

**УЧАСТИЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАННЫХ НАНОВЕЗИКУЛ БАКТЕРИЙ
В ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ
(обзор литературы)**

К.А. ЛУСТА, М.В. КОНДАШЕВСКАЯ

ФГБНУ «НИИ морфологии человека», ул. Цюрупы, д. 3, г. Москва, 117418, Россия

Аннотация. Дано представление о внеклеточных мембранных нановезикулах, формирующихся самыми различными типами клеток любого эволюционного уровня. Из названия этих структур следует, что они обладают очень малыми размерами, заключены в двухслойную мембрану, образующуюся из мембраны материнской клетки. В общем и целом, внеклеточные мембранные нановезикулы отражают состав внешней мембраны, периплазмы и цитоплазмы родоначальных клеток. Однако, содержимое внеклеточных мембранных нановезикулах зависит от состояния организма и может заключать в себе как обычное цитоплазматическое содержимое, так и совершенно специфические наборы биологически активных молекул. Поэтому они являются индивидуальными признаками отдельных клеток, процессов и состояний. Внеклеточные мембранные нановезикулы играют важную роль в межклеточной коммуникации, как переносчики клеточно-специфичной информации. В статье представлен обзор исследований внеклеточных мембранных нановезикул патогенных бактерий. Проанализированы сведения об участии внеклеточных мембранных нановезикул в процессах адаптации бактерий к условиям окружающей среды, приведены данные об их роли в патогенезе заболеваний, а также о механизмах, обеспечивающих возникновение и развитие различных патологий при вовлечении внеклеточных мембранных нановезикул. Секретция внеклеточных мембранных нановезикул позволяет патогенным бактериям доставлять факторы вирулентности к отдаленным целям в концентрированной и защищенной форме. Интернализация этих наноструктур определяет репрограммирование клеток-мишеней. Дана характеристика наиболее распространенных и особо опасных заболеваний с рассмотрением роли внеклеточных мембранных нановезикул в патогенезе. Внеклеточные мембранные нановезикулы уже сейчас имеют практическое применение в качестве вакцинных носителей для иммунизации человека и животных против многих инфекционных заболеваний. В настоящее время актуальнейшей темой, обуславливающей большой практический интерес стала роль внеклеточных мембранных нановезикул в индуцировании иммунитета против бактериальных инфекций и опухолевых клеток.

Ключевые слова: внеклеточные мембранные нановезикулы, патогенез, токсины, адгезины, сигнальные молекулы, иммуномодуляторы, секретция.

**BACTERIAL OUTER MEMBRANE NANOVESICLES: INVOLVEMENT IN PATHOGENESIS
(literature review)**

K.A. LUSTA, M.V. KONDASHEVSKAYA

Research institute of human morphology, Tsyurupa street 3, Moscow, 117418, Russia

Abstract. An idea is given of extracellular membrane nanovesicles (EMN) formed by the most diverse types of cells of any evolutionary level. From the names of these structures it follows that they have very small dimensions, are enclosed in a bilayer membrane formed from the mother cell membrane. In general, EMN reflects the composition of the outer membrane, periplasm and cytoplasm of the cells. However, the EMN contents depends on the state of the organism and contain both usual cellular content and the specific sets of biologically active molecules. Therefore, they are individual signs of the particular cells, processes and states. The internalization of these nanostructures determines the reprogramming of target cells. The paper presents an overview of the studies the pathogenic bacteria EMN. The data on the EMN participation in the processes of bacteria adaptation to environmental conditions are analyzed. Therewith the data on EMN role in the disease pathogenesis, as well as the mechanisms ensuring the emergence and development of various pathologies with the involvement of EMN are given. The EMN secretion allows pathogenic bacteria to deliver virulence factors to distant targets in concentrated and protected form. The internalization of these nanostructures determines the reprogramming of target cells. The characteristic of the most widespread and especially dangerous diseases is given with the consideration of EMN role in pathogenesis. EMN even now have practical application as vaccine carriers for immunization of humans and animals against many infectious diseases. At the present time the most important topic, which causes great practical interest, has been the role of EMN in inducing immunity against bacterial infections and tumor cells.

Key words: extracellular membrane nanovesicles, pathogenesis, toxins, adhesins, signaling molecules, immunomodulators, secretion

XXI век характеризуется вступлением в постантибиотическую эру, что объясняется тотальным распространением штаммов бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. Инфекции, которые успешно поддавались лечению антибиотиками, теперь могут быть смертельными. В связи с этим, возникла острая необходимость в разработке новых лекарственных средств, в частности, вакцин. Конъюгированные вакцины являются эффективным способом создания долговременного иммунного ответа против бактерий. Однако эти вакцины имеют множество недостатков: медленное формирование, высокая цена и несоответствия между партиями. Разработка новых медицинских технологий, таких, как атомная силовая микроскопия и лазерная корреляционная спектроскопия, а также применение методов масс-спектрометрии, вестерн-блоттинга, флуоресцентных меток и иммуноэлектронной микроскопии позволили выявить и начать изучение базисной структуры для вакцин нового поколения – экзосом – *внеклеточных мембранных нановезикул* (ВМН), секретируемых практически всеми типами клеток эукариот и прокариот.

ВМН являются важными посредниками межклеточных коммуникаций, они опосредуют межклеточный обмен веществ и информацией. ВМН задействованы в самых различных биологических процессах – как физиологических, так и патологических. Подавляющее большинство ВМН имеют размеры в пределах 20-50 нм, они содержат различные функциональные соединения, включая биологически активные белки, липиды, молекулы РНК и ДНК и многое другое. Малые размеры ВМН обеспечивают им возможность преодолевать биологические барьеры. Следует отметить, что состав содержимого ВМН формируется регулируемым выбором конкретных компонентов и может выражать текущий статус секретирующей клетки. Кроме того, биохимический состав ВМН сохраняет признаки материнской клетки, при этом биологически активные вещества доставляются адресно и без потери активности [2, 3, 16]. Опухолевые клетки и бактерии используют внеклеточные везикулы как транспортные и антигенпрезентирующие структуры для распространения по организму и защиты от иммунного надзора. Обнаруженные во всех жидкостях животных и человека внеклеточные везикулы являются источником информации о многих процессах и нарушениях в них. Поскольку наружная мембрана ВМН несет на себе специфические иммуногенные наночастицы, в настоящее время их успешно используют для создания средств активной специализированной иммунотерапии (противобактериальной, противоопухолевой), а также для выявления и лечения опухолей. Важным качеством ВМН для использования в этих целях является достаточная легкость направленного моделирования их свойств. Изучение ВМН позволит получить ответы на вопросы о взаимодействии клеток как между собой, так и с инфекционными агентами. В соответствии с критериями вирулентности ВМН патогенных бактерий представляют новый тип инфектогенов, что определяет необходимость коррекции подходов к решению проблем контроля бактериальных инфекций. Таким образом, понимание сущности ВМН при изучении в естественных условиях имеет первостепенное значение для разработки диагностических и терапевтических методов.

