

CƠ CHẾ PHÂN TỬ VỀ QUÁ TRÌNH XÂM NHIỄM VÀ GÂY BỆNH CỦA MỘT SỐ NHÓM VI KHUẨN *ESCHERICHIA COLI* KHI XÂM NHẬP VÀO BIỂU MÔ NIÊM MẠC RUỘT NGƯỜI

**Nguyễn Ngọc Trung⁽¹⁾, Trần Thị Phương Anh⁽²⁾, Nguyễn Trung Quân⁽³⁾,
Hoàng Thành Chí⁽⁴⁾, Bùi Thị Kim Lý⁽⁴⁾**

(1) Công ty Cổ phần Vật tư khoa học Biomedic; (2) Trường Đại học Kinh tế - Tài chính TP HCM

(3) Trường Đại học Khoa học Tự nhiên TP HCM; (4) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài 21/9/2023; Ngày gửi phản biện 03/10/2023; Chấp nhận đăng 20/11/2023

Liên hệ email: lybtk@tdmu.edu.vn

<https://doi.org/10.37550/tdmu.VJS/2023.06.482>

Tóm tắt

Bệnh học *E. coli* luôn được quan tâm nghiên cứu do mức độ nguy hại và tính lây nhiễm nhanh. Dựa trên phương thức lây nhiễm và cách thức gây độc, *E. coli* được chia thành các nhóm khác nhau. Việc hiểu rõ về cơ chế gây bệnh của từng nhóm vi khuẩn có ý nghĩa quan trọng trong việc xây dựng các liệu pháp điều trị phù hợp và hiệu quả. Bài tổng hợp này cung cấp các thông tin cần thiết về con đường xâm nhiễm và gây độc của một số nhóm *E. coli* phổ biến bao gồm Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) gây tiêu chảy, xuất huyết, hội chứng urea huyết tán huyết; Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) gây bệnh kiết lỵ, đi ngoài phân ít, có lẫn nhày máu; Enteraggregative *E. coli* (EAEC) gây ngưng tập kết ruột, hình thành màng biofilm chứa sinh khối vi khuẩn; Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) sinh độc tố ruột, gây tiêu chảy; Diffusely Adherent *E. coli* (DAEC) gây tiêu chảy cấp ở trẻ em.

Từ khóa: cơ chế, độc tố, *Escherichia coli*, tiêu chảy

Abstract

MOLECULAR MECHANISM OF SOME GENRES OF *ESCHERICHIA COLI* ON HUMAN MUCOSAL EPITHELIUM

Escherichia coli pathology has always been of interest to researchers due to its severity and rapid infectivity. Based on the mode of infection and toxicity, *E. coli* is divided into different groups. Clarified knowledge of the pathogenic mechanisms of each group of *E. coli* is vital in the development of appropriate and effective therapies. This review provides essential information on the infectious and toxic pathways of some common *E. coli* groups, including Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), which causes diarrhea, hemorrhage, and hemolytic urea syndrome; Enteroinvasive *E. coli* (EIEC), which causes dysentery, small bowel movements, and bloody mucus; Enteraggregative *E. coli* (EAEC),

which causes intestinal aggregation and the formation of biofilm covering bacterial biomass; Enterotoxigenic E. coli (ETEC), which produces enterotoxins, causing diarrhea; and adherent E. coli (DAEC) causes acute diarrhea in children.

1. Đặt vấn đề

Vì khuẩn *Escherichia coli* được phân lập và quan sát lần đầu vào năm 1885 bởi nhà khoa học người Áo Theodore Escherich (1857-1911) nhưng mãi đến năm 1954 thì *E. coli* mới được công nhận hoàn toàn (Escherich, 1988). *E. coli* là vi khuẩn gram âm hình que, thuộc họ *Enterobacteriaceae*, sinh trưởng tốt nhất ở 37°C. Kích thước bộ gene khoảng 4,6Mb và chia thành hai nhóm gene bao gồm nhóm gene bảo tồn (nhóm gene lõi) và nhóm gene không bảo tồn (nhóm gene linh hoạt). Ở vi khuẩn *E. coli* nhóm gene linh hoạt chịu trách nhiệm cho khả năng gây bệnh của chúng đồng thời nhóm gene này cũng quyết định cho sự khác nhau về kích thước vùng gene giữa các chủng *E. coli* khác nhau (Touchon và nnk, 2009).

Nhóm vi khuẩn *E. coli* có khả năng gây ra nhiều bệnh lý khác nhau ảnh hưởng lên sức khỏe của con người trong đó nổi bật là bệnh tiêu chảy. *E. coli* cùng với *Shigella* theo nghiên cứu của GEMS (Global Enteric Multi-Center Study) là hai tác nhân gây tiêu chảy hàng đầu trên thế giới đặc biệt là khu vực phía nam Sahara (Châu Phi) và khu vực Nam Á, chúng chịu trách nhiệm chính cho hầu hết các ca tử vong ở trẻ em dưới 5 tuổi trên toàn thế giới (Kotloff và nnk, 2013).

2. Phân loại các nhóm vi khuẩn *E. coli* và cấu trúc hệ thống tiết loại III (T3SS)

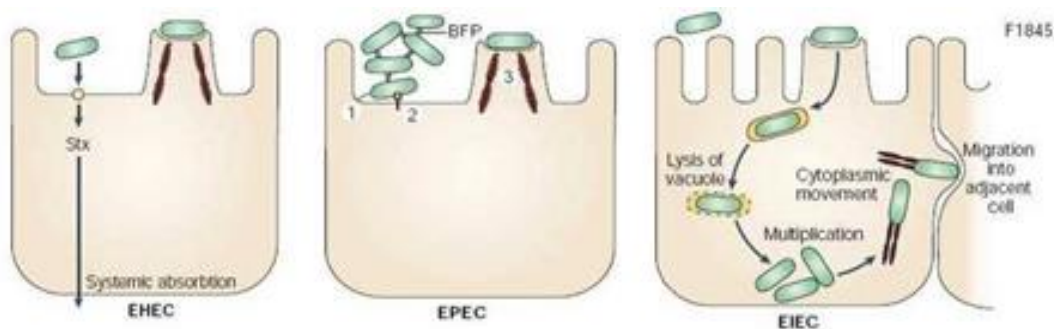
Xét về cơ chế tác động của nhóm vi khuẩn *E. coli* gây bệnh đường ruột có thể chia thành hai nhóm chính gồm có thông qua và không thông qua cấu trúc hệ thống tiết loại III (Type 3 secretion effectors) viết tắt là T3SS:

2.1. Nhóm *E. coli* gây bệnh thông qua cấu trúc T3SS (hình 1), cụ thể gồm:

– Vi khuẩn Enteropathogenic *E. coli* (EPEC): gây bệnh đường ruột chủ yếu là bệnh tiêu chảy. Tấn công lên bề mặt các tế bào niêm mạc ruột tạo các tổn thương dạng xóa và gắn kết đặc trưng (Attaching and Effacing A/E: lớp vi biểu bì trên tế bào chủ bị xóa mờ và hình thành cấu trúc giàu actin nhô ra cho vi khuẩn gắn vào) (Neter và nnk, 1955).

