

СТРАТЕГИИ ПРОГРАММИРОВАННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ У ПРОКАРИОТ

Б.Г. Андриюков, Л.М. Сомова, Н.Ф. Тимченко

ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова СО РАМН, г. Владивосток, Россия

Резюме. Программированная гибель клеток (ПГК) была впервые изучена в эукариотических организмах. Эта система также функционирует в процессе развития прокариот. Система ПГК у микроорганизмов активируется широким спектром сигналов в ответ на стрессы, связанные с неблагоприятными условиями окружающей среды или воздействием антибактериальных средств. Результаты многочисленных исследований, проведенных в последнее десятилетие, позволяют рассматривать систему ПГК у прокариот как средство эволюционного сохранения вида. Эти результаты существенно расширили представления о роли ПГК у микроорганизмов и открыли ряд важных направлений исследований, морфологических и молекулярно-генетических подходов к изучению стратегий смерти ради выживания у бактериальных популяций. Цель обзора: обобщение сведений о морфологических и молекулярно-генетических признаках ПГК у прокариот, являющихся реальными проявлениями механизмов этого феномена.

Ключевые слова: прокариоты, апоптоз, аутолиз, некроз, пироптоз, маркеры, антибиотики.

STRATEGY OF PROGRAMMED CELL DEATH IN PROKARYOTES

Andrukov B.G., Somova L.M., Timchenko N.F.

FSBI Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, SB of RAMS, Vladivostok, Russia

Abstract. Programmed cell death (PCD) was first studied in eukaryotic organisms. This system also operates in the development life cycle of prokaryotes. The system PCD in microorganisms is activated a wide range of signals in response to the stresses associated with adverse environmental conditions or exposure to antibacterial agents. The results of numerous studies in the past decade allow considering the system PCD in prokaryotes as an evolutionary conservation of the species. These results significantly expanded understanding of the role of PCD in microorganisms and opened a number of important areas of research of the morphological and molecular genetic approaches to the study of death strategies for the survival in bacterial populations. The purpose of the review is to summarize the morphological and molecular genetic characteristics of PCD in prokaryotes which are real manifestations of the mechanisms of this phenomenon.

Key words: prokaryotes, apoptosis, autolysis, necrosis, pyroptosis, markers, antibiotics.

Программированная гибель клеток (ПГК) определяется как активный, тонко регулируемый процесс клеточного самоубийства в любой форме, генетически опосредованный внутри-

клеточными программами. Этот процесс может быть активирован некоторыми сигналами, включая информацию из метаболического статуса клетки, ее внеклеточного окружения

Адрес для переписки:

Андриюков Борис Георгиевич
690087, Россия, г. Владивосток, ул. Сельская, 1,
ФГБУ НИИЭМ им. Г.П. Сомова СО РАМН.
Тел./факс: 8 (423) 244-14-38.
E-mail: andrukov_bg@mail.ru

Contacts:

Boris G. Andrukov
690087, Russian Federation, Vladivostok, Selskaya str., 1,
Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology,
Siberian Branch of RAMS.
Phone/fax: +7 (423) 244-14-38.
E-mail: andrukov_bg@mail.ru

Библиографическое описание:

Андриюков Б.Г., Сомова Л.М., Тимченко Н.Ф. Стратегии программированной клеточной гибели у прокариот // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 1. С. 15–26. doi: 10.15789/2220-7619-2015-1-15-26

Citation:

Andrukov B.G., Somova L.M., Timchenko N.F. Strategy of programmed cell death in prokaryotes // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 15–26. doi: 10.15789/2220-7619-2015-1-15-26

и в процессе ее развития [13, 24]. Как правило, ПГК используется для ликвидации лишних или потенциально вредных клеток.

В наши дни термин «программированная смерть» используется для обозначения любой формы клеточной гибели — опосредованной внутриклеточной программы, независимо от того, что ее вызывает и имеются ли морфологические и биохимические характеристики апоптоза [26].

В последние годы исследования показали, что апоптоз и другие формы программированной гибели клеток имеют место не только у многоклеточных животных, но и у растений [80], низших эукариот [85], реснитчатых, жгутиковых [67] и дрожжей [60, 67]. Феномен клеточной смерти у одноклеточных организмов имеет много общих черт с апоптозом у многоклеточных организмов, включая фрагментацию ДНК, цитоплазматическую пузырчатость и вакуолизацию, а также регуляцию экстрацеллюлярными сигналами либо экологическими стрессорами [26].

Принципиально механизм клеточной смерти у одноклеточных и многоклеточных эукариот сходен. Во многих исследованиях апоптоза у одноклеточных эукариот установлен факт участия в гибели клеток цистеиновых протеаз и митохондрий, что может указывать на очень древнее происхождение и относительную консервативность механизмов апоптоза. Основными маркерами апоптоза у одноклеточных эукариот, как и у большинства эукариот вообще, являются фрагментация ДНК и последующий распад клетки на отдельные апоптозные тельца [55, 66].

Еще в конце XX века в нескольких научных статьях было высказано предположение о том, что система ПГК существует и у прокариотических организмов. Как и у эукариот, она служит для программной ликвидации поврежденных клеток в процессе развития [55, 58, 66]. В работе К. Lewis (2000) [58] приведены убедительные литературные доказательства, что ПГК может играть важную роль в процессе развития бактерий, проявляясь в виде лизиса материнской клетки у спорообразующих микроорганизмов и лизиса вегетативных клеток при почковании миксобактерий.

Эти и другие данные дали основание предположить, что хорошо описанные явления аутолиза бактерий после воздействия антибиотиков или других неблагоприятных факторов окружающей среды на самом деле можно представлять как функционирование ПГК в целях устранения поврежденных клеток в популяции. Кроме того, не исключено, что спонтанный лизис большей части популяции бактерий, часто наблюдающийся в стационарной фазе роста

бактериальных культур и происходящий при культивировании в условиях недостаточного питания, может также являться примером ПГК [23, 58, 88].

На первый взгляд, может показаться, что механизм ПГК не выгоден для одноклеточных микроорганизмов. Тем не менее, мы все больше осознаем, что «простейшие» микроорганизмы являются представителями сравнительно сложных сообществ. Они живут в колониях, таких как биопленки, где координируются экспрессией генов и «поведением членов сообщества». В этих ситуациях «альтруизм» и «самопожертвование» большинства представителей популяции в условиях воздействия повреждающего агента можно представить, в конечном счете, как способ выживания немногих оставшихся бактерий. Пока еще проведено недостаточно исследований механизмов ПГК у прокариот и работ, посвященных этой теме, в отечественной литературе мало.

Таким образом, цель настоящего обзора состоит в обобщении сведений о морфологических и молекулярно-генетических признаках ПГК у прокариот, являющихся реальными проявлениями механизмов этого феномена.

Формы программированной гибели клеток

В научной литературе нередко ПГК приравнивали к апоптозу, однако сегодня становится ясно, что и неапоптотические формы клеточной смерти — аутофагия, некроз, а также недавно открытый пироптоз (pyroptosis) и другие формы гибели клеток [2] — также важны для организма. Биохимические и молекулярно-генетические основы для этих альтернативных морфологических форм клеточной смерти пока остаются малоизученными.

В качестве прелюдии к обсуждаемой теме необходимо остановиться на кратком описании основных и альтернативных форм ПГК у прокариот, которые сегодня привлекают наибольшее внимание в научной литературе [2, 19, 35, 49].

Апоптоз. Основная и наиболее изученная форма ПГК — это апоптоз, или тип I. Впервые термин «апоптоз» (в переводе с древнегреческого — «опадение», или «листопад»), ввели J.F. Kerr et al. [52], которые справедливо предположили, что этот феномен играет важную роль в нормальном обмене веществ в клетках и нарушения в его механизме могут стать причиной возникновения заболеваний. В настоящее время изучено множество интегральных механизмов, с помощью которых апоптоз может быть запущен в эукариотических клетках [2, 35, 75, 82].