ВМН бактерий. Вероятнее всего клетки эукариот унаследовали способ коммуникации при помощи ВМН от прокариот. Показано, что все прокариоты, включая грамположительные и грамотрицательные бактерии, микобактерии и археи, выделяют ВМН со своей поверхности в окружающую среду (рис. 1). В состав бактериальных ВМН входят внешнемембранные компоненты: белки, сигнальные молекулы, фосфолипиды, гидролитические ферменты, *липополисахариды* (ЛПС), компоненты периплазмы, цитоплазмы и цитоплазматической мембраны, ДНК и РНК, а у патогенных бактерий – факторы вирулентности [2, 16]. При проведении детального протеомного анализа ВМН, выделяемых различными видами бактерий, установлено, что изолированные везикулы содержат более 200 разнообразных белков. Среди них выявлены такие белки внешней мембраны бактерий, как: липопротеин *AcfD*, рецептор *TolC*, феррихромный белок, фосфолипаза A1, β -глюкозидаза, каналобразующий белок *tsx*, порин *LC*, рецептор колицина I, рецептор витамина B12, цитолетальные токсины и многие другие биологически активные вещества. Причем, исследования подтверждают неслучайное образование ВМН: обогащение одними компонентами и исключение других указывает на то, что ВМН являются продуктом избирательного биологического механизма [13]. Использование метода подсчета радиоактивно меченого белка показало, что продуцируемые клетками бактерий ВМН составляют значительную фракцию клеточного материала, достигающую 12% [15].

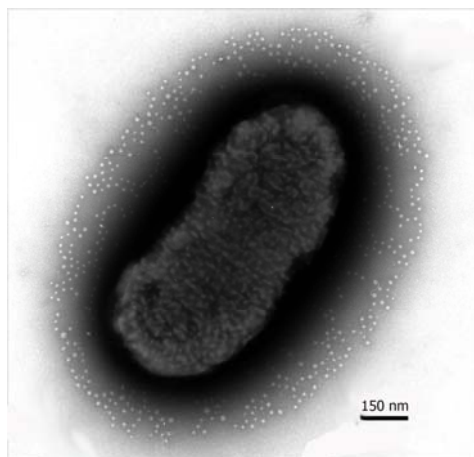


Рис. Просвечивающая электронная микроскопия бактерий *Aeromonas hydrophila* Н 1-6-05 из коллекции лаб. генно-инженерных препаратов Научно-исследовательского института пушного звероводства и кролиководства РАСХН. Негативное контрастирование с помощью молибдата аммония. На поверхности клеток бактерий выявляются скопления многочисленных внеклеточных мембранных нановезикул размером 20-50 нм в диаметре

Функции VMN бактерий. В качестве секретируемых комплексов нерастворимых и растворимых компонентов, VMN играют множество биологических ролей, в том числе утилизации ненужных соединений и хранение полезных веществ, поддержание структуры биопленки, межвидовые коммуникативные связи, лизис других бактерий, взаимодействия микроб-хозяин, доставка токсинов в клетки хозяев, иммунной активации и супрессии организма хозяина. Имея на поверхности своей внешней мембраны факторы адгезии, инвазии и колонизации, VMN выполняют функции прикрепления к поверхности клеток-мишеней, интернализации и вирулентности. Везикулы, секретируемые клетками бактерий, опосредуют белковый трафик и перенос детерминант вирулентности, участвуют в формировании системы паразит-хозяин, а также резистентности к антибактериальным препаратам и соответственно в адаптации к различным условиям среды, создавая наилучшие условия для интернализации и выживания бактерий. VMN обладают как наступательными, так и оборонительными возможностями при взаимодействии бактерий с организмом-хозяином и другими микробными клетками. Таким образом, VMN вносят существенный вклад в выживание и защиту материнских бактерий, являются инструментом расширения экологической ниши, получения бактериальной клеткой питательных веществ, утилизации токсичных метаболитов, проявления бактериальной вирулентности [21].

Внеклеточная секреция различных веществ является основным механизмом, посредством которого патогенные бактерии осуществляют интоксикацию клеток-хозяев. Многие данные демонстрируют связь активных факторов вирулентности с VMN, что свидетельствует об их важной роли в патогенезе. Содержащиеся в VMN факторы вирулентности оказывают токсигенное воздействие или активируют иммунный ответ. Эти факторы вирулентности, упакованные в VMN, дистанционно изменяют биологию клеток-хозяев и позволяют бактериям колонизировать организм хозяина [2, 21]. Последнее играет важную роль в патогенезе – совокупности последовательных процессов, определяющих механизмы возникновения и течения болезни.

VMN патогенных бактерий содержат различные факторы вирулентности, включая токсины, адгезины, ЛПС, гидролитические ферменты, связанные с *патогенами молекулярные структуры* (РАМР), иммуномодуляторы и другие компоненты, которые используются для захвата, установления ниши колонизации и осуществления токсигенного воздействия. У токсинов, упакованных в VMN, есть несколько преимуществ: а) VMN доставляют биологически активные вещества непосредственно в клетки-хозяева без их деградации в окружающей среде и разведения содержимого; б) VMN могут доставлять факторы вирулентности при высоких концентрациях к отдаленным мишеням; в) на поверхности VMN имеются адгезины, которые помогают им взаимодействовать с плазматической мембраной клеток-хозяев; г) VMN обеспечивают оптимальные условия для фолдинга белков-токсинов; д) бактерии используют VMN для направленной доставки факторов вирулентности, которые влияют только на определенную цель. Таким образом, доставка токсинов с помощью VMN является мощным механизмом вирулентности патогенных бактерий, модулирующих иммунитет хозяина и вызывающих различные заболевания [2, 21].