– Vi khuẩn Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC): gây tiêu chảy, xuất huyết, hội chứng urea huyết tán huyết (HUS). Tấn công lên bề mặt các tế bào niêm mạc ruột tạo các tổn thương A/E. Có khả năng sinh độc tố Shiga (Stx) gây ra hội chứng urea huyết tán huyết (tan máu – niệu) đặc trưng bởi lượng hồng cầu thấp (Levine, 1987).

– Vi khuẩn Enteroinvasive *E. Coli* (EIEC): xâm nhập ruột, gây bệnh chủ yếu thông qua khả năng xâm nhập vào niêm mạc đại tràng, gây tổn thương chính là loét hoại tử niêm mạc đại tràng, và gây bệnh kiết lỵ, đi ngoài phân ít, có lẫn nhày máu (Ruiting Lan và nnk, 2004).



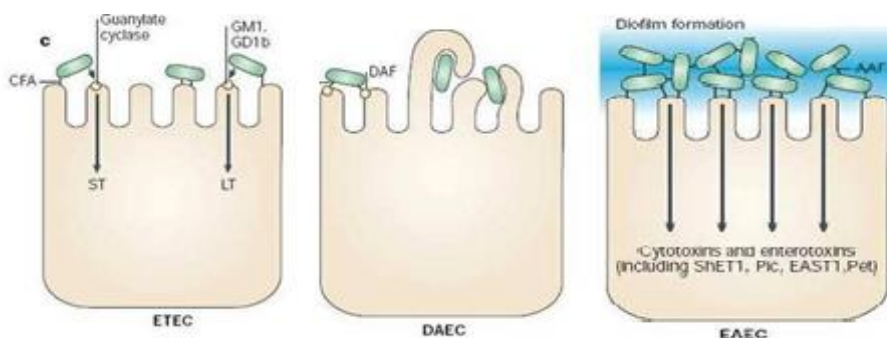
Hình 1. Nhóm vi khuẩn *E. coli* gây bệnh thông qua cấu trúc T3SS (Kaper và nnk., 2004)

2.2. Nhóm vi khuẩn *E. coli* gây bệnh không thông qua cấu trúc T3SS (hình 2)

– Vi khuẩn Enteraggregative *E. Coli* (EAEC): gây ngưng tập kết ruột, hình thành màng biofilm trên niêm mạc cho vi khuẩn khu trú và gây bệnh (Nataro và nnk., 2006).

– Vi khuẩn Enterotoxigenic *E. Coli* (ETEC): sinh độc tố ruột, gây bệnh tiêu chảy với đặc điểm phân lỏng không có nhầy và máu. Nhóm này gây bệnh thông qua việc tiết độc tố bền nhiệt (ST) và không bền nhiệt (LT) dẫn đến sự mất cân bằng ion trên niêm mạc gây tiêu chảy (Gupta và nnk., 2008).

– Vi khuẩn Diffusely Adherent *E. Coli* (DAEC): gây bám dính phân tán. DAEC đặc biệt không có gen độc lực đặc trưng như những loài khác. Cơ chế gây bệnh trung gian thông qua afimbrial (Afa) hoặc fimbrial (Dr) tạo thành các chất kết dính (Afa-Dr adhesins) (Snelling và nnk., 2009).



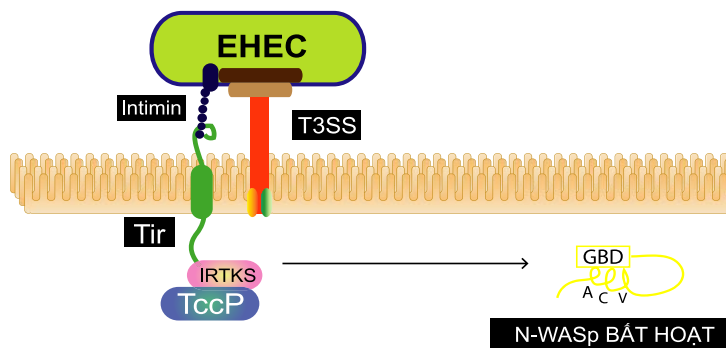
Hình 2. Nhóm vi khuẩn *E. coli* gây bệnh không thông qua cấu trúc T3SS (Kaper và nnk., 2004)

Cấu trúc T3SS được phát hiện trên nhiều vi khuẩn gram âm gồm *Salmonella*, *Vibrio*, *Shigella*, *E. coli*, *Pseudomonas*, *Yersinia*, *Chlamodya*... (Kubori và nnk., 1998) và là cấu trúc vô cùng quan trọng trong quá trình gây bệnh của nhiều vi khuẩn, đóng vai trò như thụ thể cảm ứng khi tiếp xúc với tế bào chủ và hình thành hệ thống dẫn cho phép tế bào vi khuẩn tiết các yếu tố độc lực (là tác nhân chính gây bệnh vào tế bào chủ) (Gaytán và nnk., 2016). Trên thực tế khi nghiên cứu loại bỏ cấu trúc của T3SS thì khả năng gây bệnh của nhóm vi khuẩn phụ thuộc cũng bị loại bỏ (Abigail Clements và nnk., 2013).

Phần sau là tổng hợp về cơ chế phân tử gây bệnh của EHEC, EIEC, EAEC, ETEC, và DAEC

3. Con đường gây bệnh của vi khuẩn Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)

Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) là nhóm vi khuẩn *E. coli* gây bùng phát của tiêu chảy ra máu và hội chứng HUS trên toàn thế giới (Njoroge và nnk., 2011). EHEC gây bệnh thông qua T3SS để đưa các yếu tố độc lực của chúng vào trong tế bào chủ (Kubori và nnk., 1998). Yếu tố độc lực được tiết sớm nhất vào tế bào chủ là Tir, sau đó là các yếu tố phụ trợ như TCCP (Croxen và nnk., 2010). Tir nhanh chóng biểu hiện lên bề mặt tế bào chủ và tương tác với Intimin trên bề mặt EHEC giúp giữ tế bào *E. coli* trên bề mặt chắc chắn hơn (Croxen và Finlay, 2010). TCCP bám lên đầu C của Tir trung gian thông qua IRTKS (là một yếu tố gắn insulin), cấu trúc phức hợp này tham gia hoạt hoá N-WASp từ đó gây thay đổi cấu trúc khung actin bên trong tế bào (Croxen và Finlay, 2010). Khác với một số chủng *E. Coli* khác, EHEC không có hiện tượng kết cụm khi xâm nhiễm do thiếu hụt biểu hiện các yếu tố kết dính như BPF (Njoroge và Sperandio, 2011). Trong quá trình gây nhiễm, EHEC tăng tiết độc tố Shiga toxin (Stx) vào tế bào chủ, đây là độc tố chính gây ra các triệu chứng bệnh lý nghiêm trọng và tử vong liên quan đến nhiễm trùng EHEC (Melton-Celsa, 2014; Njoroge và Sperandio, 2011) (hình 3).



