-антиплазмина и активация плазминогена зависят от остатка R211 в петле L4 и неустановленных остатков в петле L3. Превращения белка OmpT в протеазу, подобную по энзиматической активности Pla, добивались удалением остатков D214 и P215, заменой остатка K217 на R217 в L4 петле OmpT и заменой всей петли L3 на аналогичную из Pla [40].

До последнего времени большинство исследований проводили на Pla из штаммов основного подвида (subsp. *pestis*) *Y. pestis*, представители трех биоваров которого (*antiqua*, *medievalis* и *orientalis*) характеризуются «универсальной» вирулентностью и были причиной трех пандемий чумы. Во второй — более древний подвид *microtus* — входят высоковирулентные для своих основных хозяев и лабораторных мышей, но, как правило, авирулентные для морских свинок штаммы, циркулирующие в популяциях различных видов полевок (*Microtus* spp.) и не вызывающие эпидемических вспышек у людей [57]. J. Naiko et al. [28, 29] показали, что у представителей биоваров *angola* и *xilingolensis* подвида *microtus* в позиции 259 Pla (петля L5) содержится изолейцин (I), а не треонин (T). Это отличие изоформ Pla по одной аминокислоте сопровождается появлением у эволюционно более молодой формы (T259) фибринолитической активности и способности активировать плазминоген, а также снижением способности инактивировать α 2-антиплазмин.

Проведенный нами анализ структурного гена *pla* из 100 штаммов подвида *microtus* подтвердил данные о существовании двух изоформ активатора плазминогена Pla и предположение наших финских коллег [29] о более древнем происхождении I259 изоформы Pla. Оказалось, что у всех доступных нам для исследования представителей subsp. *microtus*, относящихся к SNP типам кластера 0.PE [57], данный ген либо отсутствовал (*bv. caucasica* [0.PE2]), либо был представлен древней изоформой (*bvv. altaica* (0.PE1), *qinghaiensis* (0.PE4ab), *xilingolensis* (0.PE4cd), *talassica* (0.PE4?), *hissarica* (0.PE9) и *ulegeica* [0.PE8]). Эти данные являются весомым доводом в пользу решающего значения замены изолейцина на треонин в позиции 259 для перехода чумного микроба от «избирательной» к «универсальной» вирулентности, но существование

филогенетической группы 0.РЕ7, относящейся к вирулентному для человека и морской свинки подвиду *pestis* [54], значительно ослабляет эту аргументацию. В настоящее время известно два штамма группы 0.РЕ7, но данные о наличии у них генов *pla* нам недоступны.

Показано, что для проявления способности *Pla* активировать плазминоген, необходимо взаимодействие с R-формой ЛПС [39, 58], образуемой клетками *Y. pestis* [38], а O-боковые полисахаридные цепи, характерные для S-формы ЛПС, синтезируемой *Yersinia pseudotuberculosis* и *Salmonella enterica*, ингибируют активаторную способность [39, 58]. В нашей лаборатории было установлено, что последовательное укорочение коровой части ЛПС *Y. pestis* также ведет к снижению, а затем, начиная с вариантов корового олигосахарида, содержащих четыре и менее остатка моносахаридов, к исчезновению фибринолитической и плазмокоагулазной активностей *Pla*. У мутантов со сниженной степенью ацилирования липида А (четыре-пять жирнокислотных остатка вместо шести, характерных для культур, выращенных при 25°C) обе активности сохранялись на уровне штаммов дикого типа [3], также образующих тетраацильные формы ЛПС [38]. Позднее наши данные о влиянии структуры ЛПС на коагулазную активность были подтверждены Т.Н. Yun et al. [74].

У целого ряда прокариотических и эукариотических белков, связывающихся с ЛПС, выявлены консервативные трехмерные структуры, образованные с участием двух положительно заряженных остатков аргинина, взаимодействующих с отрицательно заряженными фосфатными группами липида А [23]. В молекуле *Pla* эти аргинины расположены в позициях 138 и 171. Замена R171E значительно снижала энзиматическую активность препарата *Pla*, ренатурация которого проводилась в присутствии ЛПС. В то же время замена R138E или двойная замена R138E + R171E приводила к полной утрате способности активировать плазминоген [59]. Варианты *Pla* с заменами R138E или R171E образовывали значительно меньшее количество β -*Pla* по сравнению с молекулами «дикого» типа. Двойной мутант R138E + R171E не был способен образовывать β - и γ -*Pla*, что свидетельствует о необходимости связывания с ЛПС для аутопроцессинга и корректного фолдинга *Pla* [59].

В ранних экспериментах зависимости транскрипции и трансляции гена *pla* от температуры не было выявлено, хотя способность активировать плазминоген была выше при 37°C по сравнению с более низкими температурами [51]. Синтез *Pla* продолжался даже при условии культивирования *Y. pestis* при 37°C на Ca^{2+} -дефицитных средах — в условиях, при которых ингибируется синтез большинства других «классических» ан-

тигенов возбудителя чумы [53]. Позднее использование технологии «микроэррея» (микрочипов) позволило установить, что транскрипция гена *pla* зависела от температуры выращивания бактерий. При переносе *Y. pestis* с 37°C → 26°C она возрастала в 1,3 раза, а при переносе с 45°C → 37°C или 10°C → 37°C снижалась в 3,5 и 12 раз соответственно [30, 31].

