

Adhezini uropatogenih sojeva *Escherichia coli* i njihovo značenje u patogenezi infekcija mokraćnog sustava

Jasmina Vraneš

Škola narodnog zdravlja "Andrija Štampar", Zagreb

Pregled

UDK 616.61/62:616.98

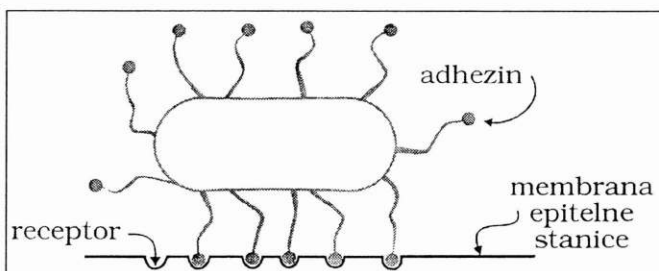
Prispjelo: 29. lipnja 1994.

Bakterijska adherencija je stereospecifična reakcija između molekula adhezina na površini bakterijske stanice i komplementarnih receptorskih molekula na stanicama makroorganizama. Bakterije adheriraju na stanice uroepitela na visoko selektivan način, pa ne mogu biti odstranjene nespecifičnim obrambenim mehanizmom čišćenja mokraćnog sustava. Stoga je adherencija važan prvi korak u patogenezi infekcija

mokraćnog sustava. Adhezini uropatogenih sojeva *Escherichia coli* (UPEC) ubrajaju se među najbolje istražene bakterijske adhezine, a važnost adherencije UPEC u nekomplikiranim infekcijama mokraćnog sustava je dobro poznata. U ovom pregledu razmatra se priroda, organizacija i značenje u patogenezi infekcija mokraćnog sustava pojedinih adhezina UPEC.

Ključne riječi: uropatogena *Escherichia coli*, infekcije mokraćnog sustava, bakterijska adherencija

Većina bakterijskih infekcija započinje adherencijom patogenih bakterija na stanice napadnutog organizma. Posljedice mogu biti različite: od otpuštanja toksina do prodora bakterija u stanice tkiva (20). Bakterijska adherencija je stereospecifična reakcija između molekula adhezina na površini bakterijske stanice i komplementarnih receptorskih molekula na staničnoj površini makroorganizama (slika 1). Pojam adhezina, koji je uveo Duguid, radije



SLIKA 1.

Shematski prikaz mehanizma bakterijske adherencije

se upotrebljava od srodnog pojma ligand, jer su bakterijske adhezivne molekule često polimerne strukture (10, 52).

Adhezini uropatogenih sojeva *Escherichia coli* (UPEC) ubrajaju se među najbolje istražene bakterijske adhezine (50, 2). Jedan od prvih načina utvrđivanja adherencijske sposobnosti UPEC bila je

hemaglutinacija. Upotrebom eritrocita različitih vrsta, odnosno širokim rasponom površinskih receptora, moguće je odrediti adhezine određenog soja *E. coli*. Osnovna podjela temelji se na razlici u djelovanju manoze na hemaglutinacijsku i adherencijsku sposobnost soja. Odlika manozna rezistentnih (MR) adhezina je da dovode do aglutinacije eritrocita koja se ne da inhibirati dodavanjem manoze, dok manozna senzitivni (MS) adhezini izazivaju aglutinaciju eritrocita, koja se dodavanjem manoze u pokusni sustav može spriječiti (32). Hemaglutinacija i adherencija UPEC većinom je posredovana fimbrijama (2, 32). Veoma mali promjer ovih tvorbi razlog je što se ne mogu vidjeti svjetlosnim mikroskopom, pa je tek upotreba elektronskog mikroskopa pokazala ove međusobno morfološki različite proteinske izdanke u broju od 100 - 1000 na površini jedne bakterijske stanice. Različite druge sofisticirane metode su u novije vrijeme doprinijele razjašnjenju prirode i organizacije adhezina UPEC, njihove receptorske specifičnosti i značenja u izazivanju infekcija mokraćnog sustava. Rezultati najznačajnijih morfoloških, genetskih i imunohistokemijskih istraživanja predočeni su u ovome pregledu.

Manoza senzitivne tip 1 fimbrije

Stari naziv prvobitne podjele adhezina *E. coli* na šest tipova zadržale su samo tip 1 fimbrije koje posreduju u aglutinaciji eritrocita zamorčića i stanica

različitih kvasnica. Kako je receptorsko mjesto za tip 1 fimbrije manoza, jasno je da ovaj ugljikohidrat kompetitivno zapriječava aglutinaciju zamoračkih eritrocita i kvasnica (13). Različitim derivatima manoze utvrđeno je da postoje razlike u inhibiciji hemaglutinacije između tip 1 fimbrija pojedinih pripadnika porodice Enterobacteriaceae, no unutar jednog roda utvrđeni su isti MS lektini (47). (Pojmom lektin označavaju se neimunonosni proteini ili glikoproteini koji se vežu na ugljikohidrate i aglutiniraju stanice i/ili precipitiraju glikokonjugate) (53). Antigenske razlike između tip 1 fimbrija utvrđene su imunoelektronskom mikroskopijom (34).