Hình 3. Quá trình xâm nhập của EHEC trên tế bào chủ thông qua cấu trúc T3SS và các yếu tố phụ trợ

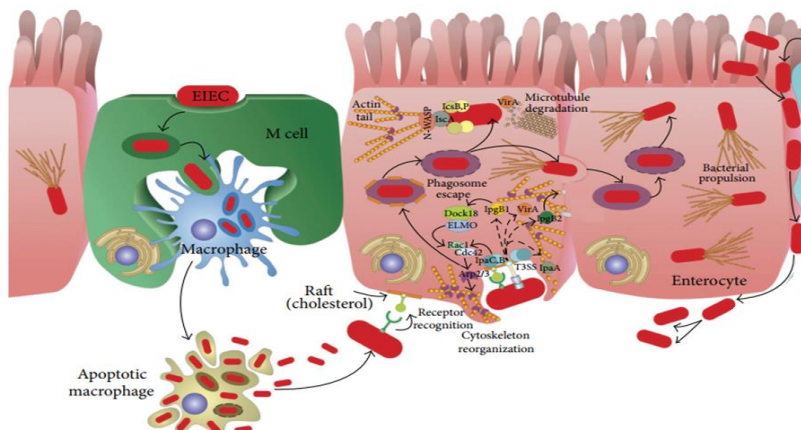
Độc tố Stx gây ức chế tổng hợp protein và gây ra apoptosis và là một AB5 độc tố được cấu thành bởi một tiểu đơn vị xúc tác A liên kết không cộng hóa trị với một pentamer của tiểu đơn vị B (Melton-Celsa, 2014). Tiểu đơn vị A có hoạt tính N-glycosidase phân cắt adenosine từ RNA ribosome 28S lõi của tiểu đơn vị ribosome 60S, kết quả là gây ức chế tổng hợp protein, gây chết tế bào do apoptosis (Njoroge và Sperandio, 2011). Pentamer tiểu đơn vị B có thể liên kết với thụ thể globotriaosylceramide (Gb3) trên bề mặt tế bào chủ, các thụ thể Gb3 được phát hiện ở các tế bào Paneth trong niêm mạc ruột và ở các tế bào biểu mô thận (Njoroge và Sperandio, 2011). Gen mã hóa ra độc tố Stx này vốn thuộc các thực khuẩn thể họ lamda được tích hợp vào genome của vi khuẩn thông qua quá trình tiến hoá (Pacheco và nnk, 2012). Thuộc vùng gen muộn. Các yếu tố gây độc kích hoạt chu trình tan của vi khuẩn EHEC cảm ứng sự biểu hiện của Stx (Pacheco và Sperandio, 2012).

Trong điều kiện bình thường, cI repressor bám lên vùng operater bên trái và phải ức chế hoạt động của vùng gen lõi (Pacheco và Sperandio, 2012). Khi bước vào chu trình tan tế bào vi khuẩn tiết ra tín hiệu SOS là tăng nồng độ của RecA, RecA thúc đẩy quá

trình phân tách nhân tố điều hoà cI ra khỏi vùng operater tạo điều kiện cho protein Q bám lên vùng promoter của gen lõi và biểu hiện độc tố Stx (Pacheco và Sperandio, 2012).

4. Con đường gây bệnh của vi khuẩn Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) là nhóm vi khuẩn gây bệnh có các triệu chứng như mắc nhiễm *Shigella* gồm tiêu chảy, kiết lỵ đặc trưng bởi các cơn co rút bụng, tiêu chảy, nôn mửa, sốt, ớn lạnh và khó chịu (Croxen và nnk., 2013). Độc tính của EIEC không chỉ được quy định bởi genome vi khuẩn mà còn phụ thuộc vào plasmid độc tính *pINV* (Pasqua và nnk., 2017). Cấu trúc của *pINV* rất phức tạp, plasmid này được tạo thành từ một khảm các gen có nguồn gốc khác nhau và có dấu vết từ bốn plasmid khác nhau tổ hợp lại trong quá trình tiến hoá (Lan và nnk., 2003). *pINV* phân lập từ EIEC chia sẻ các vùng tương đồng về cấu trúc và chức năng cao và có thể hoán đổi cho nhau với các plasmid tương đồng phân lập từ các chủng *Shigella* (Pasqua và nnk., 2017). Khi tiếp xúc đầu tiên với môi trường trong ruột người, các tín hiệu cảm biến cho phép plasmid *pINV* tổng hợp ra VirF tương tác ức chế với protein HS-N bám trên promoter, cho phép mở và mã hóa tổng hợp ra protein icsA và VirB (Pasqua và nnk., 2017). Nhân tố VirB là yếu tố kích thích phiên mã cho toàn bộ gen trên vùng khởi đầu phiên mã - Entry (mixE) và mã hóa các yếu tố cần thiết cho sự xâm nhập cũng như toàn bộ cấu trúc của T3SS (Pasqua và nnk., 2017). VirB cũng tham gia kích thích phiên mã các vùng gen còn lại nằm rải rác khắp nơi trên plasmid (Pasqua và nnk., 2017). Để có khả năng xâm nhập vào tế bào biểu mô ruột, vi khuẩn ưu tiên xâm nhập vào các tế bào M trước tại các nốt bạch huyết, tại đây các tế bào EHEC nhanh chóng bị phát hiện và bị thực bào bởi các đại thực bào địa phương, các yếu tố độc tính nhanh chóng được tiết ra gây Pyroptosis (apoptosis có phản ứng viêm) bằng cách kích hoạt đường truyền tín hiệu Caspase1 và các yếu tố Cytokine gây phá huỷ các đại thực bào (Navarro-Garcia và nnk., 2013). Sau khi thoát khỏi đại thực bào, EIEC tiếp tục tiếp cận với tế bào biểu mô ruột bằng tương tác với vùng Raft lipid thông qua thụ thể CD44 và $\alpha 5 \beta 1$ gây ra những biến đổi đầu tiên trong cấu trúc mạng lưới actin cytoskeleton (cấu trúc lưới polyactin và protein binding actin) (Navarro-Garcia và nnk., 2013).