По данным Е. Ruback et al. [59], сравнивших способность бактериальных клеток *Y. pestis*, выращенных при температурах 37°C или 20°C, активировать плазминоген, более высокая энзиматическая активность «37°C»-бактерий сопровождалась как увеличением в 1,6 раза содержания *Pla* в препаратах внешних мембран, так и незначительным возрастанием удельной активности «37°C»-*Pla*. По данным иммуноблоттинга β -форму *Pla* выявляли только при температуре 37°C. Высказано предположение, что именно температурозависимое изменение структуры липида А определяет особенности фолдинга и, соответственно, энзиматическую активность *Pla*.

Иммуногенная активность активатора плазминогена

При иммунизации очищенными препаратами *Pla* титры антител в иммуноферментном анализе (ИФА) достигают у кроликов — 1 : 256 000, у мышей — 1 : 64 000 [49].

Активатор плазминогена, по данным В.И. Вейнבלата с соавт. [2], обладал способностью индуцировать противочумный иммунитет у белых мышей. Следует отметить, что доза препаратов фибринолизина, предохраняющая от гибели 50% экспериментальных животных, составляла более 80 мкг [2]. По данным других исследователей *Pla* не обладал протективной активностью [11], хотя и стимулировал антителогенез [18].

Моноклональные антитела, полученные к *Pla*, обладали высокой специфичностью, ингибировали фибринолитическую и коагулазную активности и позволяли выявлять как штаммы *Y. pestis* «дикого» типа, так и варианты, лишенные капсульного антигена F1, причем температура выращивания бактерий не влияла на эффективность выявления *Pla* моноклональными антителами. В ИФА антитела выявляли 10^3 – 10^5 КОЕ/мл [21, 49].

Роль активатора плазминогена в патогенезе

Основным препятствием для распространения микроорганизмов (генерализации инфекции) в организме хозяина являются тканевые барьеры, сформированные из внеклеточного матрикса и базальных мембран. В состав вне-

клеточного матрикса и базальных мембран входят коллагены, ламинины, фибронектины, протеогликаны и эластин, взаимодействующие друг с другом и другими компонентами клеток и тканей макроорганизма [33]. Однако лишь незначительная часть патогенных микроорганизмов (*Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Porphyromonas gingivalis*, *Clostridium perfringens* и др.) способна продуцировать протеазы (в первую очередь коллагеназы), способные гидролизовать внеклеточный матрикс [32, 69].

Другие бактериальные патогены (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *E. coli K1*, *Y. pestis* и др.) продуцируют незначительное количество протеаз, не обладающих коллагеназной активностью, но, тем не менее, способны вызывать генерализованный инфекционный процесс [42]. Некоторые из них — внутриклеточные паразиты и распространяются по организму хозяина внутри эукариотических клеток. Другие взаимодействуют с зависимыми от протеаз каскадными системами хозяина, включающими коагуляцию, фибринолиз, активацию комплемента, фагоцитоз и калликреин-кининовый каскад [16, 34, 69]. В норме тонкая регуляция этих систем осуществляется активаторами и ингибиторами протеиназ хозяина. В случае инфекционного процесса патогенные микроорганизмы могут непосредственно активировать/инактивировать каскадные системы хозяина с помощью собственных протеаз или других поверхностных компонентов бактерий или опосредовано, индуцируя выброс эффекторных молекул из эпителиальных и эндотелиальных клеток или фагоцитов хозяина, что способствует генерализации инфекции. Высокая концентрация в плазме предшественника плазмина — плазминогена — и широкий спектр протеолитической активности плазмина — прекрасная возможность для патогенных бактерий использовать эту протеолитическую систему хозяина в собственных интересах. Плазмин — ключевой фермент фибринолиза, гидролизует различные компоненты внеклеточного матрикса, вовлечен в активацию некоторых предшественников гормонов и факторов роста, а также принимает участие в метастазировании опухолей [46, 60, 67]. Возможно несколько вариантов взаимодействия бактерий с системой плазмина. Они могут продуцировать активаторы и/или рецепторы плазминогена, влияющие на образование как активаторов плазминогена хозяина и их ингибиторов, так и на эукариотические ингибиторы плазмина.

Белок *Pla* *Y. pestis* функционально подобен активаторам плазминогена млекопитающих, превращающих плазминоген в плазмин путем ограниченного протеолиза [42]. Протеазу *Pla*, активирующую плазминоген, а также дегради-

рующую основной ингибитор плазмина — α 2-антиплазмин [40] и, соответственно, определяющую способность чумного микроба лизировать фибриновые сгустки, препятствующие его распространению после укуса инфицированными блохами или подкожного заражения, принято рассматривать в качестве основного фактора *Y. pestis*, обеспечивающего генерализацию инфекционного процесса [10, 12, 56, 62, 72]. При патологоанатомических исследованиях в органах погибших от бубонной чумы животных и людей отмечают полное или почти полное отсутствие фибрина [6]. Это и позволило сделать предположение о том, что активатор плазминогена «не только участвует в локальном фибринолизе в очагах воспаления, но играет также роль “фактора распространения”» [5].