Uočeno je da uvjeti kultivacije E. coli značajno utječu na ispoljavanje tip 1 fimbrija. Tako temperatura, dužina inkubacije i vrsta upotrebljenog hranilišta mogu utjecati na količinu sintetiziranih fimbrija (26, 3). Stoga se sve više upotrebljavaju genetske analize kojima se istražuje homolognost između tip 1 fimbrija, regulacija stvaranja tip 1 fimbrija pod različitim uvjetima, te organizacija i ispoljavanje gena odgovornih za njihovo stvaranje (6, 27, 46). Rezultati ovih istraživanja pokazuju da je sekvenca deoksiribonukleinske kiseline (DNK) potrebna za stvaranje tip 1 fimbrija različita od sekvence koja kodira sposobnost adhezije povezane s ovim tvorbama (11). Područje koje osigurava sposobnost adhezije odvojeno je od gena koji kodira glavnu fimbrijalnu podjedinicu fimbriin genima neophodnim za ustrojstvo fimbrija. Opažanja o zadržavanju sposobnosti adhezije fimbrija nakon njihova odvajanja od bakterijske stanice i pročišćavanja, pokazuju da je adhezin sastavni dio tip 1 fimbrija (44). Nemogućnost utvrđivanja razlika između adhezivnih i neadhezivnih fimbrija u morfologiji, molekulskoj masi i antigenskoj strukturi, upotrebom monoklonskih protutijela, govori da je razlika suptilna i da je adhezivna komponenta mala (11). Daljnjom analizom utvrđeno je da postoje dva odvojena gena, od kojih je jedan označen sa fim H i odgovoran za vezanje na receptor, a drugi sa fim G i određuje dužinu fimbrija (8). Mutante koje imaju oštećenje fim G gena posjeduju vrlo duge fimbrije, a moguće je objašnjenje da proizvod fim G gena djeluje kao kompetitivni inhibitor polimerizacije fimbriina. Na ovaj način bi dužina fimbrija bila upravljana odnosom fimbriina i fim G produkata u bakterijskoj stanici. Mutante s insercijom u fim H genskom lokusu posjeduju fimbrije, ali ne aglutiniraju eritrocite zamorčića (28).

Ova insercijska mutacija uništava aglutinacijsku sposobnost bez utjecaja na polimerizaciju fimbrijskih monomera. Mutacija nastala delecijom gena fim A, koji kodira glavni sastojak fimbrija, 17 kilodaltonski (k Da) protein fimbriin, višestruko povećava sposobnost aglutinacije (74). Ultrastrukturnom

analizom pomoću elektronskog mikroskopa pokazano je da mutante imaju isti broj fimbrija kao roditeljske stanice, ali su se uočavale oko 10 nm velike, okrugle tvorbe (fimbriosomi) udružene s fimbrijama i nevezane, slobodne u mediju za kultivaciju. Sami fimbriosomi su aglutinirali eritrocite zamorčića na MS način, a pokazalo se je da su po sastavu identični proizvodu fim H gena, proteinu od 29 kDa dobivenom razlaganjem tip 1 fimbrija. Iz toga slijedi da je hiperadhezivnost nastupila uslijed prekomjernog stvaranja Fim H proteina u obliku fimbriosoma koji su posjedovali sposobnost hemaglutinacije.

Značenje tip 1 fimbrija u patogenezi infekcija mokraćnog sustava je nejasno, a istraživanja rezultiraju oprečnim zapažanjima. Nakon neposrednog izdvajanja E. coli iz mokraćne bolesnika oboljelih od infekcije mokraćnog sustava, bez prethodne kultivacije, nisu utvrđene tip 1 fimbrije, dok su nakon nekoliko uzastopnih kultivacija istih sojeva u bujonu utvrđene metodom hemaglutinacije (9). Naprotiv, pokusi na štakorima pokazuju da bi tip 1 fimbrije mogle biti značajne za kolonizaciju, pa tako i za infekciju mokraćnog sustava (40). Mutante, kojima je nedostajala sposobnost aglutinacije eritrocita zamorčića, bile su jednako nesposobne da nasele mokraćni mjehur štakora, kao i one kojima su potpuno nedostajale fimbrije. Mutante kojima nedostaje sposobnost aglutinacije, a posjeduju fimbrije, ne adheriraju na epitelne stanice mokraćnog sustava miša *in vitro* niti *in vivo* (19). Što više, modelom ascendentnog pijelonefritisa na mišu pokazano je da sojevi s tip 1 fimbrijama daleko bolje naseljavaju sluznicu mokraćnog mjehura nego sojevi sa MR fimbrijama, dok sojevi u kojih nisu utvrđene fimbrije neznatno adheriraju na epitelne stanice mokraćnog mjehura, zbog čega je zaključeno da su tip 1 fimbrije ključne za nastanak ascendentne infekcije mokraćnog sustava (48). Je li tako u infekcijama mokraćnog sustava ljudi, ostaje nepoznanica. Poteškoće u procjeni zadaje metastabilno ispoljavanje tip 1 fimbrija regulirano na razini transkripcije (51, 31, 14, 1). Molekulski mehanizam ove varijabilnosti je inverzija malog elementa od svega 300 parova baza koji sadržava promotor za fim A gen odgovoran za stvaranje fimbriina. Mutacija ovog elementa sprječava faznu varijaciju i koči stvaranje Fim A produkta u isključenoj ili uključenoj fazi. Istraživanje otežava i činjenica da bakterijsku populaciju s više različitih adhezina sačinjava niz subpopulacija koje su podložne brzom promjeni faza u sintezi fimbrija, kojom prigodom jedna bakterija rijetko posjeduje više od jednog adhezina (23). Ispoljavanje adhezina ovisi o okolnim uvjetima. Ovisnost o temperaturi okoline uočena je za brojne bakterijske čimbenike virulencije (54). Tip 1 fimbrije E. coli mogu se utvrditi nakon

uzgoja na 37°C, ali ne i nakon uzgoja na temperaturi od 20°C, što je razumljivo jer je ispoljavanje adhezina izvan kontroliranog raspona tjelesne temperature sisavaca nepotrebno.

Fazna varijacija dobro je proučena *in vitro*, a mišljenje je da do nje dolazi i *in vivo* (4). Stoga adhenzijske značajke sojeva u mokraći ne moraju odgovarati adhenzijskim značajkama sojeva koji naseljavaju sluznicu mokraćnog mjehura. Što više, Hultgren i suradnici opažaju da u 59% miševa, kojima je inducirana *E. coli* u mokraćni mjehur, nije moguće utvrditi bakterije u mokraći, dok je u svih utvrđena piurija, a nakon žrtvovanja kolonizacija mokraćnog mjehura. Ako bi ova opažanja prenijeli na ljude, onda bi bolesnici s piurijom i disurijom, a bez utvrđene bakteriurije, mogli imati neprepoznatu infekciju mokraćnog sustava.