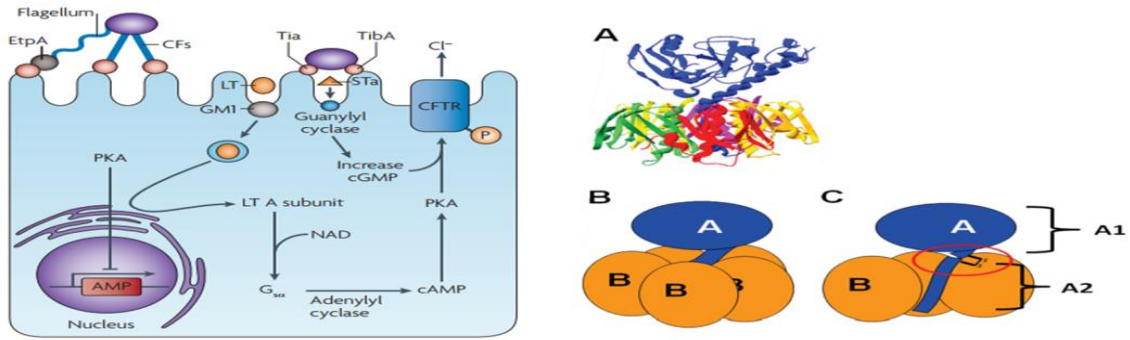


Hình 4. Quá trình xâm nhiễm của EIEC (Navarro-Garcia và nnk., 2013)

Sự nhập bào thực sự bắt đầu hiệu quả khi các yếu tố độc lực được *EIEC* tiết thông qua T3SS vào bên trong tế bào chủ. Các yếu tố IpaA, B và C có vai trò trong việc tái cấu trúc lại sợi actin trên bề mặt tế bào tạo thành các cấu trúc cần thiết cho sự nhập bào (Navarro-Garcia và *nnk.*, 2013). Việc tái cấu trúc tế bào nhân chuẩn được chi phối chính bởi tiểu phần Rho GTP và Tyrosine kinase, vì thế đây là các yếu tố mà vi sinh vật thường nhắm tới trong quá trình xâm nhiễm của chúng (Navarro-Garcia và *nnk.*, 2013). Trong trường hợp này, hai yếu tố độc lực IpgB1 và IpGB2 mô phỏng lại cấu trúc của RhoG và RhoA nhằm tạo ra tín hiệu kích thích các GTP cùng họ khác là Cdc42 và Rac1 để tạo ra sự tái sắp xếp và trùng hợp actin trên quy mô lớn trong tế bào chủ, hình thành các bóng nhập bào mang theo tế bào *EIEC* vào trong nội bào (Navarro-Garcia và *nnk.*, 2013). Yếu tố IpaD được vi khuẩn tiếp tục tiết ra nhằm ly giải các cấu trúc actin của bóng thực bào và giải phóng tế bào *EIEC* vào tế bào chất, tại đây các *iscA* của chúng kích hoạt con đường sinh tổng hợp actin bằng con đường N-WASp/Arp2/3 tạo thành các cấu trúc đuôi actin đẩy tế bào vi khuẩn về phía trước (Navarro-Garcia và *nnk.*, 2013). Yếu tố VirA đóng vai trò suy giảm cấu trúc tubulin tạo thành các con đường thông thoáng cho phép *EIEC* dễ dàng di chuyển xuyên qua mạng lưới vi sợi dày đặc trong tế bào và tạo điều kiện xâm nhiễm sang các tế bào lân cận (Navarro-Garcia và *nnk.*, 2013).

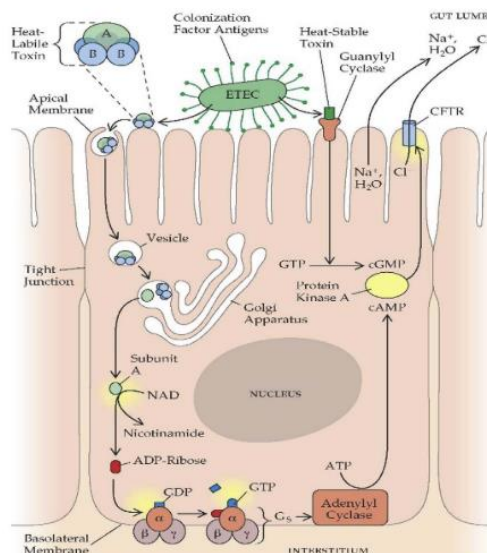
5. Con đường gây bệnh của vi khuẩn Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)

Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) là chủng *E. coli* được phát hiện lần đầu tiên vào năm 1960 tại Ấn Độ. *ETEC* gây tiêu chảy, ngoài ra còn có một số triệu chứng khác như buồn nôn, nôn mửa và có thể gây tử vong ở trẻ em dưới 5 tuổi (Croxen và Finlay, 2010). *ETEC* sử dụng các roi và các yếu tố xâm chiếm (CF) để liên kết với các receptor trên bề mặt tế bào chủ như là GM1 hoặc GC-C (Croxen và Finlay, 2010). Sau đó, nó sẽ tiết 2 loại độc tố phổ biến là LT và ST vào bên trong tế bào chủ (Croxen và Finlay, 2010). 2 loại độc tố này, thông qua các con đường chuyển hóa sẽ phosphoryl hóa kênh CFTR đó làm bài tiết chất điện giải, dẫn đến mất nước và gây nên hiện tượng tiêu chảy (Croxen và Finlay, 2010). Các cấu trúc protein EtpA trên bề mặt ETEC giúp tế bào vi khuẩn neo lên tế bào chủ (Croxen và Finlay, 2010). EtpA sau khi neo vi khuẩn vào tế bào chủ sẽ bị phân cắt bởi một protease là Eat, từ đó điều chỉnh sự bám dính của vi khuẩn và đẩy nhanh quá trình chuyển độc tố vào tế bào chủ (Roy và *nnk.*, 2008). Sau khi Flagellum-EtpA neo vi khuẩn vào tế bào chủ nó sẽ cho phép nhiều yếu tố xâm chiếm ngắn hơn tương tác như Tia và TibA (Croxen và Finlay, 2010). Trong đó, Tia sẽ liên kết với proteoglycan trên bề mặt tế bào chủ và thúc đẩy quá trình bám dính và xâm chiếm tế bào biểu mô (Lindenthal và *nnk.*, 2001). TibA cũng là một protein autotransporter để bám dính vào niêm mạc (Lindenthal và Elsinghorst, 2001). Sau khi bám dính thành công, *ETEC* sẽ tiến hành tiết độc tố LT và ST (Croxen và Finlay, 2010; Lindenthal và Elsinghorst, 2001) (hình 5).



