

Механизм действия дифтерийного токсина

СПбГУ
2015г.

Дифтерийный токсин

- Выделен А.М. Парренheimer 1971 году
- Дифтерийный токсин –бактериальный белковый экзотоксин, обладающий чрезвычайно высокой токсичностью.
- Синтезируется в виде предшественника токсина массой 58.36 кДа.
- Молекула состоит из 3-х доменов:
каталитический домен; трансмембранный домен;
рецепторный домен

Уровень токсичности

- Минимальная летальная доза LD_{50} для человека составляет 0,1 мкг на кг массы тела

Таблица 1

Токсичность природных ядов

Токсин	Минимальная летальная доза, мкг/кг (мыши)	Продуцент (источник)
Ботулизм (А)	0,00003	Бактерия Clostridium botulinum
Столбняка	0,00010	Бактерия Clostridium tetani
Рицин	0,02000 (морские свинки)	Бобы клещевины Ricinus communis
Дифтерийный	0,30000	Бактерия Corynebacterium diphtheriae
Яд кокоа	2,70000	Лягушка Phyllobates bicolor
Тариха	8,00000	Тритон Tarichia torosa
Сакситоксин	10,00000	Цианобактерии Anabaena circinalis, Planktothrix
Тетродотоксин	8.0–20,00000	Рыба Sphoeroides rubripes
Яд кобры	20,00000	Змея Naja naja
Анатоксин-а(с)	20,00000	Цианобактерии Anabaena flos-aque
Микроцистин-LR	50,00000	Цианобактерии Microcystis aeruginosa
Кроталус	60,00000	Гремучая змея Crotalus atrox
Нодуларин	50–300,00000	Цианобактерии Nodularia spumigena
Анатоксин-а	200–250,00000	Цианобактерии Anabaena, Planktothrix
Гомоанатоксин-а	200–250,00000	Цианобактерии Oscillatoria formosa
Буфотоксин	390,00000 (кошки)	Жаба Bufo vulgaris
Кураре	500,00000	Растение Chondodendron tomentosum
Стрихнин	500,00000	Растение Strychnos nuxvomica
Мускарин	1100,00000	Шляпочный гриб Amanita muscaria
Самандрин	1100,00000	Саламандра Salamandra maculosa
Глинодин	2500,00000	Пресноводная динофлагеллата Peridinium polonicum

* Минимальная летальная доза цианида натрия (калия) ~10000 мкг/кг (мыши).

- Согласно Статье 1.1

“Конвенции о запрещении раз работки, производства и накопления запасов бактериологического (биологического) и токсинного оружия и об их уничтожении”:

“Каждое государство – участник настоящей Конвенции обязуется никогда, ни при каких обстоятельствах не разрабатывать, не производить, не накапливать, не приобретать каким-либо иным образом и не сохранять: микробиологические или другие биологические агенты, или токсины...”

Токсигенные штаммы

Corynebacterium diphtheriae

- Токсигенные штаммы коринебактерий заражены умеренными *Corynebacteriophages*, содержащими ген tox^+ (5 групп)

Фаги *C. diphtheriae*

- Коринефаги (11 шт) по форме имеют головку и хвост. Головка икосаэдрическая (60—66 нм), отросток длинный (270 нм), тонкий, изогнутый. Одна из особенностей дифтерийных фагов — большее, чем у других фагов, отношение длины отростка к диаметру головки.