Zaključno se može reći da je uloga tip 1 fimbrija u patogenezi različitih infekcija izazvanih s *E. coli* nejasna, kako zbog nestabilnih faznih izmjena, tako zbog teške interpretacije rezultata istraživanja *in vivo*. Mnogi su ipak skloni mišljenju da su tip 1 fimbrije značajne za početak infekcija, ali ne za invazivnost i prodiranje u krvni optjecaj (42). Zbog opažanja da se sojevi *E. coli* sa tip 1 fimbrijama vežu na makrofage i polimorfonukleare, pretpostavljalo se da olakšavajući fagocitozu snižavaju virulenciju soja, ali spoznaje o faznim izmjenama upućuju na mogućnost da se nakon uspostavljene kolonizacije tip 1 fimbrije više ne ispoljavaju, što omogućuje bakterijama da izbjegnju fagocitozu (36).

Manoza rezistentni adhezini *E. coli*

Manoza rezistentni adhezini UPEC heterogena su skupina s različitim sposobnostima adhenzije i hemaglutinacije. Na temelju receptorske specifičnosti grubo se mogu podijeliti u dvije skupine: one koji prepoznaju P tkivno-krvni glikolipidni antigen (P-fimbrije) i sve ostale nazvane X-adhezini ili X-fimbrije. Kako je ustanovljena receptorska specifičnost za brojne MR adhezine, primjerice za M, Dr i G, udio adhezina označen slovom X sve se više smanjuje.

Među MR adhezina UPEC najveće značenje pridaje se P-fimbrijama zbog utvrđene povezanosti između postojanja P-fimbrija i sposobnosti soja da izazove akutni nekomplirani pijelonefritis (58, 22, 38). Istrživanja nekih slučajeva akutnog pijelonefritisa, kod kojih nije bilo moguće utvrditi opstrukciju, svi izolirani sojevi posjedovali su P-fimbrije (58). U bolesnika s utvrđenim sklonostima za nastanak infekcije mokraćnog sustava, značenje P-fimbrija se gubi (38). Ove fimbrije nisu antigenski istovjetne (5, 17). Antigenska heterogenost, osim protusmjernom imunoelektroforezom, potvrđena je

i imunoelektronskom mikroskopijom (60). Antigenska varijabilnost značajno je svojstvo mnogih patogenih mikroorganizama koje im omogućuje da izbjegnju obranu makroorganizma. P-fimbrije, kao značajan čimbenik virulencije UPEC, podložne su selektivnom pritisku, zbog svoje dobre imunogeničnosti, što dovodi do antigenskih razlika. Dio P-fimbrija, odgovoran za vezanje na receptor, nije podložan promjenama i ostaje sačuvan (62). Razlike u sastavu P-fimbrija ometaju napore u iznalaženju djelotvornog cjepiva protiv pijelonefritisa (57). Ohrabruje otkrivanje zajedničkih antigenskih determinanti među serološki različitim P-fimbrijama, što može biti temelj za stvaranje široko križno reaktivnog, pa time i djelotvornog cjepiva.

Istražujući način na koji *E. coli* adherira na uroepitel u prisustvu manoze, otkriveno je da sojevi koji najbolje adheriraju ujedno i aglutiniraju ljudske eritrocite P₁, P₂ i P₁^k, ali ne \bar{p} fenotipa (59, 75). Stoga su fimbrije, koje se specifično vežu na ove krvno-grupne antigene, nazvane P-fimbrijama. P krvno-grupni antigeni su porodica oligosaharida koja sadržava Gal(α 1-4) Gal β jedinicu, a nalazi se na određenim stanicama sisavaca, primarno kao ugljikohidratni dio glikosfingolipida (76, 43). Na više je načina dokazano da je digalaktozid receptor na koji se veže *E. coli* s P-fimbrijama. Sojevi koji posjeduju P-fimbrije, specifično adheriraju na površine gdje je Gal-Gal prirodno prisutan (primjerice eritrociti ili uroepitel osoba s P₁, P₂ ili P₁^k krvnom grupom), ili je umjetno nanešen na različite strukture na koje se prije toga P-fimbrije nisu vezale (eritrociti ili epitelne stanice mokraćnog sustava osoba koje posjeduju \bar{p} krvnu grupu, eritrociti zamorčica, čestice lateksa) (45, 49). Nadalje, aglutinaciju ili adhenziju na strukture sa Gal-Gal epitopom moguće je spriječiti pomoću tvari koje sadržavaju Gal-Gal. Konačno, *E. coli* se pomoću P-fimbrija veže na glikolipide samo ako imaju Gal-Gal disaharid u svom sastavu.

Sam adhezin sa specifičnošću za Gal-Gal jedinicu uspješno je odvojen od ostalog dijela fimbrija (18). Aglutinirao je eritrocite i čestice lateksa presvučene s Gal-Gal, dok su fimbrije s kojih je adhezin odstranjen izgubile ovo svojstvo. Smješten je na vrhu fimbrija, a sačinjavaju ga dva proteina (16). Genski sklop koji kodira sintezu P-fimbrija, sastoji se od najmanje devet gena. P-fimbrije su stoga heteropolimeri sastavljeni od glavne podjedinice PapA i tri druga proteina smještena na vrhu fimbrija: PapE, PapF i PapG (33). Četvrti protein PapH nalazi se na bazi potpuno formiranih fimbrija PapE nije bitan za samo vezanje na Gal-Gal, već je neophodan za spajanje adhezina sa osnovnom podjedinicom fimbrija. Premda PapG upravlja receptorskom specifičnošću i predstavlja Gal-Gal specifični adhezin,

za uspješnu adherenciju neophodan je i PapF protein. Proteini označeni s PapC i PapD upravljaju polimerizacijom i transportom fimbrijalnih podjedinica, dok su PapB i PapI proteini uključeni u proces transkripcije pap operona.