Hình 5. Quá trình xâm nhiễm của ETEC và cấu trúc độc tố LT (Shumi Gebisa., 2019)

Độc tố LT hay còn gọi là độc tố AB₅ được vận chuyển qua màng ngoài vi khuẩn thông qua hệ thống tiết loại 2 (T2SS) (Mudrak và *nnk.*, 2010) (hình 6). Nó bao gồm 2 tiểu phần là tiểu phần A và tiểu phần pentameric B, trong đó tiểu phần A sẽ gồm có 2 cấu phần nhỏ là A1 và A2 liên kết với nhau thông qua cầu nối disulfide (Mudrak và Kuehn, 2010). Cấu phần A1 sẽ mang độc tố, trong khi, cấu phần A2 sẽ đóng vai trò như một mỏ neo để gắn vào tiểu phần B (Joffré và *nnk.*, 2016). Ban đầu tiểu phần B của LT liên kết với receptor GM1 ganglioside tập trung trên bề mặt tế bào chủ, độc tố sẽ thông qua các túi để vận chuyển tích cực vào trong tế bào (Hodges và *nnk.*, 2012). Độc tố LT sẽ được vận chuyển qua bộ máy Golgi (Hodges và Hecht, 2012; Joffré và Sjöling, 2016). Tại đây, tiểu phần A1 sẽ bị cắt khỏi tiểu phần B thông qua tương tác với protein disulfide isomerase, từ đó A1 được phóng thích vào cytosol (Mudrak và Kuehn, 2010). Tiểu phần A1 có hoạt tính ADP-ribosyltransferase sẽ chuyển ADP-ribose từ NAD vào trong tiểu đơn vị alpha của protein liên kết GTP gọi là G_s (Mirhoseini và *nnk.*, 2018). GTP sẽ hoạt hóa adenylyl cyclase làm tăng nồng độ cAMP nội bào (Hodges và Hecht, 2012; Mirhoseini và *nnk.*, 2018). cAMP tăng lên, dẫn đến kích hoạt kênh Cl⁻ của CFTR làm cho Cl⁻ bị phóng thích ra bên ngoài dẫn đến mất cân bằng ion gây mất nước và tiêu chảy (Mirhoseini và *nnk.*, 2018).



Hình 6. Cơ chế tác động của độc tố LT (Shumi Gebisa, 2019)

Độc tố ST chia thành 2 loại là STa và STb, trong đó STa sẽ liên kết và kích hoạt receptor guanylate cyclase C trên bề mặt tế bào ruột, làm kích hoạt xúc tác nội bào thông qua GC-C dẫn đến thủy phân GTP làm tích lũy cGMP nội bào (Ren và *nnk.*, 2022). Khi nồng độ cGMP tăng cao sẽ kích hoạt protein kinase II phụ thuộc vào nồng độ cGMP là cGMPK II làm phosphoryl hóa kênh CFTR cảm ứng tiết Cl^- và HCO_3^- gây tiêu chảy (Guggino và *nnk.*, 2006; Weiglmeier và *nnk.*, 2010). Đồng thời nồng độ cGMP cao cũng dẫn đến ức chế phosphodiesterase (PDE3) làm tăng nồng độ cAMP dẫn đến kích hoạt protein kinase A (PKA) (Murthy và *nnk.*, 2002). Enzyme làm phosphoryl hóa kênh CFTR đồng thời ức chế kênh Na^+ (Weiglmeier và *nnk.*, 2010). Độc tố STb sẽ liên kết với một phân tử gọi là glycosphingolipid (phân tử này phân bố rộng rãi trên tế bào biểu mô ruột) thông qua phân tử galactose của nó (Butt và *nnk.*, 2020). STb sẽ kích thích protein điều hòa liên kết với GTP dẫn đến tăng nồng độ Ca^{2+} (Butt và *nnk.*, 2020). Nồng độ Ca^{2+} cao sẽ cảm ứng hoạt động của protein kinase C (PKC) dẫn đến phosphoryl hóa kênh CFTR và ức chế hấp thu Na^+ (Guggino và Stanton, 2006; Middleton và *nnk.*, 1998). Ngoài ra nồng độ Ca^{2+} cao cũng kích hoạt một con đường khác để mở kênh CaCC và phosphoryl hóa kênh CFTR (Billet và *nnk.*, 2013).

CFTR là kênh vận chuyển thuộc họ ABC bao gồm 5 vùng: 2 domain TMD hình thành nên lỗ của kênh, 2 NBD đó là cái van đóng mở kênh và 1 vùng điều hòa R (Billet và Hanrahan, 2013). Để mở kênh CFTR, tế bào sử dụng 2 receptor là A2b-R và β 2-AR được định vị trên màng tế bào niêm mạc nằm trong một phức hợp đa phân tử bao gồm: CFTR, NEHRF1, ezrin, PKA, A2b-R và β 2-AR, AC, Gs để kích hoạt hoạt động kênh CFTR (Grumelli và *nnk.*, 2016). β 2-AR làm tăng nồng độ cAMP giúp kích hoạt protein PKA (một protein nằm kế bên domain điều hòa R) và vì vậy phosphoryl hóa kênh CFTR (Xiao và *nnk.*, 1994) (Billet và Hanrahan, 2013). Trong đó, NHERF1 là một agonist (một chất kết nối với các thành phần khác tạo ra một phản ứng sinh học) liên kết với vùng PDZ1 của đầu C terminus và β 2-AR thông qua domain PDZ2 (Guggino và Stanton, 2006; Pera và *nnk.*, 2019). Ngược lại, một agonist khác là NHERF2 sẽ liên kết với CFTR tại domain PDZ1 và LPA2-R tại domain PDZ2, khi được kích hoạt bởi agonist, LPA2-R sẽ làm giảm nồng độ cAMP thông qua ức chế protein liên quan đến GTP (Gi), từ đó ức chế hoạt động của kênh CFTR thông qua việc làm giảm hoạt động của protein PKA (Guggino và Stanton, 2006; Pera và *nnk.*, 2019).

6. Con đường gây bệnh của vi khuẩn *Enteroaggregative E. coli* (EAEC)

Enteroaggregative E. coli (EAEC) gây nên chứng tiêu chảy có thể kèm theo máu hoặc không, ngoài ra còn có đau bụng và sốt (Hebbelstrup Jensen và *nnk.*, 2014). EAEC sẽ sử dụng nhân tố bám dính là AAF và dispersin để kết dính các EAEC trôi nổi lên bề mặt tế bào chủ. Dispersin được tiết vào môi trường ngoại bào thông qua hệ thống tiết nhóm 1 (T1SS) giúp làm giảm sự kết tụ của vi khuẩn và cho phép vi khuẩn trải dài trên bề mặt tế bào chủ. Ngoài ra, dispersin còn liên kết với LPS (lipopolysaccharide) trên bề mặt tế bào vi khuẩn làm trung hòa điện tích âm trên bề mặt tế bào giúp AFF/II nhô ra và bám trên bề mặt tế bào chủ. Có tổng cộng 4 nhân tố AAF liên quan đến quá trình bám dính của EAEC (Croten và

Finlay, 2010; Hebbelstrup Jensen và *nnk.*, 2014). Khi ruột bị xâm chiếm bởi *EAEC*, chúng sẽ hình thành nên cấu trúc nhằm bảo vệ quần thể vi khuẩn khỏi hệ thống miễn dịch và ngăn cản các nhân tố kháng khuẩn kể cả kháng sinh tác động, từ đó giúp vi khuẩn xâm nhiễm bền vững, phóng thích các độc tố vào trong tế bào (Croxen và Finlay, 2010; Hebbelstrup Jensen và *nnk.*, 2014). Sau khi bám vào tế bào chủ, *EAEC* sẽ tiết một số loại độc tố như Pet, Pic, ShET1, EAST-1 và HlyE (Teresa Estrada-Garcia và *nnk.*, 2014):

– Độc tố ShET1 có đặc tính và con đường chuyển hóa giống như độc tố AB5 làm mất cân bằng ion dẫn đến mất nước và gây tiêu chảy (Estrada-Garcia và *nnk.*, 2012).