Один из таких механизмов (внутренний) — митохондриальный — связан с изменением мембранного потенциала и освобождением проапоптотических белков семейства Bcl-2. Он зависит от протеолитического каскада активации и выделения в цитоплазму цитохрома С, флавопротеина AIF (apoptosis inducing factor — фактор, индуцирующий апоптоз), прокаспазы, что является ключевым событием при апоптозе в клетках эукариот и также одним из пусковых событий в системе ПГК в микроорганизмах [2, 8, 88]. В свою очередь, это ведет к активации каспаз — большого семейства протеаз, которые вовлекаются в инициацию и участие в организованном демонтаже клеток [2, 23, 88]. Этот путь, по-видимому, имеет место у всех клеток эукариотических организмов, обладающих митохондриями. Особенностью такого механизма является его относительная независимость от каспаз [12, 67].

Другой путь (внешний), достаточно широко распространенный у низших эукариот и растений, является зависимым от ферментов, подобных каспазам млекопитающих и берущих начало от поверхностных рецепторов клеток, осуществляющих трансдукцию (передачу) апоптотических сигналов. Это семейство так называемых рецепторов смерти, «death receptors» (среди наиболее изученных рецепторов — Fas, он же APO-1 или CD95, TNFR-1, он же p55 или CD120a, DR3, DR4, DR5 и их соответствующие лиганды), которые имеют прямую связь с механизмом апоптоза [1, 2, 12].

Все рецепторы смерти представляют собой трансмембранные белки, характеризующиеся наличием общей последовательности из 80 аминокислот в цитоплазматическом домене (так называемый «домен смерти», death domain, DD). Именно с этими рецепторами у многоклеточных эукариот связан и другой путь апоптоза (так называемый инструктивный апоптоз). Его основой служит механизм передачи суицидного сигнала от «рецепторов смерти» плазматических мембран через цепочку сигнальных белков, включающих в себя каспазоподобный фермент, к митохондриям и затем в ядро [21, 85]. В настоящее время описан ряд других взаимозависимых путей, связанных с внутренним механизмом апоптоза, в которых задействованы разнообразные проапоптотические белки [35, 84, 89].

Апоптоз по ряду морфологических признаков отличается от аутофагии (лизосомальной деградации внутриклеточных белков, липидов, нуклеиновых кислот и органелл), от некроза (который является результатом острого воспалительного повреждения ткани) и пироптоза (провоспалительной смерти макрофагов и моноцитов, в основе которой лежит избы-

точная продукция интерлейкина-1, сопровождающая инфекционные процессы, вызванные *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Francisella tularensis*, *Legionella pneumophila*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Burkholderia pseudomallei*, *Candida albicans* и другими микроорганизмами [1, 2, 33, 56, 66].

Аутофагия. Аутофагическая гибель клеток, или тип II ПГК, на первый взгляд менее сложная, но в настоящее время намного менее понятная форма [23, 24, 35]. Это связано с тем, что аутофагия сама по себе является клеточным процессом, который служит для защиты клетки от стресса [23]. Аутофагия является эволюционно консервативной формой для деградации внутриклеточных компонентов [64, 82].

Аутофагический механизм является объектом жесткого генетического регулирования и активируется при отсутствии или недостатке питательных веществ, наличии в клетке поврежденных органелл или частично денатурированных белков с помощью хорошо изученного сложного процесса, связанного с разнообразными регуляторными белками [59, 82].

Описаны три варианта этой формы ПГК, названные макроаутофагией, микроаутофагией и шаперон-опосредованной аутофагией [53]. При этих вариантах аутофагия активируется в ответ на пищевой и энергетический голод, когда клетка захватывает макромолекулы и белки (микроаутофагия), участки цитоплазмы, органоиды (макроаутофагия). После переваривания в лизосомах они становятся материалом для синтеза молекул и экспрессии генов, которые могут служить для предотвращения преждевременной гибели клеток. Аутофагия признается основной формой для сохранения клеточного гомеостаза в условиях стресса, вызванного пищевым голодом, недостатком энергии и гипоксии, что играет в этом важнейшем процессе многофункциональную роль [63, 82].

Таким образом, аутофагический путь отвечает статусу регулятора потока питательных веществ и энергии при их дефиците или потере. Возникновение аутофагии имеет решающее значение при ответе микроорганизмов на воздействие неблагоприятных условий окружающей среды, недостатке питания и, как правило, рассматривается в качестве механизма выживания клеток [11, 35, 50].

Некроз. Тип III ПГК также известен как некроз и связан с лизисом клеток в ответ на острую нефизиологическую травму, приводящую к повреждению наружной мембраны с последующим выходом внутриклеточного содержимого во внеклеточное пространство, что приводит к местному воспалению и повреждению окружающих тканей [82]. Эта гибель клеток отличается от апоптоза по ряду легко выявляе-

мых ключевых биохимических, молекулярных и морфологических признаков, хотя эти два процесса не обязательно являются взаимоисключающими [35, 95].

Многие стрессоры, которые вызывают апоптоз при низких и умеренных дозах, в итоге могут вызвать некроз при относительно высоких дозах. Ряд эндогенных стрессоров могут обеспечить баланс между апоптотической и некротической смертью клетки. Клеточная энергия (уровни АТФ) является одним из таких факторов, определяющих форму ПГК. Достаточный уровень АТФ необходим для инициации ступенчатой активации каспаз, в то же время быстрое снижение уровня клеточной энергии обычно приводит к некротической гибели клеток [95].

Биохимический механизм с участием рецептора смерти типа TNF α опосредует формирование некротического комплекса с последующей активацией рецепторов взаимодействующих протеинкиназ 1 и 3 (RIPK-1 и 3), что может привести как к апоптозу, так и к некротической гибели клеток [13, 35, 42]. Соединения, способные ингибировать RIPKs, были идентифицированы как ингибиторы некроза [12, 42]. Эти и другие исследования допускают реальность клинических стратегий, направленных на предотвращение некоторых форм некротической гибели клеток.

Морфологические и биохимические признаки программированной гибели прокариот

В эволюционном плане система ПГК является широко распространенной в различных царствах живого, включая прокариот. Существует теория, что она возникла у одноклеточных микроорганизмов как механизм противовирусной защиты популяций и в процессе развития была закреплена у простейших одноклеточных эукариот. В дальнейшем, с появлением многоклеточных организмов, система ПГК совершенствовалась и была приспособлена, наряду с защитой от патогенов, для реализации важных жизненных функций — дифференцировки клеток и тканей при эмбриогенезе и постэмбриональном развитии, для элиминации состарившихся и подвергшихся воздействию мутагенных факторов клеток [2].

Как уже говорилось ранее, наиболее изученным проявлением системы ПГК на сегодняшний день является апоптоз. В целом проявление апоптоза (в его каспаза-зависимом или каспаза-независимом вариантах) характеризуется комплексом определенных биохимических и морфологических признаков, которые пред-

шествуют и сопровождают клеточную смерть. Эти физиологические изменения направлены на изменение клеточного цикла, приостановку репарации ДНК, изменение внутриклеточного гомеостаза и возникновение ультраструктурных изменений, связанных с последующим демонтажем биомолекулярной архитектуры бактериальной клетки [20].

ПГК у бактерий можно определить как любой вид генетически контролируемого клеточного демонтажа с активацией специфических для клеточной гибели преобразователей, регуляторов и эффекторов [30]. Запрограммированная смерть у микроорганизмов обычно связывается с реакцией на стресс, обусловленный аминокислотным голодом [2, 6], наличием бактерий-конкурентов [5], температурой окружающей среды [3, 4] или воздействием антибактериальных средств [10, 29, 48].

С этой последовательностью контролируемых событий, связанных с системой ПГК, ассоциированы характерные морфологические и биохимические изменения клеток, подвергнувшихся апоптозу. Эти изменения отражают деградацию погибающей клетки и включают ее сжатие, приобретение кокковидной формы и в финале — клеточную фрагментацию на апоптотические тела, которые поглощаются фагоцитами организма-хозяина. На молекулярном уровне одним из последствий апоптоза является накопление специфических молекулярных маркеров, распознаваемых фагоцитирующими клетками: фосфатидилсерина, тромбоспоидина и других фосфолипидов во внешнем слое наружной мембраны, конденсацию хроматина, фрагментацию ядра и ДНК, протеолиз [52, 55, 63]. Перечисленные морфологические и биохимические признаки составляют основу для дифференциации между апоптозом и другими формами ПГК (аутолиз, пироптоз и некроз).

