

# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 142, номер 4, 2022

---

---

Исследование микробиома человека и животных как источника генетических и фармакологических ресурсов для развития инновационных биотехнологий в медицине, животноводстве и агропромышленном комплексе <i>В. Н. Даниленко, Р. А. Юнес, Р. А. Ильясов, А. С. Ковтун, А. С. Яненко, Ю. Е. Козловский, А. В. Сидоренко, Э. И. Коломиец</i>	315
Микробиом животных: поиск биологически активных ингредиентов для создания пробиотиков и фармабиотиков <i>В. Н. Даниленко, Р. А. Ильясов, Р. А. Юнес, А. С. Яненко, Ю. Е. Козловский, Н. В. Сверчкова, Э. И. Коломиец</i>	333
Роль водорода и метана микробиома человека и животных в обеспечении антиоксидантной защиты организма <i>О. С. Медведев</i>	349
Новые технологии доставки фармакологически активных ингредиентов и пищевых нутриентов для регуляции метаболизма микробиома кишечника <i>М. Г. Семенова</i>	365
Микроокружение и иммунитет <i>В. М. Земсков, А. М. Земсков, В. В. Нейманн, А. А. Барсуков, М. Н. Козлова, В. А. Земскова, Н. С. Шишкина, В. С. Демидова</i>	373
Оценка результативности и воспроизводимости биологических моделей хронической сердечной недостаточности <i>В. И. Болотских, А. В. Макеева, М. В. Луцки, Ек. Н. Мокашева, Ев. Н. Мокашева, В. В. Шишкина</i>	382
Неспецифические мишени коррекции воспаления легких, вызванного аэрозолями повреждающих факторов различной природы <i>О. А. Яковлев, М. А. Юдин, С. В. Чепур, Н. Г. Венгерович, А. В. Степанов, А. А. Бабкин</i>	390
Нейротропизм как механизм поражающего действия коронавируса <i>О. А. Гомазков</i>	404

---

---

# Contents

---

---

Vol. 142, No. 4, 2022

---

---

Study of the Human and Animal Microbiome as Genetic and Pharmacological Resources for the Development of Innovative Biotechnologies in Medicine, Animal Husbandry and Agro-Industrial Complex <i>V. N. Danilenko, R. A. Younes, R. A. Ilyasov, A. S. Kovtun, A. S. Yanenko, Yu. E. Kozlovsky, A. V. Sidorenko, E. I. Kolomiets</i>	315
Microbiome of Animals: Search for Biologically Active Ingredients for the Creation of Probiotics and Pharmabiotics <i>V. N. Danilenko, R. A. Ilyasov, R. A. Yunes, A. C. Yanenko, Yu. E. Kozlovsky, N. V. Sverchkova, E. I. Kolomiets</i>	333
Role of Human and Animal Microbiome's Hydrogen and Methane in an Antioxidant Organism Defense <i>O. S. Medvedev</i>	349
New Technologies for Delivery of Pharmacological Active Ingredients and Food Nutrients for Regulation of Metabolism of the Intestinal Microbiome <i>M. G. Semenova</i>	365
Microenvironment and Immunity <i>V. M. Zemskov, A. M. Zemskov, V. V. Neymann, A. A. Barsukov, M. N. Kozlova, V. A. Zemskova, N. S. Shishkina, V. S. Demidova</i>	373
Evaluation of the Effectiveness and Reproducibility of Biological Models of Chronic Heart Failure <i>V. I. Bolotskikh, A. V. Makeeva, M. V. Lushchik, Ek. N. Mokasheva, Ev. N. Mokasheva, V. V. Shishkina</i>	382
Non-Specific Targets for Correction of Pneumonia Caused by Aerosols Containing Disturbing Factors of Different Nature <i>O. A. Yakovlev, M. A. Yudin, S. V. Chepur, N. G. Vengerovich, A. V. Stepanov, A. A. Babkin</i>	390
Neurotropism as a Mechanism of the Damage Action of the Coronavirus <i>O. A. Gomazkov</i>	404

---

---

УДК 579.62

## ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОМА ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ КАК ИСТОЧНИКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ДЛЯ РАЗВИТИЯ ИННОВАЦИОННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ В МЕДИЦИНЕ, ЖИВОТНОВОДСТВЕ И АГРОПРОМЫШЛЕННОМ КОМПЛЕКСЕ

© 2022 г. В. Н. Даниленко<sup>1</sup>, \*, Р. А. Юнес<sup>1</sup>, Р. А. Ильясов<sup>1, 2</sup>, А. С. Ковтун<sup>1</sup>, А. С. Яненко<sup>3</sup>, Ю. Е. Козловский<sup>3</sup>, А. В. Сидоренко<sup>4</sup>, Э. И. Коломиец<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Башкирский государственный аграрный университет, Москва, Россия

<sup>3</sup>Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Уфа, Россия

<sup>4</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

\*e-mail: valerid@vigg.ru

Поступила в редакцию 29.03.2022 г.

После доработки 29.03.2022 г.

Принята к публикации 30.03.2022 г.

Сегодня всем известны этапы разработки антибактериальных препаратов, успехи в этой области и проблемы применения в медицине. Первоначально усилиями ученых всего мира были созданы антибиотики на основе природных продуцентов почвенного происхождения. Широкомасштабное и порой нерациональное применение антибактериальных препаратов способствовало появлению и широкому распространению патогенов, устойчивых к большинству антибиотиков. Такая же ситуация складывалась и в области разработки противовирусных и иммуномодулирующих препаратов. Стало очевидным, что человек проигрывает гонку болезням и патогенам. Появилась необходимость в создании новых подходов и парадигм в разработке технологий и в выборе источников лекарственных средств. Успехи последнего десятилетия в области изучения микробиоты человека открыли перед нами много возможностей. Современные представления о структуре и функциях кишечной микробиоты и концептуальное объединение знаний о комменсальных микроорганизмах, включая пробиотические, полученные молекулярно-генетическими, транскриптомными, протеомными и метаболомными методами, позволили сформировать понятие “фармабиотики”. Создание фармабиотиков на основе микроорганизмов, населяющих различные полости тела человека, включая кишечник, является новым и интенсивно развивающимся направлением фармакологической науки. Поставленные цели в этой области могут быть достигнуты при условии комплексного решения ряда фундаментальных задач, обеспечивающих создание эффективных и безопасных фармпрепаратов и ингредиентов для них. Роль микробиома вообще и фармабиотиков в частности в качестве селективных модуляторов и иммунной системы, в первую очередь клеточного иммунитета, и антиоксидантной системы становится все более очевидной. В течение последнего десятилетия в РФ и Республике Беларусь интенсивно проводятся исследования микробиома кишечника человека и животных и разработка препаратов пробиотиков и фармабиотиков с нейромодулирующей, иммуномодулирующей, антиоксидантной и противовоспалительной активностями.

*Ключевые слова:* фармабиотики, антиоксидантный потенциал, пробиотический потенциал, микробиота

DOI: 10.31857/S0042132422040044

### ВВЕДЕНИЕ

Прорыв последних лет в области комплексного изучения микробиома человека привел к открытию новых возможностей и перспектив создания лекарственных препаратов нового поколения — фармабиотиков. Метамикробиом — это совокупность генов, полученная в результате полногеном-

ного секвенирования микробиоты и последующего метагеномного анализа. К фармабиотикам относят живые штаммы комменсальных бактерий кишечника, их компоненты (клеточные стенки, полисахариды) и метаболиты (белки, пептиды, ферменты, специфические фрагменты ДНК, малые РНК), а также другие биологически активные

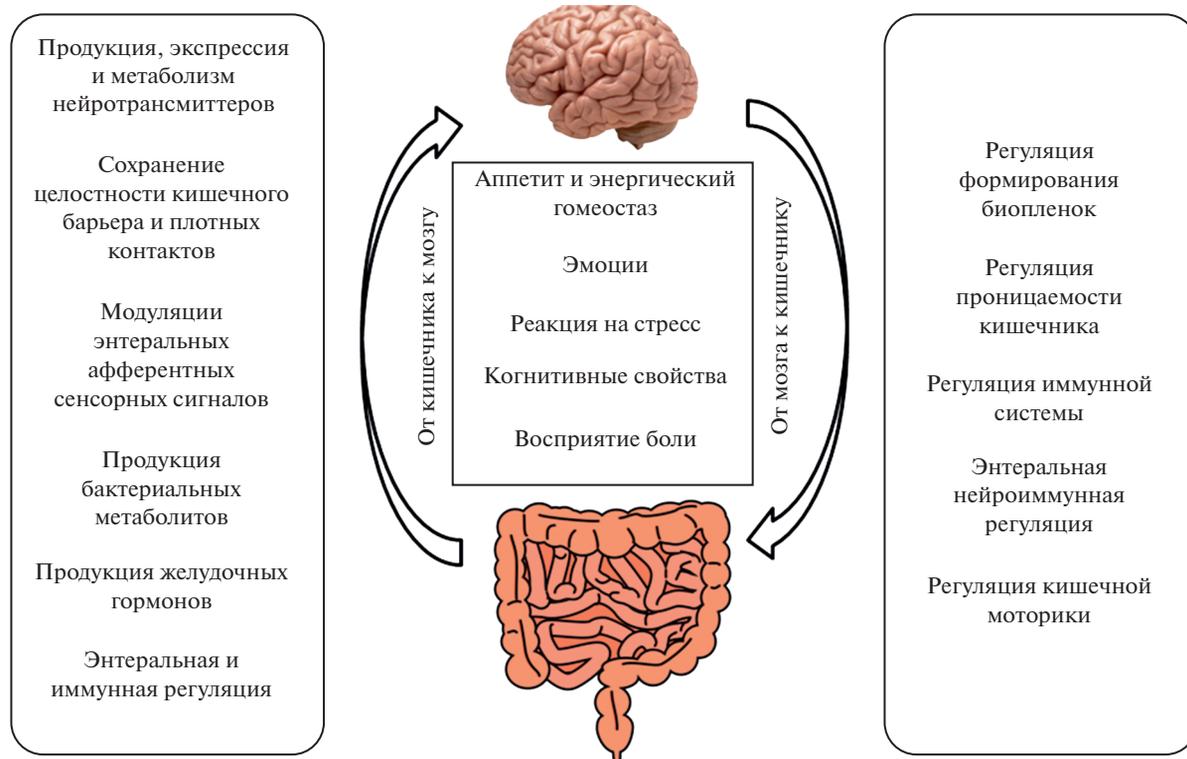


Рис. 1. Симбиотическая связь микробиоты с организмом хозяина (по: Evans et al., 2013; Lyte, 2014, адаптировано).

вещества, которые проявляют фармакологическую активность с установленным механизмом действия и безопасны в использовании (Sleator, Hill, 2008, 2009; Shanahan, Collins, 2010; Patterson et al., 2014; Danilenko et al., 2021).

Микробиота человека в последние годы рассматривается как один из альтернативных источников получения фармакологически активных ингредиентов для препаратов нового поколения с иммуномодулирующей, нейромодулирующей, антиоксидантной и противовоспалительной активностями (рис. 1).

Около 10 лет назад произошла смена парадигмы в представлении о микроорганизмах, населяющих кишечник человека. Микробиом кишечника (МК) сегодня называют нейроэндокринным виртуальным органом (рис. 1), интегрирующим взаимодействие и гомеостаз практически всех систем и органов человека через ось кишечник–мозг (Evans et al., 2013; Lyte, 2014; Cryan et al., 2019; Agirman, Hsiao, 2021; Margolis et al., 2021). Знания об иммуномодулирующем, нейромодулирующем и антиоксидантном потенциалах микробиома и носителях этих свойств — конкретных комменсальных бактерий — позволят более рационально использовать уже существующие противомикробные и другие препараты. Проведение полного и глубокого метагеномного анализа МК позволило выявить в его составе

бактерии, содержащие заданные гены и их комбинации, определяющие потенциальную иммунобиологическую и антиоксидантную активность. Вся система функционирует как единая сеть. Нарушение в одном звене приводит к сбою всей системы и, как следствие, к дисбактериозу.

С использованием определенных процедур изолируемые бактерии, не содержащие генов патогенности и лекарственной устойчивости, несущие необходимые комбинации целевых генов, могут быть выделены из биологических образцов (фекалий) для дальнейшего исследования. В настоящее время в мире существуют биобанки образцов микробиоты и комменсальных бактерий (Liu et al., 2021). Вместе с тем следует учитывать регионально-культурные особенности состава микробиома и высокую штаммоспецифичность способности бактерий продуцировать те или иные фармакологически активные вещества. Поскольку в России отсутствуют такие биобанки, представляется целесообразным сформировать когорты здоровых молодых людей, представляющих основные регионы страны, для отбора образцов микробиоты.

Создание новых лекарственных препаратов для лечения заболеваний различной этиологии: онкологических, кардиологических, аутоиммунных, нейропсихиатрических, нейродегенеративных и, в первую очередь, инфекционных — испытывает в последние годы определенные трудности. Панде-

мия COVID-19 и последствия перенесения заболевания обострили ситуацию и объединили мировые научные и бизнес-сообщества для разработки современной концепции поиска и создания новых противовоспалительных средств. На первом месте стоят препараты с иммуномодулирующей и нейромодулирующей активностями. Создание лекарственных препаратов, имеющих минимальные побочные эффекты и не являющихся чужеродными для человеческого организма, способных скоординировано налаживать работу иммунной и антиоксидантной систем, становится все более востребованным (Akour, 2020; Averina et al., 2020, 2021; Danilenko et al., 2021; Jabczyk et al., 2021; Singh, Rao, 2021).

Использование микробиома человека в терапевтических целях (поиски новых лекарственных препаратов и создание диагностикумов) – это стремительно развивающееся в мире направление. Более 250 компаний и 800 исследовательских проектов заявили себя в базе данных Microbiome Drug Database. Ведется поиск уникальных штаммов бактерий (фармабиотиков) и их продуктов (метабиотиков – постбиотиков) с целью лечения и профилактики различных патологий. Большое внимание уделяется разработке препаратов с иммуномодулирующей и противовоспалительной активностями. Создан ряд компаний, официально заявивших о себе и продвигающих свои продукты на мировом рынке.

#### МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА: ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЙ, НЕЙРОМОДУЛИРУЮЩИЙ, АНТИОКСИДАНТНЫЙ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛЫ

*Иммуномодулирующий потенциал  
микробиоты человека*

Взаимодействия МК и иммунной системы хозяина являются полимодальными, сложными и двунаправленными. С момента рождения, МК человека играет решающую роль в индукции и функционировании иммунной системы (Belkaid, Harrison, 2017). Иммунная система, с одной стороны, поддерживает партнерские отношения с комменсальными и симбиотическими микроорганизмами, с другой – индуцирует защитные воспалительные реакции в ответ на вторжение патогена; то есть иммунная система учится сосуществовать с комменсальной микробиотой и адекватно реагировать на патогенные микроорганизмы (Hooper et al., 2012). Нарушение гомеостаза кишечника приводит к таким заболеваниям, как рак, болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, сахарный диабет, ожирение, аллергия, астма и др. (Cianci et al., 2018). Развитие этих забо-

леваний также коррелирует с нарушением функционирования иммунной системы.

Кишечник является важным иммунологическим органом. Около 70% всех иммунокомпетентных клеток находятся в кишечной слизи; около 25% слизистой оболочки состоит из иммунологически активных тканей и клеток. Кишечно-ассоциированная лимфоидная ткань GALT (gut-associated lymphoid tissue) включает клеточные (макрофаги, плазматические и тучные клетки, лимфоциты и др.) и структурные (лимфоидные фолликулы, лимфатические узлы, пейеровы бляшки и др.) элементы. Последние, находящиеся под контролем клеток иммунологической памяти, участвуют во взаимодействии между антигенпрезентирующими клетками, способными к абсорбции или процессингу антигена, и Т-клетками, тем самым осуществляя иммунный ответ. Важной функцией GALT является идентификация антигена и снятие или развитие иммунологической толерантности к антигенам.

Толл-подобные рецепторы TLRs (Toll-like receptors) представляют собой трансмембранные молекулы, связывающие вне- и внутриклеточные структуры, и являются элементами иммунной защиты кишечного эпителия. Они выполняют важнейшую функцию в иммунном ответе: обнаруживают определенные структуры антигенов кишечных бактерий и связывают их. TLRs обеспечивают толерантность к резидентной микробиоте, доставку APC-антигена, усиление плотных контактов и индукцию антимикробных пептидов (Lu et al., 2018). Кроме того, TLRs могут быть рецепторами цитокинов, в частности ИЛ-1 и ИЛ-13. В настоящее время, известно 13 типов TLRs. У млекопитающих наиболее важным является TLR4. Этот рецептор бактериальных эндотоксинов играет ключевую роль в индукции врожденного иммунитета и воспаления. TLR4 активируется бактериальными липополисахаридами LPS (lipopolysaccharides) за счет скоординированного и последовательного действия трех белков: липополисахарид-связывающего белка, кластера дифференцировочного антигена CD14 и рецепторов миелоидного дифференцировочного белка MD-2. Последние связывают LPS и представляют его TLR4 в мономерной форме, образуя активный комплекс (TLR4/MD-2/LPS) (Gómez-Llorente et al., 2010; Schappe et al., 2018). Кроме того, в кишечнике взрослых обнаружены иммуноглобулины всех классов, при этом преобладают секреторные иммуноглобулины А (sIgA). Доказанное влияние МК на иммунную адаптацию и формирование толерантности человека к внешним факторам позволило использовать микроорганизмы-симбионты человека для профилактики и лечения целого ряда заболеваний (Pari et al., 2012; Dong et al., 2020).

Сегодня опубликовано много работ по изучению иммуномодулирующего действия пробиотических штаммов лактобацилл и бифидобактерий (Belkina et al., 2021; Shimizu et al., 2021; Varsha et al., 2021). В качестве представителей комменсальной микробиоты эти бактерии способны селективно стимулировать врожденный иммунитет и оказывать влияние на формирование адаптивного иммунного ответа, влияя на профили секреции и провоспалительных, и противовоспалительных цитокинов. Исследование иммуномодулирующей активности пробиотических штаммов бактерий проводится на культурах энтероцитов (Caco-2, HT-29), иммунцитов (EC-6, TNP-1) и на лабораторных животных (здоровых, с дефектами иммунной системы, гнотобионтах). При исследовании влияния живых и разрушенных (нагреванием или ультрафиолетовым излучением) культур бактерий и их метаболитов на иммунитет анализируются особенности кластерной дифференцировки иммунокомпетентных клеток и уровень продукции цитокинов при помощи иммунологических и генетических методов (Munoz-Quezada et al., 2013). С использованием современных методических подходов показано, что разные штаммы бифидобактерий, лактобацилл и их компоненты оказывают различный по степени выраженности иммуномодулирующий эффект (Patten, Laws, 2015; Lim, Shin, 2020; Rocha Ramirez et al., 2021). Согласно данным экспериментальных исследований *in vitro* и доклинических исследований, специфические штаммы пробиотиков способны обеспечивать защиту от вирусных инфекций путем стимуляции противовирусных, цитокиновых и хемокиновых реакций в эпителиальных или иммунных клетках респираторного и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Бифидобактерии и лактобациллы способны проявлять противовирусное действие частично за счет усиления врожденного иммунитета путем модуляции иммунной системы кишечника. Также они могут усиливать выработку цитокинов в легких или сыворотке крови (Vozkurt, Quigley, 2020).

#### *Антиоксидантный потенциал микробиоты человека*

Как комменсальные, так и патогенные бактерии в составе МК способны влиять на клеточный уровень активных форм кислорода (АФК) через модуляцию митохондриальной активности (Zogov et al., 2014). Комменсальные бактерии продуцируют формилированные пептиды, которые связываются с рецепторами, сопряженными с G-белками GPCRs (G-protein-coupled receptors) на макрофагах и нейтрофилах, что приводит к запуску воспалительного процесса в эпителиальных клетках. Воспалительный процесс сопровождается выработкой супероксида NOX-1, тем самым увеличивая уровень кле-

точных АФК (Migeotte et al., 2006). Кишечные бактерии *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* способны превращать нитраты и нитриты в оксид азота NO, что делает эпителий кишечника богатым источником NO. Аналогичным образом стрептококки и бациллы продуцируют NO из L-аргинина с помощью NO-синтазы (Tiso, Schechter, 2015). NO в наномолярной концентрации считается нейротропиком и является нейротрансмиттером для норадренергических, нехолинергических нейронов кишечника. В то же время в более высокой концентрации NO оказывает пагубный эффект, вызванный продукцией активных форм кислорода и азота, в частности супероксида и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Последние образуют высокореактивные гидроксильные радикалы, которые ассоциируются с нейровоспалением, дегенерацией аксонов и нарушением развития нервной системы (Wang B. et al., 2017). Полезные метаболиты-антиоксиданты — короткоцепочечные жирные кислоты, вырабатываемые кишечными бактериями, — помогают снизить уровень АФК, влияя на активность митохондрий (Mishra et al., 2015; Marsova et al., 2018, 2020; Nowak et al., 2019). Антиоксиданты — молекулы, которые взаимодействуют со свободными радикалами, генерируемыми в клетках, и прекращают цепную реакцию, вызванную АФК и приводящую к нарушению функционирования клетки. Вещества, обладающие антиоксидантными свойствами, играют ключевую роль в поддержании общего здоровья человека (Firuzi et al., 2011; Averina et al., 2021). Когда у человека естественные механизмы нейтрализации, возникающие в процессе нормального метаболизма АФК, не справляются со своей задачей, развивается патологическое состояние — окислительный (окислительный) стресс. Способность отдельных штаммов пробиотических бактерий снижать окислительный стресс доказана различными исследованиями *in vitro* и *in vivo* (Amaretti et al., 2013). Механизмы действия таких штаммов достаточно многообразны и включают в себя: хелатирование токсичных ионов (Fe<sup>2+</sup> и Cu<sup>2+</sup>); синтез ферментов-антиоксидантов (каталаза, супероксиддисмутаза), пептидов и тиолов (тиоредоксин, глутатион), веществ с антиокислительными свойствами (витамины B<sub>1</sub> и B<sub>12</sub>, короткоцепочечные жирные кислоты); воздействие на клеточные рецепторы; регуляцию внутренних систем сигнальной трансдукции эукариотических клеток; активацию транскрипции ферментов, нейтрализующих свободные радикалы (Nrf2-Keap1-ARE, NF-κB, MAPK, PKC); модуляцию видового состава МК и др. (Amaretti et al., 2013; Wang N. et al., 2017). Образуемые бактериальные низкомолекулярные антиоксиданты, в том числе тиолы, играют в клетке важную роль — участвуют в поддержании клеточного редокс-статуса, в работе системы детоксикации, в синтезе эйкозаноидов, в регуляции многих механизмов клеточного сигналинга, клеточного

цикла, экспрессии генов и апоптоза (Mishra et al., 2015). Многие пробиотические бактерии являются продуцентами антиоксидантных веществ: аминокислот (метионин, цистин, цистеин), витаминов (РР, С, К). Пробиотики могут проявлять антиоксидантное действие посредством метаболизма окислительных соединений или профилактики их образования в кишечнике (Azcárate-Peril et al., 2011). Способность некоторых пробиотических бактерий продуцировать антиокислительные ферменты и метаболиты обеспечивает их особую перспективность для борьбы со свободными радикалами (Danilenko et al., 2021).

#### *Нейромодулирующий потенциал микробиоты человека*

В последние годы растет интерес к изучению влияния МК на психическое состояние человека (Chen et al., 2021; Nikolova et al., 2021).

Проведенные исследования на животных показали существование двунаправленной связи между ЦНС и микробиотой ЖКТ, которая модулирует функционирование ЦНС через иммунологические, эндокринные и нейрональные механизмы (Cryan et al., 2019). На различных моделях животных показано влияние МК на поведение, способность к обучению, память, уровни тревожности и депрессии, реакцию на эмоциональные стимулы, устойчивость к стрессам (Margolis et al., 2021). Изучалось действие и отдельных штаммов пробиотических бактерий. Определено влияние пробиотиков, содержащих специфические виды и штаммы бактерий, на снижение депрессивных и тревожных симптомов (Nadeem et al., 2019).

Введение штамма *Lactiplantibacillus plantarum* PS128 мышам понижает у них тревожность и депрессивно-подобное поведение, а также степень воспаления и уровень кортикостерона в крови и повышает уровни дофамина и серотонина в префронтальной коре и стриатуме (Liu et al., 2015, 2016). Штамм *Lactobacillus helveticus* NS8 снижает у крыс признаки депрессии, тревожность и улучшает когнитивные характеристики, при этом увеличиваются уровни серотонина, норэпинефрина и нейротрофического фактора мозга в гиппокампе (Liang et al., 2015). Введение штамма *Bifidobacterium longum* 1714 мышам линии BALB/c (Savignac et al., 2014) понижает у них тревожность и депрессивно-подобное поведение. А введение штамма *Lacticaseibacillus rhamnosus* JB-1 самцам линии BALB/c (Bravo et al., 2011) приводит к снижению тревожности и депрессивно-подобного поведения, а также к изменению экспрессии рецепторов гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК-рецепторов) в миндалевидной железе, голубом пятне, гиппокампе и других участках мозга. Штамм *B. longum* NCC3001 понижает у мышей тревож-

ность и увеличивает уровень нейротрофического фактора мозга BDNF (brain derived neurotrophic factor) в гиппокампе (Bercik et al., 2010). Введение мышам штамма *B. longum* subsp. *infantis* 35624 понижает у них депрессивно-подобное поведение (Desbonnet et al., 2010). Отмечено (Yunes et al., 2020) снижение депрессивно-подобного поведения мышей линии BALB/c после введения композиции из двух штаммов *L. plantarum* 90sk и *Bifidobacterium adolescentis* 150.

Клинические исследования выявили, что употребление пробиотиков, содержащих специфические виды и штаммы бактерий, приводит к снижению депрессивных и тревожных симптомов и у человека (Messaudi et al., 2011). Исследования также продемонстрировали различия в составе МК у пациентов с диагнозом генерализованного депрессивного расстройства, по сравнению со здоровой популяцией (Valles-Colomer et al., 2019).

#### **ПРОБИОТИКИ, ПОСТБИОТИКИ И ФАРМАБИОТИКИ – ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

##### *Существующие определения пробиотиков, постбиотиков и фармабиотиков*

Согласно определению, сформулированному рабочей группой ВОЗ в 2001 г., термин “пробиотики” означает живые микроорганизмы, которые при применении в адекватных количествах оказывают положительное влияние на здоровье организма-хозяина. Важно понимать, что пробиотики относятся к биологически активным добавкам, что исключает их использование в терапевтических целях (Hotel, Cordoba, 2001).

В отличие от пробиотиков, предназначенных для потребления здоровыми людьми с целью профилактики болезней и улучшения общего состояния организма, под фармабиотиками подразумевают живые бактерии, структурные компоненты их клеток и/или метаболиты с установленным механизмом фармакологического действия, рассчитанные на лечение конкретных нозологий (Sleator, Hill, 2008, 2009; Shanahan, Collins, 2010; Patterson et al., 2014).

Недавно принятый термин “постбиотики” обозначает убитые микробные клетки и/или их компоненты (за исключением вакцин), которые позитивно влияют на здоровье человека. Другие равнозначные по смыслу понятия: параббиотики, тиндализованные бактерии, метабиотики и др. Постбиотики легче поддаются контролю с точки зрения их качества, пробиотических свойств, стандартизации и производства (Salminen et al., 2021).

*Вклад исследований микробиома в уточнение  
и самого понятия, и областей применения  
пробиотиков*

Бурное развитие в последнее десятилетие междисциплинарного направления “микробиом человека” открыло глобальные перспективы для поиска новых биомишеней и разработки лекарственных средств различной направленности. Сегодня хорошо известно, что практически все заболевания коррелируют с нарушением (дисбиозом) композиции и функционирования МК. Многие заболевания сопровождаются дисбиозом, нарушением функционирования иммунной системы и воспалительными процессами от локальных до системных, охватывающими все органы и системы человека (Vijay, Valdes, 2021).

Известна роль микробиома и его основных бактериальных компонентов (пробиотических бактерий) в становлении и поддержании иммунитета. Изучается антиоксидантный потенциал пробиотических бактерий, в первую очередь лактобацилл и бифидобактерий. Классические пробиотические бактерии известны со времени их открытия И.И. Мечниковым и широко используются в пищевой и медицинской промышленности (Maskowiak, 2013; Novik, Savich, 2020; Stavropoulou, Bezirtzoglou, 2020). В последние годы формулируется новая концепция разработки и применения полезных комменсальных бактерий, выделенных из микробиома, и их ингредиентов (компонентов) для профилактики и лечения заболеваний различной этиологии. В мировой науке идет интенсивное обсуждение преимуществ и недостатков применения живых пробиотических бактерий, фармабиотиков и постбиотиков (Danilenko et al., 2021; Salminen et al., 2021). При использовании в фармакологии и при разработке лечебных продуктов питания указывается на необходимость проведения комплекса медико-биологических исследований не только по безопасности, но и по эффективности, нозологической направленности и механизмам действия препаратов. Как правило, источником фармабиотиков (постбиотиков) является МК человека и комменсальные бактерии, выделенные из него. Разрабатываются новейшие технологии поиска и изучения перспективных свойств фармабиотиков. Формируется новая парадигма создания фармпрепаратов на основе фармабиотиков, в том числе противoinфекционных. С учетом высоких иммуномодулирующего и антиоксидативного потенциалов фармабиотиков планируется их использование для повышения активности антибиотиков, вакцин и других существующих лекарственных препаратов. Фармабиотики селективного действия рассматриваются в качестве препаратов нового поколения для коррекции микробиома с целью восстановления иммунного баланса организма и снятия воспалительных процессов,

вызванных оксидативным стрессом (Sleator, Hill, 2008, 2009; Shanahan, Collins, 2010; Patterson et al., 2014). Для ускоренного создания таргетных фармабиотиков исследования ведутся комплексно по нескольким направлениям: проведение фундаментальных исследований по изучению механизмов действия уже отобранных фармабиотиков; разработка концепции, новых генетических и биоинформатических технологий для поиска фармабиотиков в метагеномах здоровых людей, в том числе стрессоустойчивых; последующий отбор и характеристика уникальных штаммов с помощью омиксных технологий – это глобальный путь, по которому движется современная наука о здоровье. Микробиом – это основа здоровья человека.

Вместе с тем требуется постоянно расширять и концептуально обосновывать научную базу использования МК человека в качестве источника фармабиотиков, фармакологически активных компонентов и кодирующих их генов, метабиотиков для последующего создания лекарственных препаратов. Понимая всю важность и необходимость разработок в этом направлении, следует учитывать регионально-культурные особенности формирования микробиоты различных групп населения при создании фармабиотиков.

*Метамикробиом кишечного тракта –  
источник фармабиотиков и фармакологически  
активных ингредиентов с иммуномодулирующей,  
антиоксидантной и нейромодулирующей  
активностями*

МК в совокупности рассматривается сегодня как особый орган, состоящий из микроорганизмов, населяющих ЖКТ, которые не уступают по своей численности количеству эукариотических клеток организма хозяина (Dekaboruah et al., 2020). МК вносит жизненно важный вклад в энергетический гомеостаз, обмен веществ, состояние кишечного эпителия, иммунологическую активность организма, включая его ответ на инфекционные заболевания.

Благодаря накопленным в настоящее время данным по микробиоте, можно судить о роли дисбаланса МК в развитии различных заболеваний (психических, онкологических, аутоиммунных и инфекционных) (Blumberg, Powrie, 2012; Levy et al., 2017). Микробиомика представляет собой развивающуюся область исследований, цель которой – выявление компонентов микробиоты, анализ микробиома, характеристика взаимодействия между микробиотой и хозяином и определение влияния на состояние здоровья человека. МК воздействует не только на клетки кишечного эпителия и энтеральную нервную систему, но и на развитие и функционирование различных органов и систем, включая ЦНС и иммунную систему. МК начинает формироваться после рождения и сопровожда-



**Рис. 2.** Влияние микробиоты кишечника на организм хозяина при помощи синтеза различных биологически активных соединений (по: Averina, Danilenko, 2017; Averina et al., 2020, 2021; Belkina et al., 2021; Poluektova et al., 2021).

ет человека на протяжении всей его жизни, поддерживая нормальное функционирование иммунной системы через различные механизмы (Belkaid, Harrison, 2017; Averina et al., 2021). Так как иммунная система преимущественно расположена в кишечной лимфоидной ткани, микроаспирация кишечных бактерий или перемещение сенсibilизированных иммунных клеток через лимфу или кровоток существенно влияет на иммунный ответ в других органах: в частности метаболиты, вырабатываемые микроорганизмами ЖКТ, влияют на легкие (Wang B. et al., 2017). Сегодня развитие многих заболеваний связывают с нарушениями в функционировании иммунной системы.

Одной из ключевых характеристик микробиоты, делающей ее важным фактором в регуляции многих процессов в человеческом организме (иммуномодуляция, нейромодуляция, антиоксидантная активность) (Averina, Danilenko, 2017; Averina et al., 2020, 2021), является способность составляющих ее бактерий синтезировать огромное количество различных активных соединений (рис. 2).

Недавние исследования показали, что в дополнение к классическим пробиотическим видам большинство комменсальных микроорганизмов, часто доминирующих в здоровых популяциях и истощенных у больных людей, также могут положительно взаимодействовать с иммунной системой хозяина и способствовать укреплению здоровья (O'Toole et al., 2017). К ним можно отнести *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides fragilis*, *Faecalibacterium prausnitzii* (Delgado et al., 2020). Идентификация биологически активных фракций из таких микроорганизмов предоставляет новые возможности для использования их в фармакологии.

Внеклеточные или поверхностно-ассоциированные белковые молекулы комменсальных кишечных микроорганизмов выполняют (Ruiz et al., 2016; Hidalgo-Cantabrana et al., 2017) важнейшие функции во взаимодействии с организмом хозяина и представляют собой микроб-ассоциированные молекулярные паттерны MAMPs (microbe-associated molecular patterns), приводящие к активации специфических сигнальных путей PRRs (pat-

tern recognition receptors). Среди компонентов бактериальных клеток, которые могут вызвать иммунную реакцию в организме хозяина, сегодня известны: пили (Turrone et al., 2013; Ottman et al., 2017), флагеллины (Eggestøl et al., 2020), белки P75 и P40 (Yan et al., 2007), иммуноглобулин-связывающие суперантигенные белки IbpA и IbpB (Arumugam et al., 2011), белки с пептидом STp с высоким содержанием серина и треонина (Bernardo et al., 2012; Al-Hassi et al., 2014), белки с пептидами FR-16 и LR-17 (Blanco-Míguez et al., 2017; Hidalgo-Cantabrana et al., 2017), экзополисахариды – цвиттерионные (Round et al., 2011), с β-глюканами (Kamiya et al., 2018), гетерополимерные и моносахаридные (Hidalgo-Cantabrana et al., 2014), секретируемые компоненты клеточной стенки (Górska et al., 2016), тейхоевые и липотейхоевые кислоты (Xie et al., 2012), короткоцепочечные жирные кислоты (Ríos-Covián et al., 2016), индол-3-альдегид, индол-3-пропионат, индол-3-уксусная кислота (Zelante et al., 2013; Venkatesh, Karunakaran, 2014), 3-индолакриловая кислота (Włodarska et al., 2017), D-триптофан, кинуреновая кислота, ниацин, никотиновая кислота (Thorburn et al., 2014), глутамин, гистидин и производные глицина (Hirata, Kunisawa, 2017). Они являются медиаторами иммуномодуляции, оказываемой различными комменсальными видами, включая как классические пробиотические лактобациллы или бифидобактерии, так и другие виды бактерий (Delgado et al., 2020). Использование микробных биологически активных соединений вместо живых микроорганизмов может быть особенно важным при работе с уязвимыми иммунодефицитными популяциями и способно препятствовать распространению генов лекарственной устойчивости и патогенности (Salminen et al., 2021). В ЗАКЛЮЧЕНИИ данного обзора подробно изложены перспективы использования недавно открытого у *B. longum* GT15 белка FN3, селективно связывающегося с TNF-α.

Изучение МК человека является глобальным междисциплинарным направлением исследований в мировой науке. В последние годы стало очевидно, что микробиом здорового человека может служить источником получения фармабиотиков и фармакологически активных ингредиентов

для профилактики и лечения заболеваний различной этиологии, в первую очередь характеризующихся нарушением функционирования иммунной системы и сопровождающихся локальными и генерализованными воспалительными процессами. Установлены белковые и пептидные внеклеточные компоненты лактобацилл и бифидобактерий, потенциально ответственные за иммуномодулирующий и антиоксидантный потенциалы. Вместе с пищей и водой в кишечник поступают различные патогены, включая вирусы животных и растений. Микробиом может нейтрализовать вирусы (CRISPR/Cas-системы), а может способствовать изменению их генетического кода (системы репарации/рекомбинации).

### МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА: СУЩЕСТВУЮЩИЕ ТЕХНОЛОГИИ И АЛГОРИТМЫ ПОИСКА ГЕНОВ И ИХ ПРОДУКТОВ С ЗАДАНЫМИ СВОЙСТВАМИ

*Метагеномные исследования,  
сигнатура и каталоги генов*

Функциональный потенциал МК может быть описан через разнообразие и относительную представленность бактериальных генов. С развитием методов высокопроизводительного секвенирования стал возможен анализ совокупного генетического материала бактерий микробиоты – метагенома. Как результат, на настоящий момент наблюдается стремительный рост числа метагеномных исследований (Martin et al., 2018; Kovtun et al., 2018; Laudadio et al., 2019; Averina et al., 2020). Секвенирование полного метагенома позволяет искать определенные бактериальные гены для более глубокого понимания функционального потенциала микробиоты. Однако подобный анализ невозможен без хорошо составленных референсных каталогов генов и проведения функциональной аннотации метагенома. Для этого используют множество аннотированных последовательностей генов, например, базу данных RefSeq (O’Leary et al., 2016) и базы данных метаболических путей – KEGG (Kanehisa et al., 2016) или MetaCyc (Caspi, Moffitt, 2018). Также нужно учитывать гены, детерминирующие определенную функцию микробиоты. Для этого используются специализированные референсные каталоги, собранные вручную. Основой этого подхода является подробный анализ опубликованных данных с целью получения наиболее достоверного набора референсных бактериальных генов. Такие каталоги могут быть использованы для описания определенных функциональных свойств микробиоты, например ее нейромодулирующего, иммуномодулирующего, антиоксидантного потенциалов и т.д. Первый каталог разработан (Kovtun et al., 2018) и использован для определения коровой метагеномной сигнатуры МК в норме. Метагеномная сигнатура – один из способов описания метагенома – это матрица,

содержащая информацию не только о генах, но и о том, в каких бактериях они присутствуют. Второй каталог разработан (Valles-Colomer et al., 2019) и использован (Averina et al., 2020) для описания функциональных изменений в МК детей с расстройствами аутистического спектра. Его также эффективно использовали в работах по описанию изменений МК при депрессии (Valles-Colomer et al., 2019) и шизофрении (Zhu et al., 2020).

Большое бактериальное разнообразие МК наделяет ее обширной сетью метаболических путей и, как следствие, способностью продуцировать различные биологически активные соединения, что обеспечивает значимые функциональные характеристики микробиоты: нейромодулирующий, иммуномодулирующий и антиоксидантный потенциалы.

### *Подходы к функциональной аннотации микробиоты*

В данный момент существует ряд различных подходов для функциональной аннотации метагенома, зависящих от типа данных метагеномного секвенирования. Первый подход основан на данных 16S рРНК и представляет собой косвенный анализ метаболических путей в метагеноме, исходящий из заранее определенного таксономического состава (Langille et al., 2013). Подобный метод не является точным, поскольку его эффективность сильно зависит, во-первых, от разрешающей способности таксономического анализа, которая для технологии секвенирования второго поколения сильно ограничена короткой длиной получаемых прочтений, во-вторых, от полноты референсной базы аннотированных бактериальных геномов. Поэтому для функционального анализа метагенома гораздо лучше использовать другой тип данных (и связанные с ним подходы) – полный метагеном, представляющий собой совокупность всего генетического материала, содержащегося в микробиоте.

Одним из главных шагов при функциональной аннотации микробиоты по полному метагеному является выравнивание данных на референсную базу генов. Выравнивать можно как просто прочтения, так и полученные из них более длинные последовательности – контиги. Для второго необходимо проводить сборку метагенома с использованием специализированных программ, например metaSPAdes (Nurk et al., 2017). Недостатком первого метода является сложность оценки покрытия гена в референсной базе данных, поскольку необходимо учитывать не только глубину, но и ширину и равномерность покрытия. Более длинные контиги гораздо удобнее выравнивать с известными последовательностями генов, однако сборка требует большой глубины секвенирования, а также она искажает информацию об относительной представленности гена – для ее восстановления потребуется дополнительный этап картирования чтений на контиги.

### *Подходы к аннотации метагеномных данных*

Наиболее простой подход к аннотации метагеномных данных — использование как можно более обширной базы, например RefSeq (O’Leary et al., 2016). Данный метод обладает максимальной разрешающей способностью, однако может породить большое количество ложноположительных аннотаций, поскольку метаболические пути у бактерий разных таксономических групп могут сильно отличаться, как и функции отдельных ферментов. Например, показано (Maini Rekdal et al., 2019), что синтез дофамина у некоторых кишечных бактерий происходит благодаря тирозиндекарбоксилазе, а не с использованием дофадекарбоксилазы, как, например, у млекопитающих.

Второй подход подразумевает использование баз данных метаболических путей, например KEGG (Kanehisa et al., 2016) или MetaCyc (Caspi, Moffitt, 2018). Это курируемые базы данных, информация в которых постоянно обновляется, что обеспечивает ее актуальность. Данный подход оптимален в том случае, если стоит задача полной аннотации метагенома, то есть восстановления всех содержащихся в нем метаболических путей. Однако, если необходимо дать определенную функциональную характеристику исследуемой микробиоты, потребуется использование более узких таргетированных баз.

Основа третьего подхода — заранее составленный референсный каталог последовательностей генов, участвующих в определенных метаболических путях. Для этого необходимо проводить анализ литературных источников с целью создания как можно более полного и точного каталога. К таким источникам могут относиться как опубликованные статьи, так и различные курируемые базы данных: SwissProt (Poux et al., 2017), KEGG, MetaCyc и т.д. Использование таргетных каталогов позволяет описать определенный интересующий исследователя функциональный потенциал микробиоты. Так, на настоящий момент существует несколько референсных каталогов, позволяющих описать нейромодулирующий потенциал микробиоты (Kovtun et al., 2018; Valles-Colomer et al., 2019).