Genske analize pokazale su da postoje razlike između pap operona pojedinih sojeva UPEC, te da neki sojevi posjeduju više kopija pap operona, čije su pozicije obzirom na pridruženi kromosomski slijed različite (29, 71, 73, 72). U načelu, manja varijabilnost je utvrđena između sojeva s istim O:K:H serotipom nego među nasumce odabranim sojevima. Opaženi su ipak sojevi E. coli koji bi na temelju O:K:H serotipa i enzimskog tipa trebali pripadati istom klonu, a nisu bili istog pap tipa, ili nisu uopće posjedovali pap operon. Nadalje, utvrđeni su i sojevi s istim pap tipom, s razlikama u dva od tri O:K:H antigena i razlikama u enzimskom tipu. Ova zapažanja navode na zaključak da postoji mogućnost horizontalnog prijenosa pap gena između genski različitih klonova E. coli (7).

Istraživanjem razmještaja receptora za P-fimbrije u mokraćnom sustavu ljudi i čovjekolikih majmuna objašnjeno je značenje ovih adhezina u patogenezi neopstruktivnog pijelonefritisa (21, 39, 15). Pokazano je da se pročišćene P-fimbrije vežu na epitelne stanice proksimalnih i distalnih tubula, te sabirnih kanala bubrega. P-fimbrije vežu se i na endotel krvnih žila i parijetalni epitel glomerula, ali ne na visceralni epitel (podocyte). Zna se da su podociti presvućeni sialilnom kiselinom, zbog čega se na njih vežu S-fimbrije E. coli, kojima je inače raspored receptora identičan raspoređenosti receptora za P-fimbrije u mokraćnom sustavu (78). S-fimbrije su MR adhezini E. coli koji prepoznaju sialil galaktozoide (37). Morfološki su identične tip 1 fimbrijama, a hemaglutinacija koju izazivaju može biti spriječena prethodnom obradom eritrocita s neuraminidazom (63). Premda postoje receptori za S-fimbrije u mokraćnom sustavu čovjeka, sojevi E. coli s ovim adhezinom rijetko se izoliraju u infekcijama mokraćnog sustava zbog postojanja sialil-oligosaharida u mokraći, koji kao topljivi receptori kompetitivno inhibiraju vezanje sojeva sa S-fimbrijama na epitel mokraćnog sustava (66). Naprotiv, S-fimbrije se vrlo često utvrđuju među sojevima E. coli izoliranim u slučaju meningitisa ili sepse (61).

Fimbrije, nazvane tip 1C, serološki se razlikuju od ostalih adhezina E. coli, ali posjeduju strukturnu sličnost s tip 1 fimbrijama. Sojevi koji posjeduju ove fimbrije ne aglutiniraju eritrocite, pa je zastupljenost ovog adhezina slabo istražena, a biološka uloga nepoznata. Pomoću monoklonskih protutijela utvrđena je u uzorku od 313 E. coli zastupljenost tip 1C fimbrija od 14%, s najvećom zastupljenošću

od 27% u skupini sojeva koji su prouzročili pijelonefritis (77). U ostalim dijagnostičkim skupinama zastupljenost je bila 10-15%, pa nije zaključeno da postoji izravan utjecaj tip 1C fimbrija na bakterijsku virulenciju. Monoklonska protutijela su vrijedno oruđe u budućim istraživanjima zastupljenosti i značenja tip 1C fimbrija (67). Upotrebom rekombinantnog soja E. coli, koji je ispoljavao samo tip 1C fimbrije i njegovim označavanjem fluorescentnom bojom, utvrđeno je da se tip 1C fimbrije vežu na endotel krvnih žila i epitelne stanice proksimalnih tubula i sabirnih kanala bubrega na MR način (78). Tip 1C fimbrije često su prisutne uz P-fimbrije na sojevima E. coli koji izazivaju pijelonefritis. Vezanje tip 1C fimbrija na epitel sabirnih kanala, možda povećava invazivnu sposobnost bakterija, jer se P-fimbrije vežu slabo na epitel sabirnih kanala bubrega. Ovo zapažanje je to zanimljivije jer do sada nije utvrđena prisutnost inhibitora u mokraći, koji bi se vazao na tip 1C fimbrije i onemogućio adherenciju na epitel bubrega.

Uvođenjem DNK hibridizacijske metode u istraživanje genske organizacije adhezina E. coli, ustanovljena je homolognost između genskih determinanti pojedinih MR adhezina (80). Tako su X-adhezini, koji se često utvrđuju uz 075 serogrupu, genski srodni S-fimbrijama i tip 1C fimbrijama (64). Isprva su označeni kao "075X adhezini slični fimbrijama" (41), a iz bezoblične mase X-adhezina, boljim poznavanjem prirode i organizacije adhezina UPEC, izdvojene su i G-fimbrije i M-adhezin (55). G-fimbrije vežu se na N-acetil-D-glukozamin, što je razjašnjeno opažanjem da E. coli s ovim adhezinom aglutinira ljudske eritrocite NN fenotipa nakon što se potonji izlože djelovanju endo- β -glukozidaze, čime se otkriva receptor na eritrocitnoj membrani. Hemaglutinaciju je moguće kompetitivno zapriječiti N-acetil-D-glukozaminom. M-adhezin otkriven je također uz pomoć hemaglutinacije zapažanjem da E. coli izolirana iz mokraće bolesnika oboljelog od pijelonefritisa aglutinira ljudske eritrocite MM i MN, ali ne NN fenotipa (83). Hemaglutinaciju je moguće spriječiti pomoću glikoforina A^M, sialoglikoproteina koji određuje M fenotip. Zanimljivo je da niti M-adhezin niti 075X-adhezin nisu organizirani kao fimbrije, a za razliku od do sada opisanih adhezina E. coli, na vežu se na ugljikohidrate već na proteinski receptor (69). Novijim istraživanjima ustanovljena je receptorska specifičnost 075X-adhezina (56). Pokazano je da ovaj adhezin prepoznaje Dr^a krvno-grupni antigen, te je, shodno tome, preimenovan u Dr hemaglutinin (82). MR hemaglutinacija, izazvana ovim adhezinom, daje se inhibirati kloramfenikolom i nešto izmijenjenim tirozinom, što znači da je spoj sličan tirozinu značajni dio receptora. Zbog zapažanja da je Dr