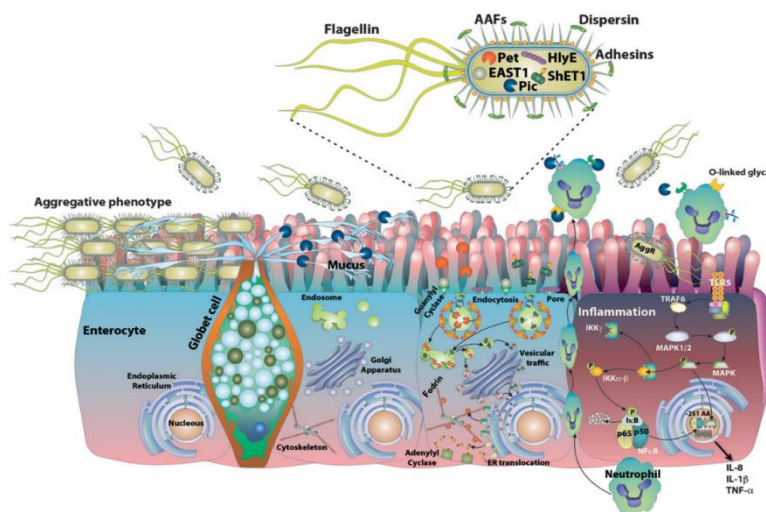
– Độc tố EAST-1 có cơ chế giống như độc tố STa ở *ETEC*, kích hoạt receptor GC-C trên bề mặt tế bào dẫn đến tăng không kiểm soát cGMP cuối cùng là phosphoryl hóa kênh CFTR dẫn đến mất cân bằng ion và gây mất nước (Estrada-Garcia và Navarro-Garcia, 2012).

– Độc tố HlyE là độc tố ly giải tế bào, tuy nhiên hoạt động cụ thể của độc tố này đến nay vẫn chưa được mô tả (Estrada-Garcia và Navarro-Garcia, 2012).

– Độc tố Pet thông qua các túi nội tiết sẽ được vận chuyển ngược đến mạng lưới nội chất để vào trong cytosol. Pet sẽ cắt các protein spectrin (a-fordin) liên kết với actin làm phá vỡ khung actin gây nên sự cuộn tròn và bóc tách tế bào (Estrada-Garcia và Navarro-Garcia, 2012).

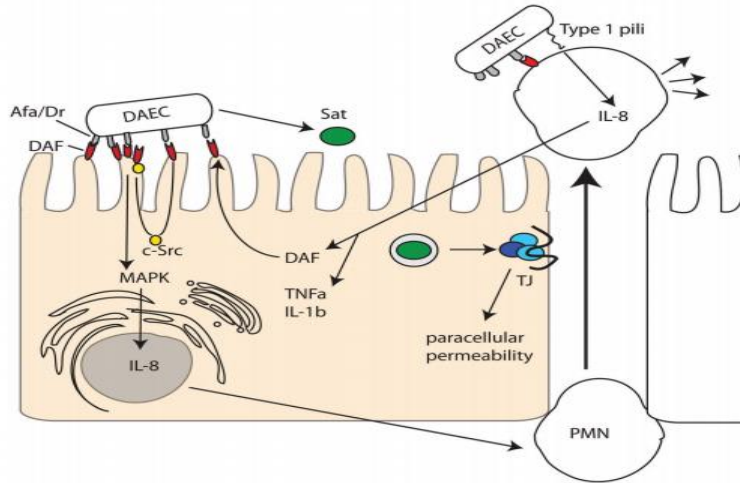
– Pic là một protein Shmu (*Shigella* mucinase) được mã hóa bởi một gen trong vùng gen của *EAEC*. Có hoạt tính Pic mucinase, kháng huyết thanh và đông máu. Pic liên kết với chất nhầy (mucin) và với hoạt tính mucinase nó sẽ làm tan chất nhầy giúp kích thích sự xâm chiếm của *EAEC* vào trong ruột (Estrada-Garcia và Navarro-Garcia, 2012).

Ngoài ra, flagellin của *EAEC* cũng kích hoạt Toll-like receptor 5 (TLR5) để bắt đầu con đường tín hiệu NF- κ B và cảm ứng sản xuất TNF- α , IL-8, IL-1 β . Việc tích lũy quá nhiều các cytokine này sẽ dẫn đến đáp ứng siêu viêm của tế bào chủ (Teresa Estrada-Garcia và *nnk.*, 2014).



Hình 7. Con đường tác động của các độc tố từ *EAEC* (Elias Junior và *nnk.*, 2016)

7. Con đường gây bệnh của vi khuẩn Diffusely Adherent *E. coli* (DAEC)



Hình 8. Con đường gây bệnh của DAEC (Clements và nnk., 2012)