Передача гена *pla* в клетки *E. coli* придавала последним адгезивную активность в отношении ряда эукариотических клеток [37] за счет способности *Pla* связываться с экстрацеллюлярным матриксом [43, 44] — гликолипидами и мышинным коллагеном IV типа [37], а также с ламинином и с протеогликаном. Высказано предположение о том, что *Pla*-опосредованная способность *Y. pestis* избирательно связываться с внеклеточным матриксом и базальными мембранами способствует последующему гидролизу этих структур плазмином хозяина и преодолению патогеном тканевых барьеров [42]. Показано, что индуцированное активатором плазминогена образование плазмина ведет к деградации образуемого эпителием легких внеклеточного матрикса, а также ламинина *in vitro*. Сам же активатор плазминогена не способен гидролизовать эти структуры [43].

С другой стороны, адгезия к поверхностям в местах, мало доступных нейтрофилам хозяина, может быть направлена на уклонение от контакта с фагоцитарными клетками [1, 13].

Активатор плазминогена *Y. pestis* также гидролизует С3 компонент комплемента [62], человеческий антимикробный пептид — кателицидин LL-37 [24] и такие цитокины, как $\text{TNF}\alpha$, $\text{IFN}\gamma$, IL-8 и протеин 1 хемотаксиса моноцитов [1]. Основной эндогенный ингибитор инициации свертывания крови ТФPI, также высокочувствителен к протеолитическому действию *Pla*, причем эффективность инактивации ТФPI гораздо выше, чем эффективность активации плазминогена. Из других факторов свертывания крови (протромбин, FV, FVII и FX) к протеолитическому действию *Pla* чувствителен фактор FVII [74].

Установлено, что *Pla* обеспечивает посттрансляционную деградацию γ ор белков [65]. Эта функция активатора плазминогена, по мнению В.В. Кутырева с соавт. [41], может быть ответственной за способность *Y. pestis* вызывать острое заболевание путем очищения некротических по-

вреждений тканей макроорганизма от Yop белков, попавших не в эукариотические клетки, а в межклеточное пространство, где они могут быть распознаны как инородные белки. В пользу этой гипотезы свидетельствуют данные о том, что патоморфологические изменения в органах мышей, инфицированных филогенетически родственному чумному микробу возбудителем псевдотуберкулеза, не продуцирующим протеазу Pla, проявлялись в виде абсцессов, окруженных профессиональными фагоцитами. Бактерии *Y. pestis* напротив вызывали образование некротических узелков, полностью лишенных признаков воспаления [27, 55, 70].

Высказано предположение о том, что именно приобретение плазмиды pPst, кодирующей продукцию Pla, стало основным этапом эволюционирования *Y. pseudotuberculosis* в *Y. pestis* [62]. О.А. Sodeinde et al. также отмечали незначительные признаки воспаления в месте введения штамма *Y. pestis* KIM-10 «дикого» типа по сравнению с выраженной инфильтрацией нейтрофилами в ответ на инфицирование его изогенным Δpla мутантом и высказали предположение о том, что гидролиз активатором плазминогена С3 и/или других компонентов системы комплемента может вести к уменьшению продукции хемоаттрактанта С5а и, соответственно, снижению миграции нейтрофилов в очаг воспаления. Однако следует отметить, что передача производных плазмиды pPst с интактным геном *pla* в клетки *Y. pseudotuberculosis* приводила к 6,4-31,3-кратному снижению вирулентности [41], а штамм *Y. pestis* CO92 «дикого» типа и его pPst⁻ вариант вызывали одинаково выраженную воспалительную реакцию [72]. Позднее было установлено, что S-форма ЛПС, свойственная *Y. pseudotuberculosis* в отличие от возбудителя чумы, утратившего способность синтезировать O-полисахаридные цепи [38, 66], ингибирует способность Pla *Y. pestis* активировать плазминоген и деградировать основной ингибитор плазмينا — α2-антиплазмин [40, 58]. Однако передача плазмиды pPst с интактным геном *pla* даже в клетки мутанта *Y. pseudotuberculosis*, образующего R-форму ЛПС, свойственную *Y. pestis*, не повышала вирулентность последнего при подкожном заражении мышей [58].

Как уже было отмечено выше, Pla обладает коагулазной активностью [5, 10, 62]. Эта активность слабо выражена в отношении плазмы крови человека, но легко выявляется при использовании плазмы кролика [5, 10, 51]. Плазмокоагулирующая способность может являться фактором, который в какой-то мере экранирует клеточную стенку бактерии за счет образования вокруг микробной клетки фибринового сгустка [4, 5, 20], препятствующего распознаванию ЛПС чумного микроба рецепторами TLR4 [1, 52]. Показано, что септическая форма чумы у людей

и крыс [62] сопровождается обильным отложением фибрина в регионарных лимфатических узлах. Кроме того, Tang et al. [68] на модели септической чумы у бабуинов установили, что в легких инфицированных животных понижалась активность ТФР1 и повышалась свертываемость крови, по сравнению с контрольными животными. Высказано предположение [74] о том, что протеолиз ТФР1 опптимизацией может быть основной причиной нарушения гомеостаза, ведущего при септической форме чумы к синдрому диффузной внутрисосудистой коагуляции и другим, связанным с сепсисом, коагулопатиям. Именно характерный для септического шока синдром диффузной внутрисосудистой коагуляции — основная причина обильного появления на коже и слизистых множественных кровоизлияний (от точечных до сливающихся) [6, 74], послуживших причиной возникновения такого названия чумы как «черная смерть».