Заболевания, вызываемые различными патогенными бактериями, участие VMN в патогенезе. *Заболевания полости рта* – одна из наиболее популярных и актуальных тематик современных исследований, что связано с их влиянием на здоровье всего организма. Почти ежедневно публикуются но-

вые данные о связи между хроническими воспалениями десен и диабетом, стрессом, болезнью Альцгеймера, атеросклерозом сосудов и другими заболеваниями.

Пародонтит – заболевание воспалительного характера, вызванное действием бактерий *Porphyromonas gingivalis*, поражает ткани пародонта и приводит к разрушению удерживающих зуб тканей. Согласно данным, приведенным *Всемирной Организацией Здравоохранения* (ВОЗ), от такого заболевания, как пародонтит, страдают около 80% общего числа населения всех развитых стран мира. Было показано, что ВМН, происходящие из *P. gingivalis*, способны проникать в эпителиальные клетки и фибробласты десны, способствуя агрегации бактерий полости рта и индуцируя иммунный ответ хозяина. Также были обнаружены связанные с везикулами ДНК и РНК. ВМН из *P. gingivalis* избирательно обогащены гингипаинами, которые могут инициировать опосредованные антителами иммунные реакции на инфекцию. После адгезии ВМН к эпителиальным клеткам десны, везикулы вводятся через липидный рафт по эндоцитарному пути в клетки-мишени и, посредством сборки актиновых филаментов, направляются в эндосомы, а затем в лизосомы. Содержащиеся в ВМН гингипаины вызывают клеточные нарушения, что включает рецептор трансферрина и паксиллин (связанная с интегрином сигнальная молекула), которые ингибируют клеточную миграцию и приводят к гибели клеток. Инвазия ВМН является механизмом для инфекции *P. gingivalis* при пародонтите, когда содержащийся в ВМН гингипаин способствует деградации внутриклеточных функциональных молекул [4].

Помимо *P. gingivalis*, ряд других бактерий также могут играть важную роль в заболеваниях пародонта. Одной из таких бактерий является *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, которая секретирует ВМН, содержащие несколько связанных с вирулентностью белков, таких как наружный мембранный белок А (*Outer membrane protein A, OmpA*), липопротеин 28 кДа и лейкотоксин. В работах *S. Kato* и соавт. показано, что инкубация чувствительных к лейкотоксину клеток с данными ВМН приводит к лизису клеток. Специфическая лейкотоксическая активность ВМН была в 4-5 раз выше, чем у контрольных препаратов, что указывает на целенаправленное обогащение этих ВМН лейкотоксином [11].

Aggregatibacter actinomycetemcomitans входит в состав микробиоты ротовой полости подавляющего большинства людей и может вызывать тяжелую инфекцию периодонта. Кроме того, этот возбудитель может быть выделен от пациентов с инфекционным эндокардитом и другими заболеваниями. ВМН, выделяемые этим видом бактерий, доставляют в клетки-хозяева такие эффекторные белки, как углеводдефицитный трансферрин (*carbohydrate-deficient transferrin, CDT*) и лейкотоксин (*LtxA*). Эти биологически активные вещества транспортируются с помощью образ-распознающих цитоплазматических клеточных рецепторов *NOD1*- и *NOD2*-активных *патоген-ассоциированных молекулярных фрагментов (PAMPs)* и действуют как триггеры врожденного иммунитета, инициируя воспалительный ответ [12]. Подобные сведения показывают, что ВМН являются эффективным оружием для выживания бактерий в ротовой полости и для индукции заболеваний.

Заболевания ЖКТ, такие как язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки чаще всего индуцируются желудочным патогенным микроорганизмом *Helicobacter pylori*, который продуцирует токсины *CagA* и *VacA*. Эти же токсины были выявлены в ВМН, секретируемых бактериями. ВМН проходят стадию интернализации в эпителиальные клетки желудка посредством эндоцитоза, опосредованного клатрином. Биологически активные вещества бактерий и их ВМН провоцируют выработку аммиака, который снижает кислотность желудка, что способствует выживанию бактерий. Размножаясь, бактерии, продукты их жизнедеятельности и ВМН вызывают хронические воспалительные процессы и гастриты, повышающие риск канцерогенеза. Было продемонстрировано, что онкобелок *CagA* связан с поверхностью ВМН *H. pylori*. Исследование механизмов взаимодействия ВМН с клетками хозяина позволило обнаружить, что везикулы обладают эффекторно-стимулирующими свойствами, которые способствуют развитию рака. Отмечалось увеличение образования микроядер в эпителиальных клетках желудка человека, обработанных ВМН, производимых *H. pylori*. Этот эффект отсутствовал у штамма, который имел мутантный *vacA*, что указывало на зависимость от него образования микроядер. Таким образом, ВМН-опосредованная доставка *VacA* в эпителий желудка является перспективным механизмом для разработки терапии канцерогенеза желудка, вызванного *H. pylori* [19].

К тому же семейству *Campylobacteriaceae*, что и *H. Pylori*, относятся бактерии *Campylobacter jejuni*, играющие важнейшую роль в инфекционной патологии человека и животных. В структуре диарейных заболеваний на долю кампилобактериоза приходится 5-15%, что свидетельствует о его распространенности и эпидемиологической значимости. Это заболевание регистрируется во всех странах мира, в том числе в России. Кампилобактерии обнаруживаются у всех видов диких и домашних зверей и птиц, многие из которых являются их естественными резервуарами (крупный и мелкий рогатый скот, куры, скворцы, воробьи, попугаи и др.). Основной путь передачи инфекции – пищевой, алиментарный путь, реализуемый при употреблении загрязненных мясных продуктов, молока, воды. Заражение новорожденных может происходить трансплацентарно или во время родов. В группе риска по возникновению кампилобактериоза находятся сельские жители, работники животноводческих и птицеводческих хозяйств, а также туристы, посещающие развивающиеся страны. В большей степени заболеваемости кампилобакте-

риозом подвержены лица, страдающие иммунодефицитными состояниями, дети и беременные женщины. Чаще заболевание регистрируется в виде спорадических случаев («диарея путешественников»), изредка – в виде более или менее крупных вспышек. При попадании в организм кампилобактерии достигают тонкой кишки, где внедряются в ее слизистую оболочку и лимфоидные образования, вызывая развитие воспалительного процесса различной выраженности. По лимфатическим путям кампилобактеры проникают в брыжеечные лимфоузлы, червеобразный отросток, толстый кишечник. *C. jejuni* является наиболее распространенным возбудителем гастроэнтерита. Кампилобактерии имеют целый комплекс факторов вирулентности, в том числе ЛПС, энтеротоксин (вызывает диарею), цитотоксин, повреждающий слизистую оболочку толстой кишки у человека. Эти факторы обуславливают развитие диарейного, болевого и интоксикационного синдромов. При переходе кампилобактериоза в генерализованную форму развивается септицемия и септикопиемия, приводящие к полиорганному поражению с возникновением абсцессов в печени и селезенке. ВМН участвуют в доставке токсинов *C. jejuni* в клетки-хозяева. Протеомный анализ этих ВМН выявил 151 белок, обладающих цитотоксической активностью и индуцирующих иммунный ответ эпителиальных клеток кишечника, который не снижался при предварительной обработке ВМН протеиназой К или полимиксином В [9].