krvnoGrupni antigen prisutan u intersticiju bubrega, bazalnoj membrani tubula i Bowmanovoj kapsuli, pomišljalo se da bi Dr hemaglutinin mogao biti značajan u kroničnim infekcijama bubrega (69). Danas se zna da postoje četiri adhezina koji se vežu na Dr antigen, uz Dr hemaglutinin utvrđen je još i afimbrijalni adhezin I i III (AFAI i AFAIII), te F1845 hemaglutinin (24, 65, 25). Članovi ove porodice adhezina prepoznaju različite epitope istog antigena, tako kloramfenikol inhibira Dr hemaglutinin ali ne i druge adhezine ove skupine, a nakon što se Dr⁺ eritrociti izlože djelovanju proteaza, opaža se različit utjecaj na sposobnost hemaglutinacije pojedinih adhezina (56). Tek bi DNK hibridizacijske metode omogućile bolje poznavanje zastupljenosti i značenja pojedinih adhezina ove skupine. Cijela porodica češće se utvrđuje među sojevima *E. coli* izoliranim u skupini cistitisa nego u skupini pijelonefritisa ili asimptomatske bakteriurije. Kako se receptori za Dr adhezine nalaze i u debelom crijevu i prijelaznom epitelu donjeg mokraćnog sustava, pomišlja se na mogućnost da olakšavaju sojevima *E. coli* koji ih posjeduju ascendentni put infekcije mokraćnog sustava.

Značenje pojedinih adhezina UPEC nije moguće prosuditi samo na temelju utvrđivanja prisutnosti njihovih receptora u mokraćnom sustavu. Slična tkivna specifičnost P- i S-fimbrija najbolje oslikava ovu činjenicu. Adherencija može biti onemogućena djelovanjem topljivih molekula u mokraći koje zasite adhezine prije nego što dospiju do receptora na epitelnim stanicama. Receptori za većinu adhezina su ugljikohidrati, a mokraća sadrži brojne slobodne oligosaharide i značajnu količinu saharida vezanih s proteinima. Parkkinen i suradnici pokazali su da mokraća sprječava adherenciju sojeva s tip 1 fimbrijama i S-fimbrijama, te varijabilno sprječava adherenciju sojeva s Dr hemaglutininom, ali ne sprječava adherenciju sojeva s P-fimbrijama (84). Najznačajniji inhibitor vezanja S-fimbrija na receptore u mokraćnom sustavu je Tamm-Horsfallov glikoprotein (THGP). *E. coli* s tip 1 fimbrijama veže se također na THGP jer ovaj spoj u ugljikohidratnom dijelu sadrži manozu (79). Nakon što su Tamm i Horsfall, pedesetih godina ovog stoljeća, izolirali ovaj spoj (35), brojni istraživači pokušavaju utvrditi osobine i biološku ulogu ovog količinski najznačajnijeg mokraćnog proteina (70, 68). THGP se sastoji od 68% proteina, 28% ugljikohidrata i 1% lipida, od čega N-acetilneuraminska (sialilna) kiselina čini 5,5%, što objašnjava međudjelovanje ovog glikoproteina i S-fimbrija (70). Biološka uloga THGP-a ne može se objasniti nespecifičnom obranom organizma od infekcije mokraćnog sustava, ali je njegova uloga u patogenezi infekcija mokraćnog sustava nedvojbeno

(81, 12). Dok sojevi *E. coli* sa S-fimbrijama vezanjem za THGP u mokraći gube sposobnost adherencije, a time i opstanka u mokraćnom sustavu, sojevi s tip 1 fimbrijama ne vežu se na ovaj spoj u mokraći, nego samo ukoliko je imobiliziran na nekoj površini (84). Moguće je da THGP na sluznicama mokraćnog sustava, vežući *E. coli* s tip 1 fimbrijama, sprječava dublji prodor i adherenciju *E. coli* na receptore epitelnih stanica (30), no moguće je i da vezanje na imobilizirani THGP olakšava bakterijama kolonizaciju sluznica. Glavni inhibitor tip 1 fimbrija u mokraći su oligosaharidi male molekulske mase, mano-oligosaharidi, koji se normalno nalaze u mokraći (84).

Zaključak

Iz svega navedenog slijedi zaključak da se *E. coli* može vezati na sluznicu mokraćnog sustava i izazvati infekciju samo ako posjeduje adhezine koji se mogu vezati na glikokonjugate uroepitela, te ako receptori za njihove adhezine ne postoje otopljeni u mokraći.