## ДОСТИЖЕНИЯ УЧЕНЫХ РАЗНЫХ СТРАН В ОБЛАСТИ СОЗДАНИЯ ПРОБИОТИКОВ И ПЕРСПЕКТИВНОЙ РАЗРАБОТКИ ФАРМАБИОТИКОВ

*Технологии и алгоритмы, разработанные в ИОГен РАН, для анализа микробиома и создания фармабиотиков*

В течение последнего десятилетия в лаборатории генетики микроорганизмов ИОГен РАН разработаны биоинформатические алгоритмы анализа метамикробиома кишечника и сформирована концепция поиска в микробиоте редких штаммов

бактерий с помощью комбинаций заданных генов. Созданы каталог ортологов бактериальных генов, продукты которых обладают иммуномодулирующей и антиоксидантной активностями, и алгоритм использования для биоинформатической идентификации в метагеномах кишечника штаммов комменсальных бактерий, содержащих комбинации заданных генов. Выявлена коровая метагеномная сигнатура МК здорового человека, отражающая нейромодулирующий, иммуномодулирующий и антиоксидантный потенциалы. Разработаны подходы для выделения и культивирования штаммов комменсальных анаэробных бактерий МК с потенциальными свойствами фармабиотиков. Создан биобанк образцов микробиоты и коллекция штаммов потенциальных фармабиотиков для последующего использования в научных и практических целях. Получены штаммы фармабиотиков и данные об их белках, пептидах и ферментах с иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами, отобранные с использованием подходов сравнительного геномного, транскриптомного и протеомного анализов. Проанализированы иммуномодулирующие и антиоксидантные свойства отобранных штаммов и их компонентов. Последние были проверены на адекватных системах клеточных культур и на лабораторных животных. Разработаны инновационные технологии создания фармакологически активных компонентов на основе микробиома здоровых людей. Отобраны кандидаты для иммуномодулирующих и антиоксидантных препаратов с противовоспалительной и иммуномодулирующей активностями, предназначенные для реабилитации пациентов, переболевших COVID-19. Проведены клинические исследования отобранных препаратов и организовано опытно-промышленное производство фармабиотиков. Проводятся доклинические исследования препаратов “Супербакт” и “Лактовирин” на основе фармабиотика *Limosilactobacillus (Lactobacillus) fermentum* U-21 для нейтрализации оксидативного стресса и его последствий при различных заболеваниях, включая COVID-19. Разрабатывается препарат, нейтрализующий TNF- $\alpha$  на основе FN3-белка бифидобактерий, содержащих фибронектиновые домены, для снятия воспалительных процессов различной направленности, в том числе воспалительных процессов, характерных для течения COVID-19.

*Использование омиксных технологий в создании фармабиотиков на примере *Limosilactobacillus fermentum* U-21*

В последние годы в мире происходят революционные изменения в области разработки и использования фармакологических препаратов на основе бактерий — представителей микробиоты

человека и животных и их биологически активных компонентов. Такие препараты все чаще называются фармабиотиками в противовес пробиотикам, используемым в основном как биологические активные добавки и употребляемым здоровыми людьми. Для создания фармабиотиков, кроме традиционных микробиологических и биотехнологических подходов, используются омиксные технологии — комплекс геномных, транскриптомных и протеомных. В представленной работе данные технологии были использованы для характеристики отобранного ранее по ряду уникальных антиоксидантных свойств штамма *L. fermentum* U-21 (Marsova et al., 2018, 2020; Danilenko et al., 2020; Stavrovskaya et al., 2021). На моделях паракват-индуцируемого оксидативного стресса *in vitro* и *in vivo* (*Escherichia coli*, *Caenorhabditis elegans*, грызуны) живая культура *L. fermentum* U-21 проявила способность нейтрализовать действие супероксид аниона и предотвращала разрушение органов у исследуемых животных, включая черную субстанцию головного мозга. Геномный и сравнительный анализы *L. fermentum* U-21 позволили выявить 24 гена, продукты которых могут проявлять антиоксидантные свойства в том числе в отношении организма исследуемых животных. Наиболее значительными, на наш взгляд, могут быть гены тиоредоксинового комплекса и метаболизма, а также транспорта тяжелых металлов. В качестве индуктора оксидативного стресса использована перекись водорода — наиболее распространенный агент для исследования изменений транскрипционной активности у бактерий, в том числе у лактобактерий. Увеличение транскрипционной активности демонстрировали 380 генов, а для 370 генов отмечалось снижение транскрипционной активности более чем в два раза. Повышение транскрипционной активности в 14–24 раза показали гены предполагаемого оперона карбоксилазы мочевины. На наш взгляд, важными для последующих исследований являются изменения транскрипционной активности генов транспорта, в том числе ионов металлов  $Fe^{2+}$  и  $Cu^{2+}$ , а также синтеза и катаболизма некоторых аминокислот. Протеомный анализ экзопротеома штамма *L. fermentum* U-21 и других штаммов этого вида позволил идентифицировать белок шаперонного комплекса ClpB, который может играть ключевую роль в рефолдинге неправильно собранных в результате оксидативного стресса белков в различных тканях и органах. Использование омиксных технологий для характеристики терапевтических свойств и механизма действия штамма *L. fermentum* U-21 — один из первых примеров в этом направлении. Полученные данные стали первым этапом для последующей выработки стратегии по созданию штаммов фармабиотиков. Включение в комплекс омиксных технологий метаболомного анализа штамма *L. fermentum*

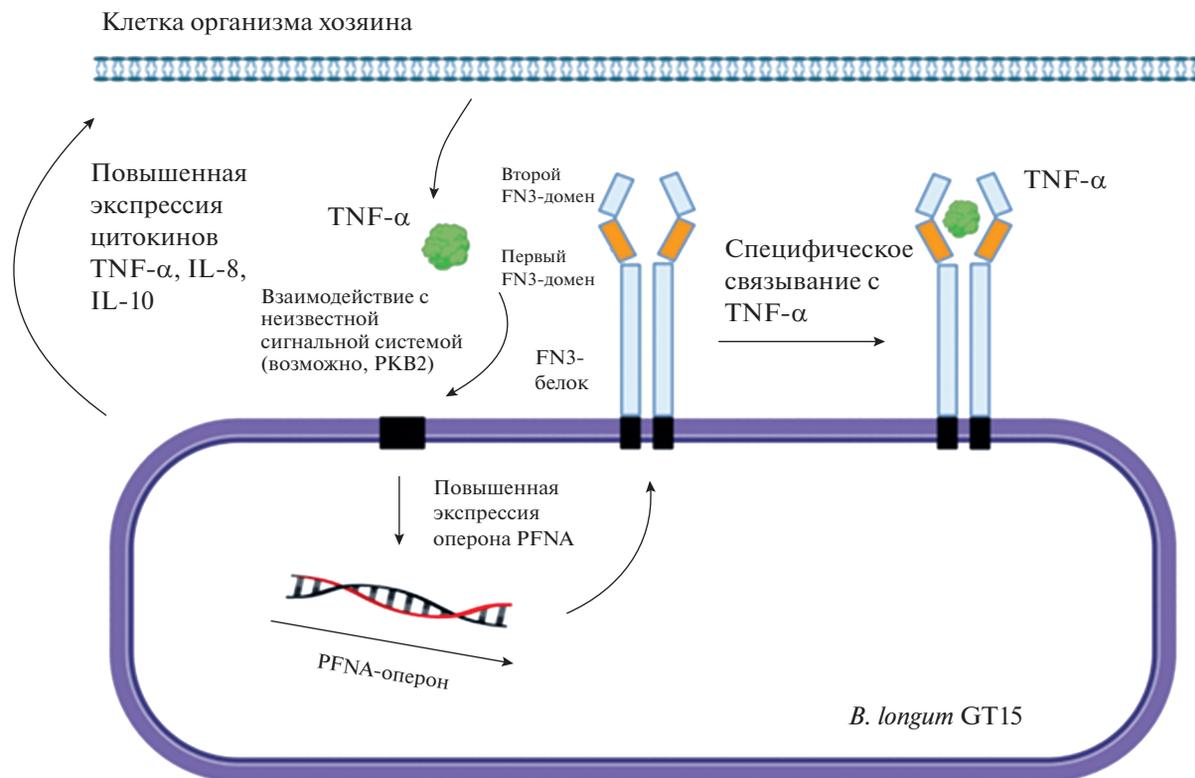
U-21 является насущным и необходимым (Полуктова и др., 2022).

*FN3 — цитокинсвязывающий белок  
бифидобактерий: перспективы  
для создания иммуномодулирующих препаратов*

Бифидобактерии — анаэробные бактерии, существовавшие на планете Земля до появления на ней кислорода и после его появления, заселившие анаэробные полости практически всех представителей животного мира от насекомых до человека (Fischer et al., 2016; Slesak et al., 2016). Предполагается, что бифидобактерии, представленные на сегодня 99 видами рода *Bifidobacterium*, участвовали в формировании иммунной системы своих хозяев. Хорошо известно, что виды *Bifidobacterium longum* и *B. bifidum* первыми после рождения заселяют кишечник человека и формируют иммунную систему ребенка. Интенсивно исследуется роль бифидобактерий и их компонентов (метаболитов) в коммуникации кишечник—мозг и кишечник—иммунная система. Относительно хорошо изучены метаболиты и компоненты клеток бифидобактерий, модулирующие с помощью тех или иных механизмов активность иммунной системы. Вместе с тем практически ничего не известно о сигнальных системах (белках, рецепторах и др.), способных воспринимать сигналы иммунной системы, в том числе осуществлять взаимодействия с цитокинами.

Ученые лаборатории генетики микроорганизмов ИОГен РАН открыли и исследовали видоспецифический оперон PFNA бифидобактерий (Nezametdinova et al., 2018, 2021; Dyakov et al., 2020), ответственный за такие взаимодействия. PFNA-оперон, присутствующий практически у всех видов бифидобактерий, содержит пять основных генов: *pkb2*, *fn3*, *aaa-atp*, *duf58*, *tgf*. Белки, кодируемые по крайней мере тремя из этих генов: РКВ2 (серин-треониновая протеинкиназа), FN3 (белок, содержащий фиброниктиновые домены) и TGM (трансглутаминаза), обладают лиганд-связывающей способностью (Nezametdinova et al., 2021) (рис. 3).

Кластер PFNA присутствует у всех видов бифидобактерий — обитателей кишечника человека. Важно отметить, что данный оперон является видоспецифическим и проявляет значительную дивергенцию белковых последовательностей, кодируемых генами кластера, между различными видами рода *Bifidobacterium*. Показано, что дивергенция является результатом позитивной селекции, по-видимому, со стороны иммунной системы организма хозяина. В то же время данный кластер консервативен для всех штаммов одного вида бифидобактерий. Роль оперона PFNA в формировании механизмов видоспецифического иммунного взаимодействия с организмом хозяина представляет большой интерес. В составе видоспецифического оперона



**Рис. 3.** Гипотетическое схематическое изображение роли оперона PFNA во взаимодействии бифидобактерий с иммунной системой хозяина. Активация сигнальной системы PKB2. Серин-треониновая протеинкиназа (PKB2), следующая его активация неизвестным лигандом, аутофосфорилированием и фосфорилированием других субстратов. Штамм *B. longum* GT15 увеличивает экспрессию цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-8 и IL-10 в клетках человека (по: Nezametdinova et al., 2021).

PFNA был обнаружен ген *fn3*, кодирующий уникальный FN3-белок. Экспрессия данного гена, как и других генов оперона PFNA, увеличивается при росте штамма *B. longum* subsp. *longum* GT15 в присутствии TNF- $\alpha$  (Veselovsky et al., 2020). Белок FN3 встречается только у бифидобактерий, имеет сигнальный пептид, трансмембранный домен, два FN3-домена (Nezametdinova et al., 2014, 2018, 2021; Dyachkova et al., 2019). Предположительно, он может участвовать в адгезии бифидобактерий на клетках эпителия кишечника человека (Osswald et al., 2015). Однако наличие в составе данного белка двух FN3-доменов с мотивами цитокиновых рецепторов позволило предположить, что данный белок может быть рецептором для связывания цитокинов, продуцируемых организмом-хозяином. Показана способность фрагмента белка FN3 ( $\Delta$ FN3.1) *B. longum* subsp. *longum* GT15 специфически связываться с цитокином человека TNF- $\alpha$  (Dyakov et al., 2020). Следует отметить, что виды бифидобактерий, обитающие в кишечнике человека и относящиеся к разным группам, имеют достаточно сильные отличия в последовательностях изучаемых мотивов (Nezametdinova et al., 2021). Можно предположить, что выявленные особенности структуры мотивов цитокиновых рецепторов связаны

как с видоспецифической адаптацией бифидобактерий к своему хозяину, так и с межвидовой конкуренцией разных видов бифидобактерий в кишечнике организма-хозяина. Данный белок имеет огромный потенциал для создания противовоспалительных препаратов (Dyakov et al., 2020).

#### Подходы к разработке психобиотиков на примере штаммов лактобацилл и бифидобактерий, продуцирующих ГАМК

Психобиотиками называют штаммы живых микроорганизмов, способные оказывать положительное влияние на работу ЦНС и периферической нервной системы, что проявляется в улучшении состояния больных с психическими расстройствами (тревожность, депрессия и т.д.), когнитивных свойств и других аспектов работы нервной системы. Психобиотики оказывают свой эффект в организме через различные пути, одним из которых является синтез биологически активных соединений, в частности ГАМК. В связи с этим перспективным подходом к поиску штаммов бактерий для разработки психобиотиков является отбор штаммов, способных продуцировать ГАМК.

ГАМК – аминокислота, не входящая в состав белков, важнейший тормозной нейромедиатор ЦНС человека и млекопитающих. ГАМК синтезируется нейронами ЦНС, известными как ГАМКергические. ГАМК также синтезируется и утилизируется МК. Понижение уровня ГАМК в плазме крови и в ЦНС ассоциируется с депрессией (Kendell et al., 2005), расстройствами аутистического спектра (Gaetz et al., 2014) и другими заболеваниями. Учитывая значимую роль, которую играет ГАМК в различных психических расстройствах, ее синтез МК представляет большой интерес. Возможно, ГАМК, продуцируемая бактериями МК, влияет на работу головного мозга через блуждающий нерв. Подтверждением тому является определение роли блуждающего нерва в качестве посредника между МК и головным мозгом (Bravo et al., 2011).

Ранее нашей группой (Yunes et al., 2016), равно как в других лабораториях мира (Barrett et al., 2012), установлено, что ГАМК синтезируется *in vitro* из ее предшественника – глютаминовой кислоты – отдельными представителями видов лактобацилл и бифидобактерий. На основе отобранных штаммов, продуцирующих ГАМК, в частности *L. plantarum* 90sk и *B. adolescentis* 150, создан препарат-психобиотик, который впоследствии испытан на различных моделях животных и проявил психобиотические свойства.

#### *Изучение пробиотического потенциала бактерий в Институте микробиологии НАН Беларуси*

Сотрудниками Института микробиологии НАН Беларуси исследованы области генома бактерий *B. longum* ВІМ В-813D, ответственные за адгезию, колонизацию в ЖКТ человека, метаболизм сложных углеводов. В результате установлено наличие последовательности, кодирующей препилинпептидазу (H8S96\_04985), предназначенную для синтеза и созревания пилей адгезии, и трех транспептидазных сортаз (класса E и C), необходимых для полимеризации субъединиц пилина. Геном *B. longum* ВІМ В-813D содержит также последовательность, кодирующую серпин (H8S96\_02745) – гомолог ингибитора сериновых протеаз, который эффективно блокирует работу панкреатической эластазы и эластазы нейтрофилов, что позволяет бифидобактериям обитать в определенных нишах кишечника. В геноме *B. longum* ВІМ В-813D выявлены гены, кодирующие факторы адгезии, которые позволяют бифидобактериям конкурировать с патогенами за сайты связывания на слизистой кишечника. В процессе эволюции микроорганизмами создано множество путей метаболизма углеводов, которые позволяют экономно использовать генетический потенциал клеток, вовлекая в работу необходимые гены в определенных условиях. Последовательность генома предоставляет информацию о предполагаемых углевод-модифицирующих фер-

ментах, которые позволяют бифидобактериям адаптироваться к обитанию в ЖКТ макроорганизма. Разнообразие гликозидаз *B. longum* ВІМ В-813D, специализированных на метаболизме различных олигосахаридов, отражает эволюционную адаптацию данного вида к утилизации растительных поли- и олигосахаридов, что позволяет им доминировать в биотопе кишечника (Ушакова и др., 2012).

В результате молекулярно-генетического анализа бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* ВІМ В-497 – основы пробиотической кормовой добавки “Споробакт” – аннотированы генетические локусы, кодирующие метаболиты бациллин, бацилломицин, диффицидин, фенгицин, макролактин, сурфактин, отвечающие за проявление антагонистической активности штамма. Определены ключевые факторы, стимулирующие продукцию указанных метаболитов, в частности установлено влияние термошока на интенсификацию синтеза активных липопептидов (сурфактина А) (Бережная и др., 2019).

С использованием T-RFLP-анализа показано, что добавка в корм жидких бактериальных культур *B. amyloliquefaciens* ВІМ В-497 и *B. subtilis* ВІМ В-713 оказывает влияние на метаболическую активность кишечной микробиоты крупного рогатого скота и приводит к направленной перестройке экосистемы рубца в сторону увеличения (на 35%) рубцовых бактерий и простейших.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние 10 лет междисциплинарное исследование микробиоты (микробиом) человека и животных стало одним из мейнстримов в области современной биологии, химии, медицины и биоинформатики. Функциональная значимость мириад бактерий, населяющих организм, для гармонии его микро- и макроэкологии стала очевидной и востребованной в практическом плане. Как исходно, так и сегодня, наибольший интерес вызывает микробиота (микробиом) кишечника человека. Впечатляет как количество населяющих кишечник родов бактерий (более 50), так и объем генетического материала, в сто раз превышающий размер собственного генома человека. Неудивительно, что нарушение композиции микробиома и, как следствие, генов и их комбинаций четко коррелирует с теми или иными заболеваниями: аутоиммунными, кардиологическими, онкологическими, нейродегенеративными, психическими и др. Уже на первом этапе изучения микробиом был признан особым нейроэндокринным органом, осуществляющим двунаправленное взаимодействие с головным мозгом. Установлено, что микробиом кишечника способен синтезировать все те же низкомолекулярные и пептидные вещества с нейромодулирующей активностью, что и нейроны энтеральной и центральной нервной системы. Показано, что дисби-

оз (изменения микробиоты) является триггером воспалительных процессов, приводящих к нарушению гомеостаза и возникновению различных заболеваний. Как и для любого другого органа, возникла задача выявления и установления параметров, характеризующих его в норме. Первыми в мире такие характеристики начали определять ученые ИОГен РАН в 2014 г. В первую очередь это сигнатуры, характеризующие нейромодулирующий, иммуномодулирующий и антиоксидантный потенциалы микробиоты. Эти параметры послужили основой для целенаправленного создания на основе комменсальных бактерий микробиоты, в первую очередь так называемых пробиотических бактерий – лактобацилл и бифидобактерий, препаратов фармабиотиков. Это живые биологически активные бактерии или их компоненты и метаболиты с установленным механизмом действия и известными фармакологически активными ингредиентами, способные оказывать лечебный эффект как самостоятельно, так и в комплексе с известными препаратами.

В последние годы конкретизированы биологически активные ингредиенты микробиома человека и животных и компоненты персонализированных продуктов: пребиотики, парабактерии, постбиотики и аутопробиотики; выявлены глобальные регуляторные гены, значимые регуляторные системы клеток организма человека, воспринимающие иммуномодулирующую, нейромодулирующую и антиоксидантную активности конкретных биологически активных ингредиентов; получены экспериментальные данные, показывающие значимую роль пробиотиков, постбиотиков и фармабиотиков на их основе в коррекции состава микробиома; разрабатываются препараты фармабиотиков с заданными характеристиками: психобиотики, иммунобиотики, антиоксиданты. Глобальные успехи в области изучения микробиома человека и животных и переход от классических пробиотиков – БАДов – к фармабиотикам – полноценным безопасным лекарственным препаратам с известным механизмом действия – открывают новые горизонты в персонализированной медицине.

Последствия пандемии COVID-19, известные как постковидный синдром, включают в себя ряд заболеваний различной этиологии (кардиологические, неврологические и иммунологические) и сопровождаются дисбиозом микробиома и системными воспалительными процессами. Постковидный синдром актуализировал и стимулировал исследования, в том числе и в России, в области как поиска бактерий с антиоксидантными, противовоспалительными, иммуномодулирующими и антибактериальными свойствами, так и дальнейшего их использования для создания фармабиотиков и постбиотиков (Averina et al., 2021; Danilenko et al., 2021; Poluektova et al., 2021). Для рабо-

ты в этом направлении в России по инициативе ИОГен РАН создан междисциплинарный консорциум “Нутригеномика микробиома”. Нутригеномика – это наука, изучающая влияние питания и в том числе биологически активных пищевых добавок на экспрессию генов человека и на его здоровье (Magum, 2020). Интенсивное изучение микробиома человека и животных сегодня позволяет сформировать понятие “нутригеномика микробиома” и продолжить исследования в рамках проекта “Фармакобионутриенты”.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят академика РАН, научного руководителя Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Власова Валентина Викторовича за ценные советы по улучшению качества статьи.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием людей или животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бережная А.В., Евдокимова О.В., Валентович Л.Н. и др.* Молекулярно-генетический и функциональный анализ генома бактерий *Bacillus velezensis* БИМ В-439Д // Прикл. биохим. микробиол. 2019. Т. 55. № 4. С. 366–377.  
<https://doi.org/10.1134/S0555109919040032>
- Полуектова Е.У., Мавлетова Д.А., Одорская М.В. и др.* Сравнительный геномный, транскриптомный и протеомный анализ штамма *Limosilactobacillus fermentum* U-21, перспективного для создания фармабиотика // Генетика. 2022. В. 9 (в печати).
- Ушакова Н.А., Некрасов Р.В., Правдин В.Г. и др.* Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения // Фунд. исслед. 2012. Т. 1. С. 184–192.
- Agirman G., Hsiao E.Y.* SnapShot: the microbiota–gut–brain axis // Cell. 2021. V. 184. № 9. P. 2524–2524.e1.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.022>
- Akour A.* Probiotics and COVID-19: is there any link? // Lett. Appl. Microbiol. 2020. V. 71. № 3. P. 229–234.  
<https://doi.org/10.1111/lam.13334>
- Al-Hassi H.O., Mann E.R., Sanchez B. et al.* Altered human gut dendritic cell properties in ulcerative colitis are reversed by *Lactobacillus plantarum* extracellular encrypted peptide STp // Mol. Nutr. Food Res. 2014. V. 58. № 5. P. 1132–1143.  
<https://doi.org/10.1002/mnfr.201300596>
- Amaretti A., Di Nunzio M., Pompei A. et al.* Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: *in vitro* and *in vivo* activities // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2013.

- V. 97. № 2. P. 809–817.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-012-4241-7>
- Arumugam M., Raes J., Pelletier E. et al. Enterotypes of the human gut microbiome // *Nature*. 2011. V. 473. № 7346. P. 174–180.  
<https://doi.org/10.1038/nature09944>
- Averina O.V., Danilenko V.N. Human intestinal microbiota: role in development and functioning of the nervous system // *Mikrobiologiya*. 2017. V. 86. № 1. P. 5–24.  
<https://doi.org/10.7868/S0026365617010050>
- Averina O.V., Kovtun A.S., Polyakova S.I. et al. The bacterial neurometabolic signature of the gut microbiota of young children with autism spectrum disorders // *J. Med. Microbiol.* 2020. V. 69. № 4. P. 558–571.  
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.001178>
- Averina O.V., Poluektova E.U., Marsova M.V., Danilenko V.N. Biomarkers and utility of the antioxidant potential of probiotic *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* as representatives of the human gut microbiota // *Biomedicines*. 2021. V. 9. № 10. P. 1340.  
<https://doi.org/10.3390/biomedicines9101340>
- Azcárate-Peril M.A., Sikes M., Bruno-Bárcena J.M. The intestinal microbiota, gastrointestinal environment and colorectal cancer: a putative role for probiotics in prevention of colorectal cancer? // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2011. V. 301. № 3. P. G401–424.  
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00110.2011>
- Barrett E., Ross R.P., O'Toole P.W. et al.  $\gamma$ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine // *J. Appl. Microbiol.* 2012. V. 113. № 2. P. 411–417.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05344.x>
- Belkaid Y., Harrison O.J. Homeostatic immunity and the microbiota // *Immunity*. 2017. V. 46. № 4. P. 562–576.  
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.04.008>
- Belkina T.V., Averina O.V., Savenkova E.V., Danilenko V.N. Human intestinal microbiome and the immune system: the role of probiotics in shaping an immune system unsusceptible to COVID-19 infection // *Biol. Bull. Rev.* 2021. V. 11. № 4. P. 329–343.  
<https://doi.org/10.1134/S2079086421040034>
- Bercik P., Verdu E.F., Foster J.A. et al. Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice // *Gastroenterology*. 2010. V. 139. № 6. P. 2102–2112.e1.  
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.06.063>
- Bernardo D., Sánchez B., Al-Hassi H.O. et al. Microbiota/host crosstalk biomarkers: regulatory response of human intestinal dendritic cells exposed to *Lactobacillus* extracellular encrypted peptide // *PLoS One*. 2012. V. 7. № 5. P. e36262.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036262>
- Blanco-Míguez A., Gutiérrez-Jácome A., Fdez-Riverola F. et al. MAHMI database: a comprehensive MetaHit-based resource for the study of the mechanism of action of the human microbiota // *Database (Oxford)*. 2017. V. 2017. P. baw157.  
<https://doi.org/10.1093/database/baw157>
- Blumberg R., Powrie F. Microbiota, disease, and back to health: a metastable journey // *Sci. Transl. Med.* 2012. V. 4. № 137. P. 137rv7.  
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004184>
- Bozkurt H.S., Quigley E.M. The probiotic *Bifidobacterium* in the management of coronavirus: a theoretical basis // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2020. V. 34. P. 2058738420961304.  
<https://doi.org/10.1177/2058738420961304>
- Bravo J.A., Forsythe P., Chew M.V. et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse *via* the vagus nerve // *PNAS USA*. 2011. V. 108. № 38. P. 16050–16055.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1102999108>
- Caspi A., Moffitt T.E. All for one and one for all: mental disorders in one dimension // *Am. J. Psych.* 2018. V. 175. № 9. P. 831–844.  
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2018.17121383>
- Chen L.L., Abbaspour A., Mkoma G.F. et al. Gut microbiota in psychiatric disorders: a systematic review // *Psychosom. Med.* 2021. V. 83. № 7. P. 679–692.  
<https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000959>
- Cianci R., Pagliari D., Piccirillo C.A. et al. The microbiota and immune system crosstalk in health and disease // *Mediators Inflamm.* 2018. V. 2018. P. 2912539.  
<https://doi.org/10.1155/2018/2912539>
- Cryan J.F., O'Riordan K.J., Cowan C.S. et al. The microbiota–gut–brain axis // *Physiol. Rev.* 2019. V. 99 (4). P. 1877–2013.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>
- Danilenko V.N., Stavrovskaya A.V., Voronkov D.N. et al. The use of a pharmabiotic based on the *Lactobacillus fermentum* U-21 strain to modulate the neurodegenerative process in an experimental model of Parkinson disease // *Ann. Clin. Exp. Neurol.* 2020. V. 14. № 1. P. 62–69.
- Danilenko V.N., Devyatkin A.V., Marsova M.V. et al. Common inflammatory mechanisms in COVID-19 and Parkinson's diseases: the role of microbiome, probiotics and postbiotics in their prevention // *J. Inflamm. Res.* 2021. V. 14. P. 6349–6381.  
<https://doi.org/10.2147/JIR.S333887>
- Dekaboruah E., Suryavanshi M.V., Chettri D., Verma A.K. Human microbiome: an academic update on human body site specific surveillance and its possible role // *Arch. Microbiol.* 2020. V. 202. № 8. P. 2147–2167.  
<https://doi.org/10.1007/s00203-020-01931-x>
- Delgado B., Bach A., Guasch I. et al. Whole rumen metagenome sequencing allows classifying and predicting feed efficiency and intake levels in cattle // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 2875.  
<https://doi.org/10.1038/S41598-020-60003-8>
- Desbonnet L., Garrett L., Clarke G. et al. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression // *Neuroscience*. 2010. V. 170. № 4. P. 1179–1188.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.08.005>
- Dong L., Xie J., Wang Y., Zuo D. Gut microbiota and immune responses // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2020. V. 1238. P. 165–193.  
[https://doi.org/10.1007/978-981-15-2385-4\\_10](https://doi.org/10.1007/978-981-15-2385-4_10)
- Dyachkova M.S., Chekalin E.V., Danilenko V.N. Positive selection in *Bifidobacterium* genes drives species-specific host–bacteria communication // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. P. 2374.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02374>
- Dyakov I.N., Mavletova D.A., Chernyshova I.N. et al. FN3 protein fragment containing two type III fibronectin domains from *B. longum* GT15 binds to human tumor necrosis factor alpha *in vitro* // *Anaerobe*. 2020. V. 65.

- P. 102247.  
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2020.102247>
- Eggestøl H.Ø., Lunde H.S., Haugland G.T. The proinflammatory cytokines TNF-alpha and IL-6 in lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) – identification, molecular characterization, phylogeny and gene expression analyses // *Dev. Comp. Immunol.* 2020. V. 105. P. 103608. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103608>
- Evans J.M., Morris L.S., Marchesi J.R. The gut microbiome: the role of a virtual organ in the endocrinology of the host // *J. Endocrinol.* 2013. V. 218. № 3. P. R37–47. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0131>
- Firuzi O., Miri R., Tavakkoli M., Saso L. Antioxidant therapy: current status and future prospects // *Curr. Med. Chem.* 2011. V. 18. № 25. P. 3871–3888. <https://doi.org/10.2174/092986711803414368>
- Fischer W.W., Hemp J., Valentine J.S. How did life survive Earth's great oxygenation? // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2016. V. 31. P. 166–178. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.03.013>
- Gaetz W., Bloy L., Wang D.J. et al. GABA estimation in the brains of children on the autism spectrum: measurement precision and regional cortical variation // *Neuroimage.* 2014. V. 86. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.05.068>
- Gómez-Llorente C., Muñoz S., Gil A. Role of Toll-like receptors in the development of immunotolerance mediated by probiotics // *Proc. Nutr. Soc.* 2010. V. 69. № 3. P. 381–389. <https://doi.org/10.1017/S0029665110001527>
- Górska S., Dylus E., Rudawska A. et al. Immunoreactive proteins of *Bifidobacterium longum* ssp. *longum* CCM 7952 and *Bifidobacterium longum* ssp. *longum* CCDM 372 identified by gnotobiotic mono-colonized mice sera, immune rabbit sera and non-immune human sera // *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. P. 1537. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01537>
- Hidalgo-Cantabrana C., Sánchez B., Milani C. et al. Genomic overview and biological functions of exopolysaccharide biosynthesis in *Bifidobacterium* spp. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. V. 80. № 1. P. 9–18. <https://doi.org/10.1128/Aem.02977-13>
- Hidalgo-Cantabrana C., Delgado S., Ruiz L. et al. Bifidobacteria and their health-promoting effects // *Microbiol. Spectr.* 2017. V. 5. № 3. P. 1. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.BAD-0010-2016>
- Hirata S.-I., Kunisawa J. Gut microbiome, metabolome, and allergic diseases // *Allergol. Int.* 2017. V. 66. № 4. P. 523–528. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2017.06.008>
- Hooper D.U., Adair E.C., Cardinale B.J. et al. A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change // *Nature.* 2012. V. 486. № 7401. P. 105–108. <https://doi.org/10.1038/nature11118>
- Hotel A.C.P., Cordoba A. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria // *Prevention.* 2001. V. 5. № 1. P. 1–10.
- Jabczyk M., Nowak J., Hudzik B., Zubelewicz-Szkodzińska B. Diet, probiotics and their impact on the gut microbiota during the COVID-19 pandemic // *Nutrients.* 2021. V. 13. № 9. P. 3172. <https://doi.org/10.3390/Nu13093172>
- Kamiya T., Watanabe M., Hara H. et al. Induction of human-lung-cancer-A549-cell apoptosis by 4-hydroperoxy-2-decenoic acid ethyl ester through intracellular ROS accumulation and the induction of proapoptotic CHOP expression // *J. Agric. Food Chem.* 2018. V. 66. № 41. P. 10741–10747. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b04424>
- Kanehisa M., Sato Y., Kawashima M. et al. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № D1. P. D457–D462. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1070>
- Kendell S.F., Krystal J.H., Sanacora G. GABA and glutamate systems as therapeutic targets in depression and mood disorders // *Expert Opin. Ther. Targets.* 2005. V. 9. № 1. P. 153–168. <https://doi.org/10.1517/14728222.9.1.153>
- Kovtun A.S., Averina O.V., Zakharevich N.V. et al. In silico identification of metagenomic signature describing neurometabolic potential of normal human gut microbiota // *Rus. J. Genet.* 2018. V. 54. № 9. P. 1101–1110. <https://doi.org/10.1134/S1022795418090089>
- Langille M.G., Zaneveld J., Caporaso J.G. et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences // *Nat. Biotechnol.* 2013. V. 31. № 9. P. 814–821. <https://doi.org/10.1038/nbt.2676>
- Laudadio I., Fulci V., Stronati L., Carissimi C. Next-generation metagenomics: methodological challenges and opportunities // *OMICS.* 2019. V. 23. № 7. P. 327–333. <https://doi.org/10.1089/omi.2019.0073>
- Levy M., Kolodziejczyk A.A., Thaiss C.A., Elinav E. Dysbiosis and the immune system // *Nat. Rev. Immunol.* 2017. V. 17. № 4. P. 219–232. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.7>
- Liang S., Wang T., Hu X. et al. Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress // *Neuroscience.* 2015. V. 310. P. 561–577. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.033>
- Lim H.J., Shin H.S. Antimicrobial and immunomodulatory effects of *Bifidobacterium* strains: a review // *J. Microbiol. Biotechnol.* 2020. V. 30. № 12. P. 1793–1800. <https://doi.org/10.4014/jmb.2007.07046>
- Liu W.H., Yang C.H., Lin C.T. et al. Genome architecture of *Lactobacillus plantarum* PS128, a probiotic strain with potential immunomodulatory activity // *Gut Pathog.* 2015. V. 7. P. 22. <https://doi.org/10.1186/s13099-015-0068-y>
- Liu Y.W., Liu W.H., Wu C.C. et al. Psychotropic effects of *Lactobacillus plantarum* PS128 in early life-stressed and naïve adult mice // *Brain Res.* 2016. V. 1631. P. 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.11.018>
- Liu C., Du M.X., Abuduaini R. et al. Enlightening the taxonomy darkness of human gut microbiomes with a cultured biobank // *Microbiome.* 2021. V. 9. № 1. P. 119. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01064-3>
- Lu Z., Liu Y., Xu J. et al. Immunohistochemical quantification of expression of a tight junction protein, claudin-7, in human lung cancer samples using digital image analysis method // *Comp. Meth. Progr. Biomed.* 2018. V. 155. P. 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2017.12.014>
- Lyte M. Microbial endocrinology and the microbiota–gut–brain axis // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2014. V. 817. P. 3–24. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4_1)

- Mackowiak P.A.* Recycling Metchnikoff: probiotics, the intestinal microbiome and the quest for long life // *Front. Publ. Health.* 2013. V. 1. P. 52.  
https://doi.org/10.3389/fpubh.2013.00052
- Maini Rekdal V., Bess E.N., Bisanz J.E. et al.* Discovery and inhibition of an interspecies gut bacterial pathway for levodopa metabolism // *Science.* 2019. V. 364. № 6445. P. eaau6323.  
https://doi.org/10.1126/science.aau6323
- Marcum J.A.* Nutrigenetics/nutrigenomics, personalized nutrition, and precision healthcare // *Curr. Nutr. Rep.* 2020. V. 9. № 4. P. 338–345.  
https://doi.org/10.1007/s13668-020-00327-z
- Margolis K.G., Cryan J.F., Mayer E.A.* The microbiota–gut–brain axis: from motility to mood // *Gastroenterology.* 2021. V. 160. № 5. P. 1486–1501.  
https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.10.066
- Marsova M., Abilev S., Poluektova E., Danilenko V.* A bioluminescent test system reveals valuable antioxidant properties of *Lactobacillus* strains from human microbiota // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2018. V. 34. № 2. P. 27.  
https://doi.org/10.1007/s11274-018-2410-2
- Marsova M., Poluektova E., Odorskaya M. et al.* Protective effects of *Lactobacillus fermentum* U-21 against paraquat-induced oxidative stress in *Caenorhabditis elegans* and mouse models // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2020. V. 36. № 7. P. 104.  
https://doi.org/10.1007/s11274-020-02879-2
- Martin T.C., Visconti A., Spector T.D., Falchi M.* Conducting metagenomic studies in microbiology and clinical research // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018. V. 102. № 20. P. 8629–8646.  
https://doi.org/10.1007/s00253-018-9209-9
- Messaoudi M., Lalonde R., Violle N. et al.* Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects // *Br. J. Nutr.* 2011. V. 105. № 5. P. 755–764.  
https://doi.org/10.1017/S0007114510004319
- Migeotte I., Communi D., Parmentier M.* Formyl peptide receptors: a promiscuous subfamily of G protein-coupled receptors controlling immune responses // *Cyt. Growth Factor Rev.* 2006. V. 17. № 6. P. 501–519.  
https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2006.09.009
- Mishra V., Shah C., Mokashe N. et al.* Probiotics as potential antioxidants: a systematic review // *J. Agric. Food Chem.* 2015. V. 63. № 14. P. 3615–3626.  
https://doi.org/10.1021/jf506326t
- Muñoz-Quezada S., Chenoll E., Vieites J.M. et al.* Isolation, identification and characterisation of three novel probiotic strains (*Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034, *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035 and *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036) from the faeces of exclusively breast-fed infants // *Br. J. Nutr.* 2013. V. 109. Suppl. 2. P. S51–62.  
https://doi.org/10.1017/S0007114512005211
- Nadeem I., Rahman M.Z., Ad-Dab'bagh Y., Akhtar M.* Effect of probiotic interventions on depressive symptoms: a narrative review evaluating systematic reviews // *Psych. Clin. Neurosci.* 2019. V. 73. № 4. P. 154–162.  
https://doi.org/10.1111/pcn.12804
- Nezametdinova V.Z., Zakharevich N.V., Alekseeva M.G. et al.* Identification and characterization of the serine/threonine protein kinases in *Bifidobacterium* // *Arch. Microbiol.* 2014. V. 196. № 2. P. 125–136.  
https://doi.org/10.1007/s00203-013-0949-8
- Nezametdinova V.Z., Mavletova D.A., Alekseeva M.G. et al.* Species-specific serine-threonine protein kinase Pkb2 of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum*: genetic environment and substrate specificity // *Anaerobe.* 2018. V. 51. P. 26–35.  
https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.03.003
- Nezametdinova V.Z., Yunes R.A., Dukhinova M.S. et al.* The role of the PFNA operon of *Bifidobacteria* in the recognition of host's immune signals: prospects for the use of the FN3 protein in the treatment of COVID-19 // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 17. P. 9219.  
https://doi.org/10.3390/ijms22179219
- Nikolova V.L., Hall M.R., Hall L.J. et al.* Perturbations in gut microbiota composition in psychiatric disorders: a review and meta-analysis // *JAMA Psychiatry.* 2021. V. 78. № 12. P. 1343–1354.  
https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2021.2573
- Novik G., Savich V.* Beneficial microbiota. Probiotics and pharmaceutical products in functional nutrition and medicine // *Microb. Infect.* 2020. V. 22. № 1. P. 8–18.  
https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.06.004
- Nowak A., Paliwoda A., Błasiak J.* Anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-oxidative activity of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains: a review of mechanisms and therapeutic perspectives // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019. V. 59. № 21. P. 3456–3467.  
https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1494539
- Nurk S., Meleshko D., Korobeynikov A., Pevzner P.A.* metaSPAdes: a new versatile metagenomic assembler // *Genome Res.* 2017. V. 27. № 5. P. 824–834.  
https://doi.org/10.1101/gr.213959.116
- O'Leary N.A., Wright M.W., Brister J.R. et al.* Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № D1. P. D733–D745.  
https://doi.org/10.1093/nar/gkv1189
- Osswald A., Westermann C., Sun Z., Riedel C.U.* A phytase-based reporter system for identification of functional secretion signals in *Bifidobacteria* // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 6. P. e0128802.  
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128802
- O'Toole P.W., Marchesi J.R., Hill C.* Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics // *Nat. Microbiol.* 2017. V. 2. P. 17057.  
https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.57
- Ottman N., Geerlings S.Y., Aalvink S. et al.* Action and function of *Akkermansia muciniphila* in microbiome ecology, health and disease // *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2017. V. 31. № 6. P. 637–642.  
https://doi.org/10.1016/j.bpg.2017.10.001
- Patten D.A., Laws A.P.* *Lactobacillus*-produced exopolysaccharides and their potential health benefits: a review // *Benef. Microb.* 2015. V. 6. № 4. P. 457–471.  
https://doi.org/10.3920/BM2014.0117
- Patterson E., Cryan J.F., Fitzgerald G.F. et al.* Gut microbiota, the pharmabiotics they produce and host health // *Proc. Nutr. Soc.* 2014. V. 73. № 4. P. 477–489.  
https://doi.org/10.1017/S0029665114001426
- Peri F., Calabrese V., Piazza M. et al.* Synthetic molecules and functionalized nanoparticles targeting the LPS–TLR4 signaling: a new generation of immunotherapeu-