Заболевания, вызываемые некоторыми патогенными штаммами кишечной палочки *Escherichia coli*. Данный вид бактерий составляет около 0,1% кишечной флоры. В норме *E. coli* не представляет вреда для здоровья человека и является нормальным обитателем кишечной микрофлоры, но при снижении резистентности организма возможно появление опасных штаммов. Фекально-оральный путь передачи возбудителя является основным маршрутом, через который патогенные штаммы бактерии вызывают заболевания.

Энтерогеморрагическая кишечная палочка *E. coli* играет основную роль в развитии гемолитического уремического синдрома. Эта бактерия способна вырабатывать такие же токсины, как и бактерии *Shigella dysenteriae* 1 типа, которые называются веротоксинами или шигатоксинами (*Stx*). От названия токсинов происходит другое название для этой группы кишечной палочки – *STEC* (шигатоксигенная *E. coli*). *E. coli*, продуцирующая специфический шига-подобный веротоксин *Stx* и гемолизин (*EHEC-Hly*), способна избирательно повреждать эндотелиальные клетки сосудов почек и головного мозга. Часть токсина *EHEC-Hly* существует в комплексе с ВМН. Следует отметить, что такой комплекс в 80 раз более стабилен, чем свободный *EHEC-Hly*. Гемолизу обычно предшествует кальций-зависимое связывание ВМН с эритроцитами. Показано, что в комплексе с ВМН, *EHEC-Hly* обладает двойной ролью: функционирует как клеточный связывающий белок и как гемолизин. Эти парные функции увеличивают его патогенный потенциал по отношению к клеткам-мишеням. В то время как свободный токсин лизирует эндотелий человека, *EHEC-Hly*, ассоциированный с ВМН, вызывает их апоптоз. Токсин, в комплексе с ВМН, внедряется в эндотелиальные клетки посредством динамин-зависимого эндоцитоза (динамины – ГТФазы, участвующие в отделении эндоцитозного пузырька от мембраны) и далее происходит трафик ВМН в лизосомы. Там *EHEC-Hly* отделяется от ВМН, выходит из лизосом и перемещается в митохондрии. Это приводит к уменьшению трансмембранного потенциала митохондрий и транслокации цитохрома С в цитозоль. Последующая активация каспазы-9 и каспазы-3 приводит к апоптотической гибели клеток [5].

Продуцирующая токсин *Stx E. coli* (*STEC*) вызывает диарею, рвоту и лихорадку. При изучении токсинов *Stx1* и *Stx2* в виде ВМН-ассоциированных и удаленных из ВМН фракций, установлено, что при обработке везикул полимиксином В, который нарушает целостность ВМН, происходит увеличение выделения *Stx1* и *Stx2*. Высоковирулентная *E. coli* серотипа O104:H4 выделяет факторы вирулентности посредством ВМН. Везикулы содержат *Stx2a*, *Shigella enterotoxin 1* и ЛПС. *Stx2a* является ключевым компонентом ВМН, ответственным за цитотоксичность, тогда как ЛПС является индуктором ИЛ-8 [14].

Уропатогенная кишечная палочка *E. coli* (*UPEC*) является причиной примерно 90% инфекций мочевыводящих путей. Этот вид бактерий генерирует много факторов вирулентности. Набор токсинов включает гемолизин и цитотоксический некротизирующий фактор 1 (*CNF1*), что позволяет *UPEC* наносить значительный ущерб тканям и отключать иммунные эффекторные клетки. *CNF1* тесно связан с ВМН, которые играют значительную роль в секреции этого белка. Установлено, что везикулы, содержащие *CNF1*, оказывают воздействие на клетки хозяев, подтверждая, что *CNF1* транспортируется ВМН в его активной форме [23].

Менингит – острое воспаление оболочек головного и спинного мозга. Причиной заболевания могут быть самые разные бактерии, вирусы, грибки. Интересно, что люди разного возраста подвержены заболеванию неодинаковыми видами бактерий, вызывающих менингит. В частности, возбудителями гнойного воспаления у детей младше 4 недель чаще всего являются стрептококки группы В или D, листерии, а также кишечная палочка *E. coli K1*, вызывающая менингит, выделяет гемолизин и *CNF1* (бактериальный токсин, активирующий *Rho* ГТФазу – сигнальные белки, являющиеся молекулярными переключателями, играющими важную роль в клеточной пролиферации, апоптозе, экспрессии генов и во множестве других клеточных функций). *CNF1* способствует инвазии *E. coli K1* в эндотелиальные клетки микрососудов мозга человека (*HBMEC*), представляющие гематоэнцефалический барьер. Тогда как а-

гемолизин является фактором вирулентности внекишечной патогенной *E. coli* (*ExPEC*). Секреция α -гемолизина опосредуется ВМН, что приводит к лизису эритроцитов. Было установлено, что даже ВМН без бактерий могут являться причиной развития менингита [24].

Заболевания верхних и нижних дыхательных путей – заболевания, вызываемые многими патогенными бактериями, такими как: *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas hydrophila*, *Burkholderia cepacia*, *Escherichia coli* (*ExPEC*), *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila*, *Moraxella catarrhalis*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pasteurella pestis*.