LITERATURA

1. Abraham SN, Gougen JD, Beachey EH. Hyperadhesive mutant of type 1-fimbriated *Escherichia coli* associated with formation of FimH organelles (fimbriosomes). *Infect Immun* 1988; 56: 1023-9.
2. Adegbola RA, Old DC. Antigenic relationships among type-1-fimbriae of Enterobacteriaceae revealed by immuno-electronmicroscopy. *J Med Microbiol* 1987; 24: 21-8.
3. Arthur M, Campanelli C, Arbeit RD. Structure and copy number of gene clusters related to the pap P-adhezin operon of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1989; 57: 314-21.
4. Baga M, Normark S, Hardy J i sur. Nucleotide sequence of the papA gene encoding the Pap pilus subunit of human uropathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1984; 157: 330-3.
5. Beachey EH. Bacterial adherence: adhesin-receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. *J Infect Dis* 1981; 143: 325-45.
6. Bloch CA, Orndorff PE. Impaired colonization by and full invasiveness of *Escherichia coli* K1 bearing site-directed mutation in the type 1 pilin gene. *Infect Immun* 1990; 58: 275-8.
7. Buchanan K, Falkow S, Hull RA, Hull SJ. Frequency among Enterobacteriaceae of the DNA sequences encoding type 1 pili. *J Bacteriol* 1985; 162: 799-803.
8. De Man P, Cedergren B, Enerbäck S i sur. Receptor-specific agglutination test for detection of bacteria that bind globoseries glycolipids. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 401-6.
9. Denich K, Craiu A, Rugo H, Muralidhar G, O'Henley P. Frequency and organization of papA homologues DNA sequences among uropathogenic digalactoside-binding *Escherichia coli* strains. *Infect Immun* 1991; 59: 2089-96.

10. Domingue GJ, Roberts JA, Laucirica R. Pathogenic significance of P-fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infections. *J Urol* 1985; 133: 983-9.
11. Dorman CJ, Higgins CF. Fimbrial phase variation in *Escherichia coli*: Dependence on integration host factor and homologies with other site-specific recombinases. *J Bacteriol* 1987; 169: 3840-3.
12. Duguid JP, Smith IW, Dempster G, Edmunds PN. Non-flagellar filamentous appendages ("fimbriae") and hemagglutination activity in *Bacterium coli*. *J Pathol Bacteriol* 1955; 70: 335-48.
13. Duguid JP, Clegg S, Wilson MI. The fimbrial and non-fimbrial hemagglutinins of *Escherichia coli*. *J Med Microbiol* 1979; 12: 213-28.
14. Eisenstein BI. Phase variation of type 1 fimbriae in *Escherichia coli* is under transcriptional control. *Science* 1981; 214: 337-9.
15. Enerbäck S, Larsson A-C, Leffler H i sur. Binding to galactose α 1-4 galactose β -containing receptors as potential diagnostic toll in urinary tract infection. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 407-11.
16. Eshdat Y, Speth V, Jann K. Participation of pili and cell wall adhesion in the yeast agglutination activity of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1981; 34: 980-6.
17. Finne J. Identification of the blood-group ABH-active glycoprotein components of human erythrocyte membrane. *Eur J Biochem* 1980; 104: 181-9.
18. Firon N, Ofek I, Sharon N. Carbohydrate-binding sites of the mannose-specific fimbrial lectins of *Enterobacteria*. *Infect Immun* 1984; 43: 1088-90.
19. Freitag CS, Abraham JM, Clements JR, Eisenstein BI. Genetic analysis of the phase variation control of expression of type 1 fimbriae in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1985; 162: 668-75.
20. Goldhar J, Perry R, Golecki JR, Hoschutzky H, Jann B, Jann K. Nonfimbrial, mannose-resistant adhesins from uropathogenic *Escherichia coli* 083: K1:H4 and 014:K?:H11. *Infect Immun* 1987; 55: 1837-42.
21. Goldstein IJ, Hughes RC, Monsigny M, Osawa T, Sharon N. What should be called a lectin? *Nature* 1980; 285: 66.
22. Hanley J, Salit JE, Hofmann T. Immunochemical characterization of P pili from invasive *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1985; 49: 581-6.
23. Harris SL, Elliot DA, Blake MC, Must LM, Messenger M, Orndorff PE. Isolation and characterization of mutants with lesions affecting pellicle formation and erythrocyte agglutination by type 1 piliated *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1990; 172: 6411-8.
24. Hoschützky H, Lottspeich F, Jann K. Isolation and characterization of the α -galactosyl-1, 4- β -galactosyl specific adhesin (P adhesin) from fimbriated *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1989; 57: 76-81.
25. Hull S, Clegg S, Svanborg-Eden C, Hull R. Multiple forms of genes in pyelonephritogenic *Escherichia coli* encoding adhesins binding globoseries glycolipid receptors. *Infect Immun* 1985; 47: 80-3.
26. Hultgren SJ, Porter TN-Schaeffer AJ, Duncan JL. Role of type 1 pili and effect of phase variation on lower urinary tract infections produced by *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1985; 50: 370-7.
27. Hultgren SJ, Schwan WR, Schaeffer J, Duncan JL. Regulation of production of type 1 pili among urinary tract isolates of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1986; 54: 613-20.
28. Isenberg HD. Pathogenicity and virulence: another view. *Clin Microbiol Rev* 1988; 1: 40-53.
29. Iwahi T, Abe Y, Nakao M, Imada A, Tsuchiya K. Role of type 1 fimbriae in the pathogenesis of ascending urinary tract infection induced by *Escherichia coli* in mice. *Infect Immun* 1983; 39: 1307-15.
30. Johanson I, Lindstedt R, Svanborg C. Roles of the pap- and prs- encoded adhesins in *Escherichia coli* adherence to human uroepithelial cells. *Infect Immun* 1992; 60: 3416-22.
31. Johnson JR. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4: 80-128.
32. Källenius G, Möllby R, Hultberg H, Svenson SB, Cedergren B, Winberg J. Structure of carbohydrate part of receptor on human uroepithelial cells for pyelonephritogenic *Escherichia coli*. *Lancet* 1981; 2: 604-6.
33. Källenius G, Svenson SB, Hultberg H i sur. Occurrence of P-fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infections. *Lancet* 1981; 2: 1369-72.
34. Karr JF, Nowicki B, Truong LD, Hull RA, Hull SI. Purified P fimbriae from two cloned gene clusters of a single pyelonephritogenic strain adhere to unique structures in the human kidney. *Infect Immun* 1989; 57: 3594-600.
35. Keith BR, Maurer L, Spears PA, Orndorff PE. Receptor-binding function of type 1 pili effects bladder colonization by clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1986; 53: 693-6.
36. Klemm P, Ørskov I, Ørskov F. Isolation and characterization of F12 adhesive fimbrial antigen from uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Infect Immun* 1983; 40: 91-6.
37. Klemm P. Fimbrial adhesins of *Escherichia coli*. *Rev Infect Dis* 1985; 7: 321-40.
38. Korhonen TK, Nurmiaho E-L, Ranta H, Svanborg-Eden C. New method for isolation of immunologically pure pili from *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1980; 27: 569-75.
39. Korhonen TK, Väisänen-Rhen M, Pere A, Parkkinen J, Finne J. *Escherichia coli* fimbriae recognizing sialyl galactosides. *J Bacteriol* 1984; 159: 762-6.
40. Korhonen TK, Parkkinen J, Hacker J i sur. Binding of *Escherichia coli* S fimbriae to human kidney epithelium. *Infect Immun* 1986; 54: 322-7.
41. Korhonen TK, Virkola R, Holthöfer H. Localization of binding sites for purified *Escherichia coli* P fimbriae in the human kidney. *Infect Immun* 1986; 54: 328-32.
42. Korhonen TK, Virkola R, Westerlund B, Holthöfer H, Parkkinen J. Tissue tropism of *Escherichia coli* adhesins in human extraintestinal infections. *Curr Top Microbiol Immunol* 1990; 151: 115-27.
43. Labigne-Roussel AF, Lark D, Schoolnik G, Falkow S. Cloning and expression of an afimbrial adhesin (AFA-I) responsible for P blood group-independent,