Долгое время считали, что возбудитель чумы неинвазивен для эпителиальных клеток, но С. Swan et al. [17] показали, что наличие в клетках *Y. pestis* плазмиды pPst, детерминирующей образование Pla, обеспечивает бактериям высокую инвазивность в отношении клеток HeLa. К. Lähteenmäki et al. [44] показали, что передача в клетки *E. coli* XL1 гена *pla* придавала бактериям способность к инвазии человеческих эндотелиальных клеток ECV304. Инвазивная активность Pla не изменялась при заменах аминокислотных остатков S99 и D206, необходимых для проявления протеолитической активности. По мнению авторов публикации [17], именно эта способность при попадании в организм теплокровного хозяина респираторным или алиментарным путем дает возможность *Y. pestis* проникать в клетки слизистых оболочек пищеварительного тракта и дыхательных путей, размножаться в них и затем вызывать генерализованную инфекцию. Косвенно в пользу этого предположения свидетельствует факт снижения вирулентности pPst⁻ вариантов возбудителя чумы по сравнению с исходными штаммами при алиментарном заражении белых мышей [1] или респираторном инфицировании морских свинок [61].

Высказано предположение о том, что *Y. pestis* используют антиген-презентирующие клетки (макрофаги и дендритные клетки) для доставки в лимфатические узлы, что ведет к дальнейшей диссеминации бактерий. Оба вида этих эукариотических клеток несут на своей поверхности лектиновые рецепторы С-типа, DEC-205 (CD205), отвечающие за поглощение и презентацию антигена. Недавно было установлено, что основным лигандом для этих рецепторов в клетках чумного микроба является Pla. Предотвращение взаимодействия Pla + DEC-205 с помощью анти-DEC-205 антител снижало степень обсемененности

органов мышей при экспериментальном заражении клетками *Y. pestis* дикого типа, что, по мнению авторов исследования [75], свидетельствует о ведущей роли взаимодействия Pla + DEC-205 в генерализации чумной инфекции.

Посттрансляционная деградация Yop белков активатором плазминогена [63, 64] может отвлекать иммунный ответ хозяина на «ложную» цель. «Отщепленные» от бактерии фрагменты Yop белков способны связать большую часть антител, предотвращая их взаимодействие непосредственно с клетками *Y. pestis* и, соответственно, опсонизацию бактерий [1].

Чумной микроб обладает гемолитическими свойствами и лизирует эритроциты некоторых видов животных (лошади, кролика и морской свинки) [8]. Гемолитическая активность обеспечивает бактериям *Y. pestis* дополнительный источник железа в виде гемоглобина из разрушенных эритроцитов. Она проявляется при температуре 37°C и выше, но не при 28°C и определяется продуктом гена *pla* плазмиды pPst [1].

Показано, что Pla был необходим штамму *Y. pestis* CO92, выращенному при 26°C, для эффективного аэрогенного заражения мышей линии C57BL/6, но при легочной форме чумы (в отличие от бубонной) его экспрессия не была принципиальна для генерализации инфекции. Экспрессия Pla позволяла *Y. pestis* быстро размножаться в дыхательных путях, вызывая молниеносную пневмонию; отсутствие экспрессии предотвращало воспалительный процесс и активировало репарацию легких, продлевая сроки жизни зараженных животных [45]. Эти данные согласуются с результатами наших более ранних экспериментов [17] по ингаляционному заражению морских свинок Pla⁺ и Pla⁻ вариантами штамма 358, выращенными при температуре 28°C или 37°C. Pla⁺ фенотип обеспечивал преимущество клеткам *Y. pestis*, выращенным при температуре 28°C. Выявленную закономерность можно объяснить тем фактом, что Pla способен эффективно гидролизовать катионные антимикробные пептиды легочного содержания только в случае, если его молекулы не экранированы капсулой F1 [24], образуемой клетками *Y. pestis* при температуре 37°C [12, 56].

Данные о вкладе Pla в вирулентность чумного микроба противоречивы. В ряде публикаций было отмечено, что штаммы *Y. pestis*, дефектные по этому признаку, снижали свою вирулентность при

подкожном заражении лабораторных животных до уровня, характерного для *Y. pseudotuberculosis* (LD₅₀ > 10⁶ КОЕ) [14, 15, 62, 71].

С другой стороны, одни из наиболее филогенетически древних представителей вида *Y. pestis* — лишённые плазмиды pPst полевоочьи изоляты bv. *caucasica* — и целый ряд лабораторных Pla⁻ штаммов по вирулентности для белых мышей не отличаются от штаммов *Y. pestis* основного подвида (LD₅₀ ≤ 50 КОЕ) [1, 9, 72, 73].

Заключение

Один из основных факторов патогенности чумного микроба, активатор плазминогена, входит в семейство белков омпинов. Эти протеазы внешней мембраны распространены у граммотрицательных патогенов растений и животных, а их функциональная активность зависит от особенностей образа жизни продуцирующих их бактерий. Анализ распространенности и полиморфизма гена *pla* свидетельствует о том, что адаптация *Y. pestis* к циркуляции в различных типах природных очагов чумы продолжается и после момента видообразования. Представители наиболее древней филогенетической группы, bv. *caucasica*, лишены как этого фактора патогенности, так и кодирующей его плазмиды. У штаммов более «молодых» биоваров подвида *microtus* появляется плазида pPst, кодирующая изоформу I259, обладающую низкой фибринолитической активностью и способностью активировать плазминоген. На этапе перехода из популяций различных видов полевок к циркуляции в популяциях сурков, сусликов и песчанок произошла адаптация к новым типам паразитоценозов, сопровождавшаяся заменой в позиции 259 аминокислотной последовательности Pla изолейцина на треонин. Эта замена привела к усилению специфической ферментативной активности Pla, способствующей быстрой генерализации инфекции.