Основным возбудителем пневмонии и многих других пневмококковых заболеваний является *S. pneumoniae*. Современные методы исследований позволили установить, что эти бактерии производят токсин *пневмолизин* (*Ply*), порообразующий гемолизин, который является ключевым компонентом, инициирующим продукцию *оксида азота* (*NO*) у макрофагов. *NO* в организме хозяина оказывает как положительное, так и отрицательное действие при инфекционных процессах. *NO* производится из *L*-аргинина с помощью индуцируемой *NO*-синтазы (*iNOS*), экспрессия которой активируется такими провоспалительными медиаторами хозяина, как ФНО и интерлейкин-1 (ИЛ-1), синергически с *интерфероном- γ* (ИНФ- γ). Основные пути активации зависят от ИНФ- γ -опосредованной регуляции экспрессии регуляторного фактора *интерферона 1* (*IRF-1*), который связывается с промотором *iNOS* и активирует транскрипцию *iNOS* синергически с *универсальным ядерным фактором транскрипции* (*NF- κ B*), контролирующим экспрессию генов иммунного ответа. Экспрессия *NF- κ B*, индуцируется посредством ФНО- α , ИЛ-1 или ЛПС. [6]. Подтверждение участия ВМН *S. pneumoniae* в патогенезе пневмонии было получено в экспериментах с применением полимиксина В (антагонист ЛПС), блокирующего интернализацию ВМН в эпителиальные клетки дыхательных путей. При внедрении ВМН в эпителий отмечалась инфильтрация легких Т-хелперными клетками (*Th1* и *Th17*), которая была также заблокирована полимиксином В. Таким образом, были получены доказательства, что именно ВМН являются возбудителями пневмонии дыхательных путей [6].

Бактерии *Acinetobacter baumannii* также вызывают пневмонию – это внеклеточный оппортунистический патоген человека, который становится все более проблематичным в больницах. В работах *C. Rumbo* и соавт. показано, что белок, находящийся на поверхностной мембране, *Omp* от 33 до 36 кДа (*Omp33-36*) являющийся порином, индуцирует апоптоз в иммунной и соединительной ткани путем активации каспаз и модуляции аутофагии с последующим накоплением *p62 / SQSTM1* (секвестома 1) и *LC3B-II* (ингибитор аутофагии). Блокирование аутофагии позволяет бактериям сохраняться внутриклеточно с последующим развитием цитотоксичности. Доказано, что *Omp33-36* является фактором вирулентности, содержащимся в ВМН, секретируемых *A. baumannii*. Эти везикулы взаимодействуют с липидными рафтами мембраны клеток-хозяев, а после интернализации ВМН индуцируют апоптоз клеток-хозяев. Установлено, что ВМН этих бактерий играют важную роль в патогенезе [22].

Бактерии *Pseudomonas aeruginosa* обладают целым рядом факторов вирулентности, ассоциированных с ВМН, в которых было идентифицировано 338 белков, включающих *щелочную протеазу* (*AprA*) и модулятор муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости (*Cif*), который нарушает перенос ионов, осмотическое давление, проницаемость мембран и синтез белка. Для выяснения механизмов, *толл-подобные рецепторы* (*Toll-like receptor, TLR*) *TLR2* и *TLR4* нокаутных мышей подвергали воздействию ВМН, введение которых в легкие мышей вызывало воспаление и повышало концентрацию хемокинов и цитокинов. Воспалительные реакции в ответ на ВМН регулировались *TLR2* и *TLR4*. Таким образом, ВМН *P. aeruginosa* индуцируют воспаление легких без наличия живых бактерий и этот эффект контролируется *TLR2* и *TLR4* [18].

Возбудители заболеваний дыхательных путей *Haemophilus influenzae* и *Moraxella catarrhalis* также часто вызывают инфекции у людей. Основными факторами вирулентности являются: рекомбинантный поверхностный белок (*Coatamer protein complex subunit beta, CopB*), который участвует в извлечении железа из молекул лактоферрина или трансферрина и *белки наружной мембраны* (*OMP*s): поверхностные белки *A1* и *A2* (*UspA1* и *UspA2*), действие которых связано с адгезией к эпителию. *M. catarrhalis*, выделяют ВМН, содержащие *UspA1* и *UspA2*, опосредующие взаимодействие с *C3* компонентом комплемента. *H. influenzae* продуцируют кроме того ВМН, которые содержат адгезин *P5*, *IgA*-эндопептидазу, сериновую протеазу, ДНК и белок утилизации гема, что указывает на их вирулентность. При интернализации, ВМН колокализуются с белком эндоцитоза – кавеоллином и вовлекаются в эндоцитоз, опосредуемый кавеолами. При взаимодействии с эпителиальными клетками, ВМН стимулируют высвобождение ИЛ-8, а также антимикробного катионного пептида *LL-37*. Все это определяет динамическую роль ВМН в патогенезе *H. influenzae*. Эти везикулы непосредственно взаимодействуют с рецептором *Ig B*-клеток (*BCR*). В экспериментах *F. Deknuydt* и соавт., при инкубации В-клеток с ВМН, секретируемых *H. influenzae*, наблюдалась активация лимфоцитов посредством сшивки *IgD BCR* и *TLR9*, что приводило к значительному пролиферативному ответу, активации молекул клеточной поверхности *CD69* и *CD86*, а также повышенной секреции *IgM* и *IgG*. Этими исследователями была установлена способность ВМН активировать *B*-

клетки независимо от *T*-клеток, что позволяет достаточно эффективно влиять на характер и интенсивность адаптивного гуморального иммунного ответа [7].

Коклюш – острое инфекционное заболевание, передающееся воздушно-капельным путем, вызываемое бактериями *Bordetella pertussis* проявляющееся в виде приступов спазматического кашля, сопровождающих катаральную симптоматику у человека. Эти бактерии продуцируют *аденилатциклазу-гемолизин (AC-Hly)*, пертуссин-токсин, нитевидный гемагглютинин, агглютиногены, *аденилатциклазный токсин (ACT)* и пертактин. Эти факторы вирулентности отвечают за клинические особенности коклюша и иммунный ответ. Из легких пациентов выделяют ВМН бактерий *B. pertussis*, *содержащие ACT* (ВМН-*ACT*), что указывает на их участие в патогенезе. Этот токсин осуществляет интоксикацию клеток в результате продуцирования ими внутриклеточного цАМФ. ВМН-*ACT* осуществляет воздействие на клетки как при наличии рецептора токсина *CD11b/CD18*, так и без него. Было показано, что интоксикация *ACT* блокируется антитоксинами и анти-*CD11b* антителами, но не цитохалазином-*D*, тогда как ВМН-*ACT* не подвергается воздействию антител, но блокируется цитохалазином-*D*. Таким образом было доказано, что ВМН могут доставлять *ACT* клеткам-хозяевам с помощью механизмов, отличающихся от тех, которые контролируют действие только *ACT* [10].