- tics // Pure Appl. Chem. 2012. V. 84. № 1. P. 97–106. <https://doi.org/10.1351/PAC-CON-11-10-35>
- Poluektova E., Yunes R., Danilenko V.* The putative antidepressant mechanisms of probiotic bacteria: relevant genes and proteins // *Nutrients*. 2021. V. 13. № 5. P. 1591.
- Poux S., Arighi C.N., Magrane M. et al.* On expert curation and scalability: UniProtKB/Swiss-Prot as a case study // *Bioinformatics*. 2017. V. 33. № 21. P. 3454–3460. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx439>
- Ríos-Covián D., Ruas-Madiedo P., Margolles A. et al.* Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health // *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. P. 185. <https://doi.org/10.3389/Fmicb.2016.00185>
- Rocha-Ramírez L.M., Hernández-Chiñas U., Moreno-Guerrero S.S. et al.* Probiotic properties and immunomodulatory activity of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products // *Microorganisms*. 2021. V. 9. № 4. P. 825. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040825>
- Round J.L., Lee S.M., Li J. et al.* The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota // *Science*. 2011. V. 332. № 6032. P. 974–977. <https://doi.org/10.1126/science.1206095>
- Ruiz L., Hidalgo C., Blanco-Míguez A. et al.* Tackling probiotic and gut microbiota functionality through proteomics // *J. Proteomics*. 2016. V. 147. P. 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.03.023>
- Salminen S., Collado M.C., Endo A. et al.* The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021. V. 18. № 9. P. 649–667. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>
- Savignac H.M., Kiely B., Dinan T.G., Cryan J.F.* Bifidobacteria exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice // *Neurogastroenterol. Motil.* 2014. V. 26. № 11. P. 1615–1627. <https://doi.org/10.1111/nmo.12427>
- Schappe M.S., Sztayn K., Stremaska M.E. et al.* Chanzyme TRPM7 mediates the Ca<sup>2+</sup> influx essential for lipopolysaccharide-induced Toll-like receptor 4 endocytosis and macrophage activation // *Immunity*. 2018. V. 48. № 1. P. 59–74.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.11.026>
- Shanahan F., Collins S.M.* Pharmabiotic manipulation of the microbiota in gastrointestinal disorders, from rationale to reality // *Gastroenterol. Clin. North Am.* 2010. V. 39. № 3. P. 721–726. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2010.08.006>
- Shimizu K., Ojima M., Ogura H.* Gut microbiota and probiotics/synbiotics for modulation of immunity in critically ill patients // *Nutrients*. 2021. V. 13. № 7. P. 2439. <https://doi.org/10.3390/Nu13072439>
- Singh K., Rao A.* Probiotics: a potential immunomodulator in COVID-19 infection management // *Nutr. Res.* 2021. V. 87. P. 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.12.014>
- Sleator R.D., Hill C.* Engineered pharmabiotics with improved therapeutic potential // *Hum. Vaccin.* 2008. V. 4. № 4. P. 271–274. <https://doi.org/10.4161/hv.4.4.6315>
- Sleator R.D., Hill C.* Rational design of improved pharmabiotics // *J. Biomed. Biotechnol.* 2009. V. 2009. P. 275287. <https://doi.org/10.1155/2009/275287>
- Ślesak I., Ślesak H., Zimak-Piekarczyk P., Rozpądek P.* Enzymatic antioxidant systems in early anaerobes: theoretical considerations // *Astrobiology*. 2016. V. 16. № 5. P. 348–358. <https://doi.org/10.1089/ast.2015.1328>
- Stavropoulou E., Bezirtzoglou E.* Probiotics in medicine: a long debate // *Front. Immunol.* 2020. V. 11. P. 2192. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02192>
- Stavrovskaya A.V., Voronkov D.N., Gushchina A.S. et al.* Pharmabiotic based on *Lactobacillus fermentum* strain U-21 modulates the toxic effect of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine as Parkinsonism inducer in mice // *Hum. Physio.* 2021. V. 47. № 8. P. 891–900. <https://doi.org/10.1134/S0362119721080120>
- Thorburn A.N., Macia L., Mackay C.R.* Diet, metabolites, and “western-lifestyle” inflammatory diseases // *Immunity*. 2014. V. 40. № 6. P. 833–842. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.05.014>
- Tiso M., Schechter A.N.* Nitrate reduction to nitrite, nitric oxide and ammonia by gut bacteria under physiological conditions // *PloS One*. 2015. V. 10. № 3. P. e0119712. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119712>
- Turroni F., Serafini F., Foroni E. et al.* Role of sortase-dependent pili of *Bifidobacterium bifidum* PRL2010 in modulating bacterium-host interactions // *PNAS USA*. 2013. V. 110. № 27. P. 11151–11156. <https://doi.org/10.1073/pnas.1303897110>
- Valles-Colomer M., Falony G., Darzi Y. et al.* The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression // *Nat. Microbiol.* 2019. V. 4. № 4. P. 623–632. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0337-x>
- Varsha K.K., Maheshwari A.P., Nampoothiri K.M.* Accomplishment of probiotics in human health pertaining to immunoregulation and disease control // *Clin. Nutr. ESPEN*. 2021. V. 44. P. 26–7. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2021.06.020>
- Venkatesh R., Karunakaran K.* Oxidation of aromatic anils by sodium perborate in aqueous acetic acid medium // *As. J. Chem.* 2014. V. 26. № 3. P. 739–744. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2014.15506>
- Veselovsky V.A., Dyachkova M.S., Menyaylo E.A. et al.* Gene networks underlying the resistance of *Bifidobacterium longum* to inflammatory factors // *Front. Immunol.* 2020. V. 11. P. 595877. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.595877>
- Vijay A., Valdes A.M.* Role of the gut microbiome in chronic diseases: a narrative review // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2021. V. 76. P. 489–501. <https://doi.org/10.1038/s41430-021-00991-6>
- Wang B., Yao M., Lv L. et al.* The human microbiota in health and disease // *Engineering*. 2017. V. 3. № 1. P. 71–82. <https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.01.008>
- Wang N., Song G., Yang Y. et al.* Inactivated *Lactobacillus* promotes protection against myocardial ischemia–reperfusion injury through NF-κB pathway // *Biosci. Rep.* 2017. V. 37. № 6. P. BSR20171025. <https://doi.org/10.1042/bsr20171025>

- Wlodarska M., Luo C., Kolde R. et al. Indoleacrylic acid produced by commensal peptostreptococcus species suppresses inflammation // *Cell Host Microbe*. 2017. V. 22. № 1. P. 25–7.e6.  
https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.06.007
- Xie L., Zhang L., Zhong Y. et al. Profiling the metatranscriptome of the protistan community in *Coptotermes formosanus* with emphasis on the lignocellulolytic system // *Genomics*. 2012. V. 99. № 4. P. 246–255.  
https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2012.01.009
- Yan J., Yoon H., Kumar S. et al. Enhanced cellular immune responses elicited by an engineered HIV-1 subtype B consensus-based envelope DNA vaccine // *Mol. Ther.* 2007. V. 15. № 2. P. 411–421.  
https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300036
- Yunes R.A., Poluektova E.U., Dyachkova M.S. et al. GABA production and structure of *gadB/gadC* genes in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from human microbiota // *Anaerobe*. 2016. V. 42. P. 197–204.  
https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.10.011
- Yunes R.A., Poluektova E.U., Vasileva E.V. et al. A multi-strain potential probiotic formulation of GABA-producing *Lactobacillus plantarum* 90sk and *Bifidobacterium adolescentis* 150 with antidepressant effects // *Prob. Antimicrob. Prot.* 2020. V. 12. № 3. P. 973–979.  
https://doi.org/10.1007/s12602-019-09601-1
- Zelante T., Iannitti R.G., Cunha C. et al. Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22 // *Immunity*. 2013. V. 39. № 2. P. 372–385.  
https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.08.003
- Zhu F., Ju Y., Wang W. et al. Metagenome-wide association of gut microbiome features for schizophrenia // *Nat. Comm.* 2020. V. 11. № 1. P. 1612.  
https://doi.org/10.1038/s41467-020-15457-9
- Zorov D.B., Plotnikov E.Y., Silachev D.N. et al. Microbiota and mitobiota. Putting an equal sign between mitochondria and bacteria // *Biochemistry (Mosc.)*. 2014. V. 79. № 10. P. 1017–1031.  
https://doi.org/10.1134/S0006297914100046

## Study of the Human and Animal Microbiome as Genetic and Pharmacological Resources for the Development of Innovative Biotechnologies in Medicine, Animal Husbandry and Agro-Industrial Complex

V. N. Danilenko<sup>a, \*</sup>, R. A. Younes<sup>a</sup>, R. A. Ilyasov<sup>a, b</sup>, A. S. Kovtun<sup>a</sup>,  
A. S. Yanenko<sup>c</sup>, Yu. E. Kozlovsky<sup>c</sup>, A. V. Sidorenko<sup>d</sup>, and E. I. Kolomiets<sup>d</sup>

<sup>a</sup>*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>b</sup>*Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russia*

<sup>c</sup>*National Research Center “Kurchatov Institute”, Moscow, Russia*

<sup>d</sup>*Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

\*e-mail: valerid@vigg.ru

Today, everyone is familiar with the stages of development of antibacterial drugs, the successes in this area and the problems of application in medicine. Initially, thanks to the joint efforts of scientists around the world, antibiotics were created from natural producers of soil origin. The large-scale and sometimes irrational use of antibacterial drugs has contributed to the emergence and wide spread of pathogens resistant to most antibiotics. The same situation developed in the elaboration of antiviral and immunomodulatory drugs. It became obvious that humans are losing the race to diseases and pathogens. There is a need to create new approaches and paradigms in the development of technologies and in the choice of sources of medicines. The advances of the last decade in the field of human microbiota have opened up many opportunities for us. Modern perception about the structure and functions of the human intestinal microbiota and the conceptual unification of knowledge about commensal microorganisms, including probiotic organisms, obtained by molecular genetic, transcriptomic, proteomic and metabolomic methods, made it possible to forge the concept of “pharmabiotics”. The development of pharmabiotics from microorganisms inhabiting various cavities of the human body, including the intestines, is a new and rapidly developing area of pharmacological science. The goals set in this area can be achieved if a number of fundamental tasks are integrated to ensure the creation of effective and safe pharmaceuticals and ingredients for them. The role of the microbiome in general and pharmabiotics in particular as selective modulators of both the immune system, primarily cellular immunity, and the antioxidant system is becoming increasingly evident. Over the past decade, in the Russian Federation and the Republic of Belarus, intensive research has been carried out on the human and animal intestinal microbiome and the development of probiotic and pharmabiotic preparations with neuromodulatory, immunomodulatory, antioxidant and anti-inflammatory activities.

*Keywords:* pharmabiotics, antioxidant potential, probiotic potential, microbiota

УДК 579.62

## МИКРОБИОМ ЖИВОТНЫХ: ПОИСК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОБИОТИКОВ И ФАРМАБИОТИКОВ

© 2022 г. В. Н. Даниленко<sup>1</sup>, \*, Р. А. Ильясов<sup>1, 2</sup>, Р. А. Юнес<sup>1</sup>, А. С. Яненко<sup>3</sup>, Ю. Е. Козловский<sup>3</sup>, Н. В. Сверчкова<sup>4</sup>, Э. И. Коломиец<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Башкирский государственный аграрный университет, Уфа, Россия

<sup>3</sup>Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

<sup>4</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

\*e-mail: valerid@vigg.ru

Поступила в редакцию 29.03.2022 г.

После доработки 07.04.2022 г.

Принята к публикации 08.04.2022 г.

Достигнутые в последние годы научно-технологические и концептуальные успехи в области изучения микробиома кишечника человека позволяют быстро и эффективно переносить их в сферы изучения микробиома животных и применения в медицине и ветеринарии. Микробиомы всех видов животных имеют свои особенности, но вместе с тем соответствуют общим базовым принципам структурной организации бактериальных сообществ. Наиболее ярким примером универсальных пробиотических бактерий являются представители лактобацилл и бифидобактерий. Сравнительные геномные и молекулярно-генетические исследования этих групп бактерий, а также представителей рода *Bacillus*, несомненно, внесут большой вклад в понимание их иммуномодулирующих, нейромодулирующих и антиоксидантных свойств. За последние годы в мире, в том числе и в России, были пересмотрены принципы применения пробиотиков. Осуществляется переход от использования пробиотиков в качестве БАДов к использованию их в качестве фармабиотиков – препаратов для лечения и профилактики конкретных заболеваний. Ключевым моментом в этом направлении является использование постбиотиков – компонентов комменсальных бактерий различного происхождения. До недавнего времени считалось принципиальным применение штаммов пробиотиков, изолированных из того же вида, для которого они предназначены. Подход с использованием стандартизованных препаратов постбиотиков и фармабиотиков коренным образом изменил ситуацию. Препараты фармабиотиков, как и любые другие лекарственные препараты, могут создаваться на основе постбиотиков любого происхождения. Таким образом, живые, биологически и фармакологически активные бактерии, выделенные из микробиомов различных видов животных, после оценки их эффективности и безопасности могут стать источниками ингредиентов для создания фармабиотиков как для медицины, так и для ветеринарии.

**Ключевые слова:** микробиом человека, микробиом животных, фармабиотики, пробиотики, постбиотики, метагеномный анализ

**DOI:** 10.31857/S0042132422040056

### ВВЕДЕНИЕ

Согласно определению, данному в 2001 г. ВОЗ, пробиотики – это живые микроорганизмы, которые при введении в адекватных количествах приносят пользу здоровью хозяина (Health and nutritional..., 2001). Однако с тех пор многочисленные открытия пролили свет на многие аспекты, касающиеся пробиотических свойств бактерий и их проявлений в организме хозяина. Например, стало ясно, что многие пробиотические свойства являются штаммоспецифичными, а не видоспеци-

фичными, то есть они проявляются у отдельных штаммов (Yunes et al., 2016; McFarland et al., 2018; Plaza-Diaz et al., 2019; Poluektova et al., 2021). Из этого следует, что недостаточно определить вид бактерии для получения желаемых пробиотических свойств, а требуется секвенировать геном, провести соответствующий биоинформатический анализ и проверить эти свойства *in vitro* и *in vivo* (Poluektova et al., 2021). Последние открытия подтвердили высокую специфичность способности отдельных штаммов облегчать течение конкретных заболеваний и порой способствовать излечению от

них (Kekkonen et al., 2008; Yunes et al., 2020; Kobylak et al., 2020; Danilenko et al., 2021; McFarland et al., 2021). В связи с этими исследованиями возник термин фармабиотики, чтобы отделить уникальные штаммы, имеющие терапевтический потенциал, от пробиотиков, используемых в качестве пищевых добавок.

Под фармабиотиками сегодня понимают штаммы микробов и/или их компоненты, проявляющие конкретный терапевтический эффект в отношении конкретного заболевания (Sleator, Hill, 2008, 2009; Shanahan, Collins, 2010; Patterson et al., 2014; Averina et al., 2020, 2021; Poluektova et al., 2021). Для таких штаммов, как правило, исследованы или механизм действия, или конкретное вещество, продуцируемое ими и вызывающее фармакологический эффект. К фармабиотикам можно отнести и постбиотики — препараты на основе убитых микроорганизмов и/или компонентов, оказывающие непосредственное оздоровительное воздействие (Salminen et al., 2021).

Постбиотики становятся альтернативой пробиотикам, поскольку обладают рядом преимуществ (Caimari et al., 2017; Salvetti, O'Toole, 2017) — метаболиты, конкретные биологически активные компоненты и их составляющие могут использоваться в качестве фармакологически активных ингредиентов при создании фармпрепаратов медицинского и ветеринарного назначения. Лактобациллы и бифидобактерии — источники ингредиентов для создания постбиотиков (Raveschot et al., 2018; Zhang et al., 2018; Teame et al., 2020; Poluektova et al., 2021). Постбиотики доказали свою способность противодействовать адгезии различных энтеропатогенов на экспериментальной модели клеток Caco-2, продемонстрировали иммуномодулирующие, антиоксидантные и противовоспалительные эффекты в экспериментальных моделях (Jang et al., 2018; Marsova et al., 2018, 2020; Rocha-Ramirez et al., 2020; Averina et al., 2020, 2021).

Признание понятия постбиотиков открыло новые возможности и расширило границы поиска фармабиотиков из микробиома (микробиоты) различных животных. Если на применение пробиотиков животного происхождения наложены ограничения, в первую очередь, из соображений безопасности и возможной несовместимости с микробиотой человека, то на применение постбиотиков животного происхождения не существует подобных ограничений. Было показано (Siddiquee et al., 2013), что кишечник животных, особенно диких (рис. 1), из экологически чистых регионов является богатым источником пробиотических штаммов бактерий с антиоксидантным, противовоспалительным, иммуномодулирующим и нейромоделирующим действием.

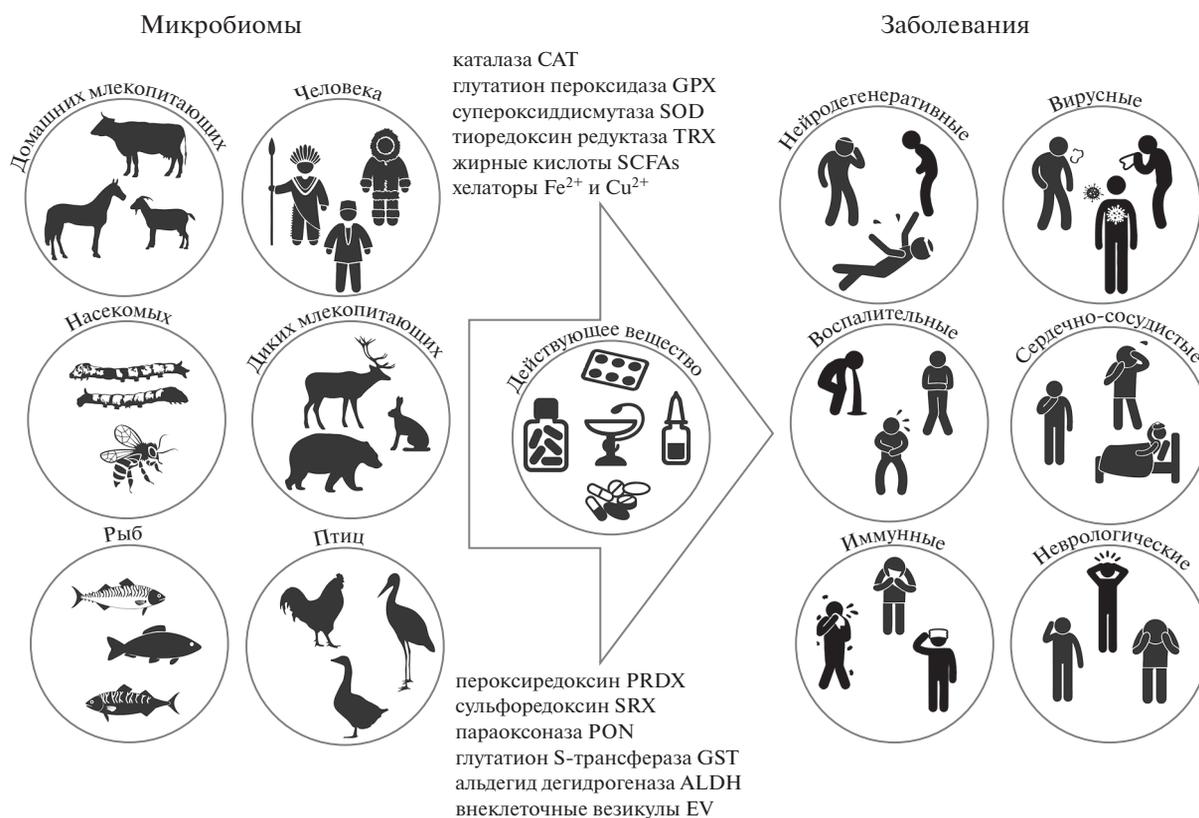
Из микробиома кишечника свиней были выделены штаммы лактобактерий *Lactobacillus*

*mucosae* LM1 и штамм *Lactobacillus johnsonii* PF01 с противовоспалительной и иммуномодулирующей активностями соответственно (Salvador et al., 2021); из микробиома кишечника страусов — штамм *Enterococcus faecium* AL4 с противовоспалительным действием (Lauková et al., 2015); из микробиома кишечника девяти видов морских рыб — штамм *Lactobacillus brevis* RK03 с нейромодулирующим эффектом (Wu et al., 2018); из микробиома кишечника собак — штаммы *Enterococcus faecium* MG9003(УН9003), *Enterococcus faecium* MG9007(УН9007), *Lactobacillus reuteri* MG9012(УН9012), *Lactobacillus fermentum* MG9014(УН9014), *Pediococcus pentosaceus* MG9015(УН9015) с противовоспалительным и антиоксидантным действием (Kim et al., 2021). Следовательно, микробиомы кишечника всех видов животных можно рассматривать в качестве источников бактерий, содержащих нужные гены и компоненты (малые РНК, белки, ферменты, малые молекулы и др.) и обладающих антиоксидантным, противовоспалительным, иммуномодулирующим и нейромоделирующим действием, которые могут быть использованы в создании фармабиотиков и служить компонентами фармпрепаратов медицинского и ветеринарного назначения (табл. 1).

В последующих разделах мы кратко проанализируем возможности использования комменсальных бактерий из микробиоты некоторых представителей различных групп животных — от насекомых и рыб до млекопитающих. Мы будем использовать термин “микробиом”, предполагая, что поиски целевых бактерий и генов, содержащихся в их геноме, осуществляются в их метабеномах, как это было описано (Danilenko et al., 2021).

#### МИКРОБИОМ ПЧЕЛЫ. ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ С АНТИОКСИДАНТНЫМИ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Пищеварительный тракт пчел имеет типичное для насекомых строение. Пищевод начинается от рта и расширяется в конце, образуя медовый зобик. В конце медового зобика находится преджелудочек, в котором имеется сетчатая структура для удаления пылевых зерен из нектара и блокировки обратного поступления в медовый зобик переваренной пищи. Далее располагается самая большая часть кишечника — средняя кишка, которая выполняет функции желудка. В конце средней кишки отходят мальпигиевы трубочки, которые функционируют как почки. Далее — тонкая кишка, которая переходит в толстую кишку. Толстая кишка достаточно растяжима, покрыта хитиновым слоем, что позволяет пчелам выдерживать воздержание от дефекации до шести месяцев



**Рис. 1.** Микробиом человека и животных как источник пробиотиков, фармабиотиков и постбиотиков, имеющих большой профилактический и терапевтический потенциал (Danilenko et al., 2021).

в зимний период (Niode et al., 2020; Elzeini et al., 2021; Nowak et al., 2021).

Бактерии видов *Snodgrassella alvi* (Proteobacteria), *Bifidobacterium asteroides* (Actinobacteria), *Giliamella apicola* (Proteobacteria) и двух групп Firm-4 и Firm-5 (*Lactobacillus*) являются вездесущими, могут быть обнаружены в микробиоме практически у каждой взрослой особи рабочих пчел во всем мире и считаются базовым микробиомом кишечника пчел. Бактерии *Bartonella apis* (Proteobacteria), *Apibacter adventoris*, *Frischella perrara* (Proteobacteria) и двух групп Alpha-2.1 и Alpha-2.2 (Acetobacteraceae) присутствуют в кишечнике у большинства медоносных пчел, но у некоторых могут отсутствовать (Bottacini et al., 2012; Kwong, Moran, 2013, 2016; Romero et al., 2019; Niode et al., 2020; Nowak et al., 2021) (рис. 2).

Лактобактерии микробиома кишечника медоносных пчел являются основной защитой хозяина от патогенов, оксидативного стресса, воспалительных процессов, участвуют в деградации и детоксикации ксенобиотиков и пестицидов (тиаклоприд, имидаклоприд, флувалинат) и оказывают иммуно- и нейромодулирующее действие (Audisio et al., 2011; Ilyasov et al., 2012; Vásquez et al., 2012; Keerthi et al., 2013; Killer et al., 2014; Sandi, Salasia, 2016; Kačániová et al., 2018; Salman, Saleh, 2018; Niode

et al., 2020). Было показано, что штаммы *Lactobacillus* (*L. helsingborgensis* Bma5N, *L. apinorum* Fhon13N, *L. mellis* Hon2N, *L. kunkeei* Fhon2N), *Bifidobacterium* (*B. sp.* Hma3N) и *Enterococcus* (*E. avium*, *E. faecium*) медоносной пчелы вырабатывают антимикробные пептиды: гельветицин J, бактериолизин, аливарицин, энтеролизин А и термофилин А, которые подавляют развитие патогенных бактерий в кишечнике пчел (Audisio et al., 2011, 2018; Butler et al., 2013; Filannino et al., 2016; Niode et al., 2020). Штаммы *Lactobacillus johnsonii* (CRL164, AJ5 и IG9), *L. plantarum* (H28 и H24), *Fructobacillus fructosus* (SHGH-1, SHGH-4, SHGH-11 и SHGH-14) и *L. apis* R4B из кишечника медоносной пчелы *Apis mellifera* способны ингибировать различные патогенные микроорганизмы: *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella aerogenes*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus larvae* и *Melissococcus plutonius* (Tajabadi et al., 2011; Killer et al., 2014; Salman, Saleh, 2018; Kačániová et al., 2018; Kenfack et al., 2018; Parichehreh et al., 2018; Niode et al., 2020).

Из кишечника медоносных пчел видов *Apis mellifera* и *A. cerana* выделены штаммы *Lactobacillus* sp. (H1B, H1C, H3A, H4A, H4B, H4C), *L. kunkeei* и *L. plantarum* (H28, H24, KX519413, KX519414, LP8,

**Таблица 1.** Бактерии с антиоксидантным, противовоспалительным, антибактериальным и иммуномодулирующим действием, изолированные из микробиоты (микробиома) кишечника животных

Источник микробиома	Штамм бактерий	Источник
Пчелы	<i>Lactobacillus helsingborgensis</i> Bma5N, <i>Lactobacillus apinorum</i> Fhon13N, <i>Lactobacillus mellis</i> Hon2N, <i>Lactobacillus kunkeei</i> Fhon2N, <i>Bifidobacterium</i> sp. Hma3N, <i>Enterococcus avium</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Lactobacillus johnsonii</i> (CRL164, AJ5, IG9), <i>Lactobacillus plantarum</i> (H28 и H24), <i>Fructobacillus fructosus</i> (SHGH-1, SHGH-4, SHGH-11, SHGH-14), <i>Lactobacillus apis</i> R4B, <i>Lactobacillus</i> sp. (H1B, H1C, H3A, H4A, H4B, H4C), <i>Lactobacillus kunkeei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> (H28, H24, KX519413, KX519414, LP8, LP25, LP86, LP95, LP100), <i>Enterococcus faecalis</i> (HBE1, HBE3, HBE4), <i>Lactobacillus brevis</i> HBE2, <i>Lactobacillus casei</i> HBE5	Audisio et al., 2011; Butler et al., 2013; Keerthi et al., 2013; Filannino et al., 2016; Chandran, Keerthi, 2018; Kenfack et al., 2018; Hmood et al., 2019; Niode et al., 2020; Elzeini et al., 2021; Iorizzo et al., 2021
Домашний скот	<i>Enterococcus</i> sp. (EA3 и EB2), <i>Pediococcus</i> sp. (PC2 и PD3), <i>Lactobacillus mucosae</i> LM1, <i>Lactobacillus johnsonii</i> PF01, <i>Lactobacillus brevis</i> (MG882399, MG882400, MG882401 и MG882402)	Ji et al., 2018; Noureen et al., 2018; Salvador et al., 2021
Пушные звери	<i>Clostridium acetobutylicum</i> , <i>Helicobacter</i> spp. и родов <i>Lactobacillus</i> , <i>Actinobacteria</i> , <i>Proteobacteria</i> и <i>Enterococcus</i> , <i>Enterococcus faecium</i> MG9003(YH9003), <i>Enterococcus faecium</i> MG9007(YH9007), <i>Lactobacillus reuteri</i> MG9012(YH9012), <i>Lactobacillus fermentum</i> MG9014(YH9014), <i>Pediococcus pentosaceus</i> MG9015(YH9015)	Foxman et al., 2008; Gugołek et al., 2013; Nizza et al., 2014; Bahl et al., 2017; Bradley et al., 2019; Kim et al., 2021
Дикие животные	<i>Bacillus pumilus</i> (124, P1, BN-103, D10, E14), <i>Lactobacillus mucosae</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> M2-71, <i>Enterococcus hirae</i> , <i>Enterococcus durans</i> и <i>Enterococcus faecium</i> , <i>L. reuteri</i> (H3-2, H13-1, H9-2)	Pallin, 2012; Li et al., 2016; Baranova et al., 2022
Рыбы	<i>Actinobacteria</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Psychrobacter</i> , <i>Pseudococcus</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> (23V, 33V, 36V, 37V, 64V, 65V, 66V, 67V, 68V, 73V), <i>Lactobacillus plantarum</i> (S-SU1, S-SU3, S-SU4, S-SU5), <i>Lactococcus lactis</i> (S-SU2, S-SU6), <i>Lactobacillus brevis</i> RK03	Kuda et al., 2014; Lowrey et al., 2015; De Bruijn et al., 2018; Wu et al., 2018; Tyagi et al., 2019; Iorizzo et al., 2022
Птицы	<i>Lactobacillus acidophilus</i> A12, <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> SHA101, <i>Lactobacillus vaginalis</i> SHA110, <i>Enterococcus faecium</i> AL4	Lee et al., 2008; Lauková et al., 2015; Rajoka et al., 2019; Wang et al., 2020

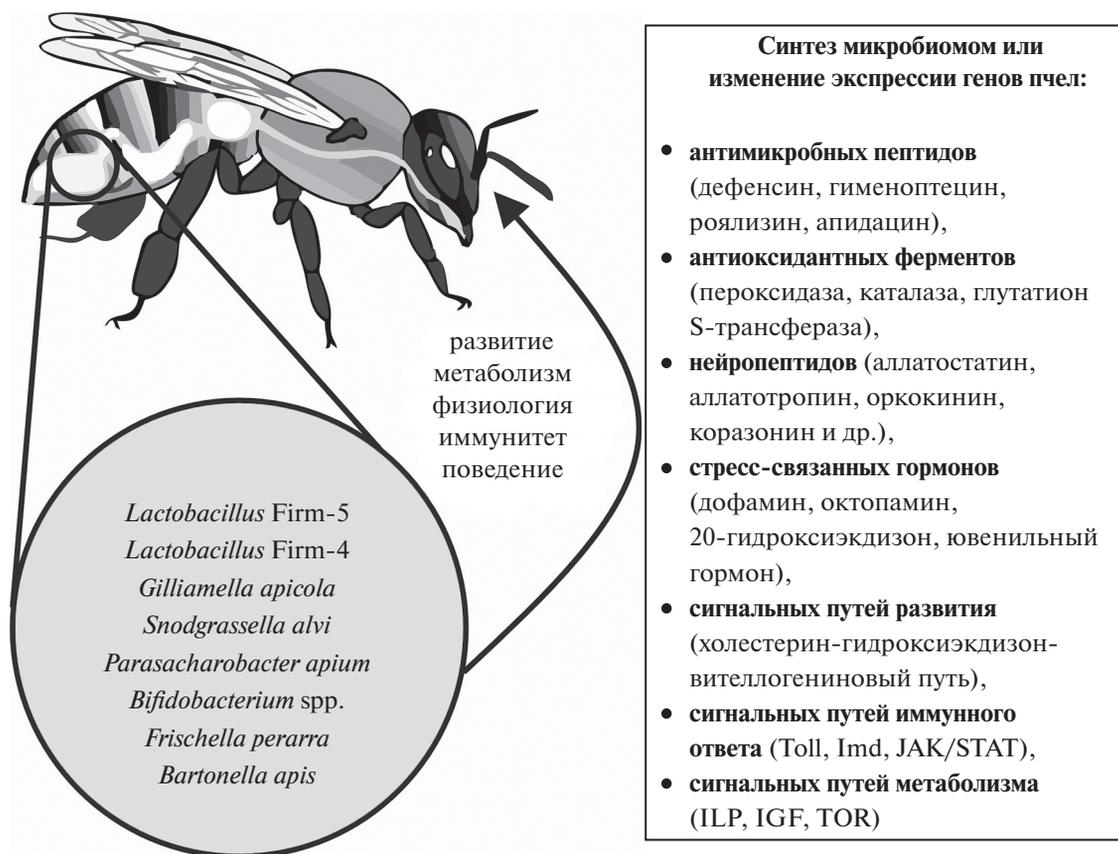


Рис. 2. Микробиом кишечника медоносной пчелы и особенности взаимодействия микроорганизмов с хозяином.

LP25, LP86, LP95, LP100), *Enterococcus faecalis* (HBE1, HBE3, HBE4), *Lactobacillus brevis* (HBE2), *Lactobacillus casei* (HBE5) с повышенным антиоксидантным потенциалом и антимикробным действием (Keerthi et al., 2013; Kenfack et al., 2018; Chandran, Keerthi, 2018; Hmood et al., 2019; Niode et al., 2020; Elzeini et al., 2021; Iorizzo et al., 2021).

**МИКРОБИОМ ДОМАШНИХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ, РАЗВОДИМЫХ ПРИ МОЛОЧНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ**

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) жвачных животных сложный. Многокамерный желудок жвачных животных состоит из четырех отделов: рубца, сетки, книжки и сычуга (Horst et al., 2021; Tong et al., 2022). В рубце сконцентрирована основная часть симбиотических микроорганизмов, которые ферментируют пищу (Horst et al., 2021). В сетке уже измельченная пища отделяется от крупных частиц, которые возвращаются в рубец для ферментации. В книжке происходит всасывание воды и жирных кислот, образующихся в результате микробной ферментации пищи в рубце (Jones et al., 2022; Tong et al., 2022). В сычуге осу-

ществляется переваривание пищи за счет пищеварительных ферментов хозяина (Tong et al., 2022).

ЖКТ лошадей, в отличие от жвачных животных, устроен проще. Желудок лошадей однокамерный, в нем совершается ферментативное расщепление пищи, а микробная ферментация пищи происходит в основном в толстом кишечнике, в котором переваривается примерно половина всей клетчатки и белка (Santos et al., 2011). У лошадей общая концентрация короткоцепочечных жирных кислот в фекалиях ниже, чем у свиней, коров и человека, что связано с длительным, от четырех дней, пребыванием фекалий в заднем кишечнике (Berreta et al., 2021; Tong et al., 2022). Микробиомы рубца жвачных и толстого кишечника лошадей являются одними из самых богатых (Mathewos et al., 2021; Radcliffe et al., 2022; Tong et al., 2022).

Основная часть симбиотических микроорганизмов жвачных сконцентрирована в рубце и толстом кишечнике (Mathewos et al., 2021; Radcliffe et al., 2022; Tong et al., 2022). Классические микробиологические методы позволяют идентифицировать в микробиоме рубца крупного рогатого скота (КРС) около 100 видов бактерий, тогда как молекулярно-генетические методы – около 600 видов,

из которых 90% некультивируемые (Berreta et al., 2021; Horst et al., 2021; Tong et al., 2022). На качество и состав микробиома рубца и толстого кишечника влияют физиологические особенности, а также характер питания, что показано в опытах на овцах (Fu et al., 2020), козах (Grilli et al., 2016) и КРС (Marin et al., 2017; Zhang et al., 2018).

В микробиоме рубца овец и КРС преобладают целлюлозолитики: бактерии семейства Neocallimastigaceae, рода *Metadinium*, видов *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Acetivibrio thermocellus*, *Ruminiclostridium cellulolyticum*, *Clostridium cellulovorans*, а в микробиоме рубца коз преобладают протеолитики: бактерии рода *Sacharofermentans* и семейства Lachnospiraceae (Baldwin, Connor, 2017; Tong et al., 2022). В ЖКТ жвачных и нежвачных животных также представлены нитритредуцирующие и лактатутилизирующие бактерии родов *Veillonella*, *Selenomonas*, *Anaerovibrio*, *Propionibacterium*, витаминсинтезирующие бактерии вида *Flavobacterium vitarumen* (Deusch et al., 2017; Mizrahi, Jami, 2018). Основным источником ферментов для расщепления растительных полисахаридов и клетчатки (гликозидгидролазы, полисахаридлиазы, пектацтиазы, эстеразы) служат микробиомы рубца и кишечника (Flint et al., 2008; White et al., 2014; Li et al., 2020).

В толстом кишечнике лошадей преобладают бактерии типа Firmicutes, родов *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Selenomonas*, семейства Spirochetaceae, бактерии групп *Cytophaga*–*Flexibacter*–*Bacteroides* и *Eubacterium rectale*–*Clostridium coccoides*, а в слепой кишке – бактерии родов *Bacillus*, *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* (Rychlik, 2020; Husso et al., 2020; Berreta et al., 2021; Tong et al., 2022).

Предполагается, что в микробиомах кишечника КРС и лошадей имеются симбиотические бактерии с антиоксидантными и противовоспалительными свойствами (Kachouri et al., 2015; Yadav et al., 2016; Noureen et al., 2018). Штаммы бактерий с антиоксидантной, антимикробной и противовоспалительной активностями изолированы из фекалий молочных коров (Ji et al., 2018) – *Enterococcus* sp. (EA3 и EB2), *Pediococcus* sp. (PC2 и PD3) и лошадей (Noureen et al., 2018) – *Lactobacillus brevis* (MG882399, MG882400, MG882401 и MG882402).

### МИКРОБИОМ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ

Пушные звери – представители млекопитающих отряда хищников (горностай, куница, колонок, выдра и др.), грызунов (белка, ондатра, бобр, бурундук, суслик и др.), зайцеобразных (зайцы, пищухи и др.), насекомоядных (кроты, выхухоль и др.), ластоногих (морской котик, нерпа и др.). Различия в строении их ЖКТ обусловлены различиями в характере их питания. У травоядных пуш-

ных зверей желудок простой, где происходит ферментативное расщепление пищи. Особенность кишечника травоядных пушных зверей – большая слепая кишка, в которой идет процесс микробной ферментации пищи (Gugołek et al., 2013; Nizza et al., 2014). У хищных пушных зверей желудок также простой, с тонкими эластичными стенками и слабой мускулатурой, не способный обеспечить размягчение и растирание твердой растительной пищи. Относительная длина кишечника у хищных пушных зверей намного меньше, чем у травоядных животных. Незначительный объем толстого кишечника и особенно слепой кишки у хищных пушных зверей свидетельствует о том, что их ЖКТ не приспособлен для микробной ферментации пищи (Nizza et al., 2014; Jensen et al., 2017; Bahl et al., 2020).

В микробиоме большинства хищных пушных зверей преобладают бактерии таксонов Proteobacteria, Firmicutes и Clostridia, а Bacteroidetes встречаются редко (Middelbos et al., 2010; Tun et al., 2012; Gugołek et al., 2013; Bahl et al., 2017; Zhao et al., 2017). В образцах фекалий хорьков *Mustela putorius* и норки *Neovison vison* были обнаружены бактерии видов *Clostridium acetobutylicum*, *Helicobacter* spp., родов *Lactobacillus*, *Enterococcus*, типов Actinobacteria, Proteobacteria с антиоксидантной, противомикробной и противовоспалительной активностями (Foxman et al., 2008; Gugołek et al., 2013; Nizza et al., 2014; Rajilić-Stojanović, de Vos, 2014; Bahl et al., 2017; Bradley et al., 2019).

Доминирующими таксонами микробиома кишечника кроликов являются бактерии семейств Ruminococcaceae, Veerucocomicrobiaceae, Rikenellaceae и Bacteroidales, способные активно ферментировать клетчатку и полисахариды (Funosas et al., 2021).

### МИКРОБИОМ ДИКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ – ИСТОЧНИК ИНГРЕДИЕНТОВ С НЕЙРОМОДУЛИРУЮЩЕЙ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЯМИ

Микробиом диких животных из экологически чистых сред обитания может оказаться перспективным источником штаммов бактерий, не содержащих гены резистентности к антибиотикам, но обладающих антимикробными, противовоспалительными и антиоксидантными свойствами. Поскольку дикие животные подвержены только естественному отбору, то их микробиом должен обеспечивать повышение иммунитета и адаптацию к природной среде обитания (Li et al., 2016).

Из микробиомов кишечника сибирской рыси *Lynx lynx*, обыкновенной енотовидной собаки *Nyctereutes procyonoides* и восточно-сибирского бурого медведя *Ursus arctos* изолированы штаммы *Bacillus pumilus* (124, P1, VN-103, D10, E14), дикого кабана

*Sus scrofa* – штаммы *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus salivarius* (M2-71), *Enterococcus hirae*, *E. durans* и *E. faecium*, волка *Canis lupus* – штаммы *L. reuteri* (H3-2, H13-1 и H9-2), обладающие повышенными антимикробными, противовоспалительными и антиоксидантными свойствами (Pallin, 2012; Li et al., 2016; Baranova et al., 2022).

### МИКРОБИОМ РЫБ. ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПРОБИОТИКОВ И ПОСТБИОТИКОВ

ЖКТ рыб может быть очень разнообразным по строению, форме, длине в зависимости от типа питания – хищники, растительноядные и питающиеся планктоном (Sullam et al., 2012; Liu et al., 2016). После рта и глотки начинается короткий пищевод, который имеет железистые клетки, выделяющие слизь. Желудок есть не у всех видов рыб: у карпов, бычков, морского черта нет желудка, но у хищников обычно есть. Желудок у разных видов рыб может иметь форму трубки, овала или буквы V. Слизистая оболочка желудка вырабатывает соляную кислоту и пепсин, служащие для расщепления пищи. Кишечник начинается с тонкой кишки, в которую впадают желчный проток и проток поджелудочной железы. Далее располагаются толстая кишка и прямая кишка, заканчивающаяся анусом или клоакой (Tran et al., 2017; Wang et al., 2018; Tyagi et al., 2019).

Микробиом кишечника рыб сконцентрирован преимущественно в толстом и прямом кишечниках и представлен аэробными и анаэробными бактериями, его состав определяется питанием и физико-химическими условиями кишечника (Li et al., 2012; Romero et al., 2014; Ghanbari et al., 2015). На 15 видах рыб показано (Givens et al., 2015), что всеядность привела к формированию большего разнообразия бактерий в микробиоме кишечника, по сравнению с хищниками и травоядными. В микробиоме кишечника рыб содержится более 1000 видов бактерий. Наиболее многочисленные филы – Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes и Firmicutes (Sullam et al., 2012; Givens et al., 2015; Montalban-Arques et al., 2015; Tran et al., 2017; Wang et al., 2018; Tyagi et al., 2019). У хищных видов рыб в микробиоме кишечника доминируют Fusobacteria и Firmicutes, а у травоядных видов рыб – Cyanobacteria и Bacteroidetes (Sullam et al., 2012; Liu et al., 2016).

В микробиоме кишечника рыб обнаруживаются бактерии с антиоксидантными, противовоспалительными и антибактериальными свойствами. Микробиомы кишечника пресноводного карпа *Labeo rohita*, атлантического лосося *Salmo salar*, пятнистого сибаса *Dicentrarchus punctatus* и радужной форели *Salmo irideus* содержат штаммы бактерий типа Actinobacteria, родов *Arthrobacter*, *Psychrobacter* и *Pseudococcus* с выраженным антибак-

териальным действием (Lowrey et al., 2015; Salinas, 2015; De Bruijn et al., 2018; Tyagi et al., 2019). Из микробиома кишечника средиземноморской форели *Salmo macrostigma* изолированы штаммы *Lactiplantibacillus plantarum* (23V, 33V, 36V, 37V, 64V, 65V, 66V, 67V, 68V, 73V) и из микробиома кишечника 23 видов морских рыб – штаммы *Lactobacillus plantarum* (S-SU1, S-SU3, S-SU4, S-SU5) и *Lactococcus lactis* (S-SU2, S-SU6), обладающие повышенной антиоксидантной, противовоспалительной и антимикробной активностями как в отношении клеток, так и их бесклеточного супернатанта (Kuda et al., 2014; Iorizzo et al., 2022).