- mannose-resistant hemagglutination from a pyelonephritis *Escherichia coli* strain. *Infect Immun* 1984; 46: 251-9.
44. Labigne-Roussel A, Falkow S. Distribution and degree of heterogeneity of the afimbrial-adhesin-encoding operon (afa) among uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *Infect Immun* 1988; 56: 640-8.
 45. Laffler H, Svanborg-Eden C. Glycolipid receptors for uropathogenic *Escherichia coli* on human erythrocytes and uroepithelial cells. *Infect Immun* 1981; 34: 920-9.
 46. Lomberg H, Cedergren B, Leffler H, Nilsson B, Carlström A-S, Svanborg-Eden C. Influence of blood group on the availability of receptors for attachment of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1986; 51: 919-26.
 47. Lund B, Lindberg F, Normark S. Structure and antigenic properties of tip-located P pilus proteins of uropathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1988; 170: 1887-94.
 48. Maurer L, Orndorff PE. Identification and characterization of genes determining receptor binding and pilus length of *Escherichia coli* type 1 pili. *J Bacteriol* 1987; 169: 640-5.
 49. Minon FC, Abraham SN, Beachey EH, Goguen JD. The genetic determinant of adhesive function in type 1 fimbriae of *Escherichia coli* is distinct from the gene encoding the fimbrial subunit. *J Bacteriol* 1986; 165: 1033-6.
 50. Neeser J-R, Koellreutter B, Wuersch P. Oligomannoside-type glycopeptides inhibiting adhesion of *Escherichia coli* strains mediated by type 1 pili: preparation of potent inhibitors from plant glycoproteins. *Infect Immun* 1986; 52: 428-36.
 51. Nowicki B, Rhen M, Väisänen-Rhen V, Pere A, Korhonen TK. Immunofluorescence study of fimbrial phase variation in *Escherichia coli* KS71. *J Bacteriol* 1984; 160: 691-5.
 52. Nowicki B, Moulds J, Hull R, Hull S. A hemagglutinin of uropathogenic *Escherichia coli* recognizes the Dr blood group antigen. *Infect Immun* 1988; 56: 1057-60.
 53. Nowicki B, Svanborg-Eden C, Hull R, Hull S. Molecular analysis and epidemiology of the Dr hemagglutinin of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1989; 57: 446-51.
 54. Nowicki B, Labigne A, Moseley S, Hull R, Hull S, Moulds J. The Dr hemagglutinin, afimbrial adhesins AFA-I and AFA-III, and F1845 fimbriae of uropathogenic and diarrhea-associated *Escherichia coli* belong to a family of hemagglutinins with Dr receptor recognition. *Infect Immun* 1990; 58: 279-81.
 55. Ofek I, Beachey EH. Mannose binding and epithelial cell adherence of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1978; 22: 247-54.
 56. Ofek I, Mosek A, Sharon N. Mannose-specific adherence of *Escherichia coli* freshly excreted in the urine of patients with urinary tract infections, and of isolates subcultures from the infected urine. *Infect Immun* 1981; 34: 708-11.
 57. Old DC, Yakub DE, Crichton PB. Demonstration by immuno-electron-microscopy of antigenic heterogeneity among P fimbriae of strains of *Escherichia coli*. *J Med Microbiol* 1987; 23: 247-53.
 58. Orndorff PE, Falkow S. Organization and expression of genes responsible for type 1 piliation in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1984; 159: 736-44.
 59. Ørskov I, Ferencz A, Ørskov F. Tamm-Horsfall protein or uromucoid is the normal urinary slime that traps type 1 fimbriated *Escherichia coli*. *Lancet* 1980; 1: 887.
 60. Ørskov I, Ørskov F. Serologic classification of fimbriae. *Curr Top Microbiol Immunol* 1990; 151: 71-90.
 61. Ott M, Hacker J, Schmoll T, Jarchau T, Korhonen TK, Goebel W. Analysis of the genetic determinants coding for the S-fimbrial adhesin (sfa) in different *Escherichia coli* strains causing meningitis or urinary tract infections. *Infect Immun* 1986; 54: 646-53.
 62. Ott M, Schmoll T, Goebel W, Van Die I, Hacker J. Comparison of the genetic determinant coding for the S-fimbrial adhesin (sfa) of *Escherichia coli* to other chromosomally encoded fimbrial determinants. *Infect Immun* 1987; 55: 1940-3.
 63. Parkkinen J, Rogers GM, Korhonen T, Dahar W, Finne J. Identification of the O-linked sialyloligosaccharides of glycophorin A as the erythrocyte receptors for S-fimbriated *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1986; 54: 37-42.
 64. Parkkinen J, Virkola R, Korhonen TK. Identification of factors in human urine that inhibit the binding of *Escherichia coli* adhesins. *Infect Immun* 1988; 56: 2623-30.
 65. Pawelzik M, Heesemann J, Hacker J, Opferkuch W. Cloning and characterization of a new type of fimbriae (S/F1C-related fimbria) expressed by an *Escherichia coli* 075:K1:H7 blood culture isolate. *Infect Immun* 1988; 56: 2918-24.
 66. Pennica D, Kohr WJ, Kuang W-J i sur. Identification of human uromodulin as the Tamm-Horsfall urinary glycoprotein. *Science* 1987; 236: 83-8.
 67. Pere A, Leinonen M, Väisänen-Rhen V, Rhen M, Korhonen TK. Occurrence of type 1C fimbriae on *Escherichia coli* strains isolated from human extraintestinal infections. *J Gen Microbiol* 1985; 131: 1705-11.
 68. Pere A, Selander RK, Korhonen TK. Characterization of P fimbriae on 01, 07, 075, rough and nontypable strains of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1988; 56: 1288-94.
 69. Plos K, Hull SI, Hull RA i sur. Distribution of the P-associated pilus (pap) region among *Escherichia coli* from natural sources: Evidence for horizontal gene transfer. *Infect Immun* 1989; 57: 1604-11.
 70. Reinhart H, Obedeau N, Marzbach D, Soebel JD. Effect of Tamm-Horsfall protein on chemoluminescence response of polymorphonuclear leukocytes to uropathogenic *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1991; 164: 404-6.
 71. Rhen M, Klemm P, Korhonen TK. Identification of two new hemagglutinins of *Escherichia coli*, N-acetyl-D-glucosamine-specific fimbriae and a blood group