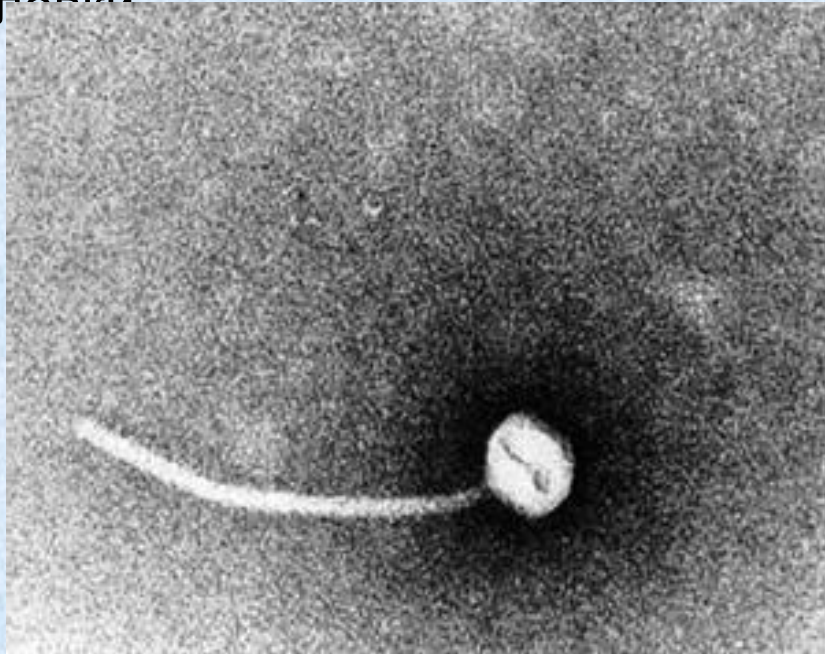
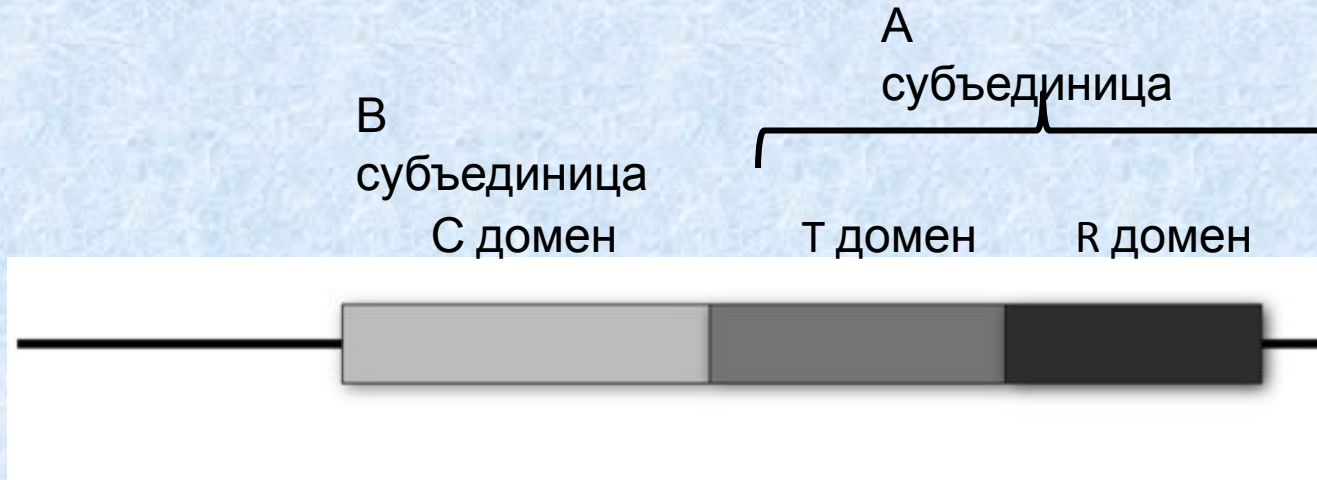