### МИКРОБИОМ ПТИЦ. ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПРОБИОТИКОВ И ПОСТБИОТИКОВ

В ЖКТ птиц выделяют девять отделов: ротовая полость, пищевод, зоб, железистый желудок, мышечный желудок, тонкая кишка, слепая кишка, толстая кишка и клоака. У большинства видов птиц пищевод и зоб проводят и хранят пищу. Железистый желудок имеет кислую среду, в которой пища переваривается химически, тогда как мышечный желудок представляет собой мускулистый мешок, в котором пища перетирается механически (Grond et al., 2018). Способность к полету определила строение и расположение органов пищеварения у птиц. В связи с ограничением веса и большими энергозатратами при полете переваривание пищи у птиц происходит очень быстро (Grond et al., 2018).

В составе микробиома кишечника птиц более 650 видов бактерий, из которых около половины еще не идентифицировано. В микробиоме кишечника птиц доминируют Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes и Actinobacteria (Grond et al., 2018). В микробиоме кишечника диких птиц содержание Proteobacteria выше, по сравнению с домашними, что, видимо, связано с различиями в питании (Ley et al., 2008). Повышенная численность Bacteroidetes отмечается в кишечнике травоядных птиц: японского перепела *Coturnix coturnix*, эму *Dromaius novaehollandiae* и страуса *Struthio camelus*, это связано с участием Bacteroidetes в ферментировании целлюлозы. В кишечнике хищных птиц доминируют Firmicutes и Proteobacteria (Matsui et al., 2010; Bennett et al., 2013; Kohl et al., 2014).

В микробиоме кишечника птиц могут содержаться бактерии с иммуномодулирующими, противовоспалительными, антибактериальными и антиоксидантными свойствами. Так, из микробиома кишечника кур изолированы штаммы *Lactobacillus acidophilus* A12, *L. salivarius* и экзополисахариды EPS-Ir и EPS-Ivg штаммов *L. reuteri* SHA101 и *L. vaginalis* SHA110, обладающие иммуномодулирующим, противовоспалительным, антимикробным и анти-

оксидантным действием (Lee et al., 2008; Rajoka et al., 2019; Wang et al., 2020).

### РАЗРАБОТКИ ИНСТИТУТА МИКРОБИОЛОГИИ НАН БЕЛАРУСИ В ОБЛАСТИ СОЗДАНИЯ И ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Работы по созданию новых препаратов-пробиотиков ведутся в нескольких направлениях: выделение из различных источников новых штаммов, перспективных для использования в составе биопрепаратов; создание комплексных препаратов из бактерий, дополняющих друг друга; создание комплексных пробиотиков, в состав которых, кроме микроорганизмов, дополнительно введены биологически активные вещества, стабилизаторы, сорбенты и т.п.; расширение сферы применения существующих пробиотиков (Ушакова и др., 2012; Коломиец, 2016). Характеристика основных пробиотических препаратов для использования в агропромышленном комплексе представлена в табл. 2.

В результате проведенных исследований создана коллекция штаммов спорообразующих бактерий рода *Bacillus* с высокими антимикробной и ферментативной (протеазной, целлюлазной, ксиланазной) активностями. Установлены ключевые метаболиты бактерий-антагонистов, контролируемые развитие патогенных микроорганизмов, определены факторы их направленного биосинтеза. В частности, впервые показано участие в антимикробном действии культуры *Bacillus pumilus* БИМ В-263 – основы биодезинфектанта Энатин® – соединения из группы алифатических кетонов 2,4-диметил-пентанона-3 (Sverchkova et al., 2012).

На основе наиболее активных культур спорообразующих бактерий рода *Bacillus* разработано и освоено в производстве 10 оригинальных технологий получения пробиотиков ветеринарного и кормового назначения с антимикробной, ферментативной, иммуностимулирующей, антиоксидантной активностями. Так, на основе штамма спорообразующих бактерий *Bacillus pumilus* БИМ В-263 Д в Институте микробиологии НАН Беларуси разработана технология получения и применения микробного препарата Энатин®, предназначенного для профилактической дезинфекции животноводческих помещений. Использование препарата позволяет снизить численность санитарно-показательных микроорганизмов (бактерий группы кишечной палочки и стафилококко-стрептококковой). Препарат также повышает выживаемость молодняка и увеличивает прирост веса.

На основе *B. subtilis* БИМ В-454 Д, характеризующихся высокой антагонистической активностью в отношении возбудителей инфекционных

болезней животных – бактерий *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Salmonella* sp., разработана энергосберегающая, безотходная, конкурентоспособная технология получения ветеринарных пробиотических препаратов Бацинил® и Бацинил®-К, предназначенных для коррекции микробиоценоза ЖКТ и стимуляции иммунной системы при заболеваниях КРС, свиней и птицы. Технология предусматривает термическую активацию посевного материала *B. subtilis* БИМ В-454 Д (выдержка при 60°C в течение 20 мин) и дробную подачу субстрата в ферментер, что обеспечивает высокие качественные показатели получаемых биопрепаратов. Разработаны программные модули, учитывающие влияние дробного внесения субстрата и стресс-фактора на ростовые характеристики и активность штамма-продуцента. Использование указанных пробиотиков обеспечивает прибыль от применения на одном животном (теленке) до 7 долл. США (Sverchkova et al., 2012).

Пробиотический препарат Эмилин® представлен комплексом бактерий с высокой антимикробной активностью и предназначен для профилактики и лечения бактериальных болезней рыб семейства карповых. Он не только контролирует развитие патогенной микробиоты, но и активизирует неспецифические системы защиты организма, вызывая увеличение следующих показателей: бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) на 17.7–24.4%, фагоцитарной активности (ФА) на 17.0–28.8%, фагоцитарного индекса (ФИ) на 1.8–2.6%, фагоцитарного числа (ФЧ) в 2 раза, благотворно влияет на жизнестойкость рыб и их способность переносить стресс в процессе зимовки. Рыба, прокормленная препаратом, легче переносит зимовку, не болеет бактериальными инфекциями, начинает раньше и активнее питаться. При выходе из зимовки навеска на 8–10% выше, чем у рыбы, не получавшей пробиотика (Sverchkova et al., 2016).

Пробиотический препарат Бакто-хелс®, содержащий бактерии, предназначен для профилактики и лечения бактериальных болезней ценных видов рыб. Использование Бакто-хелса оказывает как прямое воздействие на представителей условно-патогенной и сапрофитной микробиоты, так и опосредованное – путем активизации неспецифических систем защиты организма. Применение пробиотика положительно влияет на уровень естественной (неспецифической) резистентности организма осетровых и лососевых рыб, вызывая увеличение ряда показателей: БАСК – на 32.2% у стерляди и 69.4% у форели, ФА – на 30.9% у стерляди и 48.9% у форели, ФИ – на 109% у стерляди и 83.8% у форели, ФЧ – на 175% у стерляди и 172% у форели.

**Таблица 2.** Характеристика основных пробиотических препаратов, разработанных НАН Беларуси

Препарат	Пробиотические бактерии в составе препарата	Происхождение пробиотических бактерий	Область применения препарата
Энатин	<i>Bacillus pumilus</i> БИМ В-263 Д	Филлоплан виноградной лозы	Профилактическая дезинфекция животноводческих помещений
Бацинил/Бацинил-К	<i>Bacillus subtilis</i> БИМ В-454 Д	Стоки животноводческого комплекса	Коррекция микробоценоза ЖКТ и стимуляция иммунной системы при заболеваниях КРС, свиней и птицы
Эмилиин	<i>Bacillus subtilis</i> БИМ В-844 Д	Подстилка птичника кур-бройлеров	Профилактика и лечение бактериальных болезней рыб семейства карповых
	<i>Bacillus subtilis</i> БИМ В-845 Д	Рубец домашней козы	
Бакто-хелс	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> БИМ В-1125 Д	Речной ил	Профилактика и лечение бактериальных болезней ценных видов рыб
Споробакт/Споробакт-К	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> БИМ В-497 Д	Стоки животноводческого комплекса	Повышение биологической доступности кормов, стимуляция иммунитета и коррекция микробоценоза ЖКТ КРС, свиней, птицы
	<i>Bacillus subtilis</i> БИМ В-713 Д	Подстилка птичника кур-бройлеров	
Билавет/Билавет-С	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> БИМ В-375 Д	Селекция по протеолитической активности	Профилактика и лечение желудочно-кишечных заболеваний, нормализация микробоценоза, активация обменных процессов, повышение продуктивности и иммунобиологического статуса организма сельскохозяйственных млекопитающих и птиц
	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> БИМ В-456 Д	Индукцированный мутагенез для повышения уровня продукции бактериоцинов	
	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> БИМ В-492 Д	Силос	
Румибакт	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> БИМ В-1326 Д	Селекция по признакам скорости роста и антагонистической активности	Нормализация рубцового пищеварения у жвачных животных, увеличение перевариваемости сырой клетчатки, повышение молочной продуктивности и качества молока у КРС, снижение риска возникновения ацидозов
	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> БИМ В-1327 Д		
Проксиферон	<i>Bacillus subtilis</i> БИМ В-454 Д; <i>Pantoea agglomerans</i> 1 Ecertz; <i>E. coli</i> BL 21	Стоки животноводческого комплекса	Повышение продуктивности и гуморального иммунитета у птиц
Синвет	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ; <i>Lactobacillus plantarum</i> ; <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermani</i>	Селекция по протеолитической активности	Для комплексной терапии, профилактики и лечения кишечных инфекций, нормализации микробоценоза ЖКТ после антибиотикотерапии, при нарушениях процесса пищеварения, для коррекции и профилактики иммунных нарушений у сельскохозяйственных животных

Значительную часть инфекционной патологии животных составляют заболевания вирусной и вирусно-бактериальной этиологии. Вирусные инфекции, как правило, осложняются бактериальными, и наоборот. Отсутствие среди разработанных пробиотиков высокоэффективных средств с выраженной противовирусной активностью инициировало создание нового комплексного препарата Проксиферон® иммуномодулирующего, антибактериального и противовирусного действия, основу которого составляют бактерии *B. subtilis* БИМ В-454 Д с высокой антагонистической и ферментативной активностями, *Pantoea agglomerans* 1 Ecartz, синтезирующие пигменты каротиноидного ряда, и белок куриного лейкоцитарного альфа-интерферона, синтезируемый *E. coli* BL 21. Использование Проксиферона положительно влияет на продуктивность и гуморальный иммунитет подопытных цыплят и кур-несушек. Отмечено повышение БАСК подопытных птиц на 9,4%, что свидетельствует об усилении гуморального звена неспецифического иммунитета (Sverchkova et al., 2015).

Использование пробиотиков рода *Bacillus* с ферментативной и антагонистической активностями позволяет создать эффективные пробиотические добавки для кормопроизводства. На основе штаммов *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-497 Д и *Bacillus subtilis* БИМ В-713 Д с взаимодополняющими свойствами разработаны пробиотические кормовые добавки Споробакт® и Споробакт®-К в сухой форме для повышения биологической доступности кормов, коррекции микробоценоза ЖКТ птицы, свиней, молодняка КРС. Пробиотики обладают антимикробной и ферментативной (протеолитической, целлюлолитической, ксиланазной) активностями, способствуют повышению качества и усваиваемости кормов, снижению их обсемененности патогенными и условно-патогенными микроорганизмами.

В Институте микробиологии НАН Беларуси разработаны и коммерциализированы пробиотические препараты и кормовые добавки для КРС, свиней, птицы на основе молочнокислых бактерий и бифидобактерий. Биопрепараты Билавет® и Билавет®-С, содержащие живые клетки и биологически активные метаболиты бактерий родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, предназначены для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний, нормализации микробоценоза, активации обменных процессов, повышения продуктивности и иммунобиологического статуса организма сельскохозяйственных млекопитающих и птиц.

Синбиотик Синвет® используется для комплексной терапии, профилактики и лечения кишечных инфекций, нормализации микробоценоза ЖКТ после антибиотикотерапии, при нарушениях процесса пищеварения, для коррекции и

профилактики иммунных нарушений у сельскохозяйственных млекопитающих и птиц.

Кормовая добавка Румибакт® на основе пропионовокислых бактерий рекомендована для нормализации рубцового пищеварения у жвачных животных, увеличения перевариваемости сырой клетчатки, повышения молочной продуктивности и качества молока у КРС, для снижения риска возникновения ацидозов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Препараты пробиотиков на основе активных штаммов молочнокислых бактерий, лакто- и бифидобактерий (Bottacini et al., 2012; Salvador et al., 2021), а также рода *Bacillus*, широко используются в агропромышленном комплексе, включая животноводство, рыбоводство и пчеловодство (Lee et al., 2008; Hmood et al., 2019). Основными источниками биологически активных штаммов для разработки препаратов пробиотиков служат кишечники самих организмов. Появление новых технологий поиска, анализа и форм использования новых штаммов пробиотиков и их продуктов заставляет переосмыслить использование пробиотиков по принципу “где родился, там и пригодился”. В данном обзоре мы осветили существующую литературу, посвященную составу комменсальных обитателей кишечника различных животных от пчел до млекопитающих, в аспекте их потенциального использования для лечения и профилактики различных заболеваний человека и животных. Штаммы бактерий из микробиома кишечника человека и животных с антимикробными, антиоксидантными, иммуномодулирующими и противовоспалительными свойствами могут быть использованы как источники ингредиентов для создания пробиотиков и постбиотиков в медицине и ветеринарии. Реальные успехи наших коллег из Института микробиологии НАН Беларуси по разработке и внедрению препаратов пробиотиков дают уверенность в том, что, объединив усилия генетиков России (Курчатовский центр и ИОГен РАН), мы также сможем быстро создать и эффективно применять препараты фармабиотиков (Danilenko et al., 2021). Использование пробиотиков и постбиотиков позволит унифицировать их применение как в правовом поле, так и в практическом плане. Исследования, представленные в данном обзоре, показывают, что микробиом животных является перспективным источником новых лекарственных препаратов и биологически активных ингредиентов с иммуномодулирующей, нейромодулирующей и антиоксидантной активностями.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят Ушакову Нину Александровну за ценные советы по улучшению качества статьи.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием людей или животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Коломиец Э.И. Вклад микробиологической науки в развитие агротехнологий // Наука инновац. 2016. № 6 (160). С. 23–25.
- Ушакова Н.А., Некрасов Р.В., Правдин В.Г. и др. Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения // Фундам. исслед. 2012. № 1. С. 184–192.
- Audisio M.C., Torres M.J., Sabaté D.C. et al. Properties of different lactic acid bacteria isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut // Microbiol. Res. 2011. V. 166. № 1. P. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2010.01.003>
- Audisio M.C., Albarracín L., Torres M.J. et al. Draft genome sequences of *Lactobacillus salivarius* A3iob and *Lactobacillus johnsonii* CRL1647, novel potential probiotic strains for honeybees (*Apis mellifera* L.) // Microbiol. Res. Ann. 2018. V. 7. № 6. P. e00975-18. <https://doi.org/10.1128/MRA.00975-18>
- Averina O.V., Kovtun A.S., Polyakova S.I. et al. The bacterial neurometabolic signature of the gut microbiota of young children with autism spectrum disorders // J. Med. Microbiol. 2020. V. 69. № 4. P. 558–571. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001178>
- Averina O.V., Poluektova E.U., Marsova M.V., Danilenko V.N. Biomarkers and utility of the antioxidant potential of probiotic *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* as representatives of the human gut microbiota // Biomedicines. 2021. V. 9. № 10. P. 1340. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101340>
- Bahl M.I., Hammer A.S., Clausen T. et al. The gastrointestinal tract of farmed mink (*Neovison vison*) maintains a diverse mucosa-associated microbiota following a 3-day fasting period // MicrobiologyOpen. 2017. V. 6. № 3. P. e00434. <https://doi.org/10.1002/mb03.434>
- Bahl M.I., Honore A.L., Skonager S.T. et al. The microbiota of farmed mink (*Neovison vison*) follows a successional development and is affected by early life antibiotic exposure // Sci. Rep. 2020. V. 10. № 1. P. 20434. <https://doi.org/10.1038/S41598-020-77417-Z>
- Baldwin R.L., Connor E.E. Rumen function and development // Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 2017. V. 33. № 3. P. 427–439. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2017.06.001>
- Baranova M.N., Kudzhaev A.M., Mokrushina Y.A. et al. Deep functional profiling of wild animal microbiomes reveals probiotic *Bacillus pumilus* strains with a common biosynthetic fingerprint // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. № 3. P. 1168. <https://doi.org/10.3390/ijms23031168>
- Bennett A.M., Sääksjärvi I.E., Broad G.R. Revision of the new world species of *Erythrodiolus* (Hymenoptera: Ichneumonidae: Sisyrostolinae), with a key to the world species // Zootaxa. 2013. V. 3702. № 5. P. 425–436. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3702.5.2>
- Berreta A., Kopper J.J., Alexander T.L. et al. Effect of an *in vitro* proximal gastrointestinal tract on viability of commercially available equine probiotics // J. Equine Vet. Sci. 2021. V. 104. P. 103671. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103671>
- Bottacini F., Milani C., Turrone F. et al. *Bifidobacterium asteroides* PRL2011 genome analysis reveals clues for colonization of the insect gut // PLoS One. 2012. V. 7. № 9. P. e44229. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044229>
- Bradley K.C., Finsterbusch K., Schnepf D. et al. Microbiota-driven tonic interferon signals in lung stromal cells protect from influenza virus infection // Cell Rep. 2019. V. 28. № 1. P. 245–256.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.05.105>
- Butler E., Alsterfjord M., Olofsson T.C. et al. Proteins of novel lactic acid bacteria from *Apis mellifera mellifera*: an insight into the production of known extra-cellular proteins during microbial stress // BMC Microbiol. 2013. V. 13. P. 235. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-235>
- Caimari A., Del Bas J.M., Boqué N. et al. Heat-killed *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* CECT 8145 increases lean mass and ameliorates metabolic syndrome in cafeteria-fed obese rats // J. Func. Foods. 2017. V. 38. P. 251–263. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.029>
- Chandran H.C., Keerthi T.R. Probiotic potency of *Lactobacillus plantarum* KX519413 and KX519414 isolated from honey bee gut // FEMS Microbiol. Lett. 2018. V. 365. № 4. Art. 285. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx285>
- Danilenko V.N., Devyatkin A.V., Marsova M.V. et al. Common inflammatory mechanisms in COVID-19 and Parkinson's diseases: the role of microbiome, pharmaceuticals and postbiotics in their prevention // J. Inflamm. Res. 2021. V. 14. P. 6349–6381. <https://doi.org/10.2147/JIR.S333887>
- De Bruijn I., Liu Y., Wiegertjes G.F., Raaijmakers J.M. Exploring fish microbial communities to mitigate emerging diseases in aquaculture // FEMS Microbiol. Ecol. 2018. V. 94. № 1. P. fix161. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix161>
- Deusch S., Camarinha-Silva A., Conrad J. et al. A structural and functional elucidation of the rumen microbiome influenced by various diets and microenvironments // Front. Microbiol. 2017. V. 8. P. 1605. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01605>
- Elzeini H.M., Ali A., Nasr N.F. et al. Probiotic capability of novel lactic acid bacteria isolated from worker honey bees gut microbiota // FEMS Microbiol. Lett. 2021. V. 368. № 6. Art. fnab030. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnab030>
- Filannino P., Di Cagno R., Addante R. et al. Metabolism of fructophilic lactic acid bacteria isolated from the *Apis*

- mellifera* L. bee gut: phenolic acids as external electron acceptors // Appl. Environ. Microbiol. 2016. V. 82. № 23. P. 6899–6911.  
https://doi.org/10.1128/AEM.02194-16
- Flint H.J., Bayer E.A., Rincon M.T. et al. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis // Nat. Rev. Microbiol. 2008. V. 6. № 2. P. 121–131.  
https://doi.org/10.1038/nrmicro1817
- Foxman B., Goldberg D., Murdock C. et al. Conceptualizing human microbiota: from multicelled organ to ecological community // Interdiscip. Perspect. Infect. Dis. 2008. V. 2008. Art. 613979.  
https://doi.org/10.1155/2008/613979
- Fu X., Li Y.L., Meng Y. et al. Associations between respiratory infections and bacterial microbiome in student dormitories in Northern China // Indoor Air. 2020. V. 30. № 5. P. 816–826.  
https://doi.org/10.1111/ina.12677
- Funosas G., Triadó-Margarit X., Castro F. et al. Individual fate and gut microbiome composition in the European wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) // Sci. Rep. 2021. V. 11. № 1. P. 766.  
https://doi.org/10.1038/s41598-020-80782-4
- Ghanbari M., Kneifel W., Domig K.J. A new view of the fish gut microbiome: advances from next-generation sequencing // Aquaculture. 2015. V. 448. P. 464–475.  
https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.033
- Givens C.E., Ransom B., Bano N., Hollibaugh J.T. Comparison of the gut microbiomes of 12 bony fish and 3 shark species // Marine Ecol. Progr. Seri. 2015. V. 518. P. 209–223.  
https://doi.org/10.3354/meps11034
- Grilli D.J., Fliegerová K., Kopečný J. et al. Analysis of the rumen bacterial diversity of goats during shift from forage to concentrate diet // Anaerobe. 2016. V. 42. P. 17–26.  
https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.07.002
- Grond K., Sandercock B.K., Jumpponen A. et al. The avian gut microbiota: community, physiology and function in wild birds // J. Avian Biol. 2018. V. 49. № 11. P. e01788.  
https://doi.org/10.1111/jav.01788
- Gugołek A., Zalewski D., Strychalski J., Konstantynowicz M. Food transit time, nutrient digestibility and nitrogen retention in farmed and feral American mink (*Neovison vison*) – a comparative analysis // J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 2013. V. 97. № 6. P. 1030–1035.  
https://doi.org/10.1111/jpn.12006
- Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria – Joint FAO/WHO expert consultation. American Córdoba Park Hotel's scientific contributions // Prevention. 2001. V. 5. № 1. P. 1–10.
- Hmood K.A., Habeeb A.H., Al-Mhanna K.I. Antioxidant role of *Lactobacillus* sp. isolated from honey bee against histological effects of ochratoxin *in vivo* // Al-Kufa Univ. J. Biol. 2019. V. 11. № 2. P. 67–80.
- Horst E.A., Kvidera S.K., Baumgard L.H. Invited review: the influence of immune activation on transition cow health and performance – a critical evaluation of traditional dogmas // J. Dairy Sci. 2021. V. 104. № 8. P. 8380–8410.  
https://doi.org/10.3168/jds.2021-20330
- Husso A., Jalanka J., Alipour M.J. et al. The composition of the perinatal intestinal microbiota in horse // Sci. Rep. 2020. V. 10. № 1. P. 441.  
https://doi.org/10.1038/s41598-019-57003-8
- Ilyasov R.A., Gaifullina L.R., Saltykova E.S. et al. Review of the expression of antimicrobial peptide defensin in honey bees *Apis mellifera* L. // J. Apicult. Sci. 2012. V. 56. № 1. P. 115–124.  
https://doi.org/10.2478/v10289-012-0013-y
- Iorizzo M., Testa B., Ganassi S. et al. Probiotic properties and potentiality of *Lactiplantibacillus plantarum* strains for the biological control of chalkbrood disease // J. Fungi (Basel). 2021. V. 7. № 5. P. 379.  
https://doi.org/10.3390/jof7050379
- Iorizzo M., Albanese G., Letizia F. et al. Probiotic potentiality from versatile *Lactiplantibacillus plantarum* strains as resource to enhance freshwater fish health // Microorganisms. 2022. V. 10. № 2. P. 463.  
https://doi.org/10.3390/microorganisms10020463
- Jang H.J., Jung J., Yu H.S. et al. Evaluation of the quality of yogurt using ginseng extract powder and probiotic *Lactobacillus plantarum* NK181 // Korean J. Food Sci. Anim. Resour. 2018. V. 38. № 6. P. 1160–1167.  
https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.e47
- Jensen V.F., Sommer H.M., Struve T. et al. A cross-sectional field study on potential associations between feed quality measures and usage of antimicrobials in commercial mink (*Neovison vison*) // Prev. Vet. Med. 2017. V. 143. P. 54–60.  
https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.04.012
- Ji K., Cho Y.S., Kim Y.T. Tyrosinase inhibitory and anti-oxidative effects of lactic acid bacteria isolated from dairy cow feces // Prob. Antimicrob. Prot. 2018. V. 10. № 1. P. 43–55.  
https://doi.org/10.1007/s12602-017-9274-x
- Jones K., Cunha F., Jeon S.J. et al. Tracing the source and route of uterine colonization by exploring the genetic relationship of *Escherichia coli* isolated from the reproductive and gastrointestinal tract of dairy cows // Vet. Microbiol. 2022. V. 266. P. 109355.  
https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2022.109355
- Kačániová M., Gasper J., Terentjeva M. et al. Antibacterial activity of bees gut *Lactobacilli* against *Paenibacillus larvae in vitro* // Adv. Res. Life Sci. 2018. V. 2. № 1. P. 7–10.  
https://doi.org/10.1515/arls-2018-0020
- Kachouri F., Ksontini H., Kraiem M. et al. Involvement of antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* on functional properties of olive phenolic compounds // J. Food Sci. Technol. 2015. V. 52. № 12. P. 7924–7933.  
https://doi.org/10.1007/s13197-015-1912-2
- Keerthi T.R., Anjali A.J., Chandran H.C. Honey bee gut flora as a source of LAB (lactic acid bacteria) with probiotic capabilities // J. Food Technol. Photon. 2013. V. 105. P. 126–134.
- Kekkonen R.A., Lummela N., Karjalainen H. et al. Probiotic intervention has strain-specific anti-inflammatory effects in healthy adults // World J. Gastroenterol. 2008.

- V. 14. № 13. P. 2029–2036.  
<https://doi.org/10.3748/wjg.14.2029>
- Kenfack H.M.C., Zambou F., Kakteham M.P. et al.* Safety and antioxidant properties of five probiotic *Lactobacillus plantarum* strains isolated from the digestive tract of honey bees // *Am. J. Microbiol. Res.* 2018. V. 6. № 1. P. 1–8.  
<https://doi.org/10.12691/ajmr-6-1-1>
- Killer J., Dubná S., Sedláček I., Švec P.* *Lactobacillus apis* sp. nov., from the stomach of honeybees (*Apis mellifera*), having an *in vitro* inhibitory effect on the causative agents of American and European foulbrood // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2014. V. 64. Pt 1. P. 152–157.  
<https://doi.org/10.1099/ij.s.0.053033-0>
- Kim K.T., Kim J.W., Kim S.I., Kim S.* Antioxidant and anti-inflammatory effect and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from canine and feline feces // *Microorganisms.* 2021. V. 9. № 9. P. 1971.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9091971>
- Kobyliak N., Falalyeyeva T., Tsyryuk O. et al.* New insights on strain-specific impacts of probiotics on insulin resistance: evidence from animal study // *J. Diab. Metab. Disord.* 2020. V. 19. № 1. P. 289–296.  
<https://doi.org/10.1007/s40200-020-00506-3>
- Kohl K.D., Amaya J., Passemont C.A. et al.* Unique and shared responses of the gut microbiota to prolonged fasting: a comparative study across five classes of vertebrate hosts // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2014. V. 90. № 3. P. 883–894.  
<https://doi.org/10.1111/1574-6941.12442>
- Kuda T., Kawahara M., Nemoto M. et al.* *In vitro* antioxidant and anti-inflammation properties of lactic acid bacteria isolated from fish intestines and fermented fish from the Sanriku Satoumi region in Japan // *Food Res. Int.* 2014. V. 64. P. 248–255.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.028>
- Kwong W.K., Moran N.A.* Cultivation and characterization of the gut symbionts of honey bees and bumble bees: description of *Snodgrassella alvi* gen. nov., sp. nov., a member of the family Neisseriaceae of the betaproteobacteria, and *Gilliamella apicola* gen. nov., sp. nov., a member of Orbaceae fam. nov., Orbales ord. nov., a sister taxon to the order “Enterobacteriales” of the Gammaproteobacteria // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2013. V. 63. Pt 6. P. 2008–2018.  
<https://doi.org/10.1099/ij.s.0.044875-0>
- Kwong W.K., Moran N.A.* Gut microbial communities of social bees // *Nat. Rev. Microbiol.* 2016. V. 14. № 6. P. 374–384.  
<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.43>
- Lauková A., Kandričáková A., Ščerbová J.* Use of bacteriocin-producing, probiotic strain *Enterococcus faecium* AL41 to control intestinal microbiota in farm ostriches // *Let. Appl. Microbiol.* 2015. V. 60. № 6. P. 531–535.  
<https://doi.org/10.1111/lam.12409>
- Lee N.K., Yun C.W., Kim S.W. et al.* Screening of lactobacilli derived from chicken feces and partial characterization of *Lactobacillus acidophilus* A12 as animal probiotics // *J. Microbiol. Biotechnol.* 2008. V. 18. № 2. P. 338–342.
- Ley R.E., Lozupone C.A., Hamady M. et al.* Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota // *Nat. Rev. Microbiol.* 2008. V. 6. № 10. P. 776–788.  
<https://doi.org/10.1038/nrmicro1978>
- Li X., Yu Y., Feng W. et al.* Host species as a strong determinant of the intestinal microbiota of fish larvae // *J. Microbiol.* 2012. V. 50. № 1. P. 29–37.  
<https://doi.org/10.1007/s12275-012-1340-1>
- Li M., Huang J.T., Tan Y. et al.* Shift work and risk of stroke: a meta-analysis // *Int. J. Cardiol.* 2016. V. 214. P. 370–373.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.03.052>
- Li J., Zhong H., Ramayo-Caldas Y. et al.* A catalog of microbial genes from the bovine rumen unveils a specialized and diverse biomass-degrading environment // *Giga-science.* 2020. V. 9. № 6. P. g1aa057.  
<https://doi.org/10.1093/gigascience/g1aa057>
- Liu H., Guo X., Gooneratne R. et al.* The gut microbiome and degradation enzyme activity of wild freshwater fishes influenced by their trophic levels // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 24340.  
<https://doi.org/10.1038/srep24340>
- Lowrey L., Woodhams D.C., Tacchi L., Salinas I.* Topographical mapping of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) microbiome reveals a diverse bacterial community with antifungal properties in the skin // *Appl. Environ. Microbiol.* 2015. V. 81. № 19. P. 6915–6925.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.01826-15>
- Marin I.A., Goertz J.E., Ren T. et al.* Microbiota alteration is associated with the development of stress-induced despair behavior // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 43859.  
<https://doi.org/10.1038/srep43859>
- Marsova M., Abilev S., Poluektova E., Danilenko V.* A bioluminescent test system reveals valuable antioxidant properties of *Lactobacillus* strains from human microbiota // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2018. V. 34. № 2. P. 27.  
<https://doi.org/10.1007/s11274-018-2410-2>
- Marsova M., Poluektova E., Odorskaya M. et al.* Protective effects of *Lactobacillus fermentum* U-21 against paraquat-induced oxidative stress in *Caenorhabditis elegans* and mouse models // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2020. V. 36. № 7. P. 104.  
<https://doi.org/10.1007/s11274-020-02879-2>
- Mathewos M., Girma D., Fesseha H. et al.* Prevalence of gastrointestinal helminthiasis in horses and donkeys of Hawassa District, Southern Ethiopia // *Vet. Med. Int.* 2021. V. 2021. P. 6686688.  
<https://doi.org/10.1155/2021/6686688>
- Matsui H., Kato Y., Chikaraishi T. et al.* Microbial diversity in ostrich ceca as revealed by 16S ribosomal RNA gene clone library and detection of novel *Fibrobacter* species // *Aerobe.* 2010. V. 16. № 2. P. 83–93.
- McFarland L.V., Evans C.T., Goldstein E.J.C.* Strain-specificity and disease-specificity of probiotic efficacy: a systematic review and meta-analysis // *Front. Med.* 2018. V. 5. P. 124.  
<https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00124>
- McFarland L.V., Karakan T., Karatas A.* Strain-specific and outcome-specific efficacy of probiotics for the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review

- and meta-analysis // *EClinicalMedicine*. 2021. V. 41. P. 101154.
- Middelbos I.S., Boler B.M.V., Qu A. et al. Phylogenetic characterization of fecal microbial communities of dogs fed diets with or without supplemental dietary fiber using 454 pyrosequencing // *PLoS One*. 2010. V. 5. № 3. P. e9768. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009768>
- Mizrahi I., Jami E. Review: the compositional variation of the rumen microbiome and its effect on host performance and methane emission // *Animal*. 2018. V. 12. № s2. P. s220–s232. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001957>
- Montalban-Arques A., De Schryver P., Bossier P. et al. Selective manipulation of the gut microbiota improves immune status in vertebrates // *Front. Immunol*. 2015. V. 6. P. 512. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00512>
- Niade N., Salaki C., Rumokoy L., Tallei T. Lactic acid bacteria from honey bees digestive tract and their potential as probiotics / *Int. Conf., 10th Congr. Entomol. Soc. of Indonesia* // *Adv. Biol. Sci. Res. Indonesia: Atlantis Press SARL.*, 2020. P. 236–241. ISBN: 978-94-6252-967-0
- Nizza S., Rando F., Fiorito F. et al. Fecal microbiota and antibiotic resistance in ferrets (*Mustela putorius furo*) from two captive breeding facilities in Italy // *Res. Vet. Sci*. 2014. V. 96. № 3. P. 426–428. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.03.015>
- Noureen S., Riaz A., Saif A. et al. Antioxidant properties of *Lactobacillus brevis* of horse origin and commercial lactic acid bacterial strains: a comparison // *Pakistan Veterin. J*. 2018. V. 38. № 3. P. 306–310. <https://doi.org/10.29261/pakvetj/2018.067>
- Nowak A., Szczuka D., Górczyńska A. et al. Characterization of *Apis mellifera* gastrointestinal microbiota and lactic acid bacteria for honeybee protection – a review // *Cells*. 2021. V. 10. № 3. P. 701. <https://doi.org/10.3390/cells10030701>
- Pallin A. *Lactobacilli in the gastrointestinal tract of dog and wolf – isolation, identification and characterization of L. reuteri*. Uppsala, Sweden: Swed. Univ. Agricult. Sci., Depart. Microbiol., 2012. 46 p. ISSN: 1101-8151.
- Parichehreh S., Tahmasbi G., Sarafrazi A. et al. Isolation and identification of *Lactobacillus* bacteria found in the gastrointestinal tract of the dwarf honey bee, *Apis florea* Fabricius, 1973 (Hymenoptera: Apidae) // *Apidologie*. 2018. V. 49. № 3. P. 430–438. <https://doi.org/10.1007/s13592-018-0569-z>
- Patterson E., Cryan J.F., Fitzgerald G.F. et al. Gut microbiota, the pharmabiotics they produce and host health // *Proc. Nutr. Soc*. 2014. V. 73. № 4. P. 477–489. <https://doi.org/10.1017/S0029665114001426>
- Plaza-Diaz J., Ruiz-Ojeda F.J., Gil-Campos M., Gil A. Mechanisms of action of probiotics // *Adv. Nutr*. 2019. V. 10. Suppl. 1. P. S49–S66. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy063>
- Poluektova E., Yunes R., Danilenko V. The putative antidepressant mechanisms of probiotic bacteria: relevant genes and proteins // *Nutrients*. 2021. V. 13. № 5. P. 1591. <https://doi.org/10.3390/Nu13051591>
- Radcliffe R.M., Hill J.A., Liu S.Y. et al. Abdominocentesis techniques in horses // *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio)*. 2022. V. 32. № S1. P. 72–80. <https://doi.org/10.1111/vec.13118>
- Rajilić-Stojanović M., de Vos W.M. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota // *FEMS Microbiol. Rev*. 2014. V. 38. № 5. P. 996–1047. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12075>
- Rajoka M.S.R., Mehwish H.M., Hayat H.F. et al. Characterization, the antioxidant and antimicrobial activity of exopolysaccharide isolated from poultry origin *Lactobacilli* // *Prob. Antimicrob. Prot*. 2019. V. 11. № 4. P. 1132–1142. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9494-8>
- Raveschot C., Cudennec B., Coutte F. et al. Production of bioactive peptides by *Lactobacillus* species: from gene to application // *Front. Microbiol*. 2018. V. 9. P. 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>
- Rocha-Ramírez L.M., Hernández-Ochoa B., Gómez-Manzo S. et al. Impact of heat-killed *Lactobacillus casei* strain IMAU60214 on the immune function of macrophages in malnourished children // *Nutrients*. 2020. V. 12. № 8. P. 2303. <https://doi.org/10.3390/nu12082303>
- Romero R., Hassan S.S., Gajer P. et al. The vaginal microbiota of pregnant women who subsequently have spontaneous preterm labor and delivery and those with a normal delivery at term // *Microbiome*. 2014. V. 2. P. 18. <https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-18>
- Romero S., Nastasa A., Chapman A. et al. The honey bee gut microbiota: strategies for study and characterization // *Insect. Mol. Biol*. 2019. V. 28. № 4. P. 455–472. <https://doi.org/10.1111/imb.12567>
- Rychlik I. Composition and function of chicken gut microbiota // *Animals (Basel)*. 2020. V. 10. № 1. P. 103. <https://doi.org/10.3390/ani10010103>
- Salinas I. The mucosal immune system of teleost fish // *Biology*. 2015. V. 4. № 3. P. 525–539. <https://doi.org/10.3390/biology4030525>
- Salman S.M., Saleh G. Fructophilic lactic acid bacteria symbionts in honeybees – a key role to antimicrobial activities // *J. Pharm. Biol. Sci*. 2018. V. 13. № 1. P. 58–62. <https://doi.org/10.9790/3008-1301055862>
- Salminen S., Collado M.C., Endo A. et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol*. 2021. V. 18. № 9. P. 649–667. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>
- Salvador P.B.U., Dalmacio L.M.M., Kim S.H. et al. Immunomodulatory potential of four candidate probiotic *Lactobacillus* strains from plant and animal origin using comparative genomic analysis // *Access microbiol*. 2021. V. 3. № 12. P. 1–9. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000299>
- Salvetti E., O’Toole P.W. When regulation challenges innovation: the case of the genus *Lactobacillus* // *Tr. Food Sci. Technol*. 2017. V. 66. P. 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.009>

- Sandi N.A., Salasia S.I.O.* Alternative antibiotics source from symbiont of lactic acid bacteria inside stomach of honeybees (*Apis mellifera* and *Apis dorsata*) against multiresistant antibiotics pathogenic bacteria // Res. J. Microbiol. 2016. V. 11. P. 93–100.  
https://doi.org/10.3923/jm.2016.93.100
- Santos A.S., Rodrigues M.A., Bessa R.J. et al.* Understanding the equine cecum-colon ecosystem: current knowledge and future perspectives // Animal. 2011. V. 5. № 1. P. 48–56.  
https://doi.org/10.1017/S1751731110001588
- Shanahan F., Collins S.M.* Pharmabiotic manipulation of the microbiota in gastrointestinal disorders, from rationale to reality // Gastroenterol. Clin. North Am. 2010. V. 39. № 3. P. 721–726.  
https://doi.org/10.1016/j.gtc.2010.08.006
- Siddiqee M.H., Sarker H., Shurovi K.M.* Assessment of probiotic application of lactic acid bacteria (LAB) isolated from different food items // Stamford J. Microbiol. 2013. V. 2. № 1. P. 10–14.  
https://doi.org/10.3329/sjm.v2i1.15206
- Sleator R.D., Hill C.* Engineered pharmabiotics with improved therapeutic potential // Hum. Vaccin. 2008. V. 4. № 4. P. 271–274.  
https://doi.org/10.4161/hv.4.4.6315
- Sleator R.D., Hill C.* Rational design of improved pharmabiotics // J. Biomed. Biotechnol. 2009. V. 2009. P. 275287.  
https://doi.org/10.1155/2009/275287
- Sullam K.E., Essinger S.D., Lozupone C.A. et al.* Environmental and ecological factors that shape the gut bacterial communities of fish: a meta-analysis // Mol. Ecol. 2012. V. 21. № 13. P. 3363–3378.  
https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05552.x
- Sverchkova N.V., Kolosovskaya M.S., Romanovskaya T.V. et al.* New probiotic product for prevention and treatment of enteritis and respiratory diseases of farm stock // Biochemistry and biotechnology: research and development / Eds S.D. Varfolomeev, G.E. Zaikov, L.P. Krylova. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc., 2012. Ch. 12. P. 105–112.
- Sverchkova N.V., Zaslavskaya N.S., Romanovskaya T.V. et al.* Technology of manufacturing and application of a new probiotic preparation for forage production // J. Nat. Sci. Sustain. Technol. 2015. V. 9. № 1. P. 1–11.
- Sverchkova N.V., Romanovskaya T.V., Zhuk G.V. et al.* Probiotic preparation for commercial pisciculture // Adv. Med. Biol. 2016. V. 101. P. 149–163.
- Tajabadi N., Mardan M., Manap Y.M.A. et al.* Detection and identification of *Lactobacillus* bacteria found in the honey stomach of the giant honeybee *Apis dorsata* // Apidologie. 2011. V. 42. № 5. P. 642–649.  
https://doi.org/10.1007/s13592-011-0069-x
- Teame T., Wang A., Xie M. et al.* Paraprobiotics and postbiotics of probiotic *Lactobacilli*, their positive effects on the host and action mechanisms: a review // Front. Nutr. 2020. V. 7. P. 570344.  
https://doi.org/10.3389/fnut.2020.570344
- Tong F., Wang T., Gao N.L. et al.* The microbiome of the buffalo digestive tract // Nat. Commun. 2022. V. 13. № 1. P. 823.  
https://doi.org/10.1038/s41467-022-28402-9
- Tran N.T., Wang G.T., Wu S.G.* A review of intestinal microbes in grass carp *Ctenopharyngodon idellus* (Valenciennes) // Aquacult. Res. 2017. V. 48. Iss. 7. P. 3287–3297.  
https://doi.org/10.1111/are.13367
- Tun H.M., Brar M.S., Khin N. et al.* Gene-centric metagenomics analysis of feline intestinal microbiome using 454 junior pyrosequencing // J. Microbiol. Methods. 2012. V. 88. № 3. P. 369–376.  
https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.01.001
- Tyagi A., Singh B., Billekallu Thammegowda N.K., Singh N.K.* Shotgun metagenomics offers novel insights into taxonomic compositions, metabolic pathways and antibiotic resistance genes in fish gut microbiome // Arch. Microbiol. 2019. V. 201. № 3. P. 295–303.  
https://doi.org/10.1007/s00203-018-1615-y
- Vásquez A., Forsgren E., Fries I. et al.* Symbionts as major modulators of insect health: lactic acid bacteria and honeybees // PLoS One. 2012. V. 7. № 3. P. e33188.  
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033188
- Wang A.R., Ran C., Ringø E., Zhou Z.G.* Progress in fish gastrointestinal microbiota research // Rev. Aquacult. 2018. V. 10. P. 626–640.  
https://doi.org/10.1111/raq.12191
- Wang J., Ishfaq M., Guo Y. et al.* Assessment of probiotic properties of *Lactobacillus salivarius* isolated from chickens as feed additives // Front. Vet. Sci. 2020. V. 7. P. 415.  
https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00415
- White B.A., Lamed R., Bayer E.A., Flint H.J.* Biomass utilization by gut microbiomes // Annu. Rev. Microbiol. 2014. V. 68. P. 279–296.  
https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155618
- Wu C.H., Hsueh Y.H., Kuo J.M., Liu S.-J.* Characterization of a potential probiotic *Lactobacillus brevis* RK03 and efficient production of gamma-aminobutyric acid in batch fermentation // Int. J. Mol. Sci. 2018. V. 19. № 1. P. 143.  
https://doi.org/10.3390/ijms19010143
- Yadav V., Varum F., Bravo R. et al.* Inflammatory bowel disease: exploring gut pathophysiology for novel therapeutic targets // Transl. Res. 2016. V. 176. P. 38–68.  
https://doi.org/10.1016/j.trsl.2016.04.009
- Yunes R.A., Poluektova E.U., Dyachkova M.S. et al.* GABA production and structure of gadB/gadC genes in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from human microbiota // Anaerobe. 2016. V. 42. P. 197–204.  
https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.10.011
- Yunes R.A., Poluektova E.U., Vasileva E.V. et al.* A multi-strain potential probiotic formulation of GABA-producing *Lactobacillus plantarum* 90sk and *Bifidobacterium adolescentis* 150 with antidepressant effects // Prob. Antimicrob. Prote. 2020. V. 12. № 3. P. 973–979.  
https://doi.org/10.1007/s12602-019-09601-1
- Zhang Z., Lv J., Pan L., Zhang Y.* Roles and applications of probiotic *Lactobacillus* strains // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2018. V. 102. № 19. P. 8135–8143.  
https://doi.org/10.1007/s00253-018-9217-9
- Zhao H., Sun W., Wang Z. et al.* Mink (*Mustela vison*) gut microbial communities from Northeast China and its internal relationship with gender and food additives // Curr. Microbiol. 2017. V. 74. № 10. P. 1169–1177.  
https://doi.org/10.1007/s00284-017-1301-3

## Microbiome of Animals: Search for Biologically Active Ingredients for the Creation of Probiotics and Pharmabiotics

V. N. Danilenko<sup>a, \*</sup>, R. A. Piyasov<sup>a, b</sup>, R. A. Yunes<sup>a</sup>,  
A. S. Yanenko<sup>c</sup>, Yu. E. Kozlovsky<sup>c</sup>, N. V. Sverchkova<sup>d</sup>, and E. I. Kolomiets<sup>d</sup>

<sup>a</sup>*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>b</sup>*Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russia*

<sup>c</sup>*National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, Russia*

<sup>d</sup>*Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

\*e-mail: valerid@vigg.ru

The scientific, technological, and conceptual advances achieved in recent years in the field of studying the human gut microbiome allow them to be quickly and efficiently transferred to the fields of studying the animal microbiome and applications in medicine and veterinary medicine. The microbiomes of all animal species have their own characteristics, but at the same time, they correspond to the general basic principles of the structural organization of bacterial communities. The most striking examples of universal probiotic bacteria are representatives of lactobacilli and bifidobacteria. Comparative genomic and molecular genetic studies of these groups of bacteria, as well as representatives of the *Bacillus* genus, will undoubtedly make a great contribution to understanding their immunomodulatory, neuromodulatory, and antioxidant properties. In recent years, the principles of the use of probiotics have been revised throughout the world, including Russia. There is a transition from the use of probiotics as dietary supplements to their use as pharmabiotics — drugs for the treatment and prevention of specific diseases. The key point in this direction is the use of postbiotics, components of commensal bacteria of various origins. Until recently, it was considered fundamental to use strains of probiotics isolated from the same species for which they are intended. The approach using standardized postbiotics and pharmabiotics has radically changed the situation. Pharmabiotic preparations, like any other drugs, can be created on the basis of postbiotics of any origin. Thus, living, biologically and pharmacologically active bacteria isolated from the microbiomes of various animal species, after evaluating their effectiveness and safety, can become sources of ingredients for the creation of pharmabiotics for both human and veterinary medicine.