Многие из вышеупомянутых бактерий, такие как *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella multocida* и *Klebsiella species*, могут спровоцировать развитие сепсиса – синдрома, который характеризуется системным воспалительным ответом и иммунной дисрегуляцией. ВМН, секретируемые этими бактериями, инициируют воспалительный ответ независимо от родительских бактерий. При этом повышается выделение провоспалительных и противовоспалительных медиаторов. Факторами, вызывающими септический воспалительный каскад, являются *патоген-ассоциированные молекулярные фрагменты молекул (PAMPs)*, такие как ЛПС, флагеллин, мурамилдипептид, липотейхоевая кислота и бактериальная ДНК. Они распознаются *рецепторами распознавания образов (PRR)*: *Toll*-подобными рецепторами, рецепторами лектинов *C*-типа, *NOD*-подобными рецепторами и *RIG-I*-подобными рецепторами. Ассоциация *PAMP* и *PRR* вызывает серию внутриклеточных сигнальных каскадов. Факторы транскрипции, *NF-κB* и активатор-белок-1, регулируют экспрессию цитокинов. В везикулах, выделяемых этими бактериями, обнаружено высокое содержание ЛПС и при введении ВМН крысам наблюдаются симптомы сепсиса. Эти ВМН стимулируют продуцирование ИЛ-8, ИЛ-6, ИЛ-12 и ФНО-α. В процессе воспаления, вызванного ВМН, происходит интенсивное поступление нейтрофилов в ткань. Таким образом, результаты доказывают, что ВМН независимо от родительских бактерий инициируют воспалительный ответ [18].

Особо опасные инфекции бактериальной природы характеризуются очень высокой восприимчивостью людей к этим заболеваниям, множественными путями передачи и эпидемическим распространением. Такие заболевания как чума, холера и сибирская язва являются мощным средством биологической войны.

Чума – смертельная болезнь, вызываемая бактерией *Yersinia pestis*. Заболевание имеет три основные формы: пневмоническую, септицемическую и бубонную. Смерть может произойти менее чем за 2 недели. *Y. pestis* продуцирует ВМН, которые содержат белки, связанные с вирулентностью, включая адгезин возбудителя чумы – белок *Ail* (от *англ. attachment-invasion locus*), внешний фимбриальный антиген *F1* и поверхностную протеазу *Pla* – активатор плазминогена. Последний фермент, принадлежащий к семейству омпинов, осуществляет комплексное взаимодействие с системой гемостаза организма хозяина – протромбином, фибриногеном, плазминогеном и является важным фактором вирулентности возбудителя чумы. Для проявления активности, активатору плазминогена необходимо связывание с ЛПС, при этом патогенный потенциал этого комплекса в значительной степени зависит от температуры окружающей среды: в организме блох – переносчиков возбудителя чумы, его патогенный потенциал низкий, а в организме млекопитающих – крайне высокий. Активатор плазминогена непосредственно способствует фибринолизу, инактивируя *ингибитор активатора плазминогена-1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)* и α2-антиплазмин, а также *активируемый тромбином ингибитор фибринолиза (thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor, TAFI)*. Прокоагулянтная активность белка *Pla* обусловлена разрушением ингибитора пути тканевого фактора (*tissue factor pathway inhibitor, TFPI*). Учитывая разнообразие формы проявления чумы, можно предположить, что в зависимости от пути передачи инфекции, *Pla* действует на различные субстраты. Данный фермент выполняет также и непротеолитические функции. Процессы адгезии в макроорганизме представляют собой начальный этап развития любой бактериальной инфекции. Для клеток *Y. pestis* способность прикрепляться к экстраклеточному матриксу в месте укуса блохи является ключевым моментом, поскольку это приводит к локализованному протеолизу тканевых барьеров и обеспечивает дальнейшую миграцию возбудителя в организме хозяина. Активатор плазминогена *Pla* бактерии является единственным представителем семейства омпинов, для которого установлены инвазивные свойства. При этом адгезивная и инвазивная активности активатора плазминогена *Pla* существуют отдельно от его протеолитической активности [1].

Холера – инфекционное заболевание, которое вызывает тяжелую диарею, приводящую к обезвоживанию и смерти. Патогеном является бактерия *Vibrio cholerae*, которая продуцирует цитотоксин (*VCC*), поробразующий токсин, лизирующий эукариотические клетки путем образования трансмембранных β -бочкообразных каналов. Продемонстрировано, что *VCC* секретируется в составе ВМН и показана их токсигенность как по отношению к эритроцитам, так и эпителиальным клеткам. В экспериментах установлено, что связанный с ВМН *VCC* инициирует аутофагию в клетках-мишенях. Аутофагия может действовать как механизм клеточной защиты против ассоциированного с ВМН токсина. Воспалительный потенциал ВМН опосредуется нуклеотидсвязывающим доменом *NOD1* цитоплазматических клеточных рецепторов, относящихся к образ-распознающим рецепторам [8].

Сибирская язва – особо опасная болезнь сельскохозяйственных и диких животных всех видов, а также человека индуцируется грамположительной бактерией *Bacillus anthracis*, которая выделяет сибиреязвенный токсин, состоящий из трех белков: протективного антигена, отежного фактора и летального фактора. Протективный антиген связывается с мембранами клеток-мишеней и расщепляется протеазами на два фрагмента. Более крупный фрагмент антигена остается на поверхности клетки-хозяина, служит рецептором для отежного и летального факторов, а также обеспечивает их эндоцитоз. Отежный фактор является кальмодулинзависимой аденилатциклазой. Используя кальмодулин и АТФ эукариотических клеток, отежный фактор повышает в них концентрацию цАМФ. В результате развивается отек в очаге инфекции и подавляются функции нейтрофилов. Летальный фактор, попав в клетку с помощью протективного антигена, вызывает ее гибель. В ВМН, выделяемых *B. anthracis*, были идентифицированы: протективный антиген, летальный фактор, отежный токсин и антролизин. Результаты показывают, что секреция сибиреязвенного токсина *B. anthracis*, ассоциированная с ВМН, обеспечивает концентрированную доставку компонентов токсина в целевые клетки-хозяева. Везикулы вызывали устойчивый *IgM*-ответ на компоненты токсинов. Установлено, что мыши, иммунизированные ВМН, жили значительно дольше, чем контрольные после заражения *B. anthracis* [20].