Схема строения дифтерийного токсина

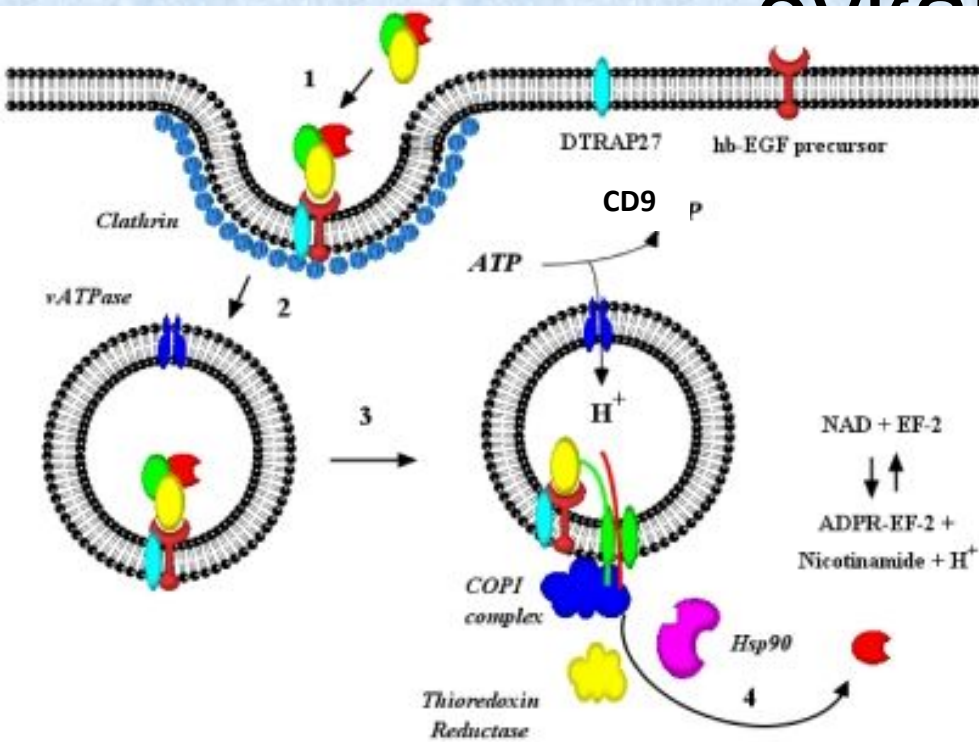


С домен - трансмембранный домен

Т домен - каталитический домен

Р домен – рецепторный домен

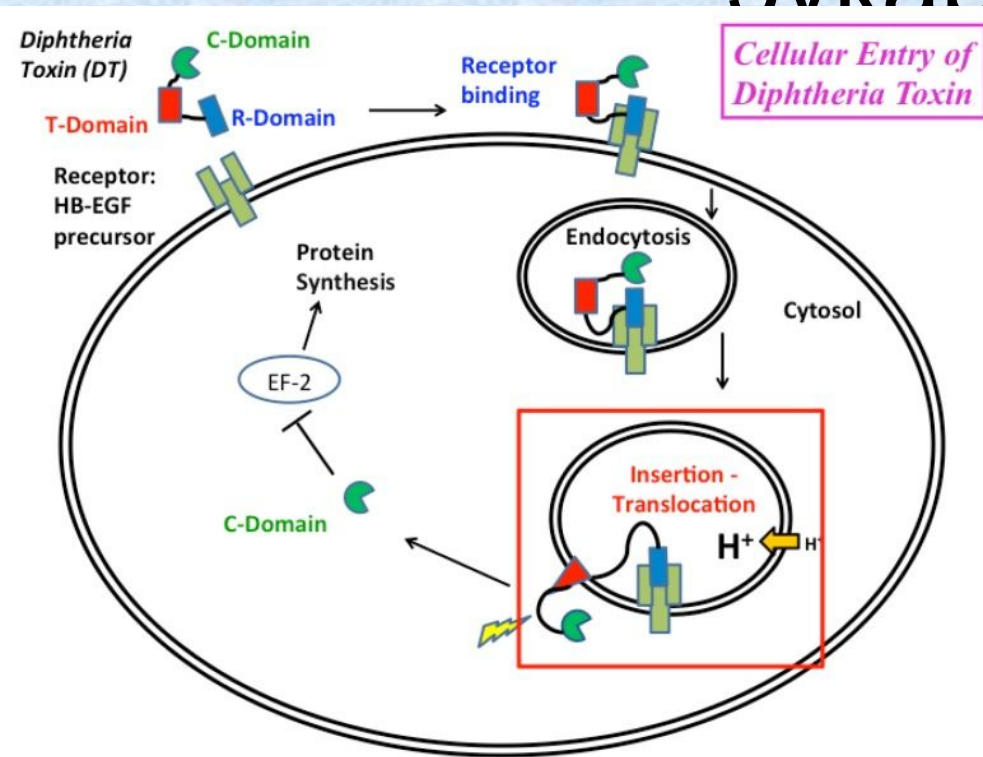
Схема взаимодействия дифтерийного токсина с клеткой



Дифтерийный токсин: красный = каталитический домен (Т) ; зеленый = трансмембранный домен (С); желтый = рецепторный домен (R)

1. Аффиния **рецепторного домена** дифтерийного токсина к рецептору предшественника гепарин связывающего фактора роста клеток (heparin binding epidermal growth factor-like precursor, - hb-EGF), связь стабилизируется за счет дополнительного взаимодействия с рецептором CD9.
2. Активация hb-EGF рецептора приводит к клатрин-зависимому эндоцитозу. В процессе эндоцитоза происходит протеолитическое расщепление токсина (процессинг), после которого Т и С домены остаются соединенными только дисульфидным мостиком
3. При подкислении эндосомы **трансмембранный домен** токсина (С-домен) претерпевает спонтанное изменение, в результате которого С-домен образует в мембране эндосомы пору.
4. С-домен взаимодействует с COPI комплексом (coat protein complex I (COPI), который заменяет клатрин), тиоредоксин редуктазой и Hsp90.
5. Выход, через образовавшуюся пору, **каталитического домена** который катализирует NAD + зависимое АДФ-рибозилирование фактора элонгации 2 (EF-2) по **дифтамиду**, что приводит к ингибированию синтеза клеточного белка.
6. Прекращение синтеза белка приводит к апоптозу клетки.