*Keywords:* human microbiome, animal microbiome, pharmabiotics, probiotics, postbiotics, metagenomic analysis

УДК 577

## РОЛЬ ВОДОРОДА И МЕТАНА МИКРОБИОМА ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ В ОБЕСПЕЧЕНИИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА

© 2022 г. О. С. Медведев<sup>1, 2, \*</sup><sup>1</sup>Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия<sup>2</sup>Институт экспериментальной кардиологии Национального медицинского исследовательского центра кардиологии МЗ РФ, Москва, Россия

\*e-mail: oleg.omedvedev@gmail.com

Поступила в редакцию 15.05.2022 г.

После доработки 15.05.2022 г.

Принята к публикации 16.05.2022 г.

Описаны современные представления о микробиоме желудочно-кишечного тракта и особенностях его ферментативной активности. Дана информация о типах металл-протеиновых гидрогеназ, необходимых как для продукции, так и для утилизации молекулярного водорода. Гидрогеназы метаногенных архей участвуют только в утилизации свободного водорода. Рассмотрены особенности строения архей и их принципиальные отличия от бактерий микробиоты. В настоящее время доказательства антиоксидантной активности молекулярного водорода провоцируют повышенный интерес к исследованиям и механизмов его действия, и его эффективности при многих патологических состояниях, в патогенезе которых участвует оксидативный стресс. Приведены данные о кинетике образования и утилизации водорода и метана, описаны неинвазивные способы их изучения в эксперименте и клинике. Указывается на перспективность ингибирования метаногенных архей с целью уменьшения отрицательного влияния промышленного животноводства на процессы глобального потепления. Предлагаются подходы для оптимального сочетания экзогенного и эндогенного (из микробиоты) водорода для персонализированной профилактики неинфекционных болезней путем повышения уровня водорода в крови с целью усиления антиоксидантной защиты организма человека.

**Ключевые слова:** кишечный микробиом, водород, гидрогеназы, метаногены, ингибиторы архей, антиоксиданты

DOI: 10.31857/S004213242204007X

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы резко повысился интерес к изучению роли совокупности микроорганизмов толстого кишечника (микробиоты) у животных и человека и их способности к генерации ряда метаболитов, которые способны осуществлять как протективное, так и провоцирующее воздействие при развитии метаболических, сердечно-сосудистых и других неинфекционных заболеваний. Во многом это связано с тем, что, начиная с 2000-х гг., стали широко внедряться метагеномные методы 16S rRNA в фундаментальных и клинических исследованиях. Подтверждением этому является резкое увеличение числа публикаций по результатам изучения микробиома кишечника. Так, поиск публикаций по ключевым словам “gut microbiome” в базе данных PubMed (20.02.2022) обнаруживает менее 90 опубликованных статей в год в период до 2010 г. и более 9 тыс. – в 2020–2021 гг.

Кишечная микрофлора – важный фактор в процессах получения, накопления и траты энер-

гии, извлекаемой из пищи. Ранее было показано, что всасывание жиров, простых углеводов и белков начинается в двенадцатиперстной кишке и в основном заканчивается в подвздошной (DiBaise et al., 2008). Дистальная часть тонкой кишки вовлечена во всасывании желчных кислот и витамина В<sub>12</sub>, тогда как в толстой кишке происходит всасывание воды, электролитов и короткоцепочечных жирных кислот, образующихся за счет микробной ферментации (Krajmalnik-Brown et al., 2012). Суммарно толстая кишка получает только около 15% от всех углеводов пищи и 5–33% белков (Sender et al., 2016).

У новорожденных кишечный тракт содержит мало микроорганизмов, однако он быстро заселяется триллионами ( $10^{13}$ – $10^{14}$ ) непатогенных микроорганизмов, обычно это факультативные анаэробы, потом облигатные анаэробы, включающие *Bifidobacterium*, *Bacteroides* и *Clostridium* (Robertson et al., 2019; Kalantar-Zadeh et al., 2019).

Общее количество микроорганизмов в организме человека превышает общее количество соматических клеток в 1.3–2.3 раза, в зависимости от возраста и состояния организма (Robertson et al., 2019).

Плотность микробных клеток по ходу желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) неоднородна. В желудке она наименьшая и составляет  $10^2$ – $10^3$  бактерий/мл, что, видимо, связано с высокой кислотностью содержимого; в двенадцатиперстной кишке и верхних отделах тонкой кишки эта величина достигает  $10^3$ – $10^6$ /мл, что связывают с относительно высокой скоростью прохождения содержимого; в нижних отделах тонкого кишечника —  $10^7$ – $10^9$ /мл; максимальная концентрация определяется в толстой кишке —  $10^{10}$ – $10^{12}$  микробных клеток/мл (Staley, Konopka, 1985; Mailhe et al., 2018; Robertson et al., 2019).

Микроскопические и культуральные исследования содержимого толстой кишки и фекальных масс, выполненные в 1960–1970-х гг., показали, что большинство обнаруживаемых микроорганизмов относятся к грамположительным — рода *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*. Значительно меньше грамотрицательных бактерий — рода *Bacteroides*, *Fusobacteria*. Тогда же исследователи обратили внимание на то, что количество микроорганизмов, выявляемых микроскопически, было значительно больше, чем при культивировании *in vitro*. Этому факту дали название: великая аномалия подсчетов в чашке (great plate count anomaly) (Vartoukian et al., 2010). Это объясняется тем, что только 1% всех микроорганизмов достаточно легко культивируются *in vitro* (Bilen et al., 2018), и тем, что подавляющее большинство микроорганизмов толстой кишки являются анаэробами.

Традиционно в составе микробиоты кишечника выделяют до 1000 различных микроорганизмов, относящихся к прокариотам. Уже в 2018 г. сообщалось (Bilen et al., 2018) о 2776 видах микроорганизмов у человека. Они входят в состав 11 основных филотипов, главным образом в Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria.

Метагеномные исследования последних лет содержат огромный массив информации, однако ее недостаточно для понимания функциональных, метаболических возможностей отдельных видов микроорганизмов микробиоты. В ряде работ культурально выделены микроорганизмы, которые не были обнаружены методами высокоскоростного секвенирования. Делается заключение, что культуральные методы и секвенирование не являются антагонистическими, а должны сочетаться и дополнять друг друга при характеристике микробиоты человека (Staley, Konopka, 1985; Lagier et al., 2012).

Состав микробиоты зависит от многих факторов: географии проживания, структуры и привы-

чек питания, количества пре- и пробиотиков в диете, частоты и вида использования антибиотиков, возраста (Каштанова и др., 2015; Nishijima et al., 2016; Takakura et al., 2020).

В настоящее время очевидно, что метаболические возможности микробиоты трудно переоценить. Это заключение базируется на том, что каталог генов микробиоты превышает 10 млн генов, тогда как у человека всего около 30 тыс. генов. Это было выяснено при анализе более 1200 образцов микробиоты из фекальных масс жителей Европы, США и Китая (Li et al., 2014). Несмотря на то, что биологическая функция большинства генов микроорганизмов микробиоты остается малоизученной, хорошо известно, что кишечная микробиота оказывает влияние на организм хозяина разными путями: модулирует иммунную защиту (Chung et al., 2012), обеспечивает защиту от ряда патогенов (Pickard et al., 2017), метаболизирует желчные кислоты и ксенобиотики (Spanogiannopoulos et al., 2016; Wahlström et al., 2016), регулирует не только гомеостаз самого кишечника (Reinhardt et al., 2012), но и влияет на функции мозга (Parker et al., 2020; Danilenko et al., 2021).

В литературе последних лет широко обсуждается возможность участия микробиоты кишечника не только в патогенезе заболеваний самого кишечника: болезни Крона, синдрома раздраженного кишечника, диареи и др., но также и в развитии ожирения (Krajmalnik-Brown et al., 2012; Gupta et al., 2020), атеросклероза (Komaroff, 2018), сахарного диабета 2-го типа (Zhao et al., 2018), сердечной недостаточности (Branchereau et al., 2019), артериальной гипертензии (Драпкина, Широких, 2018; Adnan et al., 2017; Wilck et al., 2017).

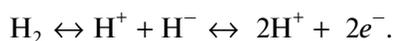
Многие вопросы в изучении микробиоты остаются пока без ответа, что связано с ее сложным составом, функции отдельных компонентов продолжают быть неизвестными. В состав микробиома кишечника входит более 2000 видов бактерий и архей, грибы, вирусы и простейшие. В недавно опубликованной работе (Camarillo-Guerrero et al., 2021) авторы сообщают, что в базу данных по бактериофагам кишечника внесено уже более 140 тыс. индивидуальных вирусов, причем наибольшее разнообразие фагов выявлено в бактериях филотипа Firmicutes.

Метагеномные исследования позволяют обнаружить наличие значительного количества микроорганизмов в составе кишечного микробиома, однако они не позволяют определить функцию, метаболические особенности каждого из обнаруженных микроорганизмов или их групп и сообществ. В связи с этим существенное развитие получили метаболомные исследования — изучение низкомолекулярных метаболитов, продуцируемых микробиотой. К таким метаболитам относятся как газы — водород  $H_2$ , метан  $CH_4$ , серово-

дород  $H_2S$ , аммиак  $NH_3$ , оксид азота  $NO$ , так и низкомолекулярные легколетучие вещества. В последнем обзоре 2021 г. авторы (Drabińska et al., 2021) приводят данные об обнаружении более 2700 подобных веществ в разных биологических средах организма, из которых 1488 могут быть определены в выдыхаемом воздухе.

### ВОДОРОД-ПРОДУЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ И ГЕНЫ ГИДРОГЕНАЗ

Способность микроорганизмов микробиоты продуцировать или утилизировать молекулярный водород  $H_2$  зависит от наличия у них гидрогеназ — металлосодержащих ферментов, катализирующих простую реакцию взаимного перехода от протонов и электронов в дигидроген — молекулярный водород  $H_2$ . Окисление  $H_2$  и обратная реакция — восстановления протонов — имеют большое значение для микроорганизмов, позволяя им модулировать вход/выход энергии, регулировать окислительно-восстановительный потенциал и передавать химические сигналы (Lubitz et al., 2014). Катализируемая гидрогеназами реакция иллюстрируется формулой:



Гидрогеназы представлены большой группой металлопротеинов, которые классифицируются по иону(ам) металла(ов), входящего(их) в их активный центр. К основным группам гидрогеназ относятся содержащие в своем активном центре или никель—железо [NiFe], или дианион железа [FeFe], или моноион железа [Fe]. Детальная информация о типах и видах гидрогеназ представлена в базе данных HydDB (Søndergaard et al., 2016).

Гидрогеназы [NiFe] — наиболее хорошо изученный класс ферментов, которые в большинстве случаев характеризуются связыванием и окислением  $H_2$ . На основании филогенетического анализа совокупность этих гидрогеназ подразделяют на 4 группы, различающиеся по своей локализации в микроорганизмах — от мембраносвязанных форм до растворимых, по степени своей каталитической активности, по устойчивости или высокой чувствительности к действию кислорода (Vignais, Billoud, 2007).

В зависимости от основной функции выделяют (Greening et al., 2016): 4 группы и 22 подгруппы [NiFe]-гидрогеназ, 3 группы и 6 подгрупп [FeFe], тогда как [Fe]-гидрогеназы представляют собой небольшую гомогенную группу. Это позволило объединить ферменты в несколько классов: ответственных за гидрогенотрофное дыхание — [NiFe]-группы 1a, 1b, 1c; за гидрогенное ферментирование — [FeFe]-группы A1, B, [NiFe]-группа 4a; за бифуркацию электронов — [FeFe]-группы A2, A3,

A4, [NiFe]-группа 3c; за чувствительность в анаэробных условиях — [FeFe]-группа C.

Гидрогеназы [FeFe] обнаружены у анаэробных прокариот и низших эукариот и участвуют в генерации больших количеств  $H_2$ . В этих организмах фермент обнаружен в хлоропластах и гидрогеносомах. Наибольшее количество вариантов гидрогеназ [FeFe] выделено из сульфатредуцирующих *Clostridia* (Lubitz et al., 2014). Гидрогеназы [Fe] обнаружены только у метаногенных архей (Sickerman, Hu, 2019).

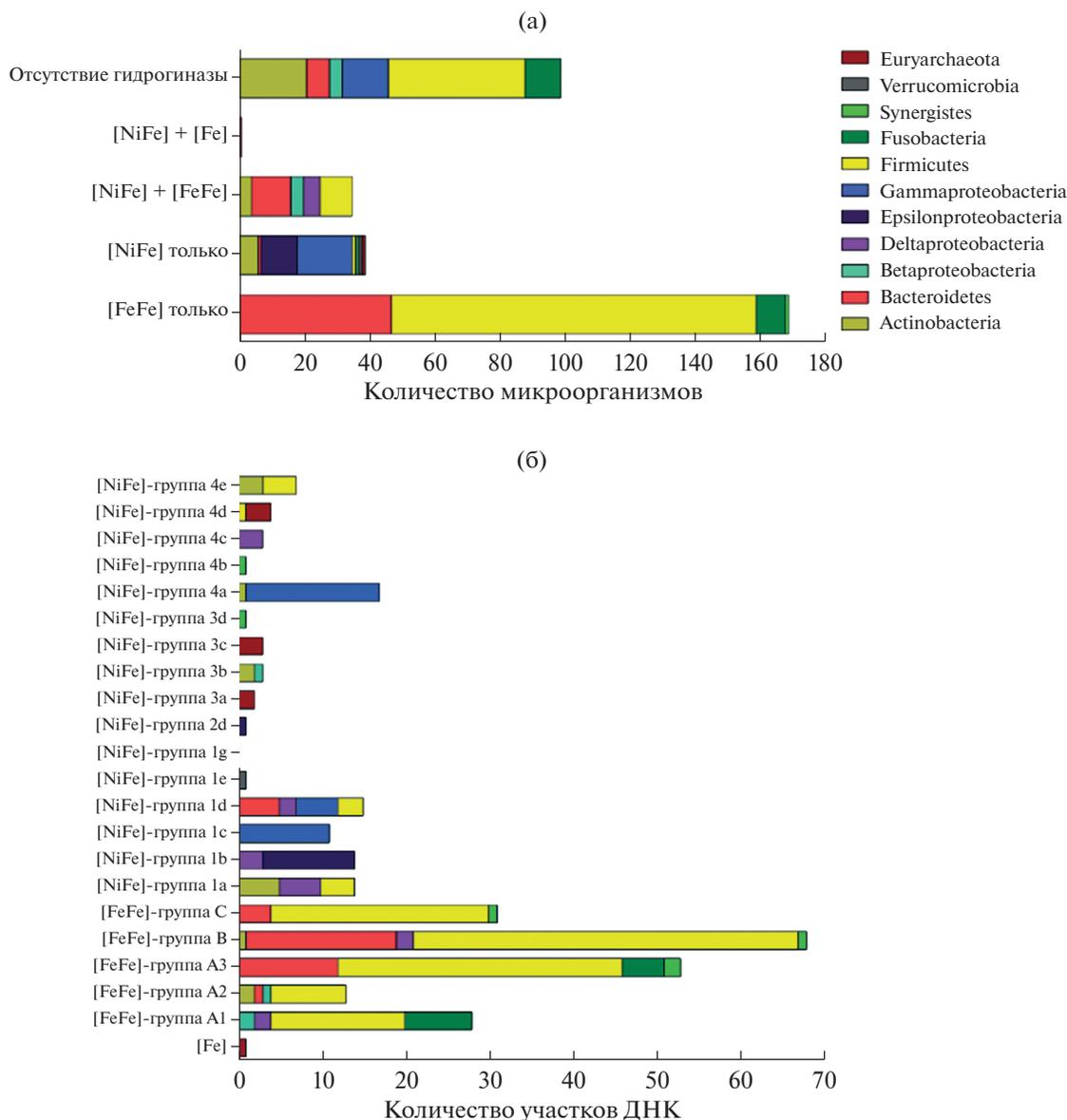
При анализе 343 видов микроорганизмов, входящих в геномную базу данных “Проект микробиома человека. Раздел: Желудочно-кишечный тракт” (Human Microbiome Project. Gastrointestinal tract), было установлено, что 71% из них имеют гены, кодирующие синтез гидрогеназ. Из этих микроорганизмов 60% имели гены, кодирующие [FeFe]-гидрогеназы, и лишь 21% — гены, кодирующие [NiFe]-гидрогеназы. Был обнаружен только один штамм (метаноген *Methanobrevibacter smithii*), кодирующий [Fe]-тип гидрогеназы (Wolf et al., 2016). С учетом данных о наличии генов (рис. 1), кодирующих гидрогеназы, предполагается, что в кишечнике водород преимущественно образуется бактериями микробиоты: *Ruminococcus* spp., *Roseburia* spp., *Clostridium* spp., *Bacteroides* spp. (Carbonero et al., 2012; Wolf et al., 2016). Следует подчеркнуть, что широко известные бактерии, положительно влияющие на многие процессы хозяина — *Bacilli* и *Bifidobacteria* — не обладают генами для синтеза гидрогеназ (Wolf et al., 2016).

Участие основных типов гидрогеназ в процессах ферментативной продукции водорода и его утилизации представлено на рис. 2.

Генами для синтеза гидрогеназ обладают не только микроорганизмы-комменсанты микробиоты, но и целый ряд патогенов. Более 200 патогенов (рис. 3), зарегистрированных в базе данных Микробиомного проекта человека, также обладают способностью к генерации или потреблению водорода (Benoit et al., 2020).

Многие важные аспекты, однако, остаются малоизученными. Один из них (Abou Hamdan et al., 2012; Sickerman, Hu, 2019): что определяет сдвиг в каталитической активности гидрогеназ от продукции к утилизации  $H_2$ ? Модуляция подобного фактора могла бы служить способом усиливать продукцию  $H_2$  микробиотой кишечника и после его частичного всасывания в кровь оказывать системный антиоксидантный эффект.

Один из основных способов повышения уровня эндогенного водорода в крови — подавление активности гидрогенотрофных микроорганизмов микробиоты ЖКТ: метаногенных архей (эксклюзивных производителей метана) и сульфатредуцирующих бактерий (производителей сероводорода).



**Рис. 1.** Выявляемость генов, кодирующих синтез различных гидрогеназ у микроорганизмов микробиоты кишечника (по: Wolf et al., 2016, адаптировано). (а) — представительство различных гидрогеназ в микроорганизмах (бактериях и археях) микробиоты кишечника; (б) — количество участков ДНК, кодирующих разные группы и подгруппы гидрогеназ.

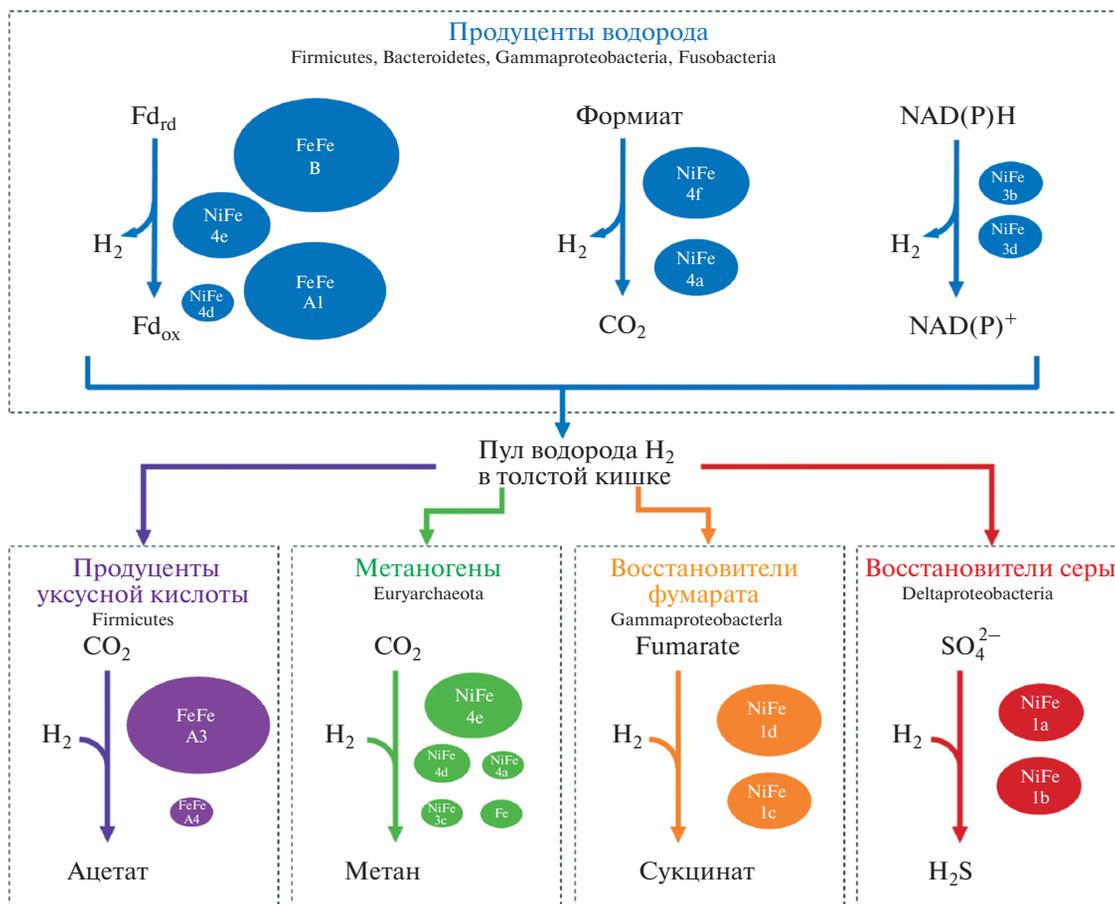
## МЕТАНОГЕННЫЕ АРХЕИ И ИХ ГЕНЫ ГИДРОГЕНАЗ

Археи представляют собой большую группу микроорганизмов, первоначально обнаруженных в экстремальных условиях обитания, а позднее — и в микробиоте кишечника человека. Около 40 лет тому назад из кала человека был изолирован первый представитель архей — *Methanobrevibacter smithii* (Miller et al., 1982). В последующем было показано, что они представлены в составе микробиомов большинства эукариотических организмов (рис. 4)

Археи отличаются от бактерий (табл. 1) не только генетически, но также структурой и композици-

ей мембран, поверхностным слоем белков и гетерополисахаридов, уникальных липидов, а некоторые метан-генерирующие археи — наличием псевдомуреина (Koga, Morii, 2005; Bang, Schmitz, 2018).

Совокупность разнообразных видов архей определяется термином “археом”. Относительно меньшая изученность архей микробиома человека, по сравнению с бактериями, связана с тем, что среди них пока не выявлены патогенные формы, кроме того, существуют методические сложности их идентификации. При изучении археома обычно используют методы культивации или методологию qPCR. Использование метода 16S rRNA часто ориентировано на изучение бактерий и пары универсальных

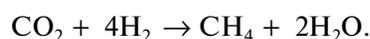


**Рис. 2.** Суммарная схема метаболизма водорода H<sub>2</sub> микробиотой кишечника на основании результатов метагеномных исследований (по: Wolf et al., 2016, адаптировано). Показаны типы микроорганизмов и группы гидрогеназ, участвующих как в генерации, так и в утилизации водорода. Функциональное значение отдельных групп гидрогеназ отражено площадью кругов, соответствующей каждой группе, и основано на результатах 20 метагеномных исследований по представительству соответствующих генов гидрогеназ. Верхняя часть рисунка: показана роль различных гидрогеназ в генерации водорода микробиотой. Нижняя часть рисунка: показана роль различных гидрогеназ в утилизации водорода микробиотой. Fd<sub>rd</sub> – ферредоксин восстановленный, Fd<sub>ox</sub> – ферредоксин окисленный, NAD(P)H – никотинамидадениндинуклеотид, восстановленная форма, NAD(P)<sup>+</sup> – никотинамидадениндинуклеотид, окисленная форма.

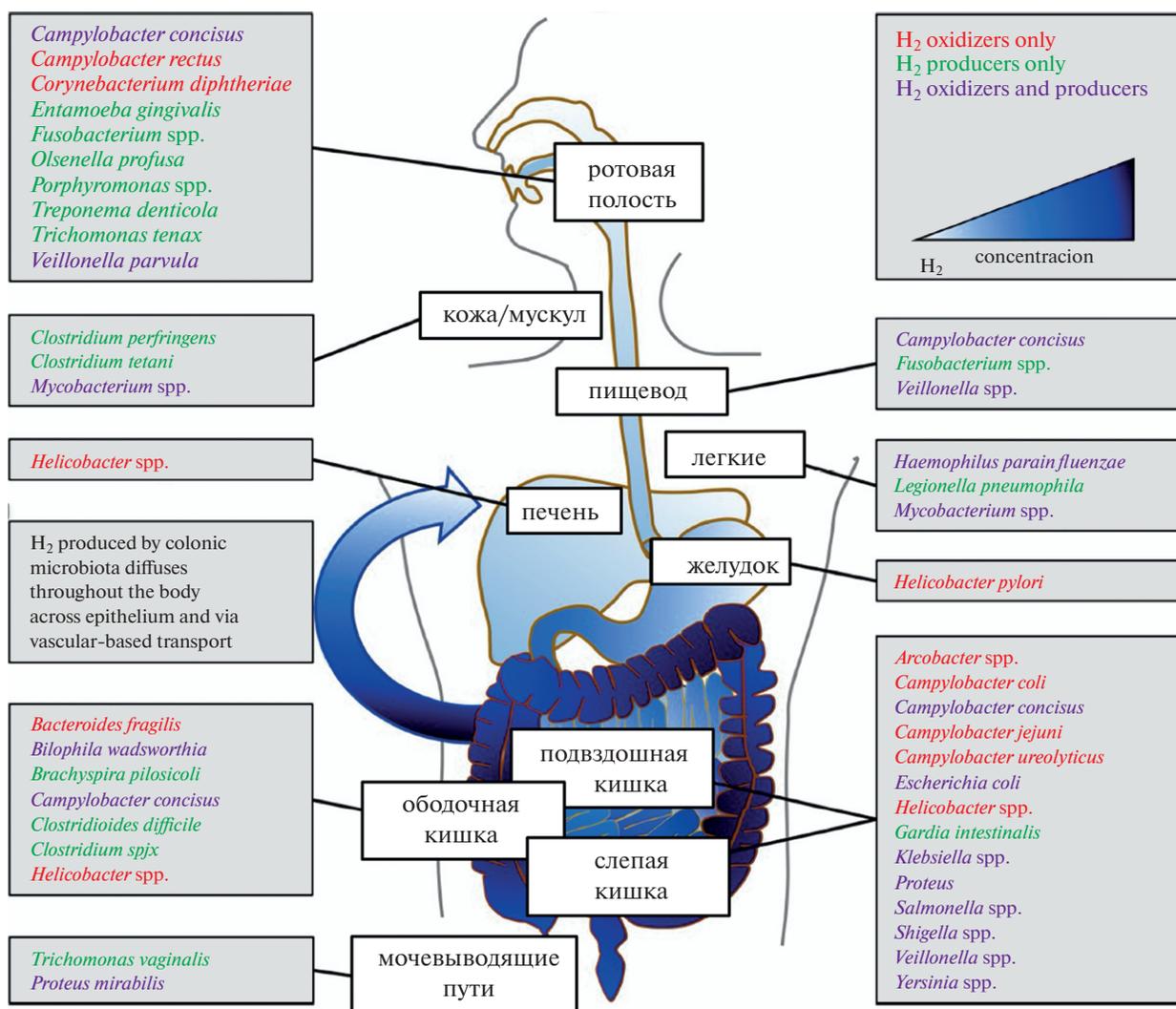
праймеров для покрытия широкого спектра прокариотического разнообразия. Низкое представительство ДНК архей в человеческих образцах; недостаточный лизис мембран и экстракции ДНК; проблемы универсальных праймеров в полном обнаружении сигнатур архей; неполная база 16S rRNA генов – все это лежит в основе методологических сложностей анализа микробиомных архей (Borrel et al., 2020).

Недавно опубликован каталог 1167 геномов из кишечного археома человека, 85% которых принадлежат археям из рода *Methanobrevibacter*. Подавляющее большинство архей ЖКТ человека – метаногены. Все изученные виды *Methanobrevibacter* spp. из кишечника человека обладают генетическим потенциалом для утилизации формиата иона муравьиной кислоты (HCOO<sup>-</sup>), водорода H<sub>2</sub> и углекислого газа CO<sub>2</sub> для синтеза метана (Chibani et al., 2022). Для утилизации H<sub>2</sub> археями

необходимы [NiFe]-гидрогеназы типа 3a, 3c, 4h, 4i, а также [Fe]-гидрогеназа, обнаруженная только в археях (Sickerman, Hu, 2019; Benoit et al., 2020). Метаногенные археи – это основные гидрогенотрофы – потребители H<sub>2</sub>, продуцируемого микробиотой при ферментации сложных углеводов. Упрощенная схема потребления водорода гидрогенотрофными микроорганизмами микробиоты обычно иллюстрируется формулой:



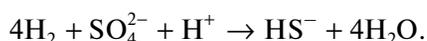
В ранее выполненных исследованиях отмечалось, что археи составляют от 0.1 до 21.3% от всех микроорганизмов, заселяющих ЖКТ (Kim et al., 2020). Разработка в последнее время методов, не зависящих от культуральных (например, секвенирование следующего поколения Next Generation Sequencing), создала новые возможности для изучения состава микробиоты кишечника. В ре-



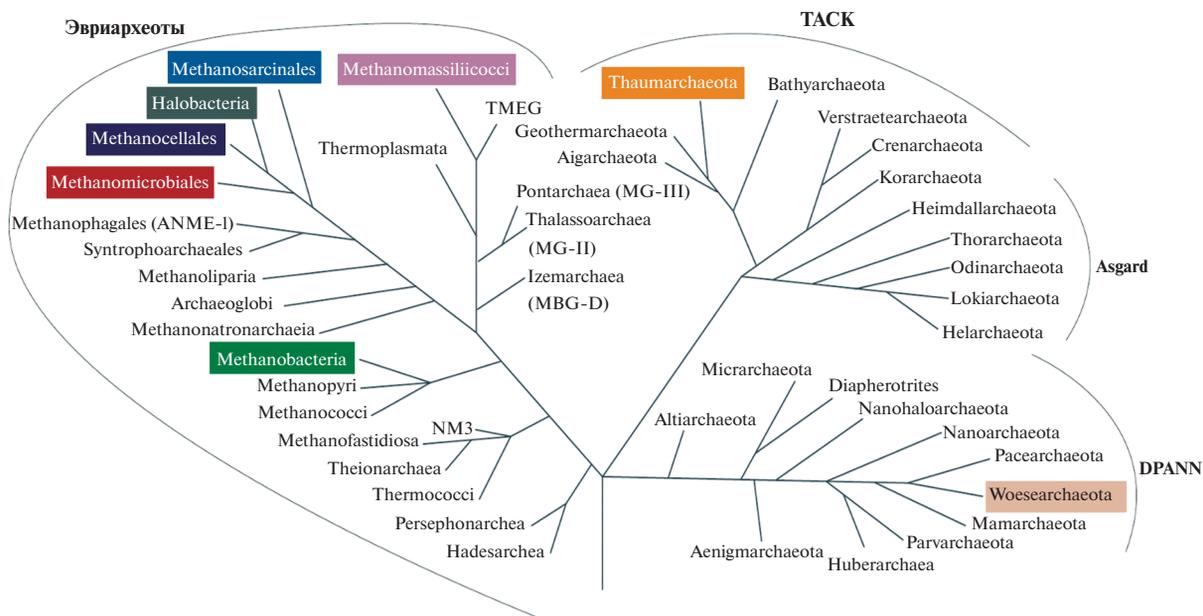
**Рис. 3.** Патогенные бактерии, обладающие гидрогеназами как для генерации, так и для утилизации водорода (по: Venoit et al., 2020, адаптировано). Интенсивностью синего цвета отражена относительная концентрация водорода в различных отделах ЖКТ человека. В правом верхнем углу цветом дается маркировка бактерий с преимущественной способностью: красным – потребляющие, окисляющие водород, зеленым – генерирующие водород, фиолетовым – способные как генерировать, так и потреблять водород.

зультате получены данные о значительно большем представительстве архей, которые в кале человека могут составлять от 25 до 95% (Hoffmann et al., 2013; Matijašić et al., 2020). Метаногенные археи синтезируют метан, потребляя  $H_2$  и  $CO_2$ , тем самым понижая давление газа в просвете кишки (Gaci et al., 2014).

Конкурентами метаногенных архей за использование  $H_2$  могут быть сульфатредуцирующие бактерии (Conway de Macario, Macario, 2009; Houshyar et al., 2021) (рис. 2). Синтез конечного продукта – сероводорода  $H_2S$  отражается формулой (Smith et al., 2019):



Ферментирование неперевариваемых углеводов (пищевых волокон) микробиотой – один из основных диетических факторов, приводящих к повышенной генерации водорода в толстой кишке (Levitt, 1969; Levitt, Bond, 1970; Carbonero et al., 2012; Wolf et al., 2016). Процесс ферментации неуспеваемых человеком углеводов микробиотой кишечника крайне сложен и включает экспрессию от 94 (тип Actinobacteria) до 175 (тип Firmicutes) и даже до 386 (тип Bacteroidetes) карбогидратактивных ферментов, представленных гликозид гидролазами, гликозид трансферазами, полисахарид лиазами, карбогидрат эстеразами и модулями связывания карбогидратов (Flint et al., 2012). Исследования на крысах, получавших с кормом дополнительное количество неперевариваемых уг-



**Рис. 4.** Филогенетическое древо царства архей (по: Borrel et al., 2020, адаптировано). Эвриархеоты (Euryarchaeota) – тип архей. TACK – группа архей, название представляет собой аббревиатуру, образованную из первых четырех обнаруженных: Thaumarchaeota, Aigarchaeota, Crenarchaeota и Korarchaeota. Asgard – предполагаемый суперфил, состоящий из группы архей. DPANN – супергруппа архей, название представляет собой аббревиатуру, образованную из первых пяти обнаруженных: Diapherotrites, Parvarchaeales, Aenigmarchaeota, Nanoarchaeota и Nanohaloarchaeota. Цветом выделены археи, ассоциированные с биологическими организмами – растениями и животными, включая человека.

леводов, показали, что повышенная генерация водорода не всегда сопровождается увеличением доли микроорганизмов, обладающих гидрогеназой и генерирующих водород, тогда как была обнаружена высокая степень положительной корреляции с количеством *Bifidobacteriales*, не имеющих гена, кодирующего гидрогеназу (Nishimura et al., 2018). Также среди крыс от разных производителей обнаружена большая разница в количестве производимого микробиотой водорода при потреблении одинакового количества пищевых волокон. В группе малопроизводящих  $H_2$  концентрация водорода в крови печеночной вены составляла 1.54 мкмоль/л, тогда как в группе многопроизводящих – 17.4 мкмоль/л. Пероральная трансплантация микробиоты от крыс, многопроизводящих водород, малопроизводящим крысам сопровождалась у последних повышением уровня водорода в крови печеночной вены с 3.07 до 9.95 мкмоль/л, что положительно коррелировало с уровнем родов *Bifidobacterium*, *Allobaculum*, *Parabacteroides* и отрицательно – с уровнем родов *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Escherichia* (Nishimura et al., 2018). Близкие результаты получены японскими исследователями у людей, получавших молоко с добавлением пищевых волокон (Kawashima et al., 2019). Механизм и причинно-следственные связи между повышением продукции водорода под влиянием пищевых волокон и ростом количества бактерий из порядка *Bifidobacteriales* остаются пока неясными.

Работы конца прошлого столетия заложили основу наших знаний об основных параметрах генерации водорода микробиотой толстого кишечника, и возможности оценки этого процесса по динамике содержания его в выдыхаемом воздухе. Исследование здоровых добровольцев показало, что в газах толстой кишки 19–20% составляет водород, 9–14% –  $CO_2$ , 7–9% – метан и лишь 0.0003% – сероводород (Levitt, 1971; Sahakian et al., 2010). С учетом более низкой концентрации сероводорода в просвете толстой кишки и в выдыхаемом воздухе, по сравнению с метаном, он не может существенно влиять на баланс и доступность  $H_2$  (Sahakian et al., 2010).

Недавно австралийские ученые с помощью проглатываемой капсулы, определяющей концентрацию кислорода, водорода и углекислого газа на всем протяжении ЖКТ, подтвердили результаты предыдущих исследований, базирующихся в основном на непрямых измерениях (Kalantar-Zadeh et al., 2018, 2019).

С использованием технологии перфузии разных отделов кишечника инертным газом у 14 участников эксперимента показано, что скорость образования водорода в толстой кишке в 100 раз выше, чем в тонкой (Levitt, 1969). Абсолютная скорость образования водорода зависела от времени воздержания от приема пищи. Так, при голодании 24 ч скорость образования водорода была 0.047 мл/мин, при голодании 12 ч – 0.32 мл/мин и после вве-

**Таблица 1.** Сравнение бактерий и архей по ряду структурных и функциональных характеристик (по: Borrel et al., 2020)

Характеристика	Бактерии	Археи
Ядро	Нет	Нет
Органеллы	Нет	Нет
Сплайсосомные интроны	Нет	Нет
Форма хромосом	Круглая и линейная	Круглая
Опероны	Да	Да
РНК-полимераза	Бактериоподобная	Эукариотоподобная
ДНК-полимераза	Бактериоподобная	Эукариотоподобная
Тип рибосом	70S	70S
Начало трансляции (аминокислота)	Формилметионин	Метионин
Гистоны	Нет	Да
Пептидогликан	Да	Нет; псевдопептидогликан
Подвижность	Жгутик бактериального типа	Жгутик архейного типа
Липополисахарид	Да	Нет
Мембранные липиды	Эфирные звенья (глицерин-1-фосфатный остов)	Эфирные звенья (глицерин-3-фосфатный остов)
Метаногенез	Нет	Да
Кислородный фотосинтез	Да	Нет
Споры	Да	Нет
Патогенность для человека	Да	Нет

дения 2 г лактозы прямо в толстую кишку – в среднем 1.6 мл/мин. Параллельная регистрация содержания водорода в выдыхаемом воздухе показала, что существует тесная линейная зависимость между скоростью образования водорода в кишке и его уровнем в выдыхаемом воздухе, что является основанием для использования водородного дыхательного теста для неинвазивной оценки газообразующей функции микробиоты толстой кишки. Эти исследования показали, что около 21% образованного в кишке водорода всасывается в кровь и выделяется через легкие (Levitt, 1969; Levitt, Bond, 1970). В последующих исследованиях основные результаты ранее выполненных работ подтверждены и уточнены (Levitt, 1971; Flourié et al., 1990; Strocchi, Levitt, 1992). Более точные данные получены в Кембридже (UK) на 10 участниках эксперимента с использованием калориметрии/плетизмографии всего тела, когда была возможность определять объемы газов, выделяемых как через анус, так и с дыханием. Установлено, что через легкие выделяется в среднем 58% всего произведенного микробиотой водорода, а при малых скоростях образования в кишке (до 200 мл/сут) эта величина достигает 65%. На фоне диеты без крахмала и пищевых волокон образовывалось 35 мл  $H_2$ /сут, после приема 7.5, 15 или 22.5 г

лактозы образовывалось 90, 230 и 320 мл  $H_2$ /сут соответственно (Christl et al., 1992).