Тот факт, что эпидемические вспышки (эпидемии, пандемии) у людей вызывали лишь штаммы *Y. pestis* с изоформой Pla T259, делает активатор плазминогена привлекательной молекулярной мишенью для экстренной профилактики и терапии чумы. Однако существование высоко-вирулентных Pla⁻ штаммов свидетельствует о недопустимости монотерапии и необходимости использовать лекарственные препараты, направленные на две-три молекулярные мишени.

Список литературы/References

1. Анисимов А.П. Факторы *Yersinia pestis*, обеспечивающие циркуляцию и сохранение возбудителя чумы в экосистемах природных очагов. Сообщение 1 // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2002. № 3. С. 3–23. [Anisimov A.P. *Yersinia pestis* factors ensuring circulation and persistence of the plague pathogen in ecosystems of natural foci. Communication 1. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2002, no. 4, pp. 1–30. (In Russ.)]

2. Вейнблат В.И., Палагин А.Ю., Веренков М.С., Лопаткин О.Н., Кронгауз И.В., Дальвадянц С.М., Сероглазов В.М., Лалазарова И.Г., Грамотина Л.И., Донская Т.Н., Пашин А.Ю., Коровкин С.А. Иммунобиологические свойства препаратов фибринолизина чумных микробов // Биотехнология, иммунология и биохимия особо опасных инфекций. Саратов, 1989. С. 14–19. [Veynblat V.I., Palagin A.Yu., Verenkov M.S., Lopatkin O.N., Krongauz I.V., Dal'vadyants S.M., Seroglazov V.M., Lalazarova I.G., Gramotina L.I., Donskaya T.N., Pashin A.Yu., Korovkin S.A. *Immunobiologicheskie svoystva preparatov fibrinolizina chumnykh mikrobov* [Immunobiological properties of fibrinolysin preparations from *Yersinia pestis*]. *Saratov, 1989, pp. 14–19.*]
3. Дентовская С.В., Платонов М.Е., Бахтеева И.В., Анисимов А.П. Наличие полной структуры кора липополисахарида необходимо для активации плазминогена возбудителем чумы // Проблемы особо опасных инфекций. 2007. № 93. С. 49–51. [Dentovskaya S.V., Platonov M.E., Bakhteeva I.V., Anisimov A.P. Presence of the full lipopolysaccharide core structure is necessary for activation of plasminogen by *Yersinia pestis*. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2007, no. 93, pp. 49–51. (In Russ.)*]
4. Домарадский И.В. Очерки патогенеза чумы. М.: Медицина, 1966. 272 с. [Domaradskiy I.V. *Ocherki patogeneza chumy* [Outlines of plague pathogenesis]. *Moscow: Meditsina Press, 1966. 272 p.*]
5. Домарадский И.В. Чума. М.: Медицина, 1998. 176 с. [Domaradskiy I.V. *Chuma* [Plague]. *Moscow: Meditsina Press, 1998, 176 p.*]
6. Лобанов В.Н. Патологическая анатомия и патогенез чумы у человека. М.: Государственное издательство медицинской литературы, 1956. 175 с. [Lobanov V.N. *Patologicheskaya anatomiya i patogenez chumy u cheloveka* [Pathological anatomy and pathogenesis of human plague]. *Moscow: State publishing house of medical literature, 1956, 175 p.*]
7. Проценко О.А., Анисимов П.И., Можаров О.Т., Коннов Н.П., Попов Ю.А., Кокушкин А.М. Выявление и характеристика плазмид чумного микроба, детерминирующих синтез пестицина I, антигена фракция I и экзотоксина «мышинного» токсина // Генетика. 1983. № 19. С. 1081–1090. [Protsenko O.A., Anisimov P.I., Mozharov O.T., Konnov N.P., Popov Yu.A., Kokushkin A.M. Detection and characterization of the plasmids of the plague microbe which determine the synthesis of pesti-cin I, fraction I antigen and “mouse” toxin exotoxin. *Genetika = Genetics, 1983, no. 19, pp. 1081–1090. (In Russ.)*]
8. Руководство по профилактике чумы / Под ред. Н.И. Николаева. — Саратов, 1972. 200 с. [Rukovodstvo po profilaktike chumy [Manual for plague prophylaxis / Ed. Nikolaev N.I.]. *Saratov, 1972, 200 p.*]
9. Anisimov A.P., Lindler L.E., Pier G.B. Intraspecific diversity of *Yersinia pestis*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2004, no. 17, pp. 434–464.
10. Beesley E.D., Brubaker R.R., Janssen W.A., Surgalla M.J. Pesticins. III. Expression of coagulase and mechanism of fibrinolysis. *J. Bacteriol.*, 1967, vol. 94, pp. 19–26.