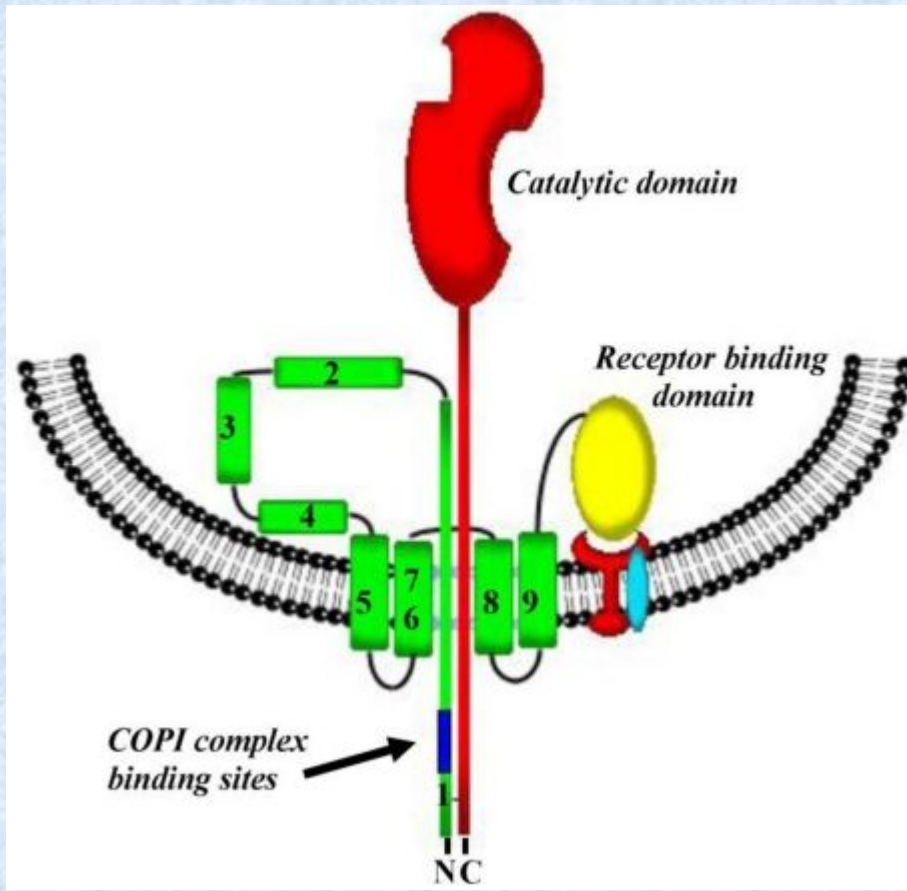
Схема взаимодействия дифтерийного токсина с клеткой эукариот



Дифтаמיד, объект действия токсина, есть в клетке только в одном белке, причем в одном экземпляре. Остаток аминокислоты гистидина в составе EF-2 превращают в дифтаמיד пять специальных ферментов, не участвующих в каких-либо других реакциях обмена веществ.

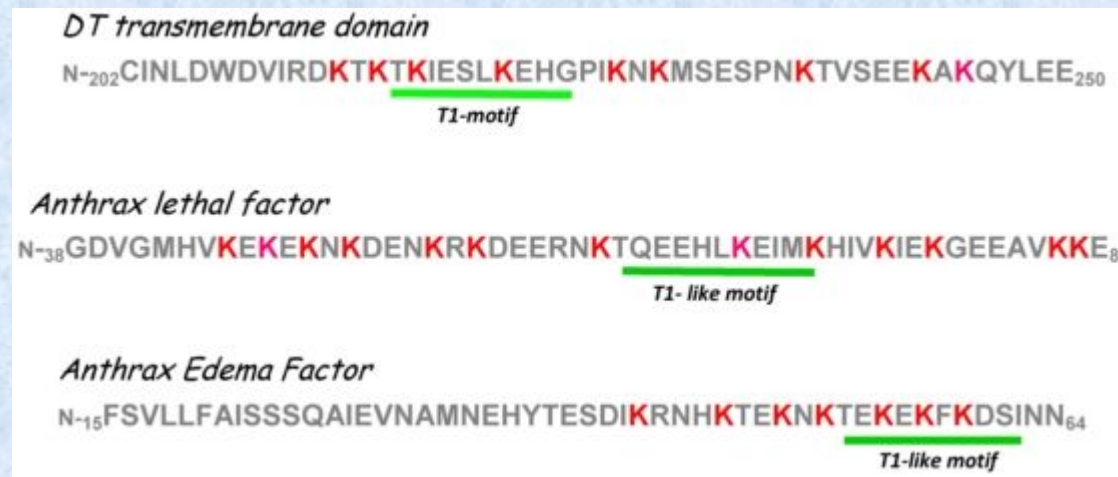
У дифтамида не обнаружено других функций. Более того, клетки с мутантным EF-2, не способным присоединять АДФ-рибозу, имеют нормальный белковый синтез и отличаются от обычных клеток лишь полной устойчивостью к дифтерийному токсину.