Таким образом, представленные в настоящем обзоре данные показывают, что секреция ВМН является эволюционно закрепленным универсальным процессом, присущим для всех живых существ, в том числе и для всех видов бактерий. Изучение ВМН бактерий позволяет в режиме реального времени исследовать механизмы их формирования, целенаправленного заполнения биологически активными компонентами и воздействия на клетки-мишени. Секреция ВМН позволяет патогенным бактериям доставлять факторы вирулентности к отдаленным целям в концентрированной и защищенной форме. ВМН также играют роль в выживаемости бактерий, выполняя функции защиты и нападения, а также адаптации к условиям окружающей среды. Продукция и экспорт ВМН необходимы для питания, развития биопленки, является реакцией бактерий на стресс, механизмом секреции белков адгезии и интернализации в другие клетки, активации и подавления иммунитета хозяев, вирулентности и патогенеза. Основной ролью ВМН, выделяемых грамотрицательными, грамположительными и архебактериями является обеспечение коммуникации с другими клетками прокариот и эукариот. ВМН уже сейчас имеют практическое применение в качестве вакцинных носителей для иммунизации человека и животных против многих инфекционных заболеваний. Интерес использования ВМН в качестве вакцин для борьбы с инфекционными заболеваниями растет по мере того, как исследования выявляют все больше молекулярных особенностей везикуляции у бактерий. Ведутся исследования возможности использования этих наночастиц во многих других областях биотехнологии. Циркулирующие ВМН являются важным видоспецифическим диагностическим показателем, по которому можно судить о степени тяжести заболевания. В последнее время роль ВМН в активации иммунного ответа против бактериальных инфекций и опухолевых клеток стала актуальнейшей темой, обуславливающей большой практический интерес. Недавние исследования показали, что генно-инженерные ВМН в состоянии осуществлять сверхэкспрессию антигенов. Проводятся работы по биоинженерии для создания ВМН с измененными свойствами. Несомненно, эти наночастицы будут использоваться во многих других областях биотехнологии и медицины.

Литература

1. Куклева Л.М., Бойко А.В. Активатор плазминогена – многофункциональный белок возбудителя чумы // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. Вып. 3. С. 13–20.
2. Луста К.А. Бактериальные мембранные внеклеточные нановезикулы: строение, биогенез, функции, использование в биотехнологии и медицине (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2015. Т. 51, № 5. С. 443–452.
3. Филатов М.В. Исследование экзосом, секретируемых различными нормальными и злокачественно трансформированными клетками *in vitro* и *in vivo* // Клиническая Лабораторная диагностика. 2010. № 12. С. 35–42.
4. Amano A. Genetic characteristics and pathogenic mechanisms of periodontal pathogens // Advances in Dental Research. 2014. Vol. 26, № 1. P. 15–22.

5. Bielaszewska M. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* hemolysin employs outer membrane vesicles to target mitochondria and cause endothelial and epithelial apoptosis // *Public Library of Science Pathogens*. 2013. Vol. 9, № 12. P. e1003797.
6. Codemo M. Immunomodulatory Effects of Pneumococcal Extracellular Vesicles on Cellular and Humoral Host Defenses // *MBio*. 2018. Vol. 9, № 2. P. e00559-18.
7. Deknuydt F., Nordström T., Riesbeck K. Diversion of the host humoral response: a novel virulence mechanism of *Haemophilus influenzae* mediated via outer membrane vesicles // *Journal of Leukocyte Biology*. 2014. Vol. 95, №6. P. 983–991.
8. Elluri S. Outer membrane vesicles mediate transport of biologically active *Vibrio cholerae* cytotoxin (VCC) from *V. cholerae* strains // *Public Library of Science One*. 2014. Vol. 9, №9. P. e106731.
9. Elmi A. The bile salt sodium taurocholate induces *Campylobacter jejuni* outer membrane vesicle production and increases OMV-associated proteolytic activity // *Cellular Microbiology*. 2018. Vol. 20, №3. P. e12814.
10. Gasperini G. Outer membrane vesicles (OMV)-based and proteomics-driven antigen selection identifies novel factors contributing to *Bordetella pertussis* adhesion to epithelial cells // *Molecular & Cellular Proteomics*. 2018. Vol. 17, №2. P. 205–215.
11. Kato S., Kowashi Y., Demuth D.R. Outer membrane-like vesicles secreted by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* are enriched in leukotoxin // *Microbial Pathogenesis*. 2002. Vol. 32, №1. P. 1–13.
12. Kieselbach T. Proteomics of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Outer Membrane Vesicles // *Public Library of Science One*. 2015. Vol. 10, №9. P. e0138591.
13. Kouwaki T. Extracellular vesicles deliver host and virus RNA and regulate innate immune // *International Journal of Molecular Sciences*. 2017. E666.
14. Kunsmann L. Virulence from vesicles: Novel mechanisms of host cell injury by *Escherichia coli* O104:H4 outbreak strain // *Scientific Reports*. 2015. №5. P. 13252.
15. Li A., Schertzer J.W., Yong X. Molecular dynamics modeling of *Pseudomonas aeruginosa* outer membranes // *Physical chemistry, chemical physics*. 2018. Vol. 20, №36. P. 23635–23648.
16. Nazimek K. Exosomes as mediators of intercellular communication: clinical implications // *Polish Archives of Internal Medicine* Wewn. 2015. Vol. 125, №5. P. 370–380.
17. Park K.S. Pulmonary inflammation induced by bacteria-free outer membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa* // *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2013. Vol. 49, №4. P. 637–645.
18. Park K.S. Sepsis-like systemic inflammation induced by nano-sized extracellular vesicles from feces // *Frontiers in Microbiology*. 2018. №9. P. 1735.
19. Polakovicova I. Role of microRNAs and exosomes in *Helicobacter pylori* and Epstein-Barr virus associated gastric cancers // *Frontiers in Microbiology*. 2018. №9. P. 636.
20. Rivera J., Cordero R.J.B., Nakouzi A.S., Frases S. *Bacillus anthracis* produces membrane-derived vesicles containing biologically active toxins // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2010. Vol. 107, №44. P. 9002–19007.
21. Rodrigues M. Role of extracellular vesicles in viral and bacterial infections: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics // *Theranostics*. 2018. Vol. 8, №10. P. 2709–2721.
22. Rumbo C. The *Acinetobacter baumannii* Omp33-36 porin is a virulence factor that induces apoptosis and modulates autophagy in human cells // *Infection and Immunity*. 2014. Vol. 82, №11. P. 4666–4680.
23. Svennerholm K. *Escherichia coli* outer membrane vesicles can contribute to sepsis induced cardiac dysfunction // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7, №1. P. 17434.
24. Yu H., Kim K.S. YgfZ contributes to secretion of cytotoxic necrotizing factor 1 into outer-membrane vesicles in *Escherichia coli* // *Microbiology*. 2012. Vol. 158, №3. P. 612–621.