В течение нескольких десятилетий гастроэнтерологи использовали измерения водорода в выдыхаемом воздухе (водородный дыхательный тест) для определения скорости прохождения пищевой массы по ЖКТ, для диагностики синдрома избыточного бактериального роста в тонкой кишке, лактазной недостаточности и непереносимости углеводов (фруктозы, галактозы, лактозы, сорбитола) (Корниенко и др., 2013; Ивашкин и др., 2019; Simrén, Stotzer, 2006; Shin, 2014).

В большинстве работ отмечается большой разброс получаемых данных, что не позволяет говорить о клинической норме уровня водорода в выдыхаемом воздухе у здорового человека (Di Stefano et al., 2013).

С целью большей стандартизации, унификации методов проведения водородного дыхательного теста в клинике, а также интерпретации полученных результатов опубликовано несколько клинических рекомендаций: Итальянская (Gasbarrini et al., 2009), Северо-Американская (Rezaie et al., 2017), Американской гастроэнтерологической ассоциации (Pimentel et al., 2020), Европейская (Hammer et al., 2022).

## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ВОДОРОД КАК АНТИОКСИДАНТ

Водород при этом до недавнего времени расценивался как биомаркер событий в микробиоте кишечника, который не оказывает самостоятельного эффекта на организм хозяина. Отношение к водороду в корне изменилось в 2007 г., когда в престижном журнале “Nature Medicine” группа японских авторов опубликовала статью, доказывающую антиоксидантную активность водорода на биологических моделях (Ohsawa et al., 2007). Авторы и последующие исследования показали, что водород защищает мозг в условиях ишемии/реперфузии и инсульта, нейтрализуя активные формы кислорода — гидроксильный радикал  $\text{OH}^-$  и пероксинитрит  $\text{ONOO}^-$ , но не взаимодействуя с более слабыми окислителями: супероксид-анион радикалом  $\text{O}_2^-$ , перекисью водорода  $\text{H}_2\text{O}_2$  или оксидом азота  $\text{NO}$  (Liu et al., 2011). После этого резко возрос интерес к изучению биологических эффектов водорода у животных и человека, который вводился извне или в виде насыщенной водородом воды, таблеток, содержащих металлический магний, или ингаляционно в концентрации до 4%, чтобы предупредить взрывоопасность вдыхаемого газа (Kurokawa et al., 2015). За период с 2007 г. по настоящее время уже опубликовано более 2000 статей по изучению биологических и медицинских эффектов молекулярного водорода.

Фундаментальные исследования показали защитное действие экзогенного водорода в модельных опытах на животных, клеточных культурах в условиях оксидативного стресса. Показано антиатеросклеротическое действие молекулярного водорода в опытах на мышах (Ohsawa et al., 2008; Iketani et al., 2018), замедление развития хронической сердечной недостаточности у крыс (Chi et al., 2018). Отмечены кардиопротективное действие на модели ишемии/реперфузии миокарда у крыс (Li L. et al., 2019; Li X. et al., 2019) и антистрессорный эффект высоких концентраций водорода в опытах на мышах (Gao et al., 2017). В нескольких лабораториях подтвердили защитное действие водорода на моделях легочной гипертензии (Wang et al., 2011; He et al., 2013; Kishimoto et al., 2015).

Изучение механизмов действия водорода в условиях оксидативного стресса привело большинство авторов к заключению, что в дополнение к прямой нейтрализации гидроксильного радикала  $\text{OH}^-$  и пероксинитрита  $\text{ONOO}^-$  его антиоксидантное действие проявляется за счет усиленной экспрессии эндогенных белков: супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, следствием чего является снижение маркеров окислительного стресса: малонового диальдегида, производных тиобарбитуровой кислоты и 8-гидрокси-деокси-гуаназина. Имеются доказательства (Ichihara et al., 2015; Barancik et al., 2020; Wang et al., 2020; Slezak et al.,

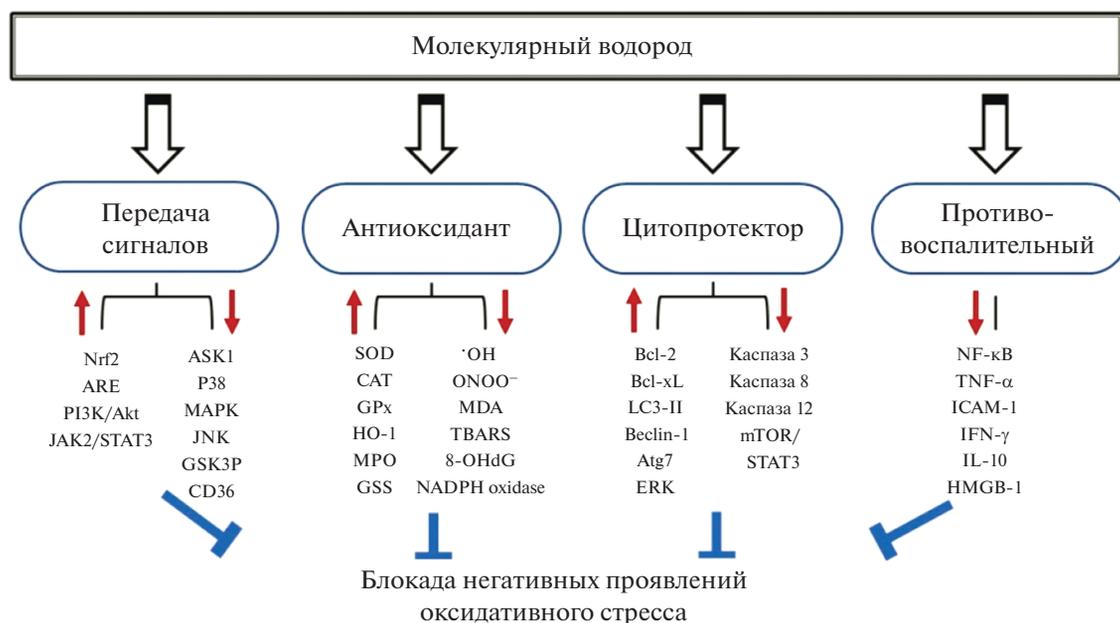
2021) влияния водорода на сигнальные пути передачи информации внутрь клетки, а также цитопротекции и противовоспалительного действия за счет снижения синтеза провоспалительных цитокинов, антиапоптотического действия (рис. 5).

Последующие клинические испытания антиоксидантных свойств молекулярного водорода в основном подтвердили результаты ранее выполненных фундаментальных исследований на животных. Во-первых, подтверждена безопасность ингаляционного использования водорода в концентрации 2–4% (Javogac et al., 2019), а также и более высоких концентраций, в частности у больных с инфекцией COVID-19 — при ингаляции смеси, содержащей 66% водорода и 33% кислорода (Guan et al., 2020a,b; Lin et al., 2020). Во-вторых, подтверждены кардиопротективные и нейропротективные эффекты молекулярного водорода у пациентов, что было связано с его антиоксидантными свойствами (Ono et al., 2012; Tamura et al., 2016, 2017, 2020; Alshami et al., 2020). Предлагается использовать водород при лечении заболеваний, связанных с хроническим воспалением (Hirano et al., 2021). В литературе есть сообщения о положительном влиянии водорода на эндотелиальную дисфункцию (Sakai et al., 2014), в том числе и при проведении рандомизированных контролируемых исследований (Ishibashi et al., 2020). Насыщение водородом диализной жидкости улучшает прогноз у пациентов как при гемодиализе, так и при перитонеальном диализе, уменьшая развитие фиброза (Nakayama et al., 2018a,b; Lu et al., 2020).

Выявление антиоксидантных свойств молекулярного водорода, с одной стороны, привело к выполнению большого количества исследований, в которых изучали эффекты экзогенного водорода, вводимого в организм в виде насыщенной водородом воды или ингаляций, с другой стороны, появилось второе дыхание в работах по анализу эффектов эндогенного водорода, продуцируемого микробиотой кишечника преимущественно при ферментации пищевых волокон. Компании Азиатских стран, прежде всего Японии, Южной Кореи и Китая, стали лидерами по выпуску различных генераторов водорода для медицинского применения.

Поскольку молекулярный водород является доказанным антиоксидантом и генерируется микробиотой человека и многих животных, особенно жвачных, представляется перспективным его увеличение в крови путем подавления его потребителей в просвете кишечника, прежде всего метаногенных архей.

Проблема подавления метаногенов уже более 50 лет разрабатывается в сельском хозяйстве, в частности для увеличения эффективности использования кормов (Nkrumah et al., 2006), а также для уменьшения негативного влияния на экологию, так как метан, вырабатываемый жвачными жи-



**Рис. 5.** Суммарная иллюстрация механизмов положительного влияния молекулярного водорода в условиях оксидативного стресса. Приведены известные механизмы на основании повышения (стрелки вверх) или понижения (стрелки вниз) основных биомаркеров оксидативного стресса. Nrf2 – nuclear factor-erythroid-2-related factor 2; ARE – antioxidant response elements; PI3K/Akt – phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B; JAK2/STAT3 – activated Janus kinase 2/signal transducers and transcription 3; ASK1 – apoptotic signal-regulated kinase 1; P38 – путь сигнальной трансдукции; MAPK – mitogen-activated protein kinase; JNK – c-Jun N-terminal kinase; GSK3β – glycogen synthase kinase 3 beta; CD36 – cyclin-dependent kinase 36; SOD – superoxide dismutase; CAT – catalase; GPx – glutathione peroxidase; HO-1 – heme oxygenase 1; MPO – myeloperoxidase; GSS – glutathione synthetase; ·OH – гидроксильный радикал; ONOO<sup>-</sup> – пероксинитрит; MDA – malondialdehyde; TBARS – thiobarbituric acid reactive substances; 8-OHdG – 8-hydroxy-desoxyguanosine; NADPH oxidase – никотинамидадениндинуклеотидфосфат-оксидаза; Bcl-2 – регулятор апоптоза; Bcl-xL – ингибитор апоптоза; LC3-II – microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3; Beclin-1 – регулятор апоптоза; Atg7 – autophagy related 7; ERK – extracellular signal-regulated kinase; Каспазы 3, 8, 12 – индукторы апоптоза; mTOR/STAT3 – mammalian target of rapamycin/signal transducers and transcription 3; NF-κB – nuclear factor kappa B; TNF-α – tumor necrosis factor alpha; ICAM-1 – intercellular cell adhesion molecule-1; IFN-γ – интерферон гамма; IL-10 – интерлейкин 10; HMGB-1 – high-mobility group box protein 1 (по: Barancik et al., 2020, адаптировано).

вотными, составляет около 12–14% от всех антропогенных воздействий, приводящих к глобальному потеплению. По способности вызывать потепление атмосферы метан в 28 раз сильнее CO<sub>2</sub> (Reisinger et al., 2021).

Стратегия подавления метаногенеза включает прямые воздействия на метаногенные археи в виде добавок в корм *Asparagopsis taxiformis* или 3-NOP (3-nitrooxopropanol). *Asparagopsis taxiformis* – красная морская водоросль, в состав которой входят различные галогенсодержащие метаны, включая бромформ, дибромохлорметан, бромохлоруксусную кислоту, дихлоруксусную кислоту и др. Было показано подавление энзиматической активности бромформом за счет связывания витамина B<sub>12</sub>, который по химическому строению близок коэнзиму F430 – кофактору, необходимому для метаногенеза. На модели микробиоты желудка жвачных животных *in vitro* показано, что при внесении в субстрат 5%-ной добавки *Asparagopsis taxiformis* продукция метана угнетается на 95–99% (Roque et al., 2019; Vijn et al., 2020), не из-

меняя продукцию таких полезных метаболитов ферментации, как короткоцепочечные жирные кислоты (Machado et al., 2014; Mizrahi et al., 2021). Кормление овец с добавкой этой водоросли понижало продукцию метана на 80%, не вызывая отрицательного влияния на вес животных в течение 72 дней (Li et al., 2016).

3-NOP синтезирован для ингибирования комплекса MCR (methyl-coenzyme M reductase), необходимого на последней стадии синтеза метана у всех метаногенов. В большинстве исследований 3-NOP угнетал метаногенез *in vivo* до 60%, не влияя при этом на здоровье и поведение животных.

К непрямым воздействиям относится добавление в корм нитратов и сульфатов (представляют потенциальный риск для здоровья животных), антимикробных препаратов (например, ионофорный антибиотик monensin). Использование таких антибиотиков для подавления синтеза метана вызывает большую критику и запрещено в ряде стран Евросоюза (Mizrahi et al., 2021).

В экспериментах на крысах и в исследованиях в клинике на человеке была показана способность статинов подавлять продукцию метана метаногенными археями, так как ингибирование ими HMGCR (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase) способно не только подавлять синтез холестерина, но и нарушать синтез мембран архей (Gottlieb et al., 2016; Nkamga et al., 2017). Мембраны всех архей содержат значительные количества изопреноидных спиртов, которые характерны только для них. Эти спирты синтезируются из мевалоната, поэтому статины ингибируют синтез таких спиртов. Кроме того известно, что один из статинов – ловастатин – в дозе 150 мг/л угнетает продукцию метана на 42%, не изменяя при этом содержания бактерий или процессов ферментации углеводов (Soliva et al., 2011). В литературе также есть указания на способность продуктов растительного происхождения – таннинов и сапонинов, ненасыщенных жирных кислот и ряда бактериоцинов – подавлять образование метана (Patra et al., 2017; Mizrahi et al., 2021). Одним из новых направлений создания лекарственных препаратов, способных избирательно подавлять активность архей, может быть синтез ингибиторов гидрогеназ, специфичных для метаногенных архей.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метаанализ опубликованных данных позволил установить, что микробиота 59.8% всех участников эксперимента способна продуцировать как водород, так и метан. Между объемами выделенных газов наблюдались реципрокные отношения, то есть при высоком содержании одного газа другой обнаруживался в меньшем количестве. Потребление водорода при синтезе метана позволяет объяснить этот феномен. Оставшиеся 40.2% участников эксперимента синтезировали только водород (Modesto et al., 2021). Выделение групп людей с низким уровнем продукции водорода позволяет персонафицировать рекомендации им подавлять функцию метаногенных архей и/или использовать источники экзогенного водорода в виде либо насыщенной водородом воды, либо ингаляций с водородом. Можно предположить, что антиоксидантный и другие эффекты экзогенного водорода будут более выражены у людей с низким уровнем собственного производства водорода микробиотой кишечника. В связи с этим более широкое использование водородного и метанового дыхательных тестов может иметь значение для персонафицированных рекомендаций по здоровому питанию и более эффективному использованию протективных, антиоксидантных свойств молекулярного водорода. Появление на рынке первого портативного устройства для определения уровня водорода и метана в выдыхаемом воздухе у человека ([\[ble.com/#how-it-works-cta\]\(https://foodmar-ble.com/#how-it-works-cta\)\) позволяет амбулаторно определить, к какой группе относится человек, с целью разработки персонафицированных рекомендаций по повышению его антиоксидантной защиты.](https://foodmar-</a></p></div><div data-bbox=)

К сожалению, пока мало изученным остается вопрос о возможности использования диетических и фармацевтических факторов для повышения продукции молекулярного водорода микробиотой кишечника с целью усиления антиоксидантной защиты организма.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность Рысенковой Е.Ю. за помощь в подготовке Списка литературы рукописи.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 22-13-00111.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья является обзором литературы, поэтому не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Драпкина О.М., Ширококих О.Е.* Роль кишечной микробиоты в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний и метаболического синдрома // *Рациональная фармакотерапия кардиологии*. 2018. Т. 14. № 4. С. 567–574. <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2018-14-4-567-574>
- Ивашкин К.В., Широкова Е.Н., Ивашкин В.Т. и др.* Сократительная функция миокарда у пациентов с циррозом печени и синдромом избыточного бактериального роста // *Кардиология*. 2019. Т. 59. № 4. С. 67–73.
- Каиштанова Д.А., Ткачева О.Н., Бойцов С.А.* Микробиота кишечника и факторы сердечно-сосудистого риска. Часть 1. Микробиота кишечника, возраст и пол // *Кардиоваскулярная профилактика*. 2015. Т. 14. № 4. С. 92–95. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2015-4-92-95>
- Корниенко Е.А., Кубалова С.С., Дмитриенко М.А., Джагацпанян И.Э.* Клиническое применение водородного дыхательного теста в диагностике лактазной недостаточности и синдрома избыточного бактериального роста у детей раннего возраста // *Практика педиатра*. 2013. № 2. С. 36–43.
- Abou Hamdan A., Dementin S., Liebgott P.P. et al.* Understanding and tuning the catalytic bias of hydrogenase // *J. Am. Chem. Soc.* 2012. V. 134. № 20. P. 8368–8371. <https://doi.org/10.1021/ja301802r>
- Adnan S., Nelson J.W., Ajami N.J. et al.* Alterations in the gut microbiota can elicit hypertension in rats // *Physiol.*

- Genomics. 2017. V. 49. № 2. P. 96–104.  
<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00081.2016>
- Alshami A., Einav S., Skrifvars M.B., Varon J.* Administration of inhaled noble and other gases after cardiopulmonary resuscitation: a systematic review // *Am. J. Emerg. Med.* 2020. V. 38. № 10. P. 2179–2184.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajem.2020.06.066>
- Bang C., Schmitz R.A.* Archaea: forgotten players in the microbiome // *Emerg. Top. Life Sci.* 2018. V. 2. № 4. P. 459–468.  
<https://doi.org/10.1042/ETLS20180035>
- Barancik M., Kura B., LeBaron T.W. et al.* Molecular and cellular mechanisms associated with effects of molecular hydrogen in cardiovascular and central nervous systems // *Antioxidants (Basel)*. 2020. V. 9. № 12. P. 1281.  
<https://doi.org/10.3390/antiox9121281>
- Benoit S.L., Maier R.J., Sawers R.G., Greening C.* Molecular hydrogen metabolism: a widespread trait of pathogenic bacteria and protists // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2020. V. 84. № 1. P. e00092–19.  
<https://doi.org/10.1128/MMBR.00092-19>
- Bilen M., Dufour J.C., Lagier J.C. et al.* The contribution of culturomics to the repertoire of isolated human bacterial and archaeal species // *Microbiome*. 2018. V. 6. № 1. P. 94.  
<https://doi.org/10.1186/s40168-018-0485-5>
- Borrel G., Brugère J.F., Grimaldo S. et al.* The host-associated archaeome // *Nat. Rev. Microbiol.* 2020. V. 18. № 11. P. 622–636.  
<https://doi.org/10.1038/s41579-020-0407-y>
- Branchereau M., Burcelin R., Heymes C.* The gut microbiome and heart failure: a better gut for a better heart // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2019. V. 20. № 4. P. 407–414.  
<https://doi.org/10.1007/s11154-019-09519-7>
- Camarillo-Guerrero L.F., Almeida A., Rangel-Pineros G. et al.* Massive expansion of human gut bacteriophage diversity // *Cell*. 2021. V. 184. № 4. P. 1098–1109.e9.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.029>
- Carbonero F., Benefiel A.C., Gaskins H.R.* Contributions of the microbial hydrogen economy to colonic homeostasis // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2012. V. 9. № 9. P. 504–518.  
<https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.85>
- Chi J., Li Z., Hong X. et al.* Inhalation of hydrogen attenuates progression of chronic heart failure via suppression of oxidative stress and P53 related to apoptosis pathway in rats // *Front. Physiol.* 2018. V. 9. P. 1026.  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01026>
- Chibani C.M., Mahnert A., Borrel G. et al.* A catalogue of 1167 genomes from the human gut archaeome // *Nat. Microbiol.* 2022. V. 7. № 1. P. 48–61.  
<https://doi.org/10.1038/s41564-021-01020-9>
- Christl S.U., Murgatroyd P.R., Gibson G.R., Cummings J.H.* Production, metabolism, and excretion of hydrogen in the large intestine // *Gastroenterology*. 1992. V. 102. № 4. Pt 1. P. 1269–1277.
- Chung H., Pamp S.J., Hill J.A. et al.* Gut immune maturation depends on colonization with a host-specific microbiota // *Cell*. 2012. V. 149. № 7. P. 1578–1593.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.04.037>
- Conway de Macario E., Macario A.J.L.* Methanogenic archaea in health and disease: a novel paradigm of microbial pathogenesis // *Int. J. Med. Microbiol.* 2009. V. 299. № 2. P. 99–108.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.06.011>
- Danilenko V.N., Devyatkin A.V., Marsova M.V. et al.* Common inflammatory mechanisms in COVID-19 and Parkinson's diseases: the role of microbiome and probiotics in their prevention // *J. Inflamm. Res.* 2021. V. 14. P. 6349–6381.  
<https://doi.org/10.2147/JIR.S333887>
- Di Stefano M., Mengoli C., Bergonzi M. et al.* Hydrogen breath test and intestinal gas production // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2013. V. 17. Suppl 2. P. 36–38.
- DiBaise J.K., Zhang H., Crowell M.D. et al.* Gut microbiota and its possible relationship with obesity // *Mayo Clin. Proc.* 2008. V. 83. № 4. P. 460–469.  
<https://doi.org/10.4065/83.4.460>
- Drabińska N., Flynn C., Ratcliffe N. et al.* A literature survey of all volatiles from healthy human breath and bodily fluids: the human volatilome // *J. Breath. Res.* 2021. V. 15. № 3.  
<https://doi.org/10.1088/1752-7163/abf1d0>
- Flint H.J., Scott K.P., Duncan S.H. et al.* Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut // *Gut Microbes*. 2012. V. 3. № 4. P. 289–306.  
<https://doi.org/10.4161/gmic.19897>
- Flourié B., Etanchaud F., Florent C. et al.* Comparative study of hydrogen and methane production in the human colon using caecal and faecal homogenates // *Gut*. 1990. V. 31. № 6. P. 684–685.  
<https://doi.org/10.1136/gut.31.6.684>
- Gaci N., Borrel G., Tottey W. et al.* Archaea and the human gut: new beginning of an old story // *World J. Gastroenterol.* 2014. V. 20. № 43. P. 16062–16078.  
<https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i43.16062>
- Gao Q., Song H., Wang X.T. et al.* Molecular hydrogen increases resilience to stress in mice // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. P. 9625.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-10362-6>
- Gasbarrini A., Corazza G.R., Gasbarrini G. et al.* Methodology and indications of H<sub>2</sub>-breath testing in gastrointestinal diseases: the Rome Consensus Conference // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2009. V. 29. Suppl 1. P. 1–49.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.03951.x>
- Gottlieb K., Wacher V., Sliman J., Pimentel M.* Review article: inhibition of methanogenic archaea by statins as a targeted management strategy for constipation and related disorders // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2016. V. 43. № 2. P. 197–212.  
<https://doi.org/10.1111/apt.13469>
- Greening C., Biswas A., Carere C.R. et al.* Genomic and metagenomic surveys of hydrogenase distribution indicate H<sub>2</sub> is a widely utilised energy source for microbial growth and survival // *ISME J.* 2016. V. 10. № 3. P. 761–777.  
<https://doi.org/10.1038/ismej.2015.153>
- Guan W.J., Wei C.H., Chen A.L. et al.* Hydrogen/oxygen mixed gas inhalation improves disease severity and dyspnea in patients with Coronavirus disease 2019 in a recent multicenter, open-label clinical trial // *J. Thorac. Dis.* 2020a. V. 12. № 6. P. 3448–3452.  
<https://doi.org/10.21037/jtd-2020-057>
- Guan W.J., Wei C.H., Chen A.L. et al.* Erratum to hydrogen/oxygen mixed gas inhalation improves disease severity and dyspnea in patients with Coronavirus disease

- 2019 in a recent multicenter, open-label clinical trial // *J. Thorac. Dis.* 2020b. V. 12. № 8. P. 4591–4592. <https://doi.org/10.21037/jtd-2020-062>
- Gupta A., Osadchiy V., Mayer E.A.* Brain-gut-microbiome interactions in obesity and food addiction // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2020. V. 17. № 11. P. 655–672. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0341-5>
- Hammer H.F., Fox M.R., Keller J. et al.* European guideline on indications, performance, and clinical impact of hydrogen and methane breath tests in adult and pediatric patients: European Association for Gastroenterology, Endoscopy and Nutrition, European Society of Neurogastroenterology and Motility, and European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition consensus // *United European Gastroenterol. J.* 2022. V. 10. № 1. P. 15–40. <https://doi.org/10.1002/ueg2.12133>
- He B., Zhang Y., Kang B. et al.* Protection of oral hydrogen water as an antioxidant on pulmonary hypertension // *Mol. Biol. Rep.* 2013. V. 40. № 9. P. 5513–5521. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-2653-9>
- Hirano S.I., Ichikawa Y., Sato B. et al.* Potential therapeutic applications of hydrogen in chronic inflammatory diseases: possible inhibiting role on mitochondrial stress // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. P. 2549. <https://doi.org/10.3390/ijms22052549>
- Hoffmann C., Dollive S., Grunberg S. et al.* Archaea and fungi of the human gut microbiome: correlations with diet and bacterial residents // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 6. P. e66019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066019>
- Houshyar Y., Massimino L., Lamparelli L.A. et al.* Going beyond bacteria: uncovering the role of archaeome and mycobiome in inflammatory bowel disease // *Front. Physiol.* 2021. V. 12. P. 783295. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.783295> <https://foodmarble.com/#how-it-works-cta> (ссылка подтверждена 15.05.2022)
- Ichihara M., Sobue S., Ito M. et al.* Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen - comprehensive review of 321 original articles // *Med. Gas. Res.* 2015. V. 5. P. 12. <https://doi.org/10.1186/s13618-015-0035-1>
- Iketani M., Sekimoto K., Igarashi T. et al.* Administration of hydrogen-rich water prevents vascular aging of the aorta in LDL receptor-deficient mice // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. P. 16822. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35239-0>
- Ishibashi T., Kawamoto K., Matsuno K. et al.* Peripheral endothelial function can be improved by daily consumption of water containing over 7 ppm of dissolved hydrogen: a randomized controlled trial // *PLoS One.* 2020. V. 15. № 5. P. 0233484. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233484>
- Nkrumah J.D., Okine E.K., Mathison G.W. et al.* Relationships of feedlot feed efficiency, performance, and feeding behavior with metabolic rate, methane production, and energy partitioning in beef cattle // *J. Anim. Sci.* 2006. V. 84. № 1. P. 145–153. <https://doi.org/10.2527/2006.841145x>
- Javorac D., Stajer V., Ratgeber L. et al.* Short-term H<sub>2</sub> inhalation improves running performance and torso strength in healthy adults // *Biol. Sport.* 2019. V. 36. № 4. P. 333–339. <https://doi.org/10.5114/biolsport.2019.88756>
- Kalantar-Zadeh K., Berean K.J., Ha N. et al.* A human pilot trial of ingestible electronic capsules capable of sensing different gases in the gut // *Nat. Electron.* 2018. V. 1. P. 79–87. <https://doi.org/10.1038/s41928-017-0004-x>
- Kalantar-Zadeh K., Berean K.J., Burgell R.E. et al.* Intestinal gases: influence on gut disorders and the role of dietary manipulations // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2019. V. 16. № 12. P. 733–747. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0193-z>
- Kawashima M., Tsuno S., Matsumoto M., Tsubota K.* Hydrogen-producing milk to prevent reduction in tear stability in persons using visual display terminals // *Ocul. Surf.* 2019. V. 17. № 4. P. 714–721. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2019.07.008>
- Kim J.Y., Whon T.W., Lim M.Y. et al.* The human gut archaeome: identification of diverse haloarchaea in Korean subjects // *Microbiome.* 2020. V. 8. № 1. P. 114. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00894-x>
- Kishimoto Y., Kato T., Ito M. et al.* Hydrogen ameliorates pulmonary hypertension in rats by anti-inflammatory and antioxidant effects // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2015. V. 150. № 3. P. 645–654.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2015.05.052>
- Koga Y., Morii H.* Recent advances in structural research on ether lipids from archaea including comparative and physiological aspects // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2005. V. 69. № 11. P. 2019–2034. <https://doi.org/10.1271/bbb.69.2019>
- Komaroff A.L.* The microbiome and risk for atherosclerosis // *JAMA.* 2018. V. 319. № 23. P. 2381–2382. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.5240>
- Krajmalnik-Brown R., Ilhan Z.E., Kang D.W., DiBaise J.K.* Effects of gut microbes on nutrient absorption and energy regulation // *Nutr. Clin. Pract.* 2012. V. 27. № 2. P. 201–214. <https://doi.org/10.1177/0884533611436116>
- Kurokawa R., Seo T., Sato B. et al.* Convenient methods for ingestion of molecular hydrogen: drinking, injection, and inhalation // *Med. Gas Res.* 2015. V. 5. P. 13. <https://doi.org/10.1186/s13618-015-0034-2>
- Lagier J.C., Million M., Hugon P. et al.* Human gut microbiota: repertoire and variations // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2012. V. 2. P. 136. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00136>
- Levitt M.D.* Production and excretion of hydrogen gas in man // *N. Engl. J. Med.* 1969. V. 281. № 3. P. 122–127. <https://doi.org/10.1056/NEJM196907172810303>
- Levitt M.D.* Volume and composition of human intestinal gas determined by means of an intestinal washout technic // *N. Engl. J. Med.* 1971. V. 284. № 25. P. 1394–1398. <https://doi.org/10.1056/NEJM197106242842502>
- Levitt M.D., Bond J.H.* Volume, composition, and source of intestinal gas // *Gastroenterology.* 1970. V. 59. № 6. P. 921–929.
- Li J., Jia H., Cai X. et al.* An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome // *Nat. Biotechnol.* 2014. V. 32. № 8. P. 834–841. <https://doi.org/10.1038/nbt.2942>

- Li L., Liu T., Liu L. *et al.* Effect of hydrogen-rich water on the Nrf2/ARE signaling pathway in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2019. V. 51. № 6. P. 393–402.  
<https://doi.org/10.1007/s10863-019-09814-7>
- Li X., Norman H.C., Kinley R.D. *et al.* *Asparagopsis taxiformis* decreases enteric methane production from sheep // *Anim. Prod. Sci.* 2016. V. 58. № 4.  
<https://doi.org/10.1071/AN15883>
- Li X., Li L., Liu X. *et al.* Attenuation of cardiac ischaemia – reperfusion injury by treatment with hydrogen-rich water // *Curr. Mol. Med.* 2019. V. 19. № 4. P. 294–302.  
<https://doi.org/10.2174/1566524019666190321113544>
- Lin H.Y., Lai P.C., Chen W.L. A narrative review of hydrogen-oxygen mixture for medical purpose and the inhaler thereof // *Med. Gas Res.* 2020. V. 10. № 4. P. 193–200.  
<https://doi.org/10.4103/2045-9912.295226>
- Liu S., Liu K., Sun Q. *et al.* Consumption of hydrogen water reduces paraquat-induced acute lung injury in rats // *J. Biomed. Biotechnol.* 2011. V. 2011. P. 305086.  
<https://doi.org/10.1155/2011/305086>
- Lu H., Chen W., Liu W. *et al.* Molecular hydrogen regulates PTEN-AKT-mTOR signaling via ROS to alleviate peritoneal dialysis-related peritoneal fibrosis // *FASEB J.* 2020. V. 34. № 3. P. 4134–4146.  
<https://doi.org/10.1096/fj.201901981R>
- Lubitz W., Ogata H., Rüdiger O., Reijerse E. Hydrogenases // *Chem. Rev.* 2014. V. 114. № 8. P. 4081–4148.  
<https://doi.org/10.1021/cr4005814>
- Machado L., Magnusson M., Paul N.A. *et al.* Effects of marine and freshwater macroalgae on *in vitro* total gas and methane production // *PLoS One.* 2014. V. 9. № 1. P. e85289.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085289>
- Mailhe M., Ricaboni D., Vitton V. *et al.* Repertoire of the gut microbiota from stomach to colon using culturomics and next-generation sequencing // *BMC Microbiol.* 2018. V. 18. № 1. P. 157.  
<https://doi.org/10.1186/s12866-018-1304-7>
- Matijašić M., Meštrović T., Paljetak H.Ć. *et al.* Gut microbiota beyond bacteria – mycobiome, virome, archaeome, and eukaryotic parasites in IBD // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 8. P. 2668.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21082668>
- Miller T.L., Wolin M.J., Conway de Macario E., Macario A.J. Isolation of *Methanobrevibacter smithii* from human feces // *Appl. Environ. Microbiol.* 1982. V. 43. № 1. P. 227–232.  
<https://doi.org/10.1128/aem.43.1.227-232.1982>
- Mizrahi I., Wallace R.J., Moraïs S. The rumen microbiome: balancing food security and environmental impacts // *Nat. Rev. Microbiol.* 2021. V. 19. № 9. P. 553–566.  
<https://doi.org/10.1038/s41579-021-00543-6>
- Modesto A., Cameron N.R., Varghese C. *et al.* Meta-analysis of the composition of human intestinal gases // *Dig. Dis. Sci.* 2021.  
<https://doi.org/10.1007/s10620-021-07254-1>
- Nakayama M., Itami N., Suzuki H. Novel haemodialysis (HD) treatment employing molecular hydrogen (H<sub>2</sub>)-enriched dialysis solution improves prognosis of chronic dialysis patients: a prospective observational study // *Sci. Rep.* 2018a. V. 8. № 1. P. 254.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-18537-x>
- Nakayama M., Watanabe K., Hayashi Y. *et al.* Translational research of peritoneal dialysis solution with dissolved molecular hydrogen // *Contrib. Nephrol.* 2018b. V. 196. P. 162–170.  
<https://doi.org/10.1159/000485717>
- Nishijima S., Suda W., Oshima K. *et al.* The gut microbiome of healthy Japanese and its microbial and functional uniqueness // *DNA Res.* 2016. V. 23. № 2. P. 125–133.  
<https://doi.org/10.1093/dnares/dsw002>
- Nishimura N., Tanabe H., Komori E. *et al.* Transplantation of high hydrogen-producing microbiota leads to generation of large amounts of colonic hydrogen in recipient rats fed high amylose maize starch // *Nutrients.* 2018. V. 10. № 2. P. 144.  
<https://doi.org/10.3390/nu10020144>
- Nkamga V., Armstrong N., Drancourt M. *In vitro* susceptibility of cultured human methanogens to lovastatin // *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2017. V. 49. № 2. P. 176–182.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.09.026>
- Ohsawa I., Ishikawa M., Takahashi K. *et al.* Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals // *Nat. Med.* 2007. V. 13. № 6. P. 688–694.  
<https://doi.org/10.1038/nm1577>
- Ohsawa I., Nishimaki K., Yamagata K. *et al.* Consumption of hydrogen water prevents atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. V. 377. № 4. P. 1195–1198.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.10.156>
- Ono H., Nishijima Y., Adachi N. *et al.* A basic study on molecular hydrogen (H<sub>2</sub>) inhalation in acute cerebral ischemia patients for safety check with physiological parameters and measurement of blood H<sub>2</sub> level // *Med. Gas Res.* 2012. V. 2. № 1. P. 21.  
<https://doi.org/10.1186/2045-9912-2-21>
- Parker A., Fonseca S., Carding S.R. Gut microbes and metabolites as modulators of blood-brain barrier integrity and brain health // *Gut Microbes.* 2020. V. 11. № 2. P. 135–157.  
<https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1638722>
- Patra A., Park T., Kim M., Yu Z. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances // *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2017. V. 8. P. 13.  
<https://doi.org/10.1186/s40104-017-0145-9>
- Pickard J.M., Zeng M.Y., Caruso R., Núñez G. Gut microbiota: role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease // *Immunol. Rev.* 2017. V. 279. № 1. P. 70–89.  
<https://doi.org/10.1111/imr.12567>
- Pimentel M., Saad R.J., Long M.D., Rao S.S.C. ACG clinical guideline: small intestinal bacterial overgrowth // *Am. J. Gastroenterol.* 2020. V. 115. № 2. P. 165–178.  
<https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000000501>
- Reinhardt C., Bergental M., Greiner T.U. *et al.* Tissue factor and PAR1 promote microbiota-induced intestinal vascular remodeling // *Nature.* 2012. V. 483. № 7391. P. 627–631.  
<https://doi.org/10.1038/nature10893>
- Reisinger A., Clark H., Cowie A.L. *et al.* How necessary and feasible are reductions of methane emissions from livestock to support stringent temperature goals? // *Philos. Trans. A Math. Phys. Eng. Sci.* 2021. V. 379. № 2210. P. 20200452.  
<https://doi.org/10.1098/rsta.2020.0452>
- Rezaie A., Buresi M., Lembo A. *et al.* Hydrogen and methane-based breath testing in gastrointestinal disorders:

- The North American Consensus // *Am. J. Gastroenterol.* 2017. V. 112. № 5. P. 775–784.  
<https://doi.org/10.1038/ajg.2017.46>
- Robertson R.C., Manges A.R., Finlay B.B., Prendergast A.J. The human microbiome and child growth - first 1000 days and beyond // *Trends Microbiol.* 2019. V. 27. № 2. P. 131–147.  
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.09.008>
- Roque B.M., Brooke C.G., Ladau J. et al. Effect of the macroalgae *Asparagopsis taxiformis* on methane production and rumen microbiome assemblage // *Anim. Microbiome.* 2019. V. 1. № 1. P. 3.  
<https://doi.org/10.1186/s42523-019-0004-4>
- Sahakian A.B., Jee S.R., Pimentel M. Methane and the gastrointestinal tract // *Dig. Dis. Sci.* 2010. V. 55. № 8. P. 2135–2143.  
<https://doi.org/10.1007/s10620-009-1012-0>
- Sakai T., Sato B., Hara K. et al. Consumption of water containing over 3.5 mg of dissolved hydrogen could improve vascular endothelial function // *Vasc. Health Risk Manag.* 2014. V. 10. P. 591–597.  
<https://doi.org/10.2147/VHRM.S68844>
- Sender R., Fuchs S., Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body // *PLoS Biol.* 2016. V. 14. № 8. P. e1002533.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>
- Shin W. Medical applications of breath hydrogen measurements // *Anal. Bioanal. Chem.* 2014. V. 406. № 16. P. 3931–3939.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-013-7606-6>
- Sickerman N.S., Hu Y. Hydrogenases // *Methods Mol. Biol.* 2019. V. 1876. P. 65–88.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8864-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8864-8_5)
- Simrén M., Stotzer P.O. Use and abuse of hydrogen breath tests // *Gut.* 2006. V. 55. № 3. P. 297–303.  
<https://doi.org/10.1136/gut.2005.075127>
- Slezak J., Kura B., LeBaron T.W. et al. Oxidative stress and pathways of molecular hydrogen effects in medicine // *Curr. Pharm. Des.* 2021. V. 27. № 5. P. 610–625.  
<https://doi.org/10.2174/1381612826666200821114016>
- Smith N.W., Shorten P.R., Altermann E.H. et al. Hydrogen cross-feeders of the human gastrointestinal tract // *Gut Microbes.* 2019. V. 10. № 3. P. 270–288.  
<https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1546522>
- Søndergaard D., Pedersen C.N.S., Greening C. HydDB: a web tool for hydrogenase classification and analysis // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. № 1. P. 34212.  
<https://doi.org/10.1038/srep34212>
- Soliva C.R., Amelchanka S.L., Duval S.M., Kreuzer M. Ruminant methane inhibition potential of various pure compounds in comparison with garlic oil as determined with a rumen simulation technique (Rusitec) // *Br. J. Nutr.* 2011. V. 106. № 1. P. 114–122.  
<https://doi.org/10.1017/S0007114510005684>
- Spanogiannopoulos P., Bess E.N., Carmody R.N., Turnbaugh P.J. The microbial pharmacists within us: a metagenomic view of xenobiotic metabolism // *Nat. Rev. Microbiol.* 2016. V. 14. № 5. P. 273–287.  
<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.17>
- Staley J.T., Konopka A. Measurement of *in situ* activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats // *Annu. Rev. Microbiol.* 1985. V. 39. P. 321–346.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.mi.39.100185.001541>
- Strocchi A., Levitt M.D. Factors affecting hydrogen production and consumption by human fecal flora. The critical roles of hydrogen tension and methanogenesis // *J. Clin. Invest.* 1992. V. 89. № 4. P. 1304–1311.  
<https://doi.org/10.1172/JCI115716>
- Takakura W., Oh S.J., Singer-Englar T. et al. Comparing the rates of methane production in patients with and without appendectomy: results from a large-scale cohort // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. Art. 867.
- Tamura T., Hayashida K., Sano M. et al. Feasibility and safety of hydrogen gas inhalation for post-cardiac arrest syndrome – first-in-human pilot study // *Circ. J.* 2016. V. 80. № 8. P. 1870–1873.  
<https://doi.org/10.1253/circj.CJ-16-0127>
- Tamura T., Hayashida K., Sano M. et al. Efficacy of inhaled HYdrogen on neurological outcome following BRain Ischemia During post-cardiac arrest care (HYBRID II trial): study protocol for a randomized controlled trial // *Trials.* 2017. V. 18. № 1. P. 488.  
<https://doi.org/10.1186/s13063-017-2246-3>
- Tamura T., Suzuki M., Hayashida K. et al. Hydrogen gas inhalation alleviates oxidative stress in patients with post-cardiac arrest syndrome // *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2020. V. 67. № 2. P. 214–221.  
<https://doi.org/10.3164/jcbn.19-101>
- Vartoukian S.R., Palmer R.M., Wade W.G. Strategies for culture of “unculturable” bacteria // *FEMS Microbiol. Lett.* 2010. V. 309. № 1. P. 1–7.  
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02000.x>
- Vignais P.M., Billoud B. Occurrence, classification, and biological function of hydrogenases: an overview // *Chem. Rev.* 2007. V. 107. № 10. P. 4206–4272.  
<https://doi.org/10.1021/cr050196r>
- Vijn S., Compart D.P., Dutta N. et al. Key considerations for the use of seaweed to reduce enteric methane emissions from cattle // *Front. Vet. Sci.* 2020. V. 7. P. 597430.  
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.597430>
- Wahlström A., Sayin S.I., Marschall H.-U., Bäckhed F. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism // *Cell Metab.* 2016. V. 24. № 1. P. 41–50.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.005>
- Wang Y., Jing L., Zhao X.M. et al. Protective effects of hydrogen-rich saline on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in a rat model // *Respir. Res.* 2011. V. 12. № 1. P. 26.  
<https://doi.org/10.1186/1465-9921-12-26>
- Wang W.L., Ge T.Y., Chen X. et al. Advances in the protective mechanism of NO, H<sub>2</sub>S, and H<sub>2</sub> in myocardial ischemic injury // *Front. Cardiovasc. Med.* 2020. V. 7. P. 588206.  
<https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.588206>
- Wilck N., Matus M.G., Kearney S.M. et al. Salt-responsive gut commensal modulates T<sub>H</sub>17 axis and disease // *Nature.* 2017. V. 551. № 7682. P. 585–589.  
<https://doi.org/10.1038/nature24628>
- Wolf P.G., Biswas A., Morales S.E. et al. H<sub>2</sub> metabolism is widespread and diverse among human colonic microbes // *Gut Microbes.* 2016. V. 7. № 3. P. 235–245.  
<https://doi.org/10.1080/19490976.2016.1182288>
- Zhao L., Zhang F., Ding X. et al. Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes // *Science.* 2018. V. 359. № 6380. P. 1151–1156.  
<https://doi.org/10.1126/science.aao5774>

## **Role of Human and Animal Microbiome's Hydrogen and Methane in an Antioxidant Organism Defense**

**O. S. Medvedev<sup>a, b, \*</sup>**

*<sup>a</sup>Department of Pharmacology, Faculty of Basic Medicine,  
Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

*<sup>b</sup>Laboratory of Experimental Pharmacology, Institute of Experimental Cardiology,  
National Medical Research Cardiology Centre, Ministry of Public Health, Moscow, Russia*

*\*e-mail: oleg.omedvedev@gmail.com*

Review. The current view on the microbiome of the gastrointestinal tract and details on its fermentative activity is presented. Types of hydrogenases, participating in generation and utilization of hydrogen are discussed with the special focus on the role bacterial and archaeal groups of enzymes. The main differences between bacteria and archei are shown. An analysis of the antioxidant activity of molecular hydrogen is done with the suggestion to personalized use of exogenous (hydrogen-rich water, inhalation) and internal (from colonic microbiota). A proposal is made to use inhibitors of archaeal methanogenesis in order to save the intraintestinal pool of hydrogen in order to improve antioxidant status of organism. A number of pharmacological methanogen inhibitors is mentioned. The principles of the cooperative use of endogenous and exogenous hydrogen are proposed.