11. Benner G.E., Andrews G.P., Byrne W.R., Strachan S.D., Sample A.K., Heath D.G., Friedlander A.M. Immune response to *Yersinia* outer proteins and other *Yersinia pestis* antigens after experimental plague infection in mice. *Infect. Immun.*, 1999, vol. 67, pp. 1922–1928.
12. Brubaker R.R. Factors promoting acute and chronic disease caused by *Yersinia*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1991, vol. 4, pp. 309–324.
13. Brubaker R.R. For pseudomonas aeruginosa, stealth is no longer enough. *Nat. Med.*, 1999, vol. 5, pp. 378–379.
14. Brubaker R., Beesley E.D., Surgalla M.J. Pasteurella pestis: role of pesti-cin I and iron in experimental plague. *Science*, 1965, vol. 149, pp. 422–424.
15. Brubaker R.R., Surgalla M.J., Beesley E.D. Pesticinogeny and bacterial virulence. *Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I. Orig.*, 1965, vol. 196, pp. 302–312.
16. Colman R.W. The contact system: a proinflammatory pathway with antithrombotic activity. *Nature Med.*, 1998, vol. 4, pp. 277–278.
17. Cowan C., Jones H.A., Kaya Y.H., Perry R.D., Straley S.C. Invasion of epithelial cells by *Yersinia pestis*: evidence for a Y. pestis-specific invasion. *Infect. Immun.*, 2000, vol. 68, pp. 4523–4530.
18. Easterbrook T.J., Reddin K., Robinson A., Modi N. Studies on the immunogenicity of the Pla protein from *Yersinia pestis*. *Contrib. Microbiol. Immunol.*, 1995, vol. 13, pp. 214–215.
19. Egile C., D'Hauteville H., Parsot C., Sansonetti P.J. SopA, the outer membrane protease responsible for polar localization of IcsA in *Shigella flexneri*. *Mol. Microbiol.*, 1997, vol. 23, pp. 1063–1073.
20. Eisler D.M. Coagulation of human plasma by *Pasteurella pestis*. *J. Bacteriol.*, 1961, vol. 81, pp. 241–245.
21. Feodorova V.A., Devdariani Z.L. Development, characterisation and diagnostic application of monoclonal antibodies against *Yersinia pestis* fibrinolysin and coagulase. *J. Med. Microbiol.*, 2000, no. 49, pp. 261–269.
22. Ferber D.M., Brubaker R.R. Plasmids in *Yersinia pestis*. *Infect. Immun.*, 1981, vol. 31, pp. 839–841.
23. Ferguson A.D., Welte W., Hofmann E., Lindner B., Holst O., Coulton J.W., Diederichs K. A conserved structural motif for lipopolysaccharide recognition by procaryotic and eucaryotic proteins. *Structure*, 2000, vol. 8, pp. 585–592.
24. Galván E.M., Lasaro M.A., Schifferli D.M. Capsular antigen fraction I and Pla modulate the susceptibility of *Yersinia pestis* to pulmonary antimicrobial peptides such as cathelicidin. *Infect. Immun.*, 2008, vol. 76, no. 4, pp. 1456–1464.
25. Grodberg J., Dunn J.J. OmpT encodes the escherichia coli outer membrane protease that cleaves T7 RNA polymerase during purification. *J. Bacteriol.*, 1988, vol. 170, no 3, pp. 1245–1253.
26. Guina T., Yi E.C., Wang H., Hackett M., Miller S.I. A PhoP-regulated outer membrane protease of *Salmonella enterica* serovar typhimurium promotes resistance to α -helical antimicrobial peptides. *J. Bacteriol.*, 2000, vol. 182, pp. 4077–4086.
27. Guinet F., Avé P., Jones L., Huerre M., Carniel E. Defective innate cell response and lymph node infiltration specify *Yersinia pestis* infection. *PLOS One*, 2008, vol. 3, no. 2, p. 1688.
28. Haiko J., Laakkonen L., Westerlund-Wikström B., Korhonen T.K. Molecular adaptation of a plant-bacterium outer membrane protease towards plague virulence factor Pla. *BMC Evol. Biol.*, 2011, vol. 11, no. 43.
29. Haiko J., Kukkonen M., Ravantti J.J., Westerlund-Wikström B., Korhonen T.K. The single substitution I259T, conserved in the plasminogen activator Pla of pandemic *Yersinia pestis* branches, enhances fibrinolytic activity. *J. Bacteriol.*, 2009, vol. 191, no. 15, pp. 4758–4766.
30. Han Y., Zhou D., Pang X., Zhang L., Song Y., Tong Z., Bao J., Dai E., Wang J., Guo Z., Zhai J., Du Z., Wang X., Wang J., Huang P., Yang R. DNA microarray analysis of the heat- and cold-shock stimulons in *Yersinia pestis*. *Microbes Infect.*, 2005, vol. 7, pp. 335–348.

