

## Rola uroepithelium i zaburzeń immunologicznych w patogenezie zakażeń układu moczowego.

### Część I. Budowa i funkcja biologiczna bariery uroepithelialnej. Czynniki determinujące wirulencję bakterii uropatogennych

Błona śluzowa układu moczowego stanowi szczelną barierę biologiczną chroniącą organizm przed inwazją drobnoustrojów z jej powierzchni w głąb tkanek w stanach fizjologicznych. Specyficzne właściwości komórek uroepithelialnych umożliwiają szybką eliminację drobnoustrojów wraz z złuszczonej komórkami, z następową sprawną regeneracją tych komórek. Drobnoustroje uropatogenne wyposażone są w szereg czynników wirulencji, które pozwalają im pokonać barierę śluzówkową i naruszyć integralność tkanek. Czynniki wirulencji warunkują zdolność bakterii do adhezji, rozmnażania się w różnych warunkach oraz obrony przed działaniem układu immunologicznego gospodarza. Są one kodowane przez fragmenty DNA zwane „wyspami patogenności”. Ekspresja czynników wirulencji jest zależna od środowiska, w którym znalazł się drobnoustroj, oraz odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Uropatogenność bakterii może wynikać z ich zdolności do tworzenia biofilmów lub występowania zjawiska „mimikry cząsteczkowej”. Poznanie złożonych mechanizmów wirulencji patogenów pozwala zrozumieć trudność w leczeniu ZUM.

(NEFROL. DIAL. POL. 2008, 12, 241-243)

## Role of uroepithelium and abnormal immunological responses in the pathogenesis of urinary tract infections. Part I: Structure and function of the uroepithelial barrier. Factors determining bacterial virulence

The mucous membrane of the urinary tract is a tight biological barrier protecting the urinary ways from invading microorganisms. Under physiological conditions specific characteristics of uroepithelial cells are able to eliminate bacteria from the urinary tract together with the shedded cells after which regeneration of the uroepithelium takes place. Uropathogenic bacteria are equipped with a lot of virulence enhancing factors, which are to penetrate the mucous membrane and destroy the integrity of epithelial cell structure. Virulence factors are enabling bacteria to adhere to cell surface and to proliferate under different conditions, as well as to defend themselves against host defence mechanisms. These factors are coded by DNA fragments called "pathogenetic isles". Expression of virulence factors is dependent upon the complexity of the surrounding environment and immunological responses of the patients. Uropathogenicity may be caused by biofilms or presence of "mimicry molecules". The complexity of virulence enhancing mechanisms explains, why treatment of urinary tract infections are often so difficult.

(NEPHROL. DIAL. POL. 2008, 12, 241-243)

#### Wstęp

Gotowość ludzkiego organizmu do obrony przed inwazją, wszechobecnych w otaczającym nas świecie mikroorganizmów jest jednym z największych fenomenów natury. Dynamiczny stan równowagi między siłami obronnymi ustroju, a wirulencją drobnoustrojów jest determinantem zachowania

zdrowia. Miejscem stałego kontaktu drobnoustrojów z organizmem gospodarza są błony śluzowe. Na ogromnej powierzchni błon śluzowych przewodu pokarmowego, dróg oddechowych, a także układu moczowego drobnoustroje nieustannie próbują

Lidia HYLA-KLEKOT

Tomasz KOSZUTSKI\*

Chorzowskie Centrum Pediatrii i Onkologii  
w Chorzowie, Oddział Nefrologii Dziecięcej  
Kierownik Oddziału: Lidia Hyla-Klekot

\*Klinika Chirurgii Dziecięcej Górnośląskiego  
Centrum Matki i Dziecka w Katowicach,  
Oddział Urologii Dziecięcej  
Kierownik Oddziału: Tomasz Koszutski

#### Słowa kluczowe:

- bariera uroepithelialna
- wirulencja bakterii
- wyspy patogenności
- biofilm bakteryjny
- mimikra cząsteczkowa

#### Key words:

- uroepithelial barrier
- bacterial virulence
- pathogenetic isles
- bacterial biofilms
- molecular mimicry

#### Adres do korespondencji:

Dr hab. n. med. Lidia Hyla-Klekot  
Chorzowskie Centrum Pediatrii i Onkologii  
41-500 Chorzów, ul. Truchana 7  
Tel.: 0602805236  
e-mail: klekota@poczta.onet.pl

przełamać śluzówkową barierę ochronną i naruszyć integralność tkanek. Nic więc dziwnego, że ustrój ludzki dysponuje niezwykle specyficznymi, wysoko wyspecjalizowanymi mechanizmami obronnymi, których rolą jest niedopuszczenie do inwazji drobnoustrojów w głąb organizmu.

Układ moczowy pokrywa ogromna powierzchnia błony śluzowej, będącej potencjalnymi wrotami zakażenia. Śluzówka ta posiada specyficzny, niepowtarzalny w innych układach śluzówkowych, system immunologiczny. Nie jest on bowiem reprezentowany w jałowym układzie moczowym w postaci ukształtowanej tkanki limfoidalnej na wzór jelitowych kłepków *Peyera*, lecz jest pobudzany, rekrutowany do obrony przeciwbakteryjnej w odpowiedzi na stymulację antygenami drobnoustrojów [2,11,14].

Komórki uroepithelium są niezwykle czułymi detektorami bodźców środowiskowych. Stanowią swoistą barierę między środowiskiem, a tkanką podśluzówkową, wytwarzając szczelne połączenia, uniemożliwiając tym samym kontakt drobnoustrojów i makromolekuł z tkanką podśluzówkową. Ich stymulacja przez antygeny bakteryjne skutkuje aktywacją „pierwszej linii obrony”. Pobudzone komórki uroepithelium współdziałają z innymi elementami komórkowymi reprezentującymi wrodzone, pierwotne mechanizmy immunologiczne (monocyty, makrofagi, komórki dendrytyczne limfocyty T), a także z innymi elementami układu immunologicznego (chemokiny, cytokiny, cząsteczki adhezji komórkowej). Komórki uroepithelium są typowymi komórkami „pierwszej linii obrony”, a tym samym zajmują unikatową pozycję w odporności wrodzonej.

### Szczelność bariery uroepithelialnej

Bariera uroepithelialna jest nieprzepuszczalna dla wody i substancji w niej rozpuszczonych. Czynnikiem biologicznym, odpowiedzialnym za utrzymanie ciągłości tej bariery jest białko – kładyna 4, która łączy czynnościowo spolaryzowane komórki śródbłonka. W zdrowym uroepithelium, ekspresję kładyny 4 wykazano na podstawnobocznej i apikalnej powierzchni komórek podstawnych i przejściowych, lecz nie stwierdzono jej obecności w warstwie komórek powierzchniowych (pośrednich). Kontakt fimbrii H z uroepithelium promuje wzrost ekspresji kładyny 4 w populacji komórek pośrednich. Wczesny, bezpośredni wzrost ekspresji kładyny w nabłonku przejściowym w następstwie oddziaływania antygenów rzęskowych wskazuje na swoistą mobilizację uroepithelium do odnowy dla zachowania szczelności bariery czynnościowej. Jest to reakcja na masywne złuszczenie się komórek uroepithelium zainfekowanych *E.coli*. W procesie tym zaangażowanych jest szereg czynników molekularnych regulujących różnicowanie i proliferację komórek śródbłonka, odpowiedź zapalną i apoptozę. Niedawno poznany śródbłonkowy czynnik transkrypcyjny Elf 3 wywołuje transaktywację licznych genów uczestniczących w różnicowaniu komórek uroepithelium [11].

Złuszczenie się komórek uroepithelium jest elementem wrodzonych mechanizmów odpornościowych, przyczyniających się do eliminacji bakterii z pęcherza. Proces złuszczenia poprzedzony jest apoptozą komórek

powierzchniowych, podlegającą również wielogenowej regulacji. Jeśli odpowiedź apoptotyczna zostanie zablokowana przez inhibitor kaspazy, proces złuszczenia komórek uroepithelium, a także klirens bakterii zostają upośledzone. Oddzielenie się komórek powierzchniowych przejściowych pęcherz moczowy po połączeniu się z komórkami *E.coli* przy pomocy fimbrii H, powoduje następną szybką rekonstrukcję uroepithelium poprzez różnicowanie leżących pod nimi komórek podstawnych i przejściowych [11].

Proces odróżnicowania komórek pośrednich do warstwy komórek powierzchniowych zachodzi w ciągu 12-48 godzin. Po 7 dniach uroepithelium wykazuje cechy pełnej regeneracji i powrót do wyjściowej struktury histologicznej.

Błyskawiczna regeneracja uroepithelium w odpowiedzi na fimbrie uropatogennych *E.coli* jest innym procesem niż odnowa nieuszkodzonego uroepithelium, która trwa nawet do 40 dni. Uropatogenne bakterie powodują akcelerację przebiegającego powoli procesu odnowy uroepithelium. Ta przyspieszona dyferencjacja komórek podstawnych i pośrednich w komórki powierzchniowe ma znamiona zmian przednowotworowych [11].

Aktywacja odpowiedzi immunologicznej w śluzówce dróg moczowych w odpowiedzi na zakażenie bakteryjne jest zdeterminowana przez dwa czynniki: specyficzne właściwości drobnoustrojów warunkujące ich wirulencję i sprawną, dobrze funkcjonującą drogę sygnałową nabłonka.

### Czynniki patogenności bakterii

Bakterie, występujące w środowisku człowieka są wyposażone w struktury komórkowe oraz mechanizmy adaptacyjne pozwalające im przetrwać w różnych warunkach środowiskowych, a także pokonać bariery obronne, uniknąć i namnożyć się w organizmie gospodarza. Najczęstszym czynnikiem etiologicznym zakażeń układu moczowego są uropatogenne szczepy pałeczek *E.coli*, zaliczane są do grupy pozajelitowych patogennych odmian tych Gram (-) bakterii. Ich patogenność jest zdeterminowana obecnością licznych czynników wirulencji, których ekspresja nie jest sprawą konstytutywną lecz podlega wieloczynnikowej regulacji [12,22].

Poznano następujące czynniki warunkujące wirulencję bakterii uropatogennych:

1. Produkcja adhezyn warunkujących „przyleganie” bakterii do uroepithelium. Poznano strukturę i właściwości antygenowe adhezyn uropatogennych szczepów *E.coli*, których ekspresja ma miejsce w strukturach komórkowych, takich jak P-pili, fimbrie S, C-cruli (CSqA).

2. Synteza i uwalnianie toksyn ( $\alpha$ -hemolizyny, czynniki cytotoksyczne C4F1, auto-transporter serynowo-proteazowy).

3. Zdolność syntezy guaniny i argininy niezbędnych do rozmnażania się bakterii, a także zdolność wykorzystywania atomów węgla i azotu obecnych w moczu do syntezy białek i struktur komórkowych drobnoustrojów.

4. Układ zaopatrzenia w żelazo umożliwiający „wyłapywanie” jonów Fe z moczu, niezbędnych do reakcji utleniania i redukcji zachodzących w procesach metabolicznych bakterii [12].

Ponadto bakterie uropatogenne posiadają zdolność namnażania się przy bardzo zmiennej osmolalności i pH moczu, zaś wydzielane przez nie protektyny chronią drobnoustroje przed śmiertelnością działaniem dopełniacza. W komórkach pałeczek *E.coli* zidentyfikowano szereg genów kodujących czynniki wirulencji. Interesujący jest fakt, że istnieje pula genów wspólnych dla wszystkich szczepów uropatogennych oraz geny kodujące czynniki wirulencji, swoiste tylko dla danego szczepu *E.coli*. Nie wykazano istnienia ani jednego wspólnego, identycznego układu (kompozycji) czynników wirulencji w różnych szczepach uropatogennych bakterii. Ten fakt może tłumaczyć trudności w leczeniu zakażeń układu moczowego. Kilka czynników wirulencji kodowanych jest w obrębie jednej „wyspy patogenności” – PAI.

PAI są fragmentami DNA swobodnie poruszającymi się w komórce bakteryjnej. Mogą one zarówno zostać „wyrzucone” z wnętrza drobnoustroju i wówczas traci on swoją wirulencję lub ulec inkorporacji do innej komórki, przez co zostaje ona wzbogacona o zbitek genów kodujących określone czynniki wirulencji. Zjawisko to określa się jako skok kwantowy – „*quantum leap*”. Drobnoustroje uropatogenne posiadają również zdolność wymiany pojedynczych nukleotydów w kodującym wirulencję genie. Wykazano, że zamiana seryny na adeninę w pozycji 62 znacznie zwiększa powinowactwo fimbrii H *E. coli* do kolagenu IV, a tym samym ich zdolność do adhezji [12].

Ekspresja genów czynników wirulencji jest zmienna i zależy od środowiska, w którym znalazł się drobnoustroj. Decyduje ona o sile ataku na układ immunologiczny gospodarza, a także o różnicach w odpowiedzi obronnej makroorganizmu. Wirulencja drobnoustrojów uropatogennych zależy nie tylko od ekspresji genów kodujących określony czynnik, ale także od koekspresji genów wspomagających (*fitness genes*). Taką rolę pełnią np. geny kodujące syntezę pewnych aminokwasów, czy białek szoku termicznego [12].

Antygeny bakteryjne, których ekspresja zachodzi na strukturach komórkowych, takich jak fimbrie, pili czy cruli, wykazują różnego stopnia powinowactwo do receptorów obecnych na komórkach uroepithelium, co determinuje w sposób bezpośredni, rodzaj i skuteczność odpowiedzi immunologicznej gospodarza. W sytuacjach patologicznych dochodzi do prezentacji antygenowych komponent bakteryjnych. Fimbrie pojawiają się na powierzchni komórek bakteryjnych, dokonując aktu zadokowania bakterii tam, gdzie występuje ekspresja receptora dla fimbrii (*associated adhesin*). Proces adhezji zapoczątkowuje uruchamianie różnych przebiegających szlaków sygnalizacyjnych w komórkach nabłonkowych, w następstwie czego wrodzony układ odpornościowy zostaje pobudzany do obrony przeciwbakteryjnej [22].

### Tworzenie biofilmów

Ważnym ogniwem wirulencji bakterii uropatogennych jest zdolność tworzenia biofilmów. Posiadają ją niektóre szczepy uropatogennych *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, a także ziarniaki Gram (+) (*Staphylococcus aureus* i *epidermidis*). Są to agre-

gaty komórek bakteryjnych zatopione w macierzy, pokrywające powierzchnie organiczne i nieorganiczne. Czyni to bakterie niedostępne dla układu immunologicznego gospodarza, a także upośledza penetrację antybiotyków. Tworzenie biofilmu bakteryjnego przebiega dwufazowo. W fazie I – zwanej fazą przylegania (adhezji), dochodzi do połączenia się drobnoustroju z powierzchnią. W tym procesie istotne znaczenie ma hydrofobowość i ładunek elektryczny powierzchni oraz zawartość kwasu teichonowego w ścianie komórki bakteryjnej lub białek wykazujących powinowactwo do białek tkanki śródmiąższowej (fibronektyna, kolagen). W fazie II zachodzi aktywna synteza przez komórki bakteryjne adhezyn, umożliwiających kontakt jednej bakterii z drugą i tworzenia w obrębie macierzy agregatów patogenów. Tworzenie biofilmów stanowi ważne ogniwo wirulencji drobnoustrojów uropatogennych. W przyszłości uda się być może opracować inhibitory syntezy biofilmów jako potencjalnej strategii terapeutycznej w leczeniu opornych zakażeń układu moczowego [13].

#### **Zjawisko mimikry cząsteczkowej**

Innym sposobem wykorzystywanym przez bakterie w pokonywaniu mechanizmów obronnych ustroju jest zjawisko mimikry cząsteczkowej. Polega ono na homologii strukturalnej, serologicznej lub biologicznej między bakteriami a gospodarzem, pozostając w korelacji z patogennością. Mimikra cząsteczkowa jest zatem strategią wykształconą przez patogeny, która umożliwia im wniknięcie do organizmu gospodarza, dotarcie do komórki docelowej, a następnie manipulowanie wewnątrz- i zewnątrzkomórkowymi procesami w celu wymknięcia się spod kontroli układu odpornościowego gospodarza. Obecna na powierzchni drobnoustroju cząsteczka podobna do cząsteczki gospodarza nie wywołuje odpowiedzi immunologicznej, zgodnie z zasadą to-

lerancji immunologicznej. Udowodniono udział lipopolisacharydowych antygenów bakterii uropatogennych w zjawisku mimikry cząsteczkowej [21].

Poznanie niezwyklego arsenatu, który w drodze ewolucji wytworzyły drobnoustroje dla promocji swego rozwoju, przetrwania i przełamania barier obronnych makroorganizmów, pozwala, choć w części zrozumieć i wyjaśnić szereg zjawisk klinicznych i trudności na jakie napotykamy w leczeniu zakażeń bakteryjnych.

Warto podkreślić, że nie mając alternatywy, sposobem obrony przed inwazją drobnoustrojów z powierzchni błony śluzowej wyścielającej drogi moczowe, jest sprawne precyzyjne i skuteczne funkcjonowanie układu immunologicznego gospodarza. Bez tego, żadna forma terapii przeciwbakteryjnej nie będzie skuteczna.

**Piśmiennictwo** podane jest w części II niniejszej pracy.