*Keywords:* gut microbiome, hydrogen, hydrogenases, methanogens, archei inhibitors, antioxidants

УДК 612.3:547.458:544.3.03:616.348.002.44:615

## НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДОСТАВКИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ И ПИЩЕВЫХ НУТРИЕНТОВ ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА

© 2022 г. М. Г. Семенова\*

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

\*e-mail: mariagersem@mail.ru

Поступила в редакцию 29.03.2022 г.

После доработки 29.03.2022 г.

Принята к публикации 30.03.2022 г.

Представлены новые методы инкапсулирования пробиотиков и других биологически активных веществ при помощи пищевых биополимеров. Такое инкапсулирование необходимо для защиты этих фармакологически активных ингредиентов от неблагоприятных условий окружающей среды и их целевой пероральной доставки с контролируемым высвобождением в толстом кишечнике. К представленным методам инкапсулирования относятся следующие: микрокапсулирование с использованием различных видов высушивания; электропрядение; формирование двойных эмульсий; а также интегрированный метод, объединяющий инкапсулирование, 3D-печать и сублимационную сушку. Показано, что использование биополимерных систем доставки пробиотиков и биологически активных веществ в кишечный тракт может быть перспективной стратегией для восстановления баланса кишечной экосистемы и предотвращения или лечения различных заболеваний.

**Ключевые слова:** пробиотики, пребиотики, постбиотики, микрокапсулы, пищевые биополимеры, некрахмальные полисахариды

**DOI:** 10.31857/S0042132422040093

### ВВЕДЕНИЕ

За последние годы достигнуто более глубокое понимание ключевой роли кишечного микробиома, представляющего собой отдельную группу анаэробных полезных бактерий (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Roseburia*, *Faecalibacterium*, *Anaerostipes*, *Coprococcus* и т.д.), в поддержании здоровья человека (Pascale et al., 2019; Raza et al., 2019; Tang et al., 2019). На данный момент известно, что микробиота кишечника образует барьер против инвазивных патогенных бактерий (ротавирусов, *Helicobacter pylori*, *Salmonella*) и оказывает большое влияние как на метаболизм, так и на всасывание питательных веществ в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) (Pascale et al., 2019; Raza et al., 2019; Tang et al., 2019; Razavi et al., 2021). Кроме того, было установлено, что различные пробиотические штаммы: *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* — могут быть использованы для борьбы с COVID-19 (Baud et al., 2020). Таким образом, потребление таких пробиотиков может быть альтернативной терапией во время пандемии COVID-19.

При этом барьер против инвазивных патогенных бактерий создается как самими полезными

бактериями через их воздействие на эпителиальные и иммунные клетки кишечника, так и продуктами метаболизма этих бактерий — так называемыми постбиотиками и метаболитами, — в состав которых входят аминокислоты, биологически активные пептиды, витамины, органические кислоты, ацетальдегиды, этанол, диацетил и перекись водорода (Averina, Danilenko, 2017; Misra et al., 2019, 2022; Vallianou et al., 2020; Yunes et al., 2020). Эти продукты метаболизма проявляют широкое ингибирующее действие по отношению к патогенам, так что они могут даже использоваться в качестве альтернативы антибиотикам. Кроме того, они могут регулировать иммунную и нервную систему организма.

В связи с этим в настоящее время отдается предпочтение потреблению полезных бактерий, так называемых пробиотиков (*Bifidobacterium lactis*, *Bacteroides fragilis*, *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, *Bifidobacterium breve*) в составе пищевых продуктов или в виде пищевых добавок, а не приему синтетических лекарств. Однако, чтобы выполнить свою профилактическую и оздоровительную функцию, пробиотики должны оставаться метаболически активными в процессах пищевых производств и хранения пищевых продуктов, а также после их

потребления и прохождения через агрессивную кислую (рН = 1.0–2.0) среду желудка с итоговой численностью более  $10^6$ – $10^7$  КОЕ/мл в кишечнике животного или человека. Таким образом, этот обзор посвящен рассмотрению новых технологий микро- и нанокапсулирования для сохранения и доставки пробиотиков, а также биологически активных ингредиентов и пищевых нутриентов для регуляции метаболизма микробиома кишечника.

### МЕТОДЫ ИНКАПСУЛИРОВАНИЯ ПРОБИОТИКОВ ДЛЯ ИХ ЗАЩИТЫ И ЦЕЛЕВОЙ ДОСТАВКИ С КОНТРОЛИРУЕМЫМ ВЫСВОБОЖДЕНИЕМ В ТОЛСТОМ КИШЕЧНИКЕ

Пероральная доставка пробиотиков в ЖКТ может быть потенциальной стратегией для восстановления баланса кишечной экосистемы и предотвращения или лечения болезней (Zhu et al., 2021). Однако микроокружение в ЖКТ представляет собой серьезную проблему для жизнеспособности пробиотиков, в том числе экстремально кислая среда желудка, желчные соли, различные ферменты, лекарства. Пищевые биополимеры и совершенствование существующих технологий инкапсулирования, а также разработка их новых видов, может обеспечить и выживание пробиотиков, и повышенную колонизацию и адгезию пробиотиков в кишечнике.

Среди разрабатываемых в настоящее время способов защиты пробиотиков и их целенаправленной доставки в толстый кишечник, микрокапсулирование является наиболее перспективным методом, привлекающим основное внимание исследователей. Микрокапсулирование – это метод сохранения жизнеспособности пробиотических штаммов, которые захватываются пищевым биополимерным материалом-носителем, предотвращающим разрушение клеточной массы или повреждение клеток и обеспечивающим их целенаправленное и контролируемое высвобождение в кишечнике в адекватном количестве (Ermis, 2021; Misra et al., 2022).

В связи с этим в создании таких микрокапсул активно изучаются возможности использования некрахмальных полисахаридов, неперевариваемых в верхних отделах ЖКТ и способных к гелеобразованию по различным механизмам (иотропное и термотропное). К ним, например, относятся альгинат натрия, каррагинан, хитозан, инулин, а также их комбинации (Poeker et al., 2018; Aguirre-Calvo et al., 2020; Asadpoor et al., 2020; Lopez-Santamarina et al., 2020; Shah et al., 2020). При этом все большее внимание уделяется эффективному пероральному введению различных штаммов пробиотических бактерий с помощью таких полисахаридов (Fernández et al., 2016; Zheng et al., 2017; Eckert et al., 2018).

Кроме того, при разработке новых функциональных пищевых продуктов большой интерес в последнее время, особенно во время вспышки COVID-19, вызывают характеристики физико-химических свойств микрокапсул и механизмы регулируемого высвобождения из них инкапсулированных веществ (Misra et al., 2022).

#### *Создание микрокапсул пробиотиков с помощью пищевых биополимеров и различных методов высушивания*

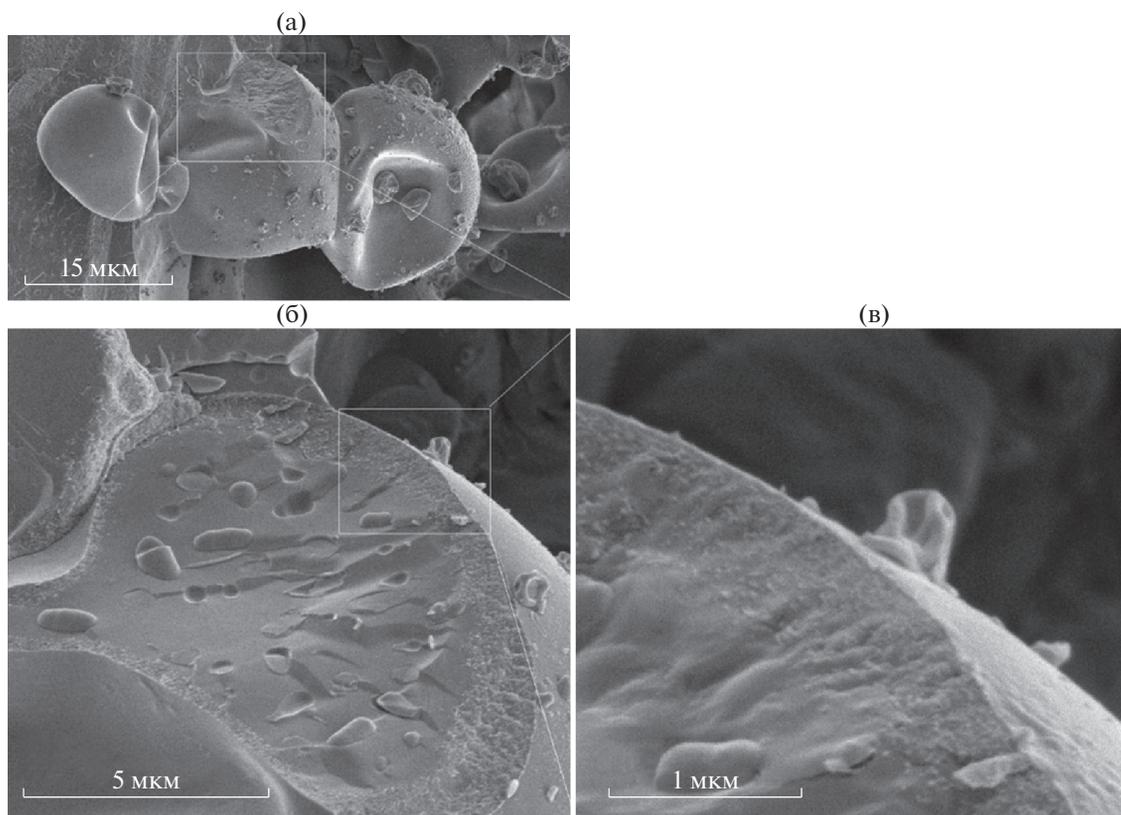
Конечный продукт технологии микрокапсулирования может представлять собой, например, порошок отдельных частиц в виде микросфер с размером от 1 до 1000 мкм, полученных с помощью различных методов высушивания и их комбинаций (лиофильной, вакуумной, распылительной, в кипящем слое или микроволновой лиофильной сушки) (Zhu et al., 2021; Misra et al., 2022). При этом, чтобы избежать порчи бактериальных клеток, предпочтению отдается использованию низкой температуры, а также как можно менее продолжительному времени сушки (Ambros et al., 2018).

Образовавшиеся микрокапсулы относят либо к резервуарному (рис. 1) (Moreno et al., 2022), либо к матричному типу (Misra et al., 2022). В микрокапсулах матричного типа происходит равномерное распределение активных веществ по биополимерному материалу-носителю, как правило, гелеобразному, тогда как в микрокапсулах резервуарного типа вокруг ядра, содержащего активное вещество, наносится оболочка пищевого биополимерного материала-носителя (Zhu et al., 2021; Misra et al., 2022).

Одно из важных требований к таким микрокапсулам – сохранение их целостности в пищевой матрице и в верхних отделах ЖКТ, а также способность к целенаправленному высвобождению захваченных клеток в процессе прохождения кишечной фазы (Zhu et al., 2021; Misra et al., 2022). При этом для достижения контролируемого высвобождения пробиотиков используются комбинации некрахмальных полисахаридов и пищевых белков – молочных (изолят сывороточных белков и казеинат) и растительных (Shah et al., 2020; Zhu et al., 2021; Misra et al., 2022).

#### *Двойные эмульсии вода–масло–вода для инкапсулирования пробиотиков*

Успешно произведено (Pandey et al., 2021) инкапсулирование пробиотика *Lactobacillus plantarum* совместно с  $\gamma$ -аминомасляной кислотой (ГАМК) в микрокапсулы, представляющие собой двойную эмульсию (вода–масло–вода), полученную с помощью двухэтапного процесса ультразвуковой обработки с использованием декстрана и сывороточного белка. При этом ГАМК помогала стаби-



**Рис. 1.** СЭМ-изображения, показывающие общую структуру микрокапсул типа ядро–оболочка для *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*: (а) – поперечное сечение микрокапсулы; (б) – клетки *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, распределенные внутри ядра микрокапсул; (в) – поверхность раздела между этилцеллюлозой (оболочка) и глицерином (ядро) (по: Moreno et al., 2022, согласно полученному разрешению).

лизировать первичную (вода–масло) эмульсию и использовалась в качестве маркера инкапсулирования. Установлено, что более  $10^9$  КОЕ/мл лактобактерий сохраняют свою жизнеспособность в процессе ультразвуковой обработки в течение 200 с. Также важно отметить, что инкапсулированные бактерии жизнеспособны ( $10^5$ – $10^7$  КОЕ/мл) и остаются инкапсулированными после воздействия последовательного переваривания, тогда как свободные бактерии погибают.

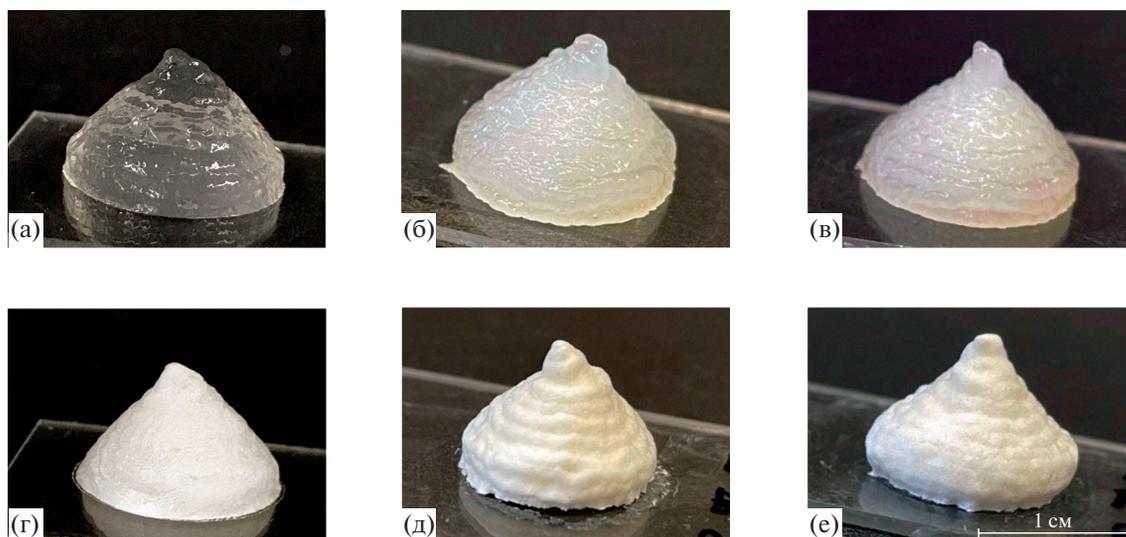
*Электропрядение с помощью растворов биополимеров для инкапсулирования пробиотиков*

Электропрядение – это передовая технология, которая формирует микро/нановолокна с помощью растворов полимеров и применения сильного электрического поля. Процесс электропрядения достаточно мягкий и может привести к иммобилизации пробиотиков за один шаг и при этом избежать каких-либо вредных последствий повышенных температур, используемых в различных распылительных сушках, или действия масляной фазы при эмульсионных методах инкапсулирования (Ghorbani, Maryam, 2021; Zhu et al., 2021).

*Интегрированный метод, состоящий из инкапсулирования, 3D-печати и сублимационной сушки*

Недавно получены удобные пищевые носители для доставки пробиотиков на основе смешанного гидрогеля альгината натрия (А) и желатина (Ж) с использованием интегрированного метода инкапсулирования, 3D-печати и сушки вымораживанием (Kuo et al., 2022). Композиции (3 г твердых веществ в 100 г раствора при весовом соотношении А/Ж = 1/2, 5 г твердых веществ в 100 г раствора при весовом соотношении А/Ж = 1/1 (рис. 2) и 7 г твердых веществ в 100 г раствора при весовом соотношении А/Ж = 2/1) показали большой потенциал для достижения этой цели. Важные для 3D-печати реологические свойства (характеристики текучести и вязкоупругости) гидрогелей А/Ж существенно не изменились при инкапсулировании с их помощью изученных бактерий.

В целом количество жизнеспособных бактерий в созданном таким образом пищевом носителе поддерживалось на уровне более  $10^9$  КОЕ/г и  $10^6$  КОЕ/г для *B. lactis* и *L. acidophilus* соответственно, что отвечало требованиям к пробиотической пище. При этом количество *B. lactis* сохраня-



**Рис. 2.** Изображения 3D-печатных альгинатно-желатиновых (А/Ж) гидрогелей в составе 5 г твердых веществ в 100 г раствора при весовом соотношении А/Ж = 1/1: без инкапсулирования (а) и после лиофилизации (г); с инкапсулированными *B. lactis* до (б) и после лиофилизации (д); с инкапсулированными *L. acidophilus* до (в) и после лиофилизации (е) (по: Kuo et al., 2022, согласно полученному разрешению).

лось выше  $10^6$  КОЕ/г даже после 8 нед. хранения пищевого носителя при комнатной температуре.

Это исследование продемонстрировало, что интегрированный метод, состоящий из инкапсулирования, 3D-печати и сублимационной сушки, имеет потенциал для производства удобных закусок длительного хранения или других продуктов, в которые можно добавлять живые пробиотики с индивидуальными штаммами и дозировкой.

#### ПРЕБИОТИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ РЯДА ПИЩЕВЫХ ВЕЩЕСТВ И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА

Хорошо известно, что пищевые полисахариды/олигосахариды, обладающие свойствами пищевых волокон, могут быть ферментированы бактериями толстого кишечника (Mathieu et al., 2018; Shah et al., 2020). В частности, интересно отметить, что у бактерий типа *Bacteroidetes* гены, которые кодируют ферменты, участвующие в деградации полисахаридов, часто локализованы и совместно регулируются в так называемых локусах утилизации полисахаридов PULs (polysaccharide utilization loci). PULs, предназначенные для разложения морских полисахаридов (например, альгината – основного полисахарида клеточной стенки бурых водорослей), охарактеризованы у морских бактерий. Анализ сходства последовательностей указывает, что микробиом кишечника человека также кодирует ферменты для деградации альгината. Проведенная функциональная характеристика различных полисахаридных лиаз из

семейства PL17, часто встречающихся у морских бактерий, а также у кишечных бактерий человека, показывает, что это семейство является полиспецифическим (Mathieu et al., 2018).

В результате ферментации полисахаридов кишечными бактериями увеличивается как популяция полезных бактерий толстой кишки, особенно *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* (Fernández et al., 2016; Lopez-Santamarina et al., 2020), так и их активность – образование различных биоактивных веществ, метаболитов и постбиотиков, которые оказывают благотворное влияние на организм (Fernández et al., 2016; Chambers et al., 2018; Mathieu et al., 2018; Tian et al., 2018; Lopez-Santamarina et al., 2020). Иными словами, такие пищевые биополимеры могут проявлять ярко выраженные пребиотические свойства.

Среди наиболее важных метаболитов толстой кишки можно, например, выделить короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), в основном ацетат, пропионат и бутират, которые считаются биомаркерами здорового/нездорового состояния толстой кишки (Aguirre-Calvo et al., 2020). КЦЖК способны регулировать иммунные ответы, проявляют антиоксидантную, противоопухолевую и противовоспалительную активность *in situ* (Fernández et al., 2016; Chambers et al., 2018; Molino et al., 2018; Tian et al., 2018; Alexander et al., 2019; Aguirre-Calvo et al., 2020). Недавно обнаружено значительное увеличение как продуцирования, так и биологической активности КЦЖК в результате пребиотического воздействия некоторых полисахаридов: декстрана, гуаровой камеди, низко-метоксилированного пектина,  $\text{Ca}^{2+}$ -альгинатных гранул, инулина,  $\beta$ -глю-

**Таблица 1.** Примеры пищевых биополимеров, применяемых при микрокапсулировании пробиотиков и биологически активных веществ, используемых для регулирования метаболизма кишечного микробиома

Биополимерная инкапсулирующая система	Типы пробиотиков и биологически активных веществ	Метод инкапсулирования	Оказываемое влияние на метаболизм микробиома	Источник
Низкомокселированный пектин–Ca <sup>2+</sup>	<i>Lactobacillus fermentum</i> ; <i>Lactobacillus plantarum</i>	Микрокапсулирование ионотропным гелеобразованием	Повышает количество полезных бактерий и способствует уменьшению воспаления слизистой оболочки кишечника	Sun et al., 2020
Альгинат натрия–хитозан	<i>Bacillus coagulans</i>	Микрокапсулирование многослойным инкапсулированием	Улучшает адгезию к кишечному эпителию и увеличивает пролиферацию пробиотиков	Anselmo et al., 2016
Альгинат натрия–поли-L-лизин–хитозан	<i>Lactococcus lactis</i> ; <i>Lactobacillus plantarum</i>	Микрокапсулирование ионотропным гелеобразованием	Производство фолиевой кислоты <i>in situ</i> и способность к обмену питательными веществами	Ramos et al., 2016
Альгинат натрия–желатинизированный кукурузный крахмал	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 23,527 LGG; <i>Lactobacillus acidophilus</i> (LA5); <i>Bifidobacterium bifidum</i>	Электропрядение смешанных растворов биополимеров	Повышает количество и активность полезных бактерий	Ghorbani, Maryam, 2021
ЭДТА–Ca <sup>2+</sup> -альгинат	<i>L. rhamnosus</i> ATCC 53103	Микрокапсулирование формированием ионотропного гидрогеля	Повышает количество полезных бактерий	Zheng et al., 2017
Декстран–концентрат сывороточных белков молока	<i>Lactobacillus plantarum</i> + $\gamma$ -аминомасляная кислота	Микрокапсулирование формированием двойной эмульсии вода–масло–вода	Повышает количество полезных бактерий	Pandey et al., 2021

кана – на микробиом кишечника в моделях непрерывной ферментации *in vitro* (Molino et al., 2018; Poeker et al., 2018; Aguirre-Calvo et al., 2020).

Кроме того, олигосахариды – галакто-фруктозо-, хито-олигосахариды и др. – могут оказывать антипатогенное воздействие на микробиом кишечника в зависимости от их типа и структурных характеристик (Asadpoor et al., 2020). Также установлено, что комбинации штаммов пробиотических бактерий, обладающих определенными полезными свойствами, с пребиотиками – так называемые синбиотики – могут существенно усилить это воздействие (Shokryazdan et al., 2017; Sredkova et al., 2020).

В дополнение к этому недавние исследования предлагают ряд низкомолекулярных нутрицевтиков: омега-3-ПНЖК (полиненасыщенные жирные кислоты), полифенолы, фенольные соединения грибов – в качестве кандидатов на роль пре-

биотиков (Santander-Ortega et al., 2017; Ma et al., 2018; Alves-Santos et al., 2020; Sudhakaran, Doseff, 2020; Vijay et al., 2021). Так, показано (Vijay et al., 2021), что добавление омега-3-ПНЖК изменяет состав микробиома кишечника и приводит к значительному увеличению производства изобутирата, изовалериата и бутирата. Кроме того, продемонстрировано (Alves-Santos et al., 2020), что потребление полифенолов, особенно катехинов, антоцианов и проантоцианидинов, увеличивало как численность видов полезных бактерий (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Akkermansia*, *Roseburia*, *Faecalibacterium* spp.), так и производство КЦЖК, в том числе бутирата.

Также следует отметить, что за последнее десятилетие постепенно возрос интерес (Santalices et al., 2017; Santander-Ortega et al., 2017) к использованию полисахаридных наноносителей для пероральной доставки терапевтических белков и

пептидов (инсулин, желудочно-кишечные гормоны: лептин или вазоактивные кишечные пептиды и т.д.). Для сохранения биологической активности этих соединений и предотвращения их гидролиза пищеварительными ферментами и преждевременной деградации в ЖКТ проводилось добавление неперевариваемых полисахаридов (водорастворимых пищевых волокон) либо в объем, либо на поверхность разработанных систем доставки.

Примеры разработанных на основе комбинаций пищевых биополимеров микрокапсул для эффективной и целенаправленной доставки пробиотиков и пребиотиков в толстый кишечник представлены в табл. 1.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, приведенные многообещающие данные указывают на возможность и перспективность разработки высокоэффективных систем пероральной доставки новых полезных штаммов пробиотиков и их метаболитов с помощью пищевых пребиотиков, главным образом некрахмальных полисахаридов.

При этом новые достижения в области нанотехнологий позволяют создавать новые наноразмерные “умные” системы (реагирующие на внешние стимулы) пероральной доставки, поведение которых будет зависеть от физиологических условий ЖКТ. Такие системы доставки могут избирательно защищать или высвобождать инкапсулированные вещества в определенном месте пищеварительного тракта для их адресной доставки и повышения биодоступности (Semenova et al., 2021, 2022).

Кроме того, учитывая внедрение в глобальный рынок новых форм упаковки пробиотиков с помощью пребиотиков, ожидается, что разработка новых технологий для их наиболее эффективного промышленного производства и использования, а также подтверждение их биологической активности, сделают их более значимыми в поддержании здоровья в ближайшие несколько лет (Farias et al., 2020).

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Aguirre-Calvo T.R., Molino S., Perullini M. et al. Effect of *in vitro* digestion-fermentation of Ca(II)-alginate beads containing sugar and biopolymers over global antioxi-

dant response and short chain fatty acids production // Food Chem. 2020. V. 333. P. 127483.  
https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127483

Alexander C., Swanson K.S., Fahey G.C.Jr., Garleb K.A. Perspective: physiologic importance of short-chain fatty acids from nondigestible carbohydrate fermentation // Adv. Nutr. 2019. V. 10. № 4. P. 576–589.  
https://doi.org/10.1093/advances/nmz004

Alves-Santos A.M., Sugizaki C.S.A., Lima G.C., Naves M.M.V. Prebiotic effect of dietary polyphenols: a systematic review // J. Funct. Foods. 2020. V. 74. P. 104169.  
https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104169

Ambros S., Mayer R., Schumann B., Kulozik U. Microwave-freeze drying of lactic acid bacteria: influence of process parameters on drying behavior and viability // Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 2018. V. 48. P. 90–98.  
https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.05.020

Anselmo A.C., McHugh K.J., Webster J. et al. Layer-by-layer encapsulation of probiotics for delivery to the microbiome // Adv. Mater. 2016. V. 28. P. 9486–9490.  
https://doi.org/10.1002/adma.201603270

Asadpoor M., Peeters C., Henricks P.A.J. et al. Anti-pathogenic functions of non-digestible oligosaccharides *in vitro* // Nutrients. 2020. V. 12. № 6. P. 1789.  
https://doi.org/10.3390/nu12061789

Averina O.V., Danilenko V.N. Human intestinal microbiota: role in development and functioning of the nervous system // Microbiologia. 2017. V. 86. № 1. P. 5–24.  
https://doi.org/10.1134/S0026261717010040

Baud D., Agri V.D., Gibson G.R. et al. Using probiotics to flatten the curve of coronavirus disease COVID-2019 pandemic // Front. Public Health. 2020. V. 8. P. 186.  
https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00186

Chambers E.S., Preston T., Frost G., Morrison D.J. Role of gut microbiota generated short-chain fatty acids in metabolic and cardiovascular health // Curr. Nutr. Rep. 2018. V. 7. № 4. P. 198–206.  
https://doi.org/10.1007/s13668-018-0248-8

Eckert C., Dall Agnol W., Dallé D. et al. Development of alginate-pectin microparticles with dairy whey using vibration technology: effects of matrix composition on the protection of *Lactobacillus* spp. from adverse conditions // Food Res. Int. 2018. V. 113. P. 65–73.  
https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.001

Ermis E. A review of drying methods for improving the quality of probiotic powders and characterization // Drying Technol. 2021. V. 85. P. 1–18.  
https://doi.org/10.1080/07373937.2021.1950169

Farias D.P., De Araújo F.F., Neri-Numa I.A., Pastore G.M. Prebiotics: trends in food, health and technological applications // Tr. Food Sci. Technol. 2020. V. 93. P. 23–35.  
https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.004

Fernández J., Redondo S., Gutiérrez-Del-Río-Menéndez I. et al. Colon microbiota fermentation of dietary prebiotics towards short-chain fatty acids and their roles as anti-inflammatory and antitumour agents: a review // J. Funct. Foods. 2016. V. 25. P. 511–522.  
https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.06.032

Ghorbani S., Maryam A. Encapsulation of lactic acid bacteria and bifidobacteria using starch-sodium alginate nanofibers to enhance viability in food model //

- J. Food Proc. Preserv. 2021. V. 45. № 12. P. e16048.  
<https://doi.org/10.1111/jfpp.16048>
- Kuo Ch.-Ch., Clark S., Qin H., Shi X.** Development of a shelf-stable, gel-based delivery system for probiotics by encapsulation, 3D printing, and freeze-drying // *Food Sci. Technol.* 2022. V. 157. P. 113075.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113075>
- Lopez-Santamarina A., Del Carmen Mondragon A., Lamas A. et al.** Animal-origin prebiotics based on chitin: an alternative for the future? A critical review // *Foods*. 2020. V. 9. № 6. P. 782.  
<https://doi.org/10.3390/foods9060782>
- Ma G., Yang W., Zhao L. et al.** A critical review on the health promoting effects of mushrooms nutraceuticals // *Food Sci. Hum. Well.* 2018. V. 7. Iss. 2. P. 125–133.  
<https://doi.org/10.1016/J.FSHW.2018.05.002>
- Mathieu S., Touvrey-Loiodice M., Poulet L. et al.** Ancient acquisition of “alginate utilization loci” by human gut microbiota // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. P. 8075.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-26104-1>
- Misra S., Mohanty D., Mohapatra S.** Applications of probiotics as a functional ingredient in food and gut health // *J. Food Nutr. Res.* 2019. V. 7. № 3. P. 213–223.  
<https://doi.org/10.12691/jfnr-7-3-6>
- Misra S., Pandey P., Dalbhadat Ch.G., Mishra H.N.** Emerging technologies and coating materials for improved probiotication in food products: a review // *Food Bioproc. Technol.* 2022. P. 1–42.  
<https://doi.org/10.1007/s11947-021-02753-5>
- Molino S., Fernández-Miyakawa M., Giovando S., Rufián-Henares J.A.** Study of antioxidant capacity and metal-bolization of quebracho and chestnut tannins through *in vitro* gastrointestinal digestion-fermentation // *J. Funct. Foods*. 2018. V. 49. Iss. 38. P. 188–195.  
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.07.056>
- Moreno J.S., Dima P., Chronakis I.S., Mendes A.C.** Electro-sprayed ethyl cellulose core-shell microcapsules for the encapsulation of probiotics // *Pharmaceutics*. 2022. V. 14. Art. 7. P. 11.  
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010007>
- Pandey P., Mettu S., Mishra H.N. et al.** Multilayer co-encapsulation of probiotics and  $\gamma$ -amino butyric acid (GABA) using ultrasound for functional food applications // *Food Sci. Technol.* 2021. V. 146. Iss. 14.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111432>
- Pascale A., Marchesi N., Govoni S. et al.** The role of gut microbiota in obesity, diabetes mellitus, and effect of metformin: new insights into old diseases // *Curr. Opin. Pharmacol.* 2019. V. 49. P. 1–5.  
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2019.03.011>
- Poeker S.A., Geirnaert A., Berchtold L. et al.** Understanding the prebiotic potential of different dietary fibers using an *in vitro* continuous adult fermentation model (Poly-FermS) // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. P. 4318.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-22438-y>
- Ramos P.E., Abrunhosa L., Pinheiro A. et al.** Probiotic-loaded microcapsule system for human *in situ* folate production: encapsulation and system validation // *Food Res. Int.* 2016. V. 90. P. 25–32.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.036>
- Raza M.H., Gul K., Arshad A. et al.** Microbiota in cancer development and treatment // *J. Canc. Res. Clin. Oncol.* 2019. V. 145. № 1. P. 49–63.  
<https://doi.org/10.1007/s00432-018-2816-0>
- Razavi S., Janfaza S., Tasnim N. et al.** Microencapsulating polymers for probiotics delivery systems: preparation, characterization, and applications // *Food Hydrocol.* 2021. V. 120. № 10. P. 106882.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106882>
- Santalices I., Gonella A., Torres D., Alonso M.J.** Advances on the formulation of proteins using nanotechnologies // *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2017. V. 42. P. 155–180.  
<https://doi.org/10.1016/J.JDDST.2017.06.018>
- Santander-Ortega M.J., Plaza-Oliver M., Rodríguez-Robledo V. et al.** Colloids for drug delivery to the brain // *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2017. V. 42. P. 193–206.  
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2017.07.012>
- Semenova M.G., Antipova A.S., Martirosova E.I. et al.** Essential contributions of food hydrocolloids and phospholipid liposomes to the formation of carriers for controlled delivery of biologically active substances *via* the gastrointestinal tract // *Food Hydrocoll.* 2021. V. 120. P. 106890.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106890>
- Semenova M.G., Antipova A.S., Martirosova E.I. et al.** The relationship between the structure and functionality of essential PUFA delivery systems based on sodium caseinate with phosphatidylcholine liposomes without and with a plant antioxidant: an *in vitro* and *in vivo* study // *Food Func.* 2022. V. 13. P. 2354–2371.  
<https://doi.org/10.1039/d1fo03336k>
- Shah B.M., Palakurthi S.S., Khare T. et al.** Natural proteins and polysaccharides in the development of micro/nano delivery systems for the treatment of inflammatory bowel disease // *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. V. 165. Pt A. P. 722–737.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.214>
- Shokryazdan P., Jahromi M.F., Navidshad B., Liang J.B.** Effects of prebiotics on immune system and cytokine expression // *Med. Microbiol. Immunol.* 2017. V. 206. № 1. P. 1–9.  
<https://doi.org/10.1007/s00430-016-0481-y>
- Sredkova P., Batsalova T., Moten D., Dzhambazov B.** Prebiotics can change immunomodulatory properties of probiotics // *Cent. Eur. J. Immunol.* 2020. V. 45. № 3. P. 248–255.  
<https://doi.org/10.5114/ceji.2020.101237>
- Sudhakaran M., Doseff A.I.** The targeted impact of flavones on obesity-induced inflammation and the potential synergistic role in cancer and the gut microbiota // *Molecules*. 2020. V. 25. № 11. P. 2477.  
<https://doi.org/10.3390/molecules25112477>
- Sun Q., Liu X., Zhang Y. et al.** *L. plantarum*, *L. fermentum*, and *B. breve* beads modified the intestinal microbiota and alleviated the inflammatory response in high-fat diet-fed mice // *Prob. Antimicrob. Prot.* 2020. V. 12. P. 535–544.  
<https://doi.org/10.1007/s12602-019-09564-3>
- Tang W.H.W., Bäckhed F., Landmesser U., Hazen S.L.** Intestinal microbiota in cardiovascular health and disease // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2019. V. 73. P. 2089–2105.  
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.03.024>
- Tian Y., Xu Q., Sun L. et al.** Short-chain fatty acids administration is protective in colitis-associated colorectal cancer development // *J. Nutr. Biochem.* 2018. V. 57. P. 103–109.  
<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.03.007>

- Vallianou N., Stratigou T., Christodoulatos G.S. et al. Probiotics, prebiotics, synbiotics, postbiotics, and obesity: current evidence, controversies, and perspectives // *Curr. Obes. Rep.* 2020. V. 9. № 3. P. 179–192. <https://doi.org/10.1007/s13679-020-00379-w>
- Vijay A., Astbury S., Le Roy C. et al. The prebiotic effects of omega-3 fatty acid supplementation: a six-week randomised intervention trial // *Gut Microb.* 2021. V. 13. № 1. P. 1–11. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1863133>
- Yunes R.A., Poluektova E.U., Vasileva E.V. et al. A multi-strain potential probiotic formulation of GABA-producing *Lactobacillus plantarum* 90sk and *Bifidobacterium adolescentis* 150 with antidepressant effects // *Prob. Antimicrob. Prot.* 2020. V. 12. № 3. P. 973–979. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09601-1>
- Zheng H., Gao M., Ren Y. et al. An improved pH responsive carrier based on EDTA-Ca-alginate for oral delivery of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 // *Carbohydr. Polym.* 2017. V. 155. P. 329–335. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.08.096>
- Zhu Y., Wang Z., Bai L. et al. Biomaterial-based encapsulated probiotics for biomedical applications: current status and future perspectives // *Mater. Design.* 2021. V. 210. P. 110018. <https://doi.org/10.1016/J.MATDES.2021.110018>

## New Technologies for Delivery of Pharmacological Active Ingredients and Food Nutrients for Regulation of Metabolism of the Intestinal Microbiome

M. G. Semenova\*

*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

*\*e-mail: mariagersem@mail.ru*

This review presents a number of new methods for the encapsulation of probiotics and various biologically active compounds with the participation of food biopolymers. Such encapsulation is necessary to protect these pharmacologically active ingredients from adverse environmental conditions and their targeted oral controlled release delivery to the colon. The presented methods of encapsulation include the following: microencapsulation using various types of drying; electrospinning; formation of double emulsions; as well as a combined method that combines encapsulation, 3D printing and freeze drying. It has been shown that the use of biopolymer probiotic delivery systems and active dissemination to the intestinal tract can be a promising strategy for restoring the balance of the intestinal ecosystem and preventing or detecting various diseases.

*Keywords:* probiotics, prebiotics, postbiotics, microcapsules, food biopolymers, non-starch polysaccharides

УДК 616.9-08-071(076.5)

## МИКРООКРУЖЕНИЕ И ИММУНИТЕТ

© 2022 г. В. М. Земсков<sup>1,\*</sup>, А. М. Земсков<sup>2</sup>, В. В. Нейманн<sup>3</sup>, А. А. Барсуков<sup>1</sup>, М. Н. Козлова<sup>1</sup>,  
В. А. Земскова<sup>2</sup>, Н. С. Шишкина<sup>1</sup>, В. С. Демидова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского, Москва, Россия

<sup>2</sup>Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

<sup>3</sup>VRFD SA, Lugano, Switzerland

\*e-mail: arturrego@yandex.ru

Поступила в редакцию 31.01.2021 г.

После доработки 17.02.2021 г.

Принята к публикации 17.02.2021 г.

Представлены данные литературы и собственных исследований, касающиеся значения внутреннего и внешнего инфекционного микроокружения человека, оказывающего существенное влияние на развитие иммунных и инфекционных процессов в организме. Рассматривается целый ряд различных феноменов, развивающихся как следствие этих процессов и нередко являющихся определяющими в возникновении патологии. Детальное и разностороннее обсуждение поставленных вопросов позволяет впервые выделять группы инфекционных рисков, обусловленные иммунометаболическими расстройствами и различными локальными и распространенными инфекционными поражениями.

*Ключевые слова:* микробиота и ее нарушения, иммунная реактивность, госпитальные инфекции, локальные, общие инфекционно-гнойные поражения

DOI: 10.31857/S0042132422030103

### ВВЕДЕНИЕ

Нормальная аутомикрофлора (микробиота) тела человека перманентно (или постоянно, или неустанно) противостоит микробному окружению — тем микроорганизмам, с которыми организм сталкивается в быту, лечебном учреждении, на производстве и т.п. (Покровский и др., 2013; Zemskov et al., 2017).

К внешнему микроокружению относятся более нескольких сот тысяч видов вирусов, прионов, бактерий, а также гельминты, грибы, некоторые насекомые, растения; около полутора тысяч возбудителей могут вызвать инфекционные заболевания человека (Медицинская микробиология..., 2008).

Организм человека включает в себя симбиотическое сообщество многочисленных эукариот и прокариот — микробиоту — совокупность микроорганизмов в пяти основных биотопах тела человека: полости рта, дыхательных путях, кишечном тракте, мочеполовой системе, поверхностных и глубоких слоях кожи, конъюнктиве, слюне (Капулов и др., 2017).