References

1. Kukleva LM, Bojko AV. Aktivator plazminogena – mnogofunkcional'nyj belok vzbuditelja chumy [plasminogen Activator is a multifunctional protein of the causative agent of plague]. *Problemy osobo opasnyh infekcij*. 2016;3:13-20. Russian.
2. Lusta KA. Bakterial'nye membrannye vnekletochnye nanovezikuly: stroenie, biogenez, funkcii, ispol'zovanie v biotekhnologii i medicine (obzor) [Bacterial membrane extracellular nanovesicles: structure, biogenesis, functions, use in biotechnology and medicine (review)]. *Prikladnaja biohimija i mikrobiologija*. 2015;51(5):443-52. Russian.
3. Filatov MV. Issledovanie jekzosom, sekretiruemyh razlichnymi normal'nymi i zlokachestvenno transformirovannymi kletkami in vitro i in vivo [Study of exosomes secreted by various normal and malignantly transformed cells in vitro and in vivo]. *Klinicheskaja Laboratornaja diagnostika*. 2010;12:35-42. Russian.
4. Amano A. Genetic characteristics and pathogenic mechanisms of periodontal pathogens. *Advances in Dental Research*. 2014;26(1):15-22.

5. Bielaszewska M. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* hemolysin employs outer membrane vesicles to target mitochondria and cause endothelial and epithelial apoptosis. *Public Library of Science Pathogens*. 2013;9(12):e1003797.
6. Codemo M. Immunomodulatory Effects of Pneumococcal Extracellular Vesicles on Cellular and Humoral Host Defenses. *MBio*. 2018;9(2):e00559-18.
7. Deknuydt F, Nordström T, Riesbeck K. Diversion of the host humoral response: a novel virulence mechanism of *Haemophilus influenzae* mediated via outer membrane vesicles. *Journal of Leukocyte Biology*. 2014;95(6):983-91.
8. Elluri S. Outer membrane vesicles mediate transport of biologically active *Vibrio cholerae* cytotoxin (VCC) from *V. cholerae* strains. *Public Library of Science One*. 2014;9(9):e106731.
9. Elmi A. The bile salt sodium taurocholate induces *Campylobacter jejuni* outer membrane vesicle production and increases OMV-associated proteolytic activity. *Cellular Microbiology*. 2018;20(3):e12814.
10. Gasperini G. Outer membrane vesicles (OMV)-based and proteomics-driven antigen selection identifies novel factors contributing to *Bordetella pertussis* adhesion to epithelial cells. *Molecular & Cellular Proteomics*. 2018;17(2):205-15.
11. Kato S, Kowashi Y, Demuth DR. Outer membrane-like vesicles secreted by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* are enriched in leukotoxin. *Microbial Pathogenesis*. 2002;32(1):1-13.
12. Kieselbach T. Proteomics of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Outer Membrane Vesicles. *Public Library of Science One*. 2015;10(9):e0138591.
13. Kouwaki T. Extracellular vesicles deliver host and virus RNA and regulate innate immune. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017:E666.
14. Kunsmann L. Virulence from vesicles: Novel mechanisms of host cell injury by *Escherichia coli* O104:H4 outbreak strain. *Scientific Reports*. 2015;5:13252.
15. Li A, Schertzer JW, Yong X. Molecular dynamics modeling of *Pseudomonas aeruginosa* outer membranes. *Physical chemistry, chemical physics*. 2018;20(36):23635-48.
16. Nazimek K. Exosomes as mediators of intercellular communication: clinical implications. *Polish Archives of Internal Medicine*. 2015;125(5):370-80.
17. Park KS. Pulmonary inflammation induced by bacteria-free outer membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa*. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2013;49(4):637-45.
18. Park KS. Sepsis-like systemic inflammation induced by nano-sized extracellular vesicles from feces. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9:1735.
19. Polakovicova I. Role of microRNAs and exosomes in *Helicobacter pylori* and Epstein-Barr virus associated gastric cancers. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9:636.
20. Rivera J, Cordero RJB, Nakouzi AS, Frases S. *Bacillus anthracis* produces membrane-derived vesicles containing biologically active toxins. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2010;107(44):9002-7.
21. Rodrigues M. Role of extracellular vesicles in viral and bacterial infections: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *Theranostics*. 2018;8(10):2709-21.
22. Rumbo C. The *Acinetobacter baumannii* Omp33-36 porin is a virulence factor that induces apoptosis and modulates autophagy in human cells. *Infection and Immunity*. 2014;82(11):4666-80.
23. Svennerholm K. *Escherichia coli* outer membrane vesicles can contribute to sepsis induced cardiac dysfunction. *Scientific Reports*. 2017;7(1):17434.
24. Yu H, Kim KS. YgfZ contributes to secretion of cytotoxic necrotizing factor 1 into outer-membrane vesicles in *Escherichia coli*. *Microbiology*. 2012;158(3):612-21.

Библиографическая ссылка:

Луста К.А., Кондашевская М.В. Участие внеклеточных мембранных нановезикул бактерий в патологических процессах (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2019. №2. Публикация 3-5. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2019-2/3-5.pdf> (дата обращения: 03.04.2019). DOI: 10.24411/2075-4094-2019-16306. *

Bibliographic reference:

Lusta KA, Kondashevskaya MV. Uchastie vnekletochnyh membrannyh nanovezikul bakterij v patologicheskikh processah (obzor literatury) [Bacterial outer membrane nanovesicles: involvement in pathogenesis (literature review)] // Journal of New Medical Technologies, e-edition. 2019 [cited 2019 Apr 03];1 [about 10 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2019-2/-pdf>. DOI: 10.24411/2075-4094-2019-16306.

* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2019-2/e2019-2.pdf>