Diffusely Adherent *E. coli* (DAEC) là vi khuẩn gây tiêu chảy cấp ở trẻ em trên 6 tháng tuổi (Croxen và nnk., 2013). Trong quá trình xâm nhập, DAEC sẽ sử dụng các nhân tố bám dính như Afa/Dr để bám dính vào các receptor có trên bề mặt tế bào chủ bao gồm: DAF (nhân tố tăng phân rã) và CEACAM (phân tử kháng nguyên carcinoembryonic) (Torres, 2017). Sau khi bám dính thành công, chúng sẽ cảm ứng các receptor cụm lại để tái định vị sự bám dính của vi khuẩn lên bề mặt tế bào chủ (Scaletsky và nnk., 2002). Việc cảm ứng các receptor cụm lại thì phụ thuộc vào hoạt tính của protein Src-kinase (Scaletsky và nnk., 2002). Ngoài ra sự liên kết giữa Afa/Dr và DAF cũng kích hoạt tín hiệu phụ thuộc Ca^{2+} dẫn đến kéo dài và làm hỏng microvilli thông qua việc phá hỏng cấu trúc chính của cytoskeleton (Scaletsky và nnk., 2002). Sau đó thì con đường tín hiệu ruột sẽ được kích hoạt và kích hoạt IL-8 và cuối cùng là xảy ra đáp ứng siêu viêm (Meza-Segura và nnk., 2016; Torres, 2017). Nhân tố bám dính Afa/Dr được xuất qua màng tế bào DAEC thông qua một con đường tiết chung và sau đó được đưa đến bề mặt tế bào chủ thông qua bộ máy periplasmic chaperone/usher (Meza-Segura và Estrada-Garcia, 2016). Nhân tố bám dính này được điều hòa bởi một operone gồm có 5 gen là A đến E (Meza-Segura và Estrada-Garcia, 2016). Trong đó gen A, mã hóa cho một nhân tố điều hòa phiên mã, gen B mã hóa cho một chaperone giúp cho các tiểu phần gấp cuộn lại, gen C mã hóa cho một usher giúp lắp ráp các tiểu đơn vị, gen D mã hóa cho một nhân tố xâm lấn nằm ở đầu mút của Dr và Afa, cuối cùng là gen E mã hóa cho một thành phần của nhân tố bám dính (Meza-Segura và Estrada-Garcia, 2016). Khi tiểu phần D và E được tạo ra, nó sẽ được chuyển đến TBC thông qua hệ thống tiết (SecA và SecYEG), chaperone periplasmic sẽ gấp cuộn các tiểu phần và chuyển đến usher ở màng ngoài để tiến hành lắp ráp các tiểu phần hình thành nên Dr (cấu trúc cứng hơn) và Afa-III (cấu trúc linh hoạt hơn) (Meza-Segura và Estrada-Garcia, 2016). Sau khi bám lên tế bào chủ, DAEC truyền tín hiệu vào tế bào niêm mạc ruột thông qua con đường MAPK/PiK3 kích hoạt tổng hợp IL-8 (Conciatori và nnk., 2020; Meza-Segura và Estrada-Garcia, 2016). Điều này kích thích tế bào ruột tổng hợp TNFα, IL-1b và

tăng điều hòa DAF để vi khuẩn bám dính chặt chẽ hơn. DAEC cũng tương tác với bạch cầu đa nhân trung tính (PMN) và cảm ứng phóng thích IL-8 phụ thuộc pilli loại I hoặc PMN sẽ cảm ứng con đường apoptosis (Meza-Segura và Estrada-Garcia, 2016). Điều này sẽ làm giảm khả năng thực bào giúp kéo dài sự tồn tại của vi khuẩn trong ruột (Torres, 2017).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Billet, A., & Hanrahan, J. W. (2013). The secret life of CFTR as a calcium-activated chloride channel. *J Physiol*, 591(21), 5273-5278.
- [2] Butt, S., Saleh, M., & Gagnon, J. (2020). Impact of the Escherichia coli Heat-Stable Enterotoxin b (STb) on Gut Health and Function. *Toxins (Basel)*, 12(12).
- [3] Clements, A., Berger, C. N., Lomma, M., & Frankel, G. (2013). Chapter 15 - Type 3 secretion effectors. In M. S. Donnenberg (Ed.), *Escherichia coli (Second Edition)* (pp. 451-497). Boston: Academic Press.
- [4] Clements, A., Young Jc Fau - Constantinou, N., Constantinou N Fau - Frankel, G., & Frankel, G. (2012). Infection strategies of enteric pathogenic Escherichia coli. *Gut Microbes*, 3(2), 1949-0984 (Electronic).
- [5] Conciatori, F., Bazzichetto, C., Amoreo, C., Sperduti, I., Donzelli, S., Diodoro, M., . . . Ciuffreda, L. (2020). BRAF status modulates Interleukin-8 expression through a CHOP-dependent mechanism in colorectal cancer. *Communications Biology*, 3.
- [6] Croxen, M. A., & Finlay, B. B. (2010). Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity. *Nat Rev Microbiol*, 8(1), 26-38.
- [7] Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., & Finlay, B. B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. *Clin Microbiol Rev*, 26(4), 822-880.
- [8] Elias Junior, W., & Navarro-Garcia, F. (2016). Enteroaggregative Escherichia coli (EAEC) (pp. 27-57).
- [9] Escherich, T. (1988). The intestinal bacteria of the neonate and breast-fed infant. *Clinical Infectious Diseases*, 10(6), 1220-1225.
- [10] Estrada-Garcia, T., & Navarro-Garcia, F. (2012). Enteroaggregative Escherichia coli pathotype: a genetically heterogeneous emerging foodborne enteropathogen. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 66(3), 281-298.
- [11] Estrada-Garcia, T., Perez-Martinez, I., Bernal-Reynaga, R., & Zaidi, M. B. (2014). Enteroaggregative coli: A Pathogen Bridging the North and South. *Current tropical medicine reports*, 1(2), 88-96.
- [12] Gaytán, M., Martinez-Santos, V., Soto, J., & González-Pedrajo, B. (2016). Type Three Secretion System in Attaching and Effacing Pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6.
- [13] Grumelli, S., Islan, G., & Castro, G. (2016). Consequences of cystic fibrosis transmembrane regulator mutations on inflammatory cells. *Pulmonary and Critical Care Medicine*, 1, 39-51.
- [14] Guggino, W. B., & Stanton, B. A. (2006). New insights into cystic fibrosis: molecular switches that regulate CFTR. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7(6), 426-436.
- [15] Gupta, S., Keck, J., Ram, P., Crump, J., Miller, M., & Mintz, E. (2008). Part III. Analysis of data gaps pertaining to enterotoxigenic Escherichia coli infections in low and medium human development index countries, 1984–2005. *Epidemiology & Infection*, 136(6), 721-738.