Механизм образования трансмембранной поры



- Схематическое изображение внедрения введения трансмембранного домена дифтерийного токсина в мембрану эндосомы, что приводит к образованию трансмембранной поры.
- N-терминальная часть трансмембранного домена связана дисульфидными связями с С-концевым участком каталитического домена.
- Присоединение COP1 комплекса облегчает перемещение каталитического домена через мембрану.

Функции СОР1 белка у токсинов других возбудителей



- Аминокислотные последовательности N-концевых участков трансмембранного домена дифтерийного токсина, летального и отеочного фактора – токсинов возбудителя сибирской язвы, показывающий положение их T1 или T1-подобных участков, как участки связывания (KXKXX) с СОР1 белком облегчает перемещение каталитического домена токсинов через мембрану.

Механизм образования фибриновых пленок при дифтерии

- Токсигенные штаммы бактерий выделяют экзотоксин и ферменты (нейроменидазу), провоцируя формирование очага воспаления.
- **Местное действие** дифтерийного токсина выражается в коагуляционном некрозе эпителия, развитии гиперемии сосудов и стаза крови в капиллярах, повышении проницаемости сосудистых стенок.
- Экссудат, содержащий фибриноген, лейкоциты, макрофаги и эритроциты, выходит за пределы сосудистого русла.
- На поверхности слизистой оболочки в результате контакта с тромбопластином (ФСК III) некротизированной ткани фибриноген превращается в фибрин.
- Образовавшийся фибрин и некротизированный эпителий представляют собой плотное, довольно толстое образование — **дифтерийную пленку**.
- Постепенно отделяемое становится грязноватым, едким и вызывает воспаление кожи краев раны. Там могут появиться трещины кожи, которые способствуют присоединению вторичной инфекции.

Развитие *C. diphtheriae* в организме человека, зависимость от ионов железа

- Продукция дифтерийного токсина токсигенными штаммами *Corynebacterium diphtheriae* регулируется геном *dtxR*, продуктом которого является в железо-зависимый белок-репрессор *DtxR*.
- Белок *DtxR* действует в качестве глобального регулятора метаболизма в *C. diphtheriae*. Он участвует в регуляции экспрессии дифтерийного токсина, а также отвечает за регулирование синтеза сидерофоров.
- Концентрация свободного железа в живых тканях, примерно, 10-12 мкм, что значительно ниже, чем это требуется для роста бактерий. Патогенные бактерии преодолевают эту проблему с помощью систем поглощения железа, многие из которых связаны с сидерофорами.
- Сидерофоры обладают высоким сродством к ионам. Бактерии выделяют эти соединения для связывания железа и транспортировки его обратно в бактериальную клетку, через специфические мембранные рецепторы.

Клиническая картина дифтерии ротоглотки

- обширные пленки в ротоглотке, которые покрывают миндалины, все соседние отделы ротоглотки и иногда распространяются даже до твердого неба,
- отек слизистой оболочки ротоглотки, который приводит к резкому уменьшению просвета зева, вплоть до его полного исчезновения (миндалины смыкаются между собой, иногда ущемляя маленький язычок).
- фиброзная пленка имеет белесоватый или грязно-серый цвет, нередко пропитана кровью. Из рта исходит сладковатый запах.
- отека подкожной клетчатки шеи, который в зависимости от степени тяжести процесса может ограничиться подчелюстной областью (субтоксическая форма), распространиться до середины шеи (I степень), до ключицы (II степень) или спуститься ниже ключицы (III степень). Отек может быть как с обеих сторон, так и с одной (соответственно изменениям в ротоглотке).
- токсические формы составляют 20 — 22% от общего числа заболевших, причем среди них половина приходится на токсическую дифтерию II и III степени.

Результат действия дифтерийного токсина

- **На нервную ткань** — демиелинизация нервных волокон, приводящая к параличам, парезам и невритам черепных нервов и полиневритов. Чаще развиваются парезы мягкого неба, глотки, аккомодации, нижних и верхних конечностей, дыхательных мышц.
- **На ткань почек** - токсический нефроз, при котором в основном страдает эпителий канальцев.
- **На ткани сердца** – паралич сердца, миокардит (является одной из основных причин летальных исходов).
- **На ткани дыхательной системы** - паралич дыхательных мышц и диафрагмы.