### РОЛЬ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА В ИММУНИТЕТЕ ПРИ ИНФЕКЦИЯХ

Естественная микрофлора тела человека (микробиота) представляет собой стабильное со-

общество микроорганизмов из более 500 видов, около  $10^{14}$  клеток (Поздеев, 2010) и разделяется на: **постоянную** (резидентную), специфичную для конкретного биотопа (сапрофитные, условно-патогенные, патогенные микроорганизмы); **случайную** (транзиторную), занесенную из внешней среды или соседних биотопов; **облигатную**, участвующую в бродильных процессах, ферментации, иммуностимуляции; **факультативную** с гнилостной активностью; **оппортунистическую**, агрессивную против макроорганизма (Микробиоценозы..., 2015; Земсков и др., 2017б).

#### *Общеорганизменные функции микробиоты*

Ключевая информация по этому разделу изложена в ряде публикаций (Медицинская микробиология..., 2012; Земсков и др., 2018а; Микробиология для медицинских..., 2020; Zemskov et al., 2017). К функциям микробиоты относятся: (а) обеспечение колонизационной резистентности слизистой; (б) инактивация экзо- и эндотоксинов при помощи биодеградации и биотрансформации; (в) ферментативная (гидролиз продуктов метаболизма белков, липидов, углеводов); (г) синтетическая (синтез витаминов, гормонов, антибиотических продуктов и др.); (д) антианемическая, антирахитическая (всасывание железа,

кальция, витамина D из кишечника); (е) регуляция моторно-эвакуаторной функции кишечника (например, *Bacteroides fragilis* продуцируют вещества, тормозящие и стимулирующие перистальтику кишечника); (ж) реализация канцеролитических свойств крови и антимуутагенного действия; (з) участие в водно-солевом, белковом, углеводном и нуклеиновом обменах, в регуляции газового состава кишечника и др.; (и) обеспечение генетической функции путем переноса генетической информации от микро- → к микро- → к макроорганизму через плазмиды и фагоцитоз; (к) выполнение морфокинетической роли в развитии тканей и органов, в воспалении, смене эпителия и др.

#### *Связь микробиоты с уровнем иммунной реактивности*

Как известно (Караулов и др., 2017; Земсков и др., 2018б): (а) в здоровом состоянии наблюдается баланс между микробиотой и иммунной реактивностью; (б) TLRs в желудочно-кишечном тракте обеспечивают толерантность к индигенной флоре, причем отмечается снижение вероятности аллергических реакций, и доставку антигена антигенпрезентирующим клеткам одновременно с индукцией микробных пептидов; (в) макромолекулы, которыми являются продукты распада бактерий, способствуют образованию “нормальных” антител, обуславливают функциональную полноценность лимфоидных тканей кишечника, индукцию неспецифической и активацию специфической антиинфекционной резистентности. Важно, что (г) исследования на гнотобиотах (безмикробных животных) выявили гипоплазию лимфоидной ткани в пищеварительном и респираторном трактах, снижение образования иммуноглобулинов и антител с уменьшением уровня гуморальных факторов неспецифического иммунитета (лизосома, комплемента), естественных антител, ослабление лимфопоэза в кишечнике, лейкопению, недостаточность опсопинов в сыворотке крови. Также важно, что (д) клинической моделью гнотобиотом оказывается феномен “упрощения” нормальной микрофлоры в условиях изоляции (космонавты, подводники, заключенные), что создает условия для колонизации макроорганизма новыми видами, угнетения иммунитета, атрофии периферических органов иммунной системы, снижения титра иммуноглобулинов, интерферона, угнетения антиинфекционной резистентности и др.; (е) формирование перекрестно-реагирующих антигенов мимикрии у различных микроорганизмов является механизмом индукции в организме специфического иммунного ответа. Так, М.В. Земсков с соавт. (1977) показали, что у сапрофитов и кроликов обнаруживаются антигены, родственные возбудителям

брюшного тифа, паратифов А и В, дизентерии Флекснера, колиэнтеритов O111 и O37, а (ж) косвенным доказательством иммуотропной активности нормальной микрофлоры является обнаружение 180–200 видов “полных” и “неполных” антител против широкого спектра патогенных, условно-патогенных, сапрофитных микроорганизмов в гомо- и гетерогенных иммуноглобулинах; (з) феномен микробной сукцессии и микроэкологических изменений – спонтанной элиминации патогенов из инфицированных ран с замещением нормальной микрофлорой; (и) нормальная микрофлора, являясь естественным антагонистом патогенных возбудителей, обеспечивает антиинфекционную резистентность организма. Установлена связь между видами иммунных расстройств при гнойно-воспалительных заболеваниях и характером высеваемой микрофлоры. Так, у пациентов с хроническим гнойным средним отитом высевание из гноя **синегнойной палочки** сочеталось с типовой ФРИС –  $T_2^-V_2^-L\Phi_2^-$  (недостаточность средней выраженности Т- и В-клеток и лимфоцитов). А для **вульгарного протея** типичной оказалась ФРИС:  $V_3^-T_x^-L\Phi_3^-$  (дефицит В- и Т- лимфоцитов 2–3-й степени), для **золотистого стафилококка** –  $IgM_3^+V_3^-L\Phi_3^-$  (гипериммуноглобулинемия М, недостаточность В- и общих лимфоцитов 3-й степени), для **эпидермального стафилококка** –  $T_1^-V_2^-T\Phi_2^+$  (угнетение образования основных популяций лимфоцитов минимальной и средней выраженности на фоне накопления Т-цитотоксических супрессоров), и, наконец, для **кишечной палочки** формула имеет вид  $V_2^-IgM_2^+IgA_2^+$  (дефицит В-клеток в сочетании с накоплением иммуноглобулинов А и М 2-й степени) (Полякова, 1996).

#### *Микробиота как источник патологических процессов*

В этой связи отметим ряд принципиально важных моментов.

1. Микробиота играет индуцирующую роль в инфекционных заболеваниях. Под воздействием окружающей среды, исходя из уровня иммунной реактивности организма, при горизонтальном переносе генов из условно-патогенных микроорганизмов микробиоты происходит образование вирулентных штаммов, способных вызывать инфекции с потерей этих свойств при выздоровлении больного. Таким образом, формируются симбиотические или антагонистические отношения между микробиотой и макроорганизмом.

2. Как отмечалось нами ранее (Zemskov et al., 2017), болезни микробиоты – дисбактериозы являются клинической формой инфекционного за-

болевания без явно выделенного патогномичного возбудителя. Выделяют 4 степени дисбактериоза – условный нормоценоз (I), промежуточный (II), собственно дисбиоз (III), выраженное воспаление (IV) (Zemskov et al., 2017). Принято считать, что при полноценном здоровье определяется I или II степень дисбактериоза, у больных в стадии продрома и благоприятном течении инфекции – III или IV степень, при выздоровлении и эрадикации возбудителя происходит возврат к I или II, а в случае хронизации болезни – к III и IV стадиям дисбиоза (Караулов и др., 2017).

3. В результате физиологического и патологического разрушения клеток-мишеней макроорганизма высвобождаются низкомолекулярные олигонуклеотиды, при определенной концентрации обуславливающие утяжеление инфекционных процессов, конкретно – стимуляцию размножения и образования экзо- и эндотоксинов возбудителями. Через несколько дней эти же биохимические факторы активируют неспецифическую антиинфекционную резистентность (макрофаги и гранулоциты), миграцию и кооперацию иммунокомпетентных клеток, образование антител и др. (Земсков и др., 1985).

4. В некоторых случаях антигены мимикрии, например, у  $\beta$ -гемолитических стрептококков группы А, имеют сродство к антигенам синовиальных оболочек суставов и клапанного аппарата сердца, что в начале инфекционного процесса задерживает развертывание иммунных реакций, но потом отменяет естественную толерантность, что в конечном итоге обуславливает аутоиммунные ревматоидные артриты и пороки сердца.

5. При активации иммунной реактивности в организме хозяина за счет накопления в эпителии слизистых антибактериальных факторов – лизоцима, лактоферрина, стимулированных нейтрофилов, макрофагов, иммунных глобулинов и др. – в микроорганизмах может развиваться ответная активация ферментов агрессии – нейраминидазы и гиалуронидазы, высвобождение эндотоксинов с вероятностью провокации развития инфекций.

6. Снижение резистентности макроорганизма способствует повышению агрессивности возбудителей. Например, в случае иммунной компрометации больных (СПИД) слабовирулентная сапрофитная микрофлора механических барьеров может приобрести способность вызывать инфекционные поражения. Таким образом, формируются симбиотические или антагонистические отношения между микробиотой и макроорганизмом.

7. Наконец, некоторые инфекционные агенты (вирусы, бактерии и др.) несут в себе детерминанты антигенов HLA, АВ0, других генетических систем и либо сами фиксируются на этих антигенах макроорганизма, либо модифицируют их своими

ферментами, что сопровождается модификацией инфекции (Земсков и др., 1999).

### *Госпитальные инфекции*

Госпитальная инфекция – это фактически любое клинически распознаваемое или бессимптомное микробно-вирусное заболевание, поражающее больного в результате поступления в лечебно-профилактическое учреждение или после получения медицинской помощи. Инфекции подразделяются на гнойно-септические, воздушно-капельные, острые кишечные, вирусные гепатиты В и С и встречаются в любых учреждениях: в хирургических и терапевтических клиниках, гинекологических, родильных и педиатрических отделениях (Земсков и др., 2020; Основы общей..., 2021; Эпидемиология и инфекционная..., 2021). В лечебно-профилактических учреждениях одновременно возможна циркуляция более 200 видов патогенных, условно-патогенных возбудителей антропонозов, зоонозов, сапронозов, смешанных инфекций. Грамотрицательные и грамположительные возбудители достаточно широко распространены в хирургических, родо-вспомогательных, педиатрических, онкологических и др. стационарах.

### РОЛЬ МИКРООКРУЖЕНИЯ ЧЕЛОВЕКА В ИНФЕКЦИИ И ИММУНИТЕТЕ

Источниками инфекций являются: внешняя среда, микрофлора почвы, воды, воздуха (сапронозы); больные люди (антропонозы, в частности венерические заболевания); болеющие животные и люди (зооантропонозы, в частности сибирская язва, туляремия); инфицированные животные (зоонозы, в частности сап); патогенная микрофлора пищевых продуктов (*Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*), растений, грибы (*Penicillium*), дрожжи (*Candida*), вирусы – семейство Reoviridae и др. (Земсков и др., 2020).

В количественном плане официальная оценка распространенности инфекционных заболеваний – 30% – является явно заниженной, поскольку не учитывает инфекционных осложнений, иммунодефицитных, аллергических, аутоагрессивных реакций, злокачественных новообразований, расширения спектра соматических заболеваний инфекционной природы, распространенности бессимптомных вирусных поражений и др. (Национальная концепция..., 2012).

### *Вариации инфекционной заболеваемости в настоящее время*

В качественном плане в настоящее время отмечаются вариации инфекционной заболеваемости – повышение риска развития, изменение

спектра, этиологии, патогенеза, клинического течения, осложнений.

*Маркерные иммуноклинические синдромы инфекций в настоящее время*

Данная проблема достаточно актуальна, и она подробно освещена в ряде сообщений (Земсков и др., 2008, 2017а, 2020; Покровский и др., 2013). В последнее время в силу снижения коллективного иммунитета и изменчивости вирусов увеличилась частота встречаемости вирусных синдромов (Национальная концепция..., 2012; Энциклопедия иммунологии..., 2013; Земсков и др., 2020).

Так, **вирусный синдром** проявляется (1) упорной повторяемостью; (2) частыми рецидивами вирусных инфекций различной этиологии, ОРВИ; (3) рефрактерностью к терапии и инфицированием герпесвирусными инфекциями (вирусы простого герпеса 1-го и 2-го типов и др.); (4) хроническими вирусными гепатитами В и С; немотивированным тяжелым астеническим синдромом по типу синдрома хронической усталости и рецидивирующими папилломатозами и кондиломатозами, вторичным развитием бактериальных инфекций.

**Синдром хронической усталости** встречается у женщин и мужчин достаточно молодого возраста, в основном преуспевающих в бизнесе и социальной жизни. Возникает неожиданно или после перенесенных ОРВИ, или каких-либо других вирусных инфекций. Характеризуется слабостью, резким снижением работоспособности, психической депрессией, подавлением активных мотиваций, субфебрилитетом, мышечной слабостью. Отмечается подавление адаптивных и врожденных иммунных реакций, ослабление иммунного ответа, преимущественное подавление клеточной киллерной системы. Нередки обострения хронических процессов, а также обострение или активация герпесвирусных инфекций. Лечение достаточно сложно. В основном ориентировано на противовирусную и иммуностимулирующую терапию. Нередко отмечается сопряжение синдрома хронической усталости и метаболического синдрома, который представляет собой состояние, объединяющее группу факторов риска, которые сопровождаются развитием болезней сердца, диабета и инсульта. Неспроста в настоящее время эксперты ВОЗ оценивают метаболический синдром как новую пандемию XXI в.

**Синдром адьювантный** – это формирование иммуносептических осложнений после трансплантации силиконовых, пластиковых, металлических и вообще любых чужеродных протезов.

**Синдром иммунной недостаточности у детей** 1-го года жизни проявляется в виде частых, затяжных, хронических инфекционных заболеваний, вызы-

ваемых условно патогенными, низковирулентными возбудителями, сочетаниями бактериальной флоры с вирусами, хламидиями.

**Синдром лимфопролиферативный** – лимфоаденопатия, некритичные изменения гематоиммунных показателей и др., имитирующих компоненту патогенеза герпес-, адено-, энтеровирусных инфекций, доброкачественного лимфоретикулеза, коревой краснухи, кори, псевдотуберкулеза, туберкулеза, болезни Лайма (иксодовый клещевой боррелиоз) и др.

**Синдром общего переменного иммунодефицита** характеризуется частым формированием затяжных рекуррентных бактериальных инфекций с локализацией патологических процессов в околоносовых пазухах, в респираторном и кишечном трактах.

**Синдром положительного клинического патоморфоза** заболеваний отличается смягчением характера течения в виде инаппарантных клинических форм в сочетании с частым ранним или поздним рецидивированием патологических процессов (тифы, сальмонеллез, бруцеллез, туляремия, туберкулез, малярия, герпес, Ку-лихорадка, орнитоз и др.).

**Синдром отягощения** инфекций иммунными расстройствами, иммунодефицитами, иммунной толерантностью/параличом, патогенными аллергическими, атопическими, псевдоаллергическими, аутоиммунными, иммунокомплексными, лимфолиферативными реакциями, пищевой, лекарственной непереносимостью и др.

*Доказательства инфекционной этиологии злокачественных и соматических заболеваний*

Эта тема хорошо раскрыта в работах (Покровский и др., 2007, 2013; Хаитов, Атауллаханов, 2012; Микробиология для медицинских..., 2020).

1. По одним данным, злокачественные опухоли человека имеют инфекционную природу в 15–20% случаев, по другим – полностью исключить инфекционное происхождение опухолей можно только в 5 случаях из 100.

2. Доказано участие инфекционных агентов в патогенезе рака шейки матки (папилломавирус, герпес 1-го и 2-го типов), лимфомы Беркитта, назофарингеальной карциномы (вирус Эпштейна–Барр), первичного рака печени (вирусные гепатиты В и С), клеточной лимфосаркомы (вызывается лимфотропными вирусами VVI и VII).

3. Показано, что язвенная болезнь желудочно-кишечного тракта индуцируется хеликобактером, болезнь Крона – иерсиниями энтероколита, ревмокардит – вирусами Коксаки А13, А18, В1, В2, В3, стрептококком, а ишемическая болезнь сердца – хламидиями.

4. Постулируется инфекционная природа шизофрении, поскольку дети с этой патологией чаще рождаются в конце зимы—начале весны, когда отмечается наибольший пик пренатальных или неонатальных инфекций. У 42% больных шизофренией выявляют положительные реакции на *Toxoplasma gondii*, тогда как среди здоровых — лишь у 11%.

5. В предварительных исследованиях показано, что носительство цитомегаловирусов, вирусов простого герпеса и Эпштейна—Барр по наличию в сыворотке специфических IgG у пациентов с тревожно-депрессивными расстройствами маркирует формирование иммунных расстройств.

#### *Вариации свойств возбудителей инфекций*

Хорошо известно, что микроорганизмы так же эволюционируют, как и представители других видов живых существ (Национальная концепция..., 2012; Микробиология для медицинских..., 2020). Так: 1) За последние 20–30 лет открыто более трех десятков новых и видоизмененных микроорганизмов, объединенных в группу эмерджентных, опасных для человека инфекций, к которым относятся вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ), геморрагических лихорадок (Марбург, Ласса, Эбола), возбудители атипичной пневмонии, болезни легионеров, лихорадки Лайма и др.; 2) Известные микроорганизмы, с одной стороны, приобрели патогенные свойства и стали опасными для человека, как например вирус оспы обезьян и др., а с другой — могут индуцировать Т-клеточные лейкозы, гепатиты и т.д.; 3) Отмечается смена этиологических факторов инфекций, когда острозаразные заболевания (оспа, чума) уступают место патологическим процессам, вызванным внутриклеточными паразитами (вирусами, хламидиями), медленным инфекциям (СПИД), особенно опасным для групп риска, к которым относятся дети, старики, беременные женщины, хронические больные; 4) Формируется изменчивость микроорганизмов с утратой чувствительности к вакцинам, с формированием антибиотикорезистентности (например, *Yersinia pestis*), с модификацией ферментного спектра, факторов инвазивности (шигаподобных экзотоксинов, как при диарее), сахаролитических и других свойств, формированием L-форм бактерий (*M. tuberculosis*), преобладанием условно- и низкопатогенной микрофлоры, микстинфицирования, что, в конечном итоге, модифицирует клинику, усложняет диагностику, лечение и профилактику инфекций; 5) Реализуется “феномен матрешки”, суть которого заключается в том, что крупные микроорганизмы, например бактерии, могут быть вторично инфицированы более мелкими возбудителями (хламидиями), которые в свою очередь могут содержать вирусы или прионы. В результате есте-

ственных процессов или лечения микроорганизмы лизируются, что вызывает последовательное высвобождение возбудителей со сменой этиологии заболеваний. Например, воспалительный процесс может быть вызван сначала синегнойной бактерией, затем хламидиями, а впоследствии — генитальным вирусом герпеса, что подразумевает, как минимум, трехкратную коррекцию лечения больных; 6) Вследствие агрессивной иммунотерапии и профилактики отмечается повышенная индукция адаптационной изменчивости микроорганизмов, превращение зооантропонозов (чума, желтая лихорадка) в антропонозы, изменение типового места пребывания возбудителей, например, синегнойной бактерии из кишечника в другие органы с развитием эмпием плевры, артритов, энтероколитов, сепсисов, преобладание орнитогенного пути циркуляции возбудителей (птичий грипп) и др.

В настоящее время выделены группы инфекционных заболеваний, формирующихся на фоне иммунометаболических расстройств: гнойно-воспалительные, неспецифические воспалительные бронхолегочные, поражения пищеварительного тракта, вирусные поражения (Земсков и др., 2018а, 2020; Луцкий, Земсков, 2018; Основы общей..., 2021; Zemskov et al., 2020).

#### *Гнойно-воспалительные заболевания*

Открытие и широкое применение новейших антибактериальных средств не разрешило проблему, а напротив, вызвало рост числа антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, формирование токсико-аллергических реакций с итоговым ростом числа больных с гнойными поражениями, часто с осложнениями и запущенными формами.

Общий тренд вариаций от уровня нормы лабораторных параметров при гнойно-воспалительных заболеваниях в целом включал подавление клеточных и активацию гуморальных маркеров, дисбаланс поглотительной/метаболической способности фагоцитов с образованием про- и противовоспалительных цитокинов, активацию свободнорадикального окисления высокомолекулярных субстратов на фоне подавления ферментативных/неферментативных механизмов антиоксидантной системы.

В числе ключевых иммунных параметров при глубокой пиодермии, гнойной инфекции мягких тканей, острых и хронических циститах, пиелонефритах и аднекситах отмечались: накопление аутоагрессивных циркулирующих иммунных комплексов, молекул средней массы, IgM, цитотоксических лимфоцитов, натуральных киллеров, провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ ), снижение уровня Т-клеток, их регуля-

торных субпопуляций и противовоспалительного ИЛ-4, дисбаланс количества В-клеток, поглотительной и метаболической активности нейтрофилов.

Метаболические расстройства включали повышение уровня малонового диальдегида, кето-диенов, оснований Шиффа, битиризиновых сшивок на фоне снижения содержания каталазы, супероксиддисмутазы, общих тиолов, витамина Е, дисбаланса антиокислительной активности крови.

#### *Неспецифические бронхолегочные заболевания*

У больных обнаруживаются признаки нарушения иммунного гомеостаза, аутоиммунных, метаболических расстройств. В поддержании патологического процесса несомненную роль играют микробные, микробно-микоплазменные, микробно-вирусные ассоциации. Иммунодефицитные состояния создают ситуацию, при которой организм не может ответить полноценной иммунной реакцией на антигены, что облегчает инфицирование больных слабопатогенными микроорганизмами и грибами (Земсков и др., 2000).

Развитие бронхолегочной патологии сопровождается активацией процессов перекисного окисления липидов, увеличением уровня холестерина,  $\beta$ -липопротеидов, снижением активности антиоксидантной защиты, накоплением биогенных аминов, нарастанием в бронхоальвеолярном содержимом уровня полиненасыщенных жирных кислот и понижением содержания более сатурированных кислот (Земсков и др., 2017а). Указанные изменения реализуются на фоне формирования у больных диснуклеотидоза, нарушения белково-синтетических процессов, реализуемых по схеме ДНК–РНК–белок (Земсков и др., 2008; Zemskov et al., 2021). Это вызывает, с одной стороны, угнетение выраженности иммунных, особенно клеточных реакций, активацию гуморального иммунитета, дисбаланс регуляторных субпопуляций, а с другой – провокацию развития аллергии, функциональные и деструктивные изменения клеток бронхолегочной и других систем организма, расстройство иммунонейроэндокринной регуляции гомеостаза (Земсков и др., 2008, 2017а).

#### *Язвенно-воспалительные заболевания пищеварительного тракта*

Язвенная болезнь желудка, 12-перстной кишки, неспецифический язвенный колит имеют в патогенезе наличие инфекционной компоненты (*Helicobacter pilory*, *Yersinia pestis*), сопровождаются дефицитом, снижением функции Т-клеток, нарушением баланса регуляторных субпопуляций. При этом содержание общих лимфоцитов у больных чаще всего нормально или повышено, а число нулевых клеток и сывороточных иммуноглобу-

линов основных классов увеличено (Земсков и др., 2008, 2017а).

Язвенное поражение гастродуоденальной зоны, помимо выше указанных иммунных нарушений, сопровождается расстройством обмена нуклеиновых кислот. Так, согласно данным (Земсков и др., 2020), в стадии обострения заболеваний содержание РНК в слизистой оболочке желудка и кишечника было уменьшено в 1.7 и 2.6 раза, в стадии ремиссии – возросло в 1.7 и 1.3 раза соответственно. Отношение РНК/ДНК и РНК/белок в момент обострения заболеваний оказалось в 2.4–1.3 раза меньше нормы, а при ремиссии – не достигало уровня здоровых лиц. В целом у больных происходило стойкое снижение преимущественно содержания РНК, а не ДНК и белка.

Определение количества РНК в содержимом желудка в известной степени отражает состояние нуклеинового обмена в организме вообще. Так, у пациентов с язвенной болезнью содержание РНК в плазме оказалось достоверно ниже, а в желудочном и кишечном содержимом – выше, чем в норме. Нарушение обмена РНК было тесно связано с содержанием в слизистой цАМФ, регулирующего процессы транскрипции, трансляции и белкового синтеза. В свою очередь активация цАМФ находится под действием кортикостероидов.

Одновременно прослеживается четкая взаимосвязь между нарушениями обмена РНК и иммунитета у пациентов с язвенной болезнью. Установлена корреляционная зависимость между сниженными, по сравнению с нормой, количеством лейкоцитов, Т-клеток, концентрацией IgA и содержанием РНК в сыворотке крови. Наряду с этим установлена обратная корреляция между повышенным количеством нулевых клеток и уровнем сывороточной РНК. Иначе говоря, у больных возникало иммунодефицитное состояние по РНК-зависимым показателям.

Таким образом, важным звеном в патогенезе язвенной болезни является дефицит и нарушение обмена РНК с расстройствами процесса ДНК → РНК → белок → репарация. В указанных механизмах участвует цАМФ через положительное влияние на транскрипцию и трансляцию генетической информации в регенерирующих клетках язвенной поверхности. Активация указанных процессов в свою очередь находится под контролем 17-ОКС (17-оксикортикостероиды). К этому следует добавить метаболическое действие РНК (усиление синтеза макроэргов АТФ и АДФ, активация дыхания и ряда ферментных систем, например МАО (моноаминоксидаза), разрушающей биогенные амины и т.д.). Кроме того, экзогенная РНК устраняет дефицит Т-системы иммунитета, нормализует баланс Т-регуляторных субпопуляций, что снижает аутоенсибилизацию (Земсков и др., 2020).

### *Особенности иммунитета при вирусных инфекциях*

В последние годы отмечается смена этиологических факторов инфекций. Это привело к открытию новых и видоизменению имеющихся, в первую очередь вирусных, эмерджентных инфекций. К ним относятся вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ), геморрагических лихорадок (Марбург, Ласса, Эбола), возбудители, вызывающие атипичную пневмонию и др. Вирусы могут быть причиной канцерогенеза, врожденных уродств, иммунодефицитов, выполнять функцию генетических паразитов, мимикрировать под факторы роста, гормоны, липопротеины и др. (Основы общей..., 2021).

Инфекционное поражение мишени обусловлено адгезией вирионных специфических белков на клеточных “прикрепительных” рецепторах. При этом разные группы вирусов могут использовать одинаковые рецепторы, например, 115 серотипов риновирусов используют лишь два, а одни и те же клетки-хозяева имеют рецепторы к разным вирусам или наоборот рецепторы для одного вириона могут быть представлены на разных мишенях.

Макроорганизм развивает три вида защитных противовирусных механизмов: гуморальный, обусловленный нейтрализующими антителами, клеточный – цитотоксическими Т-лимфоцитами, естественными и антитело-зависимыми киллерами, мононуклеарными фагоцитами и, наконец, интерфероновый – оперативный, действующий еще до мобилизации иммунных механизмов противовирусного ответа, более ориентированный против вирусной РНК, чем ДНК. Однако при этом все виды противовирусной защиты не являются абсолютно эффективными.

Так, антитела в ряде случаев не способны нейтрализовать вирусы, поскольку их антирецепторы расположены в узких углублениях (щелях, каньонах), недоступных для активных центров антител. Клеточные факторы могут вызывать аутоиммунные повреждения, а при лихорадке, стрессах, назначении кортикостероидов инактивируются. Интерфероны ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -), могут индуцировать патологические кишечный, сердечно-сосудистый, мочевого синдрома. Некоторые вирусы, например SARS-CoV-2, подавляют синтез интерферонов в инфицированных тканях легких человека, что сочетается с выбросом патогенных провоспалительных цитокинов на фоне дефицита циркулирующих Т-лимфоцитов и т.д.

### *Механизмы вариаций инфекций и иммунитета в настоящее время*

Эта проблема достаточно развернуто освещена в сообщениях (Земсков и др., 1999, 2017а,б, 2021;

Медицинская микробиология..., 2008, 2012) и состоит она в следующем: 1) Вовлечение в циркуляцию патогенной для человека микрофлоры домашних и диких животных, насекомых, рыб, растений, особенно лекарственных, почвы, воды, воздуха, возбудителей пищевых инфекций, отравлений; 2) Анимализация, то есть пассаж возбудителей через животных (птичий, свиной грипп, COVID-19 – через норку, прионов – через овец и крупный рогатый скот); 3) Процессы конъюгации, фаговой конверсии, трансформации бактерий, рекомбинации вирусов, например, соединение нуклеиновой кислоты онкогенного вируса SV40 с капсидом относительно безвредного для человека аденовируса; 4) Образование вирусов с высокой (собственно патогенных) и низкой плотностью онкомаркеров, “отвлекающих” иммунные реакции макроорганизма; 5) Переход в анабиотическое состояние с изменением культуральных и иных свойств возбудителей внутригоспитальных инфекций при выделении от пациентов в больничную среду; 6) Приобретение супербактериями тотальной антибиотикорезистентности при нарушении регламента лечения больных, использования медицинских препаратов в ветеринарии, растениеводстве и наоборот; 7) Гипотетическое выделение во внешнюю среду возбудителей из размороженных в результате потепления древних растительных и животных останков; 8) Мутации переносчиков инфекций, к которым относятся животные, насекомые, растения, в результате действия агрессивных экологических факторов; 9) Создание артификационных факторов распространения микроорганизмов современными диагностическими и лечебными медицинскими и бытовыми технологиями, например, связь болезни легионеров с водой кондиционеров; 10) “Легкий” перенос эндемичных возбудителей современными транспортными коммуникациями; 11) В результате нарушения логистики оказания медицинской помощи создание условий для массового перекрестного инфицирования пациентов; 12) Эволюционная неподготовленность человека к научно-технической революции, то есть создание новых экологических факторов радиоактивного фона, химического загрязнения, накопления CO<sub>2</sub> и других факторов; 13) Снижение качества жизни населения, а именно, низкая рождаемость, неполноценное потомство, хронические заболевания, наркомания, токсикомания, алкоголизм и пр.; 14) Неполноценное питание за счет генно-инженерных продуктов, снижения санитарно-гигиенических норм, голодания, авитаминозов; 15) Адинамия, хронический стресс; 16) Двукратное старение населения с необходимостью частого лечения, диагностики, развитие злокачественных новообразований, возрастное увядание иммунной системы и т.д.; 17) Издержки медицинской

помощи, состоящие в повышении детской смертности, особенно детей инвалидов, реанимации больных новорожденных, с чем связано нарушение созревания иммунной системы, наконец, часто болеющие дети; 18) Диагностическая агрессия, состоящая в более 3000 видов различных вмешательств на уровне катетеризации, бронхо- и гастроскопии, искусственного кровообращения, наркозных аппаратов и других с нарушениями механических барьеров, биоценоза кожи и слизистых, контаминации антибиотикорезистентными штаммами; 19) Фармакологическое протезирование иммунной системы населения в аспекте антигенной перегрузки детей с незрелой иммунной системой, прививочных реакций и осложнений, неполноценного иммунитета на фоне иммунодефицитов, алкоголизма, аллергии, лекарственных препаратов и т.д.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В статье постулируется: роль микробиоты и внешнего (окружающий микробный мир) микроокружения в формировании антиинфекционной резистентности и сочетанных изменений иммунометаболических механизмов в заболеваемости лиц из групп риска с бактериальными гнойно-воспалительными, неспецифическими бронхолегочными, гастроэнтерологическими, вирусными и внутрибольничными инфекциями.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. Разрешения от каждого из включенных в исследование участников и информированное добровольное согласие не требуются, поскольку пациенты подвергались исследованиям в плане оказания медицинской помощи, предусмотренной Минздравом России в условиях стационарного лечения.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В.* Клиническая иммунология: Учеб. для студентов мед. вузов, слушателей учреждений доп. проф. образования и повышения квалификации специалистов. М.: МИА, 1999. 603 с.
- Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В.* Иммунопатология и иммунокоррекция неспецифических воспалительных заболеваний легких. М., Воронеж: ASD, 2000. 440 с.
- Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В.* Клиническая иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 432 с.
- Земсков А.М., Есауленко И.Э., Черешнев В.А.* Курс лекций по клинической иммунофизиологии. Воронеж: Ритм, 2017а. 1048 с.
- Земсков А., Земскова В., Воронцова З.* Иммунология гнойно-воспалительных заболеваний. Германия: LAMBERT Academic Publishing, 2017б. 239 с.
- Земсков А.М., Ревизишвили А.Ш., Черешнев В.А.* Проблемы клинической иммунологии XXI века. I. М.: Научная книга, 2018а. 320 с.
- Земсков А.М., Ревизишвили А.Ш., Черешнев В.А.* Проблемы клинической иммунологии XXI века. II. М.: Научная книга, 2018б. 286 с.
- Земсков А., Земскова В., Бережнова Т.* Метаболический иммунитет. Германия: LAMBERT Academic Publishing, 2020. 385 p.
- Земсков В.М., Лидак М.Ю., Земсков А.М., Микстайс У.Я.* Низкомолекулярная РНК. Получение, гидролиз и применение в медицине. Рига: Зинатне, 1985. 191 с.
- Земсков М.В., Соколов М.И., Земсков В.М.* Основы общей микробиологии, вирусологии, иммунологии. М.: Колос, 1977. 312 с.
- Караулов А.В., Афанасьев С.С., Несвижский Ю.В. и др.* Мукозальный иммунитет и колонизационная резистентность слизистых открытых полостей человека в норме и при патологических состояниях. М.: Изд-во I МГМУ им. И.М. Сеченова, 2017. 78 с.
- Луцкий М.А., Земсков А.М.* Окислительный стресс в патогенезе инсульта и демиелинизирующих заболеваний нервной системы. Воронеж: Ритм, 2018. 330 с.
- Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник для студентов мед. вузов. 2-е изд., испр. и доп. / Ред. А.А. Воробьев. М.: МИА, 2008. 720 с.
- Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. Учебное пособие для вузов / Ред. А.А. Воробьев. М.: МИА, 2012. 704 с.
- Микробиология для медицинских специальностей. Учебник / Ред. А.М. Земсков. М.: Кнорус, 2020. 296 с.
- Микробиоценозы и здоровье человека / Ред. В.А. Алешкин, С.С. Афанасьев, А.В. Караулов. М.: Династия, 2015. 548 с.
- Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи и информационный материал по ее положениям / Ред. В.И. Покровский. Н. Новгород: Ремедиум Приволжье, 2012. 84 с.
- Основы общей микробиологии, вирусологии и иммунологии / Ред. А.М. Земсков. Ростов-на-Дону: Феникс, 2021. 635 с.
- Поздеев О.К.* Медицинская микробиология, 4-е изд., испр. [Электронный ресурс]: учебное пособие / Ред. В.И. Покровский. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 768 с.
- Покровский В.И., Пак С.Г., Брико Н.И., Данилкин Б.К.* Инфекционные болезни и эпидемиология. 2-е изд., испр. / Учебник для студентов лечебных фа-

- культетов медицинских вузов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 816 с.
- Покровский В.И., Пак С.Г., Брико Н.И. Инфекционные болезни и эпидемиология. Учебник. 3-е изд., испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 1008 с.
- Полякова С.Д. Комплексное лечение больных хроническим гнойным отитом на основе коррекции иммунологических расстройств: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.: Рос. мед. акад. последиплом. образования, 1996. 35 с.
- Энциклопедия иммунологии / Ред. А.М. Земсков, В.М. Земсков, В.А. Черешнев. Том 1. Словарь терминов, определений, феноменов иммунологии. М.: Триада-Х, 2013. 460 с.
- Эпидемиология и инфекционная иммунология / Ред. А.М. Земсков. Ростов-на-Дону: Феникс, 2021. 530 с.
- Хаитов Р.М., Атауллаханов Р.И. Иммуноterapia. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 669 с.
- Zemskov A.M., Zemskov V.M., Zemskova V.A. et al. Immunology of infections at the present stage, microbiota and microbiota diseases // Int. J. Curr. Adv. Res. 2017. V. 6. № 10. P. 6381–6386.
- Zemskov V.M., Zemskov A.M., Zoloedov V.I. et al. Immune-metabolic stress in purulent-inflammatory diseases of the skin and soft tissues // Nov. App. Cancer Study. 2020. V. 5. № 3. P. 504–509.
- Zemskov V.M., Zemskov A.M., Pronko K.N. et al. Immunometabolic aspects of pathological processes // Int. J. Curr. Res. Rev. 2021. V. 13. № 21. P. 7–13.

### Microenvironment and Immunity

V. M. Zemskov<sup>a, \*</sup>, A. M. Zemskov<sup>b</sup>, V. V. Neymann<sup>c</sup>, A. A. Barsukov<sup>a</sup>, M. N. Kozlova<sup>a</sup>,  
V. A. Zemskova<sup>b</sup>, N. S. Shishkina<sup>a</sup>, and V. S. Demidova<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russia

<sup>b</sup>Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

<sup>c</sup>VRFD SA, Lugano, Switzerland

\*e-mail: arturrego@yandex.ru

The paper presents data from the literature and our own research on the importance of the internal and external infectious microenvironment of a human, which has a significant impact on the development of immune and infectious processes in the body. A number of different phenomena that develop as a result of such processes and are often decisive in the occurrence of pathology are considered. A detailed and comprehensive discussion of the issues raised allows for the first time to identify groups of infectious risks caused by immunometabolic disorders and various local and widespread infectious lesions.

*Keywords:* microbiota, immune reactivity, nosocomial infections, local, general infectious-purulent lesions

## ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

© 2022 г. В. И. Болотских<sup>1</sup>, А. В. Makeeva<sup>1</sup> \*, М. В. Лущик<sup>1</sup>,  
Ек. Н. Мокашева<sup>1</sup>, Ев. Н. Мокашева<sup>1</sup>, В. В. Шишкина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Воронежский государственный медицинский университет  
им. Н.Н. Бурденко МЗ РФ, Воронеж, Россия

\*e-mail: a.makeeva@vrngmu.ru

Поступила в редакцию 12.04.2022 г.

После доработки 15.04.2022 г.

Принята к публикации 18.04.2022 г.

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) на протяжении длительного времени привлекает внимание исследователей и врачей, так как, к сожалению, с каждым годом растет число больных с данной патологией. Изучение этиологии, патогенеза, методов лечения и возможных последствий ХСН важно для эффективного лечения и профилактики. Сердечная патология характеризуется появлением одышки, развитием хронической утомляемости, отеков, снижением физической активности по причине нарушения нормальной перфузии органов и тканей и развитием хронической гипоксии. В этой связи моделирование сердечной недостаточности на животных представляется весьма актуальным и перспективным направлением, так как дает возможность детального изучения этиопатогенетических особенностей развития ХСН и осложнений. Доклинический этап исследования лекарственных препаратов на животных позволяет оценить механизм действия препарата, подобрать правильную дозировку, описать побочные явления. Использование мелких грызунов при создании моделей ХСН является менее трудоемким и экономически более выгодным, чем проведение исследований на крупных животных. В данной статье приведен анализ результативности и воспроизводимости биологических моделей ХСН. Описаны наиболее распространенные современные хирургические и фармакологические модели, методика проведения эксперимента, основные гемодинамические и гистоморфологические изменения, наблюдаемые при развитии ХСН у животных, а также недостатки и преимущества разных видов моделирования.

*Ключевые слова:* хроническая сердечная недостаточность, биологическое моделирование, гипертрофия миокарда, изопротеренол, хирургические модели, фармакологические модели

DOI: 10.31857/S0042132422040032

### ВВЕДЕНИЕ

Одной из весьма значимых проблем современной системы здравоохранения на настоящий момент остается хроническая сердечная недостаточность (ХСН), которая характеризуется высокой смертностью и инвалидизацией населения. Уменьшение числа обострений и осложнений из-за декомпенсации ХСН может значительно повлиять на продолжительность жизни пациентов с данной патологией. Правильный подход к ведению пациентов с ХСН поможет снизить количество госпитализаций, что в свою очередь сократит затраты государства на систему здравоохранения.

Стоит отметить тот факт, что в современной медицине присутствует проблема трактовки ХСН. Среди российских клиницистов в последнее время стало распространяться мнение, что ХСН пред-

ставляет собой самостоятельную нозологическую единицу, а именно: заболевание с комплексом симптомов, проявляющихся в виде одышки, отеков и повышенной утомляемости, причиной которых чаще всего является недостаточная перфузия органов из-за нарушения работы сердца. В то же время среди западных коллег весьма распространена классическая трактовка ХСН как синдрома, представляющего из себя финальную стадию многих заболеваний сердца (Калюжин и др., 2020).

Совершенствование медицинской помощи пациентам с ХСН играет важную роль в снижении смертности и количества осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы. Пациенты с ХСН имеют ряд проявлений сопутствующей соматической патологии, которая негативно сказывается на их интеллектуальных и физических способностях, что отрицательно влияет на комплаент-

ность данной группы больных. В России по данному вопросу можно встретить предложение, разработанное на базе НИИ кардиологии им. А.Л. Мясникова, которое включает в себя работу конкретно со средним персоналом, которому поручают телефонный опрос пациентов с ХСН, организацию школ и обучение родственников больных (Бойцов и др., 2021).

Обращает на себя внимание взаимосвязь ХСН и отдельных гериатрических синдромов у больных старшей возрастной группы. Среди пациентов с ХСН функциональных классов III–IV выше процент встречаемости возраст-ассоциированных синдромов: делирия, синдрома мальнутриции, когнитивных нарушений, синдрома падений, тревожно-депрессивных расстройств и нарушений сна. Подобные особенности клинической картины у пожилых людей с ХСН способствуют тому, что приверженность лечению среди данной группы больных резко снижается, по сравнению с пациентами функциональных классов I–II. Низкая комплаентность приводит к резкому повышению процента летальности и количества осложнений среди данного рода больных (Подобед и др., 2020).

Из-за постоянного роста числа пациентов с патологией сердечно-сосудистой системы вследствие увеличения продолжительности жизни изучение ХСН остается актуальной проблемой в современной медицине.

Для более детального изучения ХСН важно моделирование данной патологии в экспериментальных условиях на биологических моделях. Фундаментальные исследования, к которым относятся изучение и разработка моделей сердечной недостаточности на лабораторных животных, помогут более подробно описать этиологию и патогенез данного синдрома, что в будущем позволит подобрать более точные и совершенные методы профилактики и лечения сердечной недостаточности.

Целью данной работы стал систематизированный обзор данных научной литературы, посвященный анализу результативности и воспроизводимости экспериментальных моделей ХСН.

Для поиска использовались базы данных РИНЦ, Scopus, PubMed (Public Medline), eLibrary, публикации подвергались сравнительному анализу. Поисковые запросы осуществлялись по ключевым словам: хроническая сердечная недостаточность, биологическое моделирование, гипертрофия миокарда, изопроterenол, хирургические модели, фармакологические модели.

Патогенез ХСН представляет собой сложный каскад нейрогуморальных, гемодинамических и иммунологических реакций, каждая из которых, играя отдельную роль, взаимодействует с остальными и способствует прогрессированию заболевания. Моделирование сердечной недостаточности часто воспроизводят на мелких грызу-

нах, например крысах. Метаболизм, физиология и анатомия сердца крысы отличается от человеческого. Несмотря на это