Кроме уже упоминавшихся выше примеров программированной ликвидации бактериальных клеток при споруляции или формировании почкующихся телец, можно привести факты реализации ПГК, обнаруженные у многоклеточных микроорганизмов *Streptomyces* spp., которые образуют длинные многоядерные гифы. А. Manteca et al. [62] показали, что в течение жизненного цикла этих прокариот, большое количество гифов в конце концов отмирает, а выжившие дифференцируются из цепи спор в зрелые колонии. В частности, было показано, что, умирая, *Streptomyces antibioticus* проходят систематический процесс внутренней клеточной разборки, и это сводит к минимуму нарушение архитектуры колонии. Биохимические маркеры деградации клеточной стенки и мембраны, деградации ДНК и РНК подтвердили существование высоко регулируемого, активного

клеточного самоубийства, повлекшего за собой активацию специфических ферментов деградации [62, 80, 83]. Среди этих ферментов были предшественники неспецифических нуклеаз, принимающих участие в деградации хромосом [80, 84, 93] и специфических нуклеаз (*endoG*), которые вызывают изменения хромосом, аналогичные тем, которые появляются при апоптозе эукариотических клеток [83, 90].

Еще один потенциальный механизм программированной смерти у бактерий был обнаружен в ходе длительного изучения *Xanthomonas campestris* — возбудителя бактериального ожога сои [36, 92]. Было отмечено *in vitro*, что несколько штаммов этого микроорганизма быстро проходят стадию апоптоза в постэкспоненциальной фазе роста при выращивании в питательной среде, богатой белком и бедной углеводами [36]. При этом начальная стадия апоптоза у этих штаммов имела общие черты с ПГК эукариот, включая наличие фрагментов ДНК в супернатанте, способность к связыванию аннексина-V-флуоресцеина изотиоцианата (FITC) и производство эндогенного фермента м.м. 55 kDa, отражающего активность каспазы-3 [92].

Интересно, что этот фермент был обнаружен с помощью антител к человеческой каспазе-3, и штаммы мутанты *Xanthomonas*, дефектные по каспазе-3, не подвергались ПГК [36, 92]. При этом выраженность обнаруженных морфологических признаков ПГК, таких как повреждение ДНК, накопление фосфатидилсерина во внешнем слое наружной мембраны и деполяризации митохондриальных мембран, значительно усиливалась в клетках диких штаммов [92].

Апоптотические изменения в морфологии у некоторых видов бактерий были обнаружены и в ответ на неблагоприятные экологические условия. *Helicobacter pylori*, основной этиологический агент гастрита у людей, претерпевает преобразования морфологии из нормальной спиральной в кокковидную форму, когда культура в процессе роста подвержена таким неблагоприятным условиям, как аэробноз, голод и высокая температура [13, 45].

Кроме того, было показано, что воздействие антибиотиков, например, канамицина, тетрациклина и рифампицина, может также вызвать аналогичные изменения в морфологии *H. pylori* [45], и были высказаны предположения, что это морфологические проявления ПГК [13]. Авторами показано, что при конвертации в кокковидные формы, культураносимость микроорганизма *in vitro* постоянно теряется, тогда как 50% бактерий по-прежнему остается в бациллярной форме. Это свидетельствует о том, что культураносимость и кокковидная морфология являются двумя отдельными, но связанными харак-

теристиками существования микроорганизмов. Кроме того, считают, что кокковиды проявляют несколько иных свойств, включая потерю мембранного потенциала и значительное уменьшение объема и целостности общей РНК и ДНК. Авторы предположили, что эти формы подверглись или находятся в процессе клеточной гибели. При этом у кокковидных форм *H. pylori* также наблюдалось наличие электронно-плотных телец, содержащих конденсированные ДНК и расщепленные ДНК в гомогенных фрагментах 100 б.п. [13]. Эти две характеристики очень похожи на два отличительных признака эукариотического апоптоза.

За последнее десятилетие система ПГК была описана у бактерий из различных таксонов, таких как *Bacillus* и *Escherichia coli* [29, 30], *Caulobacter* [8], *Streptococcus pneumoniae* [44], *Staphylococcus aureus* [14], миксобактерии [86], *Mycobacterium tuberculosis* [7].

Во многом морфологические и биохимические механизмы, лежащие в основе ПГК у прокариот, напоминают аналогичные системы у эукариот, что естественно, учитывая их эволюционную связь. Результаты последних исследований феномена программированной смерти у бактерий показали, что эта система не менее сложна, чем у многоклеточных микроорганизмов. Изучение системы ПГК у микроорганизмов показывает, что она также эволюционировала, исходя из биологической целесообразности, особенностей условий и сохранения у различных таксонов микроорганизмов.

В работах Л.М. Сомовой и соавт. (2006, 2009) исследователи обратили внимание на факт появления у микроорганизмов (*Y. pseudotuberculosis*, *Salmonella enteritidis* и *Listeria monocytogenes*), культивируемых при 37°C, измененных форм, у которых за счет снижения содержания рибонуклеопротеидов цитоплазма приобретала низкую электронную плотность, наблюдалась деградация хроматина с исчезновением зоны нуклеоида и появлением упаковок электронно-плотного материала под сохранившейся цитоплазматической мембраной. Указанные морфологические изменения имели сходство с апоптотическими и проапоптотическими изменениями у прокариот [3, 4]. Как известно, эти признаки являются несомненными показателем смерти и эукариотических клеток [26, 67, 85].

Однако до сих пор не идентифицирована единая морфологическая и биохимическая модель реализации ПГК эукариот, а биологическая роль этого процесса и механизмы его регуляции пока плохо изучены [30]. Все больше открывается фактов, что при реализации летальной программы микроорганизмы ведут себя как члены многоклеточного сообщества, используя различные формы ПГК не только

как клеточную смерть, запрограммированную на генетическом уровне, но и как средство сохранения вида [29, 31].

Таким образом, генетически запрограммированные механизмы регулирования смерти клеток обусловили их равное значение для многоклеточных эукариот и простейших прокариот. Это привело к существенным изменениям представлений о том, как воспринимается ПГК, и открыло ряд новых генетических подходов в направлениях изучения механизма гибели и стратегии выживания клеток.

Генетические признаки программируемой гибели клеток у прокариот

Одна из наиболее изученных форм ПГК у бактерий — апоптоз — опосредуется с помощью конкретных генетических модулей, называемых токсин-антитоксическими системами (ТАС) или «модулями зависимости». Эта система кодируется хромосомой и является плазмид-зависимой [9, 32, 45]. Каждая система состоит из пары генов, которые кодируют две составляющие: стабильный токсин и неустойчивый антитоксин, который ограничивает летальное действие токсина.

Сегодня известно, что модули ТАС широко распространены у микроорганизмов. Эти модули были первоначально открыты на внехромосомных элементах, плаزمидах *Escherichia coli* [70]. Было выявлено, что плазмиды несут ответственность за эффект постсегрегационного убийства бесплазмидных клеток. Если бактериальная клетка теряет плазмиду (или другой внехромосомный элемент), она убивается стабильным токсином в результате быстрой деградации нестабильного антитоксина с помощью специфически контролируемой организмом-хозяином протеазы [70, 72].

Почти все бактерии и многие археи содержат гены, которые экспрессируют токсины, ингибируют рост клеток и вызывают их гибель по механизму, напоминающему апоптоз у высших эукариот. Клеточными мишенями этих токсинов являются репликация ДНК, стабильность мРНК, синтез белка, биосинтез клеточной стенки и АТФ. Экспрессия этих токсинов и их нейтрализация регулируются соответствующим антитоксином. Антитоксины более лабильны, чем токсины, и легко распадаются в условиях стресса, позволяя токсинам оказывать свое токсическое действие [17, 41, 98].