- M-specific agglutinin, by cloning the corresponding genes in *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol* 1986; 168: 1234-2.
72. Roberts JA, Kaack B, Källenius G, Möllby R, Winberg J, Svenson SB. Receptors for pyelonephritogenic *Escherichia coli* in primates. *J Urol* 1984; 131: 163-8.
73. Schachner MS, Minitier PM, Mayrer AR, Andride VT. Interaction of Tamm-Horsfall protein with bacterial extracts. *Kidney Int* 1987; 31: 77-84.
74. Schaeffer AJ, Schwan WR, Hultgren SJ, Duncan JL. Relationship of type 1 pilus expression in *Escherichia coli* to ascending urinary tract infections in mice. *Infect Immun* 1987; 55: 373-80.
75. Schmitz S, Abe C, Moser I i sur. Monoclonal antibodies against the nonhemagglutinating fimbrial antigen 1C (pseudotype 1) of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1986; 51: 54-9.
76. Spears PA, Schauer D, Orndorff PE. Metastable regulation of type 1 piliation in *Escherichia coli* and characterization of a phenotypically stable mutant. *J Bacteriol* 1986; 168: 179-85.
77. Svanborg-Eden C, Andersson B, Aniansson G i sur. Inhibition of bacterial attachment: Examples the urinary and respiratory tracts. *Curr Top Microbiol Immunol* 1990; 151: 167-84.
78. Tamm I, Horsfall F. A mucoprotein derived from human urine which reacts with influenza, mumps, and Newcastle disease viruses. *J Exp Med* 1952; 95: 71-97.
79. Väisänen V, Tallgren LG, Mäkelä PH i sur. Manosse-resistant haemagglutination and P antigen recognition are characteristic of *Escherichia coli* causing primary pyelonephritis. *Lancet* 1981; 2: 1366-9.
80. Väisänen V, Korhonen TK, Jokinen M, Gahmberg CG, Ehnholm C. Blood group M Specific haemagglutinin in pyelonephritogenic *Escherichia coli*. *Lancet* 1982; 1: 1192.
81. Väisänen-Rhen V. Fimbriae-like hemagglutinin of *Escherichia coli* 075 strains. *Infect Immun* 1984; 46: 401-7.
82. Vraneš J, Žagar Ž. Biološka uloga Tamm-Horsfallova glikoproteina i dalja nepoznanica. *Liječ Vjesn* 1993; 115: 247-51.
83. Vraneš J, Gmajnički B, Đelalija M. Utjecaj adherencije na virulenciju uropatogenih sojeva *Escherichia coli*. *Liječ Vjesn* 1994; 116: 70-4.
84. Williams PH, Hinson G. Temperature-dependent transcriptional regulation of expression of fimbriae in an *Escherichia coli* strain isolated from a child with severe enteritis. *Infect Immun* 1987; 55: 1734-6.

Abstract

ADHESINS OF UROPATHOGENIC *ESCHERICHIA COLI* AND THEIR ROLE IN THE PATHOGENESIS OF URINARY TRACT INFECTIONS

Jasmina Vraneš

School of Public Health "Andrija Štampar",
Zagreb

Bacterial adherence is a stereospecific interaction between adhesin molecules on the bacterial cell surface and complementary receptor molecules on the host cell surface. Bacteria adhere to uroepithelial cells in highly selective manner, thus cannot be removed by unspecific

cleansing mechanism of urinary tract. Therefore, adherence is an important first step in the pathogenesis of urinary tract infections. Adhesins of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) are among the best studied bacterial adhesins, and importance of UPEC adherence in uncomplicated urinary tract infections is well known. In this review the nature, organization, and the role in pathogenesis of urinary tract infections of different UPEC adhesins are considered.

Key words: uropathogenic *Escherichia coli*, urinary tract infections, bacterial adherence