- [16] Hebbelstrup Jensen, B., Olsen, K. E. P., Struve, C., Krogfelt, K. A., & Petersen, A. M. (2014). Epidemiology and clinical manifestations of enteroaggregative *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*, 27(3), 614-630.
- [17] Hodges, K., & Hecht, G. (2012). Chapter 77 - Physiology of Host-pathogen Interactions. In L. R. Johnson, F. K. Ghishan, J. D. Kaunitz, J. L. Merchant, H. M. Said & J. D. Wood (Eds.), *Physiology of the Gastrointestinal Tract (Fifth Edition)* (pp. 2047-2073). Boston: Academic Press.
- [18] Joffré, E., & Sjöling, Å. (2016). The LT1 and LT2 variants of the enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) heat-labile toxin (LT) are associated with major ETEC lineages. *Gut Microbes*, 7(1), 75-81.
- [19] Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123-140.
- [20] Kotloff, K. L., Nataro, J. P., Blackwelder, W. C., Nasrin, D., Farag, T. H., Panchalingam, S., . . . Breiman, R. F. (2013). Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *The Lancet*, 382(9888), 209-222.
- [21] Kubori, T., Matsushima, Y., Nakamura, D., Uralil, J., Lara-Tejero, M., Sukhan, A., . . . Aizawa, S. (1998). Supramolecular Structure of the *Salmonella typhimurium* Type III Protein Secretion System. *Science (New York, N.Y.)*, 280, 602-605.
- [22] Lan, R., Alles, M. C., Donohoe, K., Martinez, M. B., & Reeves, P. R. (2004). Molecular evolutionary relationships of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* spp. *Infection and immunity*, 72(9), 5080-5088.
- [23] Lan, R., Stevenson, G., & Reeves, P. R. (2003). Comparison of two major forms of the *Shigella* virulence plasmid pINV: positive selection is a major force driving the divergence. *Infect Immun*, 71(11), 6298-6306.
- [24] Levine, M. M. (1987). *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *Journal of infectious Diseases*, 155(3), 377-389.
- [25] Lindenthal, C., & Elsinghorst, E. A. (2001). Enterotoxigenic *Escherichia coli* TibA glycoprotein adheres to human intestine epithelial cells. *Infect Immun*, 69(1), 52-57.
- [26] Melton-Celsa, A. R. (2014). Shiga Toxin (Stx) Classification, Structure, and Function. *Microbiol Spectr*, 2(4), Ehec-0024-2013.
- [27] Meza-Segura, M., & Estrada-Garcia, T. (2016). Diffusely Adherent *Escherichia coli*. In A. G. Torres (Ed.), *Escherichia coli in the Americas* (pp. 125-147). Cham: Springer International Publishing.
- [28] Middleton, L. M., & Harvey, R. D. (1998). PKC regulation of cardiac CFTR Cl⁻ channel function in guinea pig ventricular myocytes. *Am J Physiol*, 275(1), C293-302.
- [29] Mirhoseini, A., Amani, J., & Nazarian, S. (2018). Review on pathogenicity mechanism of enterotoxigenic *Escherichia coli* and vaccines against it. *Microb Pathog*, 117, 162-169.
- [30] Mudrak, B., & Kuehn, M. J. (2010). Heat-labile enterotoxin: beyond G(m1) binding. *Toxins (Basel)*, 2(6), 1445-1470.
- [31] Murthy, K. S., Zhou, H., & Makhoulouf, G. M. (2002). PKA-dependent activation of PDE3A and PDE4 and inhibition of adenylyl cyclase V/VI in smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 282(3), C508-517.
- [32] Nataro, J. P., Mai, V., Johnson, J., Blackwelder, W. C., Heimer, R., Tirrell, S., . . . Hirshon, J. M. (2006). Diarrheagenic *escherichia coli* infection in Baltimore, Maryland, and New haven, Connecticut. *Clinical Infectious Diseases*, 43(4), 402-407.

- [33] Navarro-Garcia, F., Serapio-Palacios, A., Ugalde, P., Tapia-Pastrana, G., & Chavez-Dueñas, L. (2013). Actin Cytoskeleton Manipulation by Effector Proteins Secreted by Diarrheagenic *Escherichia coli* Pathotypes. *BioMed research international*, 2013, 374395.
- [34] Neter, E., Westphal, O., Lüderitz, O., Gino, R. M., & Gorzynski, E. A. (1955). Demonstration of Antibodies against Enteropathogenic *Escherichia coli* in Sera of Children of Various Ages. *Pediatrics*, 16(6), 801-808.
- [35] Njoroge, J., & Sperandio, V. (2011). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Virulence Regulation by Two Bacterial Adrenergic Kinases, QseC and QseE. *Infection and immunity*, 80, 688-703.
- [36] Pacheco, A. R., & Sperandio, V. (2012). Shiga toxin in enterohemorrhagic *E. coli*: regulation and novel anti-virulence strategies. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 81-81.
- [37] Pasqua, M., Michelacci, V., Di Martino, M. L., Tozzoli, R., Grossi, M., Colonna, B., . . . Prosseda, G. (2017). The Intriguing Evolutionary Journey of Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) toward Pathogenicity. *Frontiers in Microbiology*, 08.
- [38] Pera, T., Tompkins, E., Katz, M., Wang, B., Deshpande, D. A., Weinman, E. J., & Penn, R. B. (2019). Specificity of NHERF1 regulation of GPCR signaling and function in human airway smooth muscle. *FASEB J*, 33(8), 9008-9016.
- [39] Ren, L.-l., Zhou, J.-Y., Liang, S.-j., & Wang, X.-q. (2022). Impaired intestinal stem cell activity in ETEC infection: enterotoxins, cyclic nucleotides, and Wnt signaling. *Archives of Toxicology*, 96.
- [40] Roy, K., Hamilton, D., Allen, K. P., Randolph, M. P., & Fleckenstein, J. M. (2008). The EtpA exoprotein of enterotoxigenic *Escherichia coli* promotes intestinal colonization and is a protective antigen in an experimental model of murine infection. *Infect Immun*, 76(5), 2106-2112.
- [41] Scaletsky, I. C., Fabbriotti, S. H., Carvalho, R. L., Nunes, C. R., Maranhão, H. S., Morais, M. B., & Fagundes-Neto, U. (2002). Diffusely adherent *Escherichia coli* as a cause of acute diarrhea in young children in Northeast Brazil: a case-control study. *J Clin Microbiol*, 40(2), 645-648.
- [42] Shumi Gebisa, E. (2019). A Review on Virulence Factors of *Escherichia Coli*. *Animal and Veterinary Sciences*.
- [43] Snelling, A. M., Macfarlane-Smith, L. R., Fletcher, J. N., & Okeke, I. N. (2009). The commonly-used DNA probe for diffusely-adherent *Escherichia coli* cross-reacts with a subset of enteroaggregative *E. coli*. *BMC microbiology*, 9(1), 1-10.
- [44] Torres, A. G. (2017). *Escherichia coli* diseases in Latin America—a ‘One Health’ multidisciplinary approach. *Pathogens and Disease*, 75(2).
- [45] Touchon, M., Hoede, C., Tenaillon, O., Barbe, V., Baeriswyl, S., Bidet, P., . . . Bouvet, O. (2009). Organised genome dynamics in the *Escherichia coli* species results in highly diverse adaptive paths. *PLoS genetics*, 5(1), e1000344.
- [46] Weiglmeier, P., Rösch, P., & Berkner, H. (2010). Cure and Curse: *E. coli* Heat-Stable Enterotoxin and Its Receptor Guanylyl Cyclase C. *Toxins (Basel)*, 2, 2213-2229.
- [47] Xiao, R. P., Hohl, C., Altschuld, R., Jones, L., Livingston, B., Ziman, B., . . . Lakatta, E. G. (1994). Beta 2-adrenergic receptor-stimulated increase in cAMP in rat heart cells is not coupled to changes in Ca²⁺ dynamics, contractility, or phospholamban phosphorylation. *J Biol Chem*, 269(29), 19151-19156.