31. Han Y., Zhou D., Pang X., Song Y., Zhang L., Bao J., Tong Z., Wang J., Guo Z., Zhai J., Du Z., Wang X., Zhang X., Wang J., Huang P., Yang R. Microarray analysis of temperature-induced transcriptome of *Yersinia pestis*. *Microbiol. Immunol.*, 2004, vol. 48, pp. 791–805.
32. Harrington D.J. Bacterial collagenases and collagen-degrading enzymes and their potential role in human disease. *Infect. Immun.*, 1996, vol. 64, pp. 1885–1891.
33. Hay E.D. Cell biology of extracellular matrix. *Plenum Press, New York*, 1991.
34. Herwald H., Mörgelin M., Olsén A., Rhen M., Dahlbäck B., Müller-Esterl W., Björck L. Activation of the contact-phase system on bacterial surfaces — a clue to serious complications in infectious diseases. *Nature Med.*, 1998, vol. 4, pp. 298–302.
35. Jawetz E., Meyer K.F. Studies on plague immunity in experimental animals. II. Some factors of the immunity mechanism in bubonic plague. *J. Immunol.*, 1944, vol. 49, pp. 15–30.
36. Kaufmann A., Stierhof Y.D., Henning U. New outer membrane-associated protease of *Escherichia coli* k-12. *J. Bacteriol.*, 1994, vol. 176, no. 2, pp. 359–367.
37. Kienle Z., Emödy L., Svanborg C., O'Toole P.W. Adhesive properties conferred by the plasminogen activator of *Yersinia pestis*. *J. Gen. Microbiol.*, 1992, vol. 138, pp. 1679–1687.
38. Knirel Y.A., Anisimov A.P. Lipopolysaccharide of *Yersinia pestis*, the cause of plague: structure, genetics, biological properties. *Acta Naturae*, 2012, vol. 4, pp. 46–58.
39. Kukkonen M., Suomalainen M., Kyllönen P., Lähteenmäki K., Lång H., Virkola R., Helander I.M., Holst O., Korhonen T.K. Lack of O-antigen is essential for plasminogen activation by *Yersinia pestis* and *salmonella enterica*. *Mol. Microbiol.*, 2004, vol. 51, pp. 215–225.
40. Kukkonen M., Lähteenmäki K., Suomalainen M., Kalkkinen N., Emödy L., Lång H., Korhonen T.K. Protein regions important for plasminogen activation and inactivation of $\alpha 2$ -antiplasmin in the surface protease Pla of *Yersinia pestis*. *Mol. Microbiol.*, 2001, vol. 40, pp. 1097–1111.
41. Kutryev V., Mehig R.J., Motin V.L., Pokrovskaya M.S., Smirnov G.B., Brubaker R.R. Expression of the plague plasminogen activator in *Yersinia pseudotuberculosis* and *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 1999, vol. 67, pp. 1359–1367.
42. Lähteenmäki K., Kuusela P., Korhonen T.K. Bacterial plasminogen activators and receptors. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2001, vol. 25, pp. 531–552.
43. Lähteenmäki K., Virkola R., Saren A., Emödy L., Korhonen T.K. Expression of plasminogen activator Pla of *Yersinia pestis* enhances bacterial attachment to the mammalian extracellular matrix. *Infect. Immun.*, 1998, vol. 66, pp. 5755–5762.
44. Lähteenmäki K., Kukkonen M., Korhonen T. K. The Pla surface protease/adhesin of *Yersinia pestis* mediates bacterial invasion into human endothelial cells. *FEBS Lett.*, 2001, vol. 504, pp. 69–72.
45. Latham W.W., Price P.A., Miller V.L., Goldman W.E. A plasminogen-activating protease specifically controls the development of primary pneumonic plague. *Science*, 2007, vol. 315, pp. 509–513.
46. Lijnen H.R., Collen D. Mechanisms of physiological fibrinolysis. *Baillière's Clin. Haematol.*, 1995, vol. 8, pp. 277–290.
47. Lobo L.A. Adhesive properties of the purified plasminogen activator Pla of *Yersinia pestis*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2006, vol. 262, pp. 158–162.
48. Madison R.R. Fibrinolytic specificity of bacillus pestis. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1936, vol. 34, pp. 301–302.
49. Mahesh S., Shukla J., Tuteja U., Batra H.V. Molecular detection of *Yersinia pestis* isolates of Indian origin by using Pla specific monoclonal antibodies. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2005, vol. 28, pp. 131–144.
50. Mangel W.F., Toledo D.L., Brown M.T., Worzalla K., Lee M., Dunn J.J. OmpT: an *Escherichia coli* outer membrane proteinase that activates plasminogen. *Methods Enzymol.*, 1994, vol. 244, pp. 384–399.
51. McDonough K.A., Falkow S. A *Yersinia pestis*-specific DNA fragment encodes temperature-dependent coagulase and fibrinolysin-associated phenotypes. *Mol. Microbiol.*, 1989, vol. 3, pp. 767–775.
52. Medzhitov R., Janeway C. Innate immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunol. Rev.*, 2000, vol. 173, pp. 89–97.
53. Mehig R.J., Brubaker R.R. Major stable peptides of *Yersinia pestis* synthesized during the low-calcium response. *Infect. Immun.*, 1993, vol. 61, pp. 13–22.
54. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.*, 2010, vol. 42, pp. 1140–1143.
55. Nakajima R., Motin V.L., Brubaker R.R. Suppression of cytokines in mice by protein a-v antigen fusion peptide and restoration of synthesis by active immunization. *Infect. Immun.*, 1995, vol. 63, pp. 3021–3029.
56. Perry R.D., Fetherston J.D. *Yersinia pestis* — etiologic agent of plague. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1997, vol. 10, pp. 35–66.
57. Platonov M.E., Evseeva V.V., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. Molecular typing of *Yersinia pestis*. *Mol. Gen. Microbiol. Virol.*, 2013, vol. 28, pp. 41–45.
58. Pouillot F., Derbise A., Kukkonen M., Foulon J., Korhonen T.K., Carniel E. Evaluation of O-antigen inactivation on Pla activity and virulence of *Yersinia pseudotuberculosis* harbouring the pPla plasmid. *Microbiology*, 2005, vol. 151, pp. 3759–3768.
59. Ruback E., Lobo L.A., França T.C., Pascutti P.G. Structural analysis of Pla protein from the biological warfare agent *Yersinia pestis*: docking and molecular dynamics of interactions with the mammalian plasminogen system. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 2013, vol. 31, pp. 477–484.
60. Saksela O. Plasminogen activation and regulation of pericellular proteolysis. *Biochim. Biophys. Acta*, 1985, vol. 823, pp. 35–65.
61. Samoilova S.V., Samoilova L.V., Yezhov I.N., Drozdov I.G., Anisimov A.P. Virulence of pPst⁺ and pPst⁻ strains of *Yersinia pestis* for guinea-pigs. *J. Med. Microbiol.*, 1996, vol. 45, pp. 440–444.
62. Sodeinde O.A., Subrahmanyam Y.V., Stark K., Quan T., Bao Y., Goguen J.D. A surface protease and the invasive character of plague. *Science*, 1992, vol. 258, pp. 1004–1007.
63. Sodeinde O.A., Goguen J.D. Genetic analysis of the 9.5-kilobase virulence plasmid of *Yersinia pestis*. *Infect. Immun.*, 1988, vol. 56, pp. 2743–2748.

64. Sodeinde O.A., Goguen J.D. Nucleotide sequence of the plasminogen activator gene of *Yersinia pestis*: relationship to OMPT of *Escherichia coli* and gene E of *Salmonella typhimurium*. *Infect. Immun.*, 1989, vol. 57, pp. 1517–1523.
65. Sodeinde O.A., Sample A.K., Brubaker R.R., Goguen J.D. Plasminogen activator/coagulase gene of *Yersinia pestis* is responsible for degradation of plasmid-encoded outer membrane proteins. *Infect. Immun.*, 1988, vol. 56, pp. 2749–2752.
66. Skurnik M., Peippo A., Ervelä E. Characterization of the O-antigen gene clusters of *Yersinia pseudotuberculosis* and the cryptic O-antigen gene cluster of *Yersinia pestis* shows that the plague bacillus is most closely related to and has evolved from *Y. pseudotuberculosis* serotype O:1b. *Mol. Microbiol.*, 2000, vol. 37, pp. 316–330.
67. Stephens R.W., Vaheri A. Plasminogen. In: Guidebook to the extracellular matrix and adhesion proteins. *New York: Oxford University Press*, 1993, pp. 81–82.
68. Tang H., Ivanciu L., Popescu N., Peer G., Hack E., Lupu C., Taylor F.B., Lupu Jr. Sepsis-induced coagulation in the baboon lung is associated with decreased tissue factor pathway inhibitor. *Am. J. Pathol.*, 2007, vol. 171, pp. 1066–1077.
69. Travis J., Potempa J., Maeda H. Are bacterial proteinases pathogenic factors. *Trends Microbiol.*, 1995, vol. 3, pp. 405–407.
70. Une T., Nakajima R., Brubaker R.R. Roles of V antigen in promoting virulence in *Yersinia*. *Contrib. Microbiol. Immunol.*, 1987, vol. 9, pp. 179–185.
71. Welkos S., Pitt M.L., Martinez M., Friedlander A., Vogel P., Tammariello R. Determination of the virulence of the pigmentation-deficient and pigmentation-/plasminogen activator-deficient strains of *Yersinia pestis* in non-human primate and mouse models of pneumonic plague. *Vaccine*, 2002, vol. 20, pp. 2206–2214.
72. Welkos S.L., Friedlander A.M., Davis K.J. Studies on the role of plasminogen activator in systemic infection by virulent *Y. pestis* strain CO92. *Microb. Pathog.*, 1997, vol. 23, pp. 211–223.
73. Worsham P.L., Roy C. Pestoides F, A *Yersinia pestis* strain lacking plasminogen activator, is virulent by the aerosol route. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2003, vol. 529, pp. 129–131.
74. Yun T.H., Cott J.E., Tapping R.I., Slauch J.M., Morrissey J.H. Proteolytic inactivation of tissue factor pathway inhibitor by bacterial omptins. *Blood*, 2009, vol. 113, no. 5, pp. 1139–1148.
75. Zhang S.S., Park C.G., Zhang P., Bartra S.S., Plano G.V., Klena J.D., Skurnik M., Hinnebusch B.J., Chen T. Plasminogen activator Pla of *Yersinia pestis* utilizes murine DEC-205 (CD205) as a receptor to promote dissemination. *J. Biol. Chem.*, 2008, vol. 283, no. 46, pp. 31511–31521.

Авторы:

Евсеева В.В., младший научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии, п. Оболенск, Московская область, Россия;
Платонов М.Е., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии, п. Оболенск, Московская область, Россия;
Копылов П.Х., к.б.н., зав. сектором биохимии отдела особо опасных инфекций ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии, п. Оболенск, Московская область, Россия;
Дентовская С.В., д.м.н., зав. лабораторией микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии, п. Оболенск, Московская область, Россия;
Анисимов А.П., д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии, п. Оболенск, Московская область, Россия.

Authors:

Evseeva V.V., Junior Researcher, Laboratory for Plague Microbiology of Department for Particularly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;
Platonov M.E., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory for Plague Microbiology of Department for Particularly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;
Kopylov P.Kh., PhD (Biology), Head of the Biochemical Sector of Department for Particularly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;
Dentovskaya S.V., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory for Plague Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;
Anisimov A.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director for Science, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation.

Поступила в редакцию 12.01.2015
 Отправлена на доработку 19.02.2015
 Принята к печати 27.02.2015

Received 12.01.2015
 Revision received 19.02.2015
 Accepted 27.02.2015