Таким образом, клетка становится как бы зависимой от короткоживущего антитоксина, синтез которого имеет большое значение для

поддержания стабильности клеточного состава микробной популяции [22, 46, 61]. В нормальных условиях существования антитоксин и токсин транскрибируются и транслируются вместе, что приводит к образованию биологически инертного модуля ТАС [94].

В дальнейшем было показано, что ТАС связана и с бактериальными хромосомами [22, 91], обеспечивая бактериальную устойчивость к конкретным экологическим стрессам. Недавние генетические исследования показали, что эти модули тесно связаны с вирулентностью микроорганизмов. De la Cruz et al. (2013), используя в качестве модели *Salmonella typhimurium*, показали, что ТАС помогает бактериям преодолеть стрессовые состояния, возникающие при колонизации организма-хозяина, и сохранить вирулентность [22].

Каждый из этих модулей состоит из пары генов. В целом, токсин кодируется как относительно нестабильный короткоживущий белок. Высокоуровневая транскрипция антитоксина в клетках, соответственно, обеспечивает неактивное состояние токсина [32, 47].

К настоящему времени описано пять типов ТАС. В I и III типах антитоксин представляет собой молекулу РНК, которая либо регулирует экспрессию генов токсина (тип I), либо образует комплекс с белком токсина и ингибирует его активность (тип III) [32].

Модули типа II широко распространены у прокариот. Проведенный в 2009 г. геномный анализ 750 геномов архей и бактерий позволил обнаружить ранее не замеченные белковые семейства, которые оказались гомологичными токсинам и антитоксинам II типа, и выявить их исключительную мобильность [61]. Комплексный поиск в 2181 геномах прокариот обнаружил более 10 000 н.п., которые были сгруппированы в суперсемейства токсина и антитоксина [57, 76, 81]. Тем не менее, обстоятельства, при которых активизируются модули ТАС и обеспечивают бактериальную устойчивость к стрессам, остаются малоизученными [47, 54].

В 2012 г. Н. Masuda et al. и X. Wang et al. были описаны IV и V типы ТАС, в которых антитоксин ингибировал активность токсина либо путем вмешательства в его связывание с мишенью (тип IV) [65], либо путем расщепления конкретно мРНК токсина (тип V) [91].

В результатах исследований, опубликованных в 2005 г., установлено, что модули ТАС имеются у прокариот, обитающих во внешней среде, но гораздо реже — у облигатных микроорганизмов, связанных с организмом-хозяином [69, 74]. Это позволило сделать вывод, что ТАС связана исключительно с устойчивостью к стресс-реакциям, повышающей приспособленность к существованию прокариот в окружающей

среде. Тем не менее, в более поздних работах сообщается о присутствии модулей ТАС и у патогенных внутриклеточных бактерий [57] и их значимой связи с патогенностью микроорганизмов [17, 41].

Наличие у *Escherichia coli*, по крайней мере, 33, а у *Mycobacterium tuberculosis* более 60 модулей ТАС [45, 46] предполагает, что эти системы участвуют не только в нормальной физиологии, но и в патогенности бактерий. Выяснение их клеточной функции и механизмов регулирования имеет решающее значение для понимания стратегий ПГК прокариот в различных условиях стресса [91, 98].

В недавнем исследовании было установлено, что модули ТАС оказывают влияние на способность к колонизации мочевого пузыря или почек мыши уропатогенными штаммами *Escherichia coli* [70]. Таким образом, появляется все больше доказательств того, что модули ТАС связаны с бактериальной патогенностью и участвуют во взаимодействиях с организмом-хозяином.

Одним из наиболее часто встречающихся модулей и хорошо исследованных в основном на модели *E. coli* является хромосомная ТАС *mazEF* [30], относящаяся к аналогам многочисленных плазмидных систем, например, *chrAI* и *chrAK* [9, 65], которые кодируют стабильный цитотоксический белок с соответствующим лабильным антитоксином. Впоследствии аналогичные системы были обнаружены у других бактерий.

Геном *E. coli* содержит оперон с двумя генами: *mazE* и *mazF*. Ген *mazF* кодирует стабильный цитотоксический белок MazF, а ген *mazE* — нестабильный антитоксин MazE, быстро разрушаемый протеазой. Эти генетические продукты гомологичны белковой системе антитоксин/токсин PemI/PemK (также называемой Kis/Kid), обнаруженной на плазмиде R1 *E. coli* [48, 65], проявляя свойства плазмид-кодированных зависимых модулей. Проведенные в начале XXI в. исследования показали, что MazF может ингибировать как инициацию репликации ДНК, так и трансляцию [9, 74, 77].

Позднее было показано, что ТАС *mazEF* срабатывает при стрессовых ситуациях, когда при повреждениях ДНК происходит активация MazF, вызывающая деполяризацию мембраны митохондрий [39, 48, 87, 98]. При длительной и избыточной экспрессии MazF индуцируется синтез специфических пептидов, обусловленный активацией токсина. Эти пептиды, названные внеклеточным фактором смерти (Extracellular Death Factor, EDF), принимают непосредственное участие в так называемом EDF-mazEF-опосредованном пути клеточной гибели в популяции *E. coli*, очень напоминая апоптоз у эукариот [49].

В условиях аминокислотного голодания активируется оперон *rel*, чей белковый продукт RelA отвечает за синтез GTP-пирофосфотрансферазы (ppGpp-синтетазы), увеличение ее внутриклеточного содержания и активацию [30, 39, 48, 98]. Это действует как сигнал для блокирования экспрессии обоих генов: антитоксин разрушается, а стабильный белок-токсин MazF вызывает гибель и автолиз части популяции, тем самым пополняя аминокислотный запас. В результате синтез антитоксина MazE вновь активируется у оставшихся живых клеток популяции, а активность токсина ингибируется [9, 46, 47]. Дальнейшие исследования выявили, что *mazEF*-опосредованная клеточная смерть индуцируется искусственно гиперпродукцией ppGpp-синтетазы, показывая, что эта система играет важную роль в ПГК при экстремальном голодании и не только у *E. coli* [30, 39, 70, 99].

О сложности и неоднозначности функции модулей ТАС в жизненном цикле микроорганизмов и регулировании ПГК свидетельствует определение нескольких неродственных хромосомных и внехромосомных модулей зависимости и пар генов, кодирующих пару антитоксин/токсин подобных *mazEF*, но менее изученных: *chpBIK* [65], *relBE* [17], *yefM-yoeB* [69], *dinJ-yafQ* [46, 47] и *ecnA-ecnB* [37]. Как правило, токсины в указанных модулях представлены белками, которые направлены против конкретных внутриклеточных мишеней, в то время как антитоксины являются либо белками, либо малыми РНК, которые нейтрализуют токсин или ингибируют его синтез [47]. Все указанные системы имеют типичную генетическую организацию со стабильным токсином и нестабильным антитоксином, однако, они негомологичны и отличаются между собой по аминокислотной последовательности и биохимическому механизму деятельности токсина, вызывающему рибосом-зависимую или рибосом-независимую деградацию мРНК [9, 100]. В то же время оказалось, что многие бактерии имеют один или более ген, кодирующий MazF-подобные токсины [9, 46, 68, 81]. Например, гомологи *mazF* кодируемые генами, входящими в состав оперона, были обнаружены у *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Clostridium*, *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae*, у многоклеточных прокариот *Mucococcus* и других микроорганизмов [34, 41, 73, 76].

Например, локус *esnAB*, содержащий два гена, *ecnA* и *ecnB*, кодирующих липопротеиды, участвующие в формировании клеточных мембран. Этот локус образует связанный токсин-антицитотоксический «модуль зависимости» и принимает участие в развитии бактериолиза в стационарной фазе роста микроорганизмов в условиях высокой осмолярности (продукт ге-

на *ecnA* в качестве токсина), а продукт гена *ecnB* действует в качестве антидота [9, 46]. У *B. subtilis* аналогичная пара токсин-антитоксин, кодируемая локусом *spoIIS*, организована подобным же образом [6]. В продукте гена локуса *spoIISA*, по-видимому, содержатся три трансмембранных сегмента в N-терминальной зоне белков, расположенных в цитоплазме, а продукт гена *spoIISB* представляет собой относительно небольшой, положительно заряженный цитозольный белок. В отсутствие *SpoIISB*-кодируемого белка-антидота в клетках индуцируется синтез *SpoIISA*-летального токсина, который вскоре повреждает клеточные мембраны. Кроме того, индуцированная активация *SpoIISA* при экспоненциальном росте клеток приводит к тому же эффекту и гибели клеток [6, 9, 98].

Гибель клеток при участии *mazEF* также может быть вызвана антибиотиками, которые подавляют транскрипцию, например, рифампицином, хлорамфениколом и спектиномицином [54, 77]. Присутствие этих антибиотиков в клетке вызывает уменьшение содержания антитоксина и, соответственно, повышение активности белка-токсина *MazF* [9, 54]. В *mazEF*-ассоциированных геномах было выявлено наличие гомологии у многих грамположительных и грамотрицательных бактерий [9, 57, 98].

Интересно, что оперон *mazEF* расположен сразу перед локусом σB , который кодирует компоненты (σB)-опосредующие реакции на стресс [54]. Исследования локуса σB в геноме *S. aureus* выявили, что кодирующий *mazF* ген может быть транскрибирован соответствующим опероном в условиях теплового стресса [37]. Таким образом, эти наблюдения позволяют предположить, что *mazEF*-система может вызвать ПГК у грамположительных и грамотрицательных бактерий в ответ на стресс, связанный, в том числе, с температурным фактором, ограничением питания и влиянием антибиотиков.

Как показали исследования [74], в качестве альтернативы ПГК у бактерий, *MazF* (ChrAK) индуцирует бактериостаз, являющийся, в отличие от гибели, обратимым процессом благодаря антитоксину (ChrAI). Биологическим значением этого феномена является защита клетки от длительного голодания или существования в суровых природных условиях [74]. В свое время альтернативным объяснением значения кодирования модулей TAC была предложена система, вовлеченная в процесс регулирования синтеза белка в условиях стресса, вызванного голоданием клетки [74, 88].

Этими же авторами было отмечено, что в проведенных экспериментах, при указанных условиях, экспрессия *MazE* и *MazF* не является имитацией способа, которым эти белки обычно продуцируются в клетке. В частности, когда со-

держание *MazE* (антитоксина) было искусственно увеличено, синтез *MazF* (токсина) тормозился. При этом, собственный *MazE* постоянно деградировал и, следовательно, присутствовал в клетке в небольшом количестве [88].

Антибиотики как триггеры программированной гибели прокариот

Несмотря на то, что биологические свойства большинства антибиотиков были хорошо охарактеризованы, до сих пор окончательно не известны механизмы взаимодействия антибиотиков и микроорганизмов при инициации клеточной смерти. В начале XXI в. была предложена теория, согласно которой такие антибиотики, как пенициллин и ванкомицин, вызывают нарушение регуляции аутолитической активности бактерий, что фактически является проявлением бактериальной ПГК [10, 54, 58].

Один из таких механизмов продемонстрировали D.J. Dwyer et al., (2007). Они показали, что при изучении бактерицидного воздействия на *E. coli* β -лактамов (ампициллин), фторхинолонов (норфлоксацин) и аминогликозидов (гентамицин) наблюдались изменения в клеточном метаболизме, которые стимулировали генерацию активных форм кислорода, играющих, как известно, важнейшую роль регуляторов клеточной смерти у многоклеточных и одноклеточных эукариот [27]. Авторами было показано, что оксидативный стресс индуцировал апоптоз также и у микроорганизмов. При этом ПГК сопровождалась характерными морфологическими признаками апоптоза: фрагментацией ДНК, конденсацией хроматина, деполяризацией митохондриальных мембран, снижением мембранного потенциала [16, 27, 87]. Эти результаты подтверждают и другие работы по этой же теме [27, 57]. В недавней работе H. Masuda et al., (2012) был выявлен и охарактеризован многофункциональный белок *RecA*, который, как выяснилось, играет решающую роль в апоптоз-подобной смерти *E. coli* [65].

В этот же период появилась гипотеза, которая привлекла к себе внимание. Она состоит в том, что двухкомпонентная система передачи сигнала VncR/S является триггером ПГК в ответ на воздействие антибиотиков на *S. pneumoniae* [44]. Это двухкомпонентная система изначально была изучена у мутантов *S. pneumoniae* при исследовании толерантности к пенициллину. При характеристике мутантов, дефектных по гену *vncS*, кодирующему, предположительно, гистидинкиназу, выяснилось, что кроме толерантности к пенициллину, этот мутант характеризовался и толерантностью к широкому спектру антибиотиков [43]. Интересно, что

инактивация гена *vncR* происходила регулятором, не имеющим специфических фенотипических признаков [12, 44].

Несмотря на эти, казалось бы, противоположные выводы, результаты проведенных исследований говорят о том, что указанная двухкомпонентная система регулирования ПГК является частью пути передачи сигналов, ведущих к антибиотикоиндуцированной гибели клеток. Последующие исследования этой системы показали, что небольшой фрагмент оперона (*orf*), расположенный непосредственно перед *vncRS*, кодирует пептид, состоящий из 27 аминокислот (Pep27), который был обнаружен в цитоплазме и супернатанте дикого штамма *S. pneumoniae* [12]. Оказалось, что добавление синтезированного пептида Pep27 к культуре *S. pneumoniae* с нокаутированным фрагментом оперона *orf* вызывает потерю жизнеспособности бактерий и снижение их толерантности к нескольким антибиотикам [44]. В то же время, гиперэкспрессия VncS вызывала ингибирование аутолиза возможно с помощью VncS-негативного регулятора [12]. На основании этих результатов было предположено, что Pep27 является «сигнальным пептидом смерти» и что он каким-то образом взаимодействует с мембранной гистидин-киназой VncS в ответ на воздействие антибиотиков [12, 44].

Однако есть данные, которые ставят под сомнение роль VncRS и Pep27 в антибиотикоиндуцированной гибели клеток [79]. В отличие от результатов, упомянутых выше, точечные мутации в *vncS*, *vncR*, *vex3* или *pep27* в трех различных генетических фрагментах *S. pneumoniae*, как оказалось, не изменяют литический ответ на ванкомицин [12, 27, 79]. VncS-мутанты ди-

кого штамма (*S. pneumoniae*) не обладают толерантностью к ванкомицину, но проявляют чувствительность к другим классам антибиотиков, вызывающих аутолиз [79]. Кроме того, в этих исследованиях синтетические Pep27 не вызывали аутолиз или утрату жизнеспособности у микроорганизмов. В совокупности, эти выводы ставят под сомнение ранние сообщения, что Pep27 и VncS/R обладают системными функциями, выступая в качестве эффекторов самоиндуцированной клеточной гибели [27, 79].

Заключение

Рассмотренные морфологические, биохимические и генетические признаки ПГК у прокариот имеют важнейшие эволюционные последствия. Принимая во внимание ключевую роль митохондрий в механизмах апоптоза у организмов-эукариот, можно предположить, что эукариотический апоптоз эволюционировал в процессе симбиоза, когда прокариотические протомитохондрии внедрились в примитивные протоэукариотические клетки [87].

Следовательно, филогенетическое объяснение происхождения ПГК лежит в плоскости развития системы управления клеточной гибелью (с митохондриальной пермеабиллизацией в качестве центрального механизма), а также комплекса ее регулирования. Парадоксально, но в данном случае оказывается, что поддержанию эволюционного прогресса и экологического баланса и, в конечном счете, созданию самой жизни эукариот, возможно, способствовало появление генетически регулируемой смерти прокариот.

Список литературы/References

1. Абатуров А.Е., Волосовец А.П., Юлиш Е.И. Роль NOD-подобных рецепторов в рекогниции патоген-ассоциированных молекулярных структур инфекционных патогенных агентов и развитии воспаления. Здоровье ребенка (Украина). 2013. Т. 47, № 4. С. 7–13. [Abaturov A.E., Volosovets A.P., Yulish E.I. The role of NOD-like receptor in recognition of pathogen-associated molecular structures of infectious pathogens and the development of inflammation. *Zdorov'e rebenka (Ukraine) = Child Health (Ukraine)*, 2013, vol. 47, no. 4, pp. 7–13. (In Russ.)]
2. Андрюков Б.Г., Тимченко Н.Ф. Апоптоз-модулирующие стратегии детерминант патогенности иерсиний // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2015. Т. 59, № 1. С. 29–40. [Andryukov B.G., Timchenko N.F. Apoptosis-modulating strategy determinants of virulence of Yersinia. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka = Health. Medical ecology. Science*, 2015, vol. 59, no. 1, pp. 29–40. (In Russ.)]
3. Сомова Л.М., Бузолева Л.С., Исаченко А.С., Сомов Г.П. Адаптивные ультраструктурные изменения бактерий *Yersinia pseudotuberculosis* при обитании в почве // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2006. № 3. С. 36–40. [Somova L.M., Buzoleva L.S., Isachenko A.S., Somov G.P. Adaptive ultrastructural changes *Yersinia pseudotuberculosis* at habitation in soil. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2006, no. 3, pp. 36–40. (In Russ.)]
4. Сомова Л.М., Бузолева Л.С., Плехова Н.Г. Ультраструктура патогенных бактерий в разных экологических условиях. Владивосток: Медицина ДВ, 2009. 200 с. [Somova L.M., Buzoleva L.S., Plekhova N.G. *Ul'trastruktura patogennykh bakterii v raznykh ekologicheskikh usloviyakh* [Ultrastructure of pathogenic bacteria in different ecological conditions]. *Vladivostok: Far East Medicine*, 2009, 200 p.]
5. Ackermann S., Hiller S., Osswald H., Lösle M., Grenz A., Hambrock A. 17beta-estradiol modulates apoptosis in pancreatic beta-cells by specific involvement of the sulfonylurea receptor (SUR) isoform SUR1. *J. Biol. Chem.*, 2009, vol. 284, no. 8, pp. 4905–4913.
6. Adler E., Barak I., Stragier P. Bacillus subtilis locus encoding a killer protein and its antidote. *J. Bacteriol.*, 2001, vol. 183, pp. 3574–3581.

7. Aguiló N., Marinova D., Martín C., Pardo J. ESX-1-induced apoptosis during mycobacterial infection: to be or not to be, that is the question. *Front Cell Infect. Microbiol.*, 2013, vol. 3, pp. 80–88.
8. Bos J., Yakhnina A.A., Gitai Z. BapE DNA endonuclease induces an apoptotic-like response to DNA damage in *Caulobacter*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, pp. 18096–18101.
9. Buts L., Lah J., Dao-Thi M.-H., Wyns L., Loris R. Toxin-antitoxin modules as bacterial metabolic stress managers. *Trends Biochem. Sci.*, 2005, vol. 30, no. 12, pp. 672–679.
10. Camacho D.M., Kohanski M.A., Callura J.M., Collins J.J. Antibiotic-induced bacterial cell death exhibits physiological and biochemical hallmarks of apoptosis. *Mol. Cell*, 2012, vol. 46, no. 5, pp. 561–572.
11. Camougrand N., Kissova I., Velours G., Manon S. Uth1p: a yeast mitochondrial protein at the crossroads of stress, degradation and cell death. *FEMS Yeast Res.*, 2004, vol. 5, no. 2, pp. 133–140.
12. Carmona-Gutierrez D., Eisenberg T., Buttner S., Meisinger C., Kroemer G., Madeo F. Apoptosis in yeast: triggers, pathways, subroutines. *Cell Death Differ.*, 2010, vol. 17, no. 5, pp. 763–773.
13. Cellini L., Robuffo I., Maraldi N.M., Donelli G. Searching the point of no return in *Helicobacter pylori* life: necrosis and/or programmed death? *J. Appl. Microbiol.*, 2001, vol. 90, pp. 727–732.
14. Chatterjee I., Neumayer D., Herrmann M. Senescence of staphylococci: using functional genomics to unravel the roles of ClpC ATPase during late stationary phase. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2010, vol. 300, no. 2–3, pp. 130–136.
15. Chaumorcel M., Lussignol M., Mouna L., Cavignac Y., Fahie K., Cotte-Laffitte J., Geballe A., Brune W., Beau I., Codogno P., Esclatine A. The human cytomegalovirus protein TRS1 inhibits autophagy via its interaction with Beclin 1. *J. Virol.*, 2012, vol. 86, no. 5, pp. 2571–2584.
16. Christensen M.E., Jansen E.S., Sanchez W., Waterhouse N.J. Flow cytometry based assays for the measurement of apoptosis-associated mitochondrial membrane depolarisation and cytochrome c release. *Methods*, 2013, vol. 61, no. 2, pp. 138–145.
17. Christensen S.K., Pedersen K., Hansen F.G., Gerdes K. Toxin-antitoxin loci as stress-response-elements: ChpAK/MazF and ChpBK cleave translated RNAs and are counteracted by tmRNA. *J. Mol. Biol.*, 2003, vol. 332, pp. 809–819.
18. D'Amelio M., Sheng M., Cecconi F. Caspase-3 in the central nervous system: beyond apoptosis. *Trends Neurosci.*, 2012, vol. 35, no. 11, pp. 700–709.
19. Danelishvili L., Bermudez L.E. Analysis of pyroptosis in bacterial infection. *Methods Mol. Biol.*, 2013, vol. 1004, pp. 67–73.
20. Danial N.N., Korsmeyer S.J. Cell death: critical control points. *Cell*, 2004, vol. 116, no. 2, pp. 205–219.
21. Declercq W., Vanden-Berghe T., Vandenabeele P. RIP kinases at the crossroads of cell death and survival. *Cell*, 2009, vol. 138, no. 2, pp. 229–232.
22. De la Cruz M. A., Zhao W., Farenc C., Gimenez G., Raoult D., Cambillau C., Gorvel J.-P., Méresse S. A toxin-antitoxin module of *Salmonella* promotes virulence in mice. *PLOS pathogens*, 2013, vol. 9, no. 12, p. e1003827.
23. Deleo V. Modulation of phagocyte apoptosis by bacterial pathogens. *Apoptosis (London)*, 2004, vol. 9, pp. 399–413.
24. Denton D., Aung-Htut M.T., Kumar S., Baehrecke E.H. Developmentally programmed cell death in *Drosophila*. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013, vol. 1833, no. 12, pp. 3499–3506.
25. Denton D., Chang T.K., Nicolson S., Shrivage B., Simin R., Baehrecke E.H., Kumar S. Relationship between growth arrest and autophagy in midgut programmed cell death in *Drosophila*. *Cell Death Differ.*, 2012, vol. 19, no. 8, pp. 1299–1307.
26. Dunin-Horkawicz S., Kopec K.O., Lupas A.N. Prokaryotic ancestry of eukaryotic protein networks mediating innate immunity and apoptosis. *J. Mol. Biol.*, 2014, vol. 426, no. 7, pp. 1568–1582.
27. Dwyer D.J., Kohanski M.A., Hayete B., Collins J.J. Gyrase inhibitors induce an oxidative damage cellular death pathway in *Escherichia coli*. *Mol. Syst. Biol.*, 2007, vol. 3, p. 91.
28. Eckardt J., Lorek M., Zimmer G. The fusion protein of respiratory syncytial virus triggers p53-dependent apoptosis. *J. Virol.*, 2008, vol. 82, no. 7, pp. 3236–3249.
29. Engelberg-Kulka H., Amitai S., Reches M., Sat B., Hazan R. Bacterial programmed cell death as a target for antibiotics. *Trends Microbiol.*, 2004, vol. 12, pp. 66–71.
30. Engelberg-Kulka H., Kolodkin-Gal I., Amitai S., Hazan R. Bacterial programmed cell death and multicellular behavior in bacteria. *PLOS Genet.*, 2006, vol. 2, no. 10, p. e135.
31. Erental A., Idith Sh.I., Engelberg-Kulka H. Two programmed cell death systems in *Escherichia coli*: an apoptotic-like death is inhibited by the mazEF-mediated death pathway. *PLOS Biology*, 2012, vol. 10, no. 3, p. e1001281.
32. Fineran P.C., Blower T.R., Foulds I.J., Humphreys D.P., Lilley K.S. The phage abortive infection system, ToxIN, functions as a protein-RNA toxin-antitoxin pair. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, vol. 106, pp. 894–899.
33. Fink S.L., Cookson B.T. Caspase-1-dependent pore formation during pyroptosis leads to osmotic lysis of infected host macrophages. *Cell Microbiol.*, 2006, vol. 8, no. 11, pp. 1812–1825.
34. Fu Z., Tamber S., Memmi G., Donegan N.P., Cheung A.L. Overexpression of MazFsa in *Staphylococcus aureus* induces bacteriostasis by selectively targeting mRNAs for cleavage. *J. Bacteriol.* 2012, vol. 191, pp. 2051–2059.
35. Galluzzi L., Kepp O., Krautwald S., Kroemer G., Linkermann A. Molecular mechanisms of regulated necrosis. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2014, vol. 35, pp. 24–32.
36. Gautam S., Sharma A. Rapid cell death in *Xanthomonas campestris* pv. *glycines*. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 2002, vol. 48, no. 2, pp. 67–76.
37. Gertz S., Engelmann S., Schmid R., Ohlsen K., Hacker J., Hecker M. Regulation of σ B-dependent transcription of sigB and asp23 in two different *Staphylococcus aureus* strains. *Mol. Gen. Genet.*, 1999, vol. 261, pp. 558–566.
38. Giansanti V., Torriglia A., Scovassi A.I. Conversation between apoptosis and autophagy: «Is it your turn or mine?». *Apoptosis*, 2011, vol. 16, no. 4, pp. 321–333.
39. Godoy V.G., Jarosz D.F., Walker F.L., Simmons L.A., Walker G. Y-family DNA polymerases respond to DNA damage-independent inhibition of replication fork progression. *EMBO J.*, 2006, vol. 25, pp. 868–879.
40. Gómez-Fernández J.C. Functions of the C-terminal domains of apoptosis-related proteins of the Bcl-2 family. *Chem. Phys. Lipids*, 2014, vol. 183, pp. 77–90.

41. Goulard C., Langrand S., Chauvaux S. Yersinia pestis chromosome encodes active addiction toxins. *J. Bacteriol.*, 2010, vol. 192, no. 14, pp. 3669–3677.
42. Green D.R., Oberst A., Dillon C.P., Weinlich R., Salvesen G.S. RIPK-dependent necrosis and its regulation by caspases: a mystery in five acts. *Mol. Cell*, 2011, vol. 44, no. 1, pp. 9–16.
43. Guilhelmelli F., Vilela N., Albuquerque P., Derengowski L.D., Silva-Pereira I., Kyaw C.M. Antibiotic development challenges: the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance. *Front Microbiol.*, 2013, vol. 4, 353 p.
44. Guiral S., Mitchell T.J., Martin B., Claverys J.P. Competence-programmed predation of noncompetent cells in the human pathogen *Streptococcus pneumoniae*: genetic requirements. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, vol. 14, pp. 8710–8715.
45. Han K.D., Ahn D.H., Lee S.A., Min Y.H., Kwon A.R., Ahn H.C., Lee B.J. Identification of chromosomal HP0892-HP0893 toxin-antitoxin proteins in *Helicobacter pylori* and structural elucidation of their protein-protein interaction. *J. Biol. Chem.*, 2013, vol. 288, no. 8, pp. 6004–6013.
46. Hayes F. Toxins-antitoxins: plasmid maintenance, programmed cell death, and cell cycle arrest. *Science*, 2003, vol. 301, pp. 1496–1499.
47. Hayes F., Van Melderen L. Toxins-antitoxins: diversity, evolution and function. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2011, vol. 46, no. 5, pp. 386–408.
48. Hazan R., Sat B., Engelberg-Kulka H. *Escherichia coli* mazEF-mediated cell death is triggered by various stressful conditions. *J. Bacteriol.*, 2004, vol. 186, pp. 3663–3669.
49. Hotchkiss R.S., Strasser A., McDunn J.E., Swanson P.E. Cell death in disease: mechanisms and emerging therapeutic concepts. *N. Engl. J. Med.*, 2009, vol. 361, pp. 1570–1583.
50. Kamat P.K., Kalani A., Kyles P., Tyagi S.C., Tyagi N. Autophagy of Mitochondria: A promising therapeutic target for neurodegenerative disease. *Cell Biochem. Biophys.*, 2014, vol. 70, no. 2, pp. 707–719.
51. Kang J., Pervaiz S. Crosstalk between Bcl-2 family and Ras family small GTPases: potential cell fate regulation? *Front Oncol.*, 2013, vol. 2, 206 p.
52. Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Brit. J. Cancer*, 1972, vol. 26, pp. 239–257.
53. Klionsky D.J., Codogno P. The mechanism and physiological function of macroautophagy. *J. Innate Immun.*, 2013, vol. 5, no. 5, pp. 427–433.
54. Kolodkin-Gal I., Sat B., Keshet A., Engelberg-Kulka H. The communication factor EDF and the toxin-antitoxin module mazEF determine the mode of action of antibiotics. *PLOS Biol.*, 2008, vol. 16, no. 6, p. e319.
55. Koonin E.V., Aravind L. Origin and evolution of eukaryotic apoptosis: the bacterial connection. *Cell Death Differ.*, 2002, vol. 9, no. 4, pp. 394–404.
56. Labbé K., Saleh M. Cell death in the host response to infection. *Cell Death Differ.*, 2008, vol. 15, no. 9, pp. 1339–1349.
57. Leplae R., Geeraerts D., Hallez R., Guglielmini J., Drèze P. Diversity of bacterial type II toxin-antitoxin systems: a comprehensive search and functional analysis of novel families. *Nucleic Acids Research*, 2011, vol. 39, pp. 5513–5525.
58. Lewis K. Programmed death in bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2002, vol. 64, pp. 503–514.
59. Loewith R., Hall M.N. Target of rapamycin (TOR) in nutrient signaling and growth control. *Genetics*, 2011, vol. 189, no. 4, pp. 1177–1201.
60. Ludovico P. Overeating yeast display fatty acid-induced necrotic cell death. *Cell Cycle*, 2010, vol. 9, no. 15, 2929 p.
61. Makarova K.S., Wolf Y.I., Koonin E.V. Comprehensive comparative-genomic analysis of type 2 toxin-antitoxin systems and related mobile stress response systems in prokaryotes. *Biol. Direct.*, 2009, vol. 4, pp. 11–19.
62. Manteca A., Fernandez M., Sanchez J. Cytological and biochemical evidence for an early cell dismantling event in surface cultures of *Streptomyces antibioticus*. *Res. Microbiol.*, 2006, vol. 157, no. 2, pp. 143–152.
63. Marino G., Niso-Santano M., Baehrecke E.H., Kroemer G. Self-consumption: the interplay of autophagy and apoptosis. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, 2014, vol. 15, pp. 81–94.
64. Marino M.L., Pellegrini P., Di Lernia G., Djavaheri-Mergny M., Brnjic S., Zhang X., Hägg M., Linder S., Fais S., Codogno P., De Milito A. Autophagy is a protective mechanism for human melanoma cells under acidic stress. *J. Biol. Chem.*, 2012, vol. 287, no. 36, pp. 30664–30676.
65. Masuda H., Tan Q., Awano N., Wu K.P., Inouye M. YeeU enhances the bundling of cytoskeletal polymers of MreB and FtsZ, antagonizing the CbtA (YeeV) toxicity in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.*, 2012, vol. 84, pp. 979–989.
66. Mavrianos J., Berkow E.L., Desai C., Pandey A., Batish M., Rabadi M.J., Barker K.S., Pain D., Rogers P.D., Eugenin E.A., Chauhan N. Mitochondrial two-component signaling systems in *Candida albicans*. *Eukaryot. Cell*, 2013, vol. 12, no. 6, pp. 913–922.
67. Nancy A. Eukaryote programmed cell death in plants: a role for mitochondrial-associated hexokinases. *Plant Cell*, 2006, vol. 18, pp. 2097–2099.
68. Nariya H., Inouye M. MazF, an mRNA interferase, mediates programmed cell death during multicellular *Myxococcus* development. *Cell*, 2008, vol. 32, pp. 55–66.
69. Nolle N., Schuster C.F., Bertram R. Two paralogous yefM-yoeB loci from *Staphylococcus equorum* encode functional toxin-antitoxin systems. *Microbiology*, 2013, vol. 159, no. 8, pp. 1575–1585.
70. Norton J.P., Mulvey M.A. Toxin-antitoxin systems are important for niche-specific colonization and stress resistance of uropathogenic *Escherichia coli*. *PLOS Pathog.*, 2012, vol. 8, p. e1002954.
71. Nyström T. Nonculturable bacteria: programmed survival forms or cells at death's door? *Bioessays*, 2003, vol. 25, pp. 204–211.
72. Pandey D.P., Gerdes K. Toxin-antitoxin loci are highly abundant in free-living but lost from host-associated prokaryotes. *Nucleic Acids Research*, 2005, vol. 33, pp. 966–976.
73. Park J.H., Yamaguchi Y., Inouye M. *Bacillus subtilis* MazF-bs (EndoA) is a UACAU-specific mRNA interferase. *FEBS Lett.*, 2011, vol. 585, pp. 2526–2532.
74. Pedersen K., Christensen S.K., Gerdes K. Rapid induction and reversal of a bacteriostatic condition by controlled expression of toxins and antitoxins. *Mol. Microbiol.*, 2002, vol. 45, pp. 501–510.
75. Port U., Brovkin V., Claussen M. The influence of vegetation dynamics on anthropogenic climate change. *Earth Syst. Dynam.*, 2012, vol. 3, pp. 233–243.

76. Ramage H.R., Connolly L.E., Cox J.S. Comprehensive functional analysis of Mycobacterium tuberculosis toxin-antitoxin systems: implications for pathogenesis, stress responses, and evolution. *PLOS Genet.*, 2009, vol. 5, p. e1000767.
77. Ramisetty B.C., Natarajan B., Santhosh R.S. MazEF-mediated programmed cell death in bacteria: «What is this?». *Crit. Rev. Microbiol.*, 2015, vol. 41, no. 1, pp. 89–100.
78. Rice K.C., Bayles K.W. Molecular control of bacterial death and lysis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2008, vol. 72, pp. 85–109.
79. Robertson C.L., Scafidi S., McKenna M.C., Fiskum G. Mitochondrial mechanisms of cell death and neuroprotection in pediatric ischemic and traumatic brain injury. *Exp. Neurol.*, 2009, vol. 218, no. 2, pp. 371–380.
80. Rostovtseva T.K., Tan W., Colombini M. On the role of VDAC in apoptosis: fact and fiction. *J. Bioenerg. Biomembr.*, 2005, vol. 37, pp. 129–142.
81. Rothenbacher F.P. Clostridium difficile MazF toxin exhibits selective, not global, mRNA cleavage. *J. Bacteriol.*, 2012, vol. 194, pp. 3464–3474.
82. Ryter S.W., Mizumura K., Choi A.M. The impact of autophagy on cell death modalities. *Int. J. Cell. Biol.*, 2014, vol. 2014, p. e502676.
83. Samejima K., Earnshaw W.C. Trashing the genome: the role of nucleases during apoptosis. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2005, vol. 6, no. 9, pp. 677–688.
84. Shamas-Din A., Brahmabhatt H., Leber B., Andrews D.W. BH3-only proteins: orchestrators of apoptosis. *Biochim. Biophys. Acta*, 2011, vol. 1813, no. 4, pp. 508–520.
85. Shemarova I.V. Phosphoinositide signaling in unicellular eukaryotes. *Crit. Rev. Microbiol.*, 2007, vol. 33, pp. 141–156.
86. Søgaard-Andersen L., Yang Z. Programmed cell death: role for MazF and MrpC in Myxococcus multicellular development. *Curr. Biol.*, 2008, vol. 18, pp. 337–339.
87. Tait S.W., Green D.R. Mitochondrial regulation of cell death. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2013, vol. 5, no. 9, p. a008706.
88. Tanouchi Y., Lee A.J., Meredith H., You L. Programmed cell death in bacteria and implications for antibiotic therapy. *Trends Microbiol.*, 2013, vol. 21, no. 6, pp. 265–270.
89. Ulukaya E., Acilan C., Yilmaz Y. Apoptosis: why and how does it occur in biology? *Cell. Biochem. Funct.*, 2011, vol. 29, no. 6, pp. 468–480.
90. Van Loo G., Saelens X., Van Gurp M., MacFarlane M., Martin S.J., Vandenamee P. The role of mitochondrial factors in apoptosis: a Russian roulette with more than one bullet. *Cell Death Differ.*, 2002, vol. 9, pp. 1031–1042.
91. Wang X., Lord D.M., Cheng H.Y., Osbourne D.O., Hong S.H. A new type V toxin-antitoxin system where mRNA for toxin GhoT is cleaved by antitoxin GhoS. *Nat. Chem. Biol.*, 2012, vol. 8, pp. 855–861.
92. Wardhawan S., Gautam S., Sharma A. Involvement of proline oxidase (PutA) in programmed cell death of Xanthomonas. *PLOS One*, 2014, vol. 9, no. 5, p. e96423.
93. Weely H., Yoshida R., Kudoh S., Hasegawa K., Niimori-Kita K., Ito T. Regulator of calcineurin 1-1L protects cardiomyocytes against hypoxia-induced apoptosis via mitophagy. *Trends Microbiol.*, 2010, vol. 13, pp. 169–182.
94. Williams K., Gokulan K., Shelman D., Akiyama T., Khan A., Khare S. Cytotoxic mechanism of cytolethal distending toxin in non-typhoidal salmonella serovar (Salmonella javiana) during macrophage infection. *DNA Cell Biol.*, 2015, vol. 34, no. 2, pp. 113–124.
95. Wu W., Liu P., Li J. Necroptosis: an emerging form of programmed cell death. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2012, vol. 82, no. 3, pp. 249–258.
96. Wu Y.C., Wang X., Xue D. Methods for studying programmed cell death in C. elegans. *Methods Cell. Biol.*, 2012, vol. 10, pp. 295–320.
97. Yagüe P., López-García M.T., Rioseras B., Sánchez J.A. Pre-sporulation stages of Streptomyces differentiation: state-of-the-art and future perspectives. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2013, vol. 342, no. 2, pp. 79–88.
98. Yamaguchi Y., Park J.H., Inouye M. Toxin-antitoxin systems in bacteria and archaea. *Annu. Rev. Genet.*, 2011, vol. 45, pp. 61–79.
99. Yuan J., Kroemer G. Alternative cell death mechanisms in development and beyond. *Genes Dev.*, 2010, vol. 24, pp. 2592–2602.
100. Zorzini V., Buts L., Sleutel M., Garcia-Pino A., Talavera A. Structural and biophysical characterization of Staphylococcus aureus SaMazF shows conservation of functional dynamics. *Nucleic Acids Research*, 2014, vol. 42, no. 10, pp. 6709–6725.

Авторы:

Андрюков Б.Г., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и микробиологии ФГБУ НИИЭМ им. Г.П. Сомова СО РАМН, г. Владивосток, Россия;
Сомова Л.М., д.м.н., профессор, директор ФГБУ НИИЭМ им. Г.П. Сомова СО РАМН, г. Владивосток, Россия;
Тимченко Н.Ф., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и микробиологии ФГБУ НИИЭМ им. Г.П. Сомова СО РАМН, г. Владивосток, Россия.

Authors:

Andrukov B.G., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of RAMS, Vladivostok, Russian Federation;
Somova L.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Director of Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of RAMS, Vladivostok, Russian Federation;
Timchenko N.F., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of RAMS, Vladivostok, Russian Federation.

Поступила в редакцию 25.02.2015
 Принята к печати 02.03.2015

Received 25.02.2015
 Accepted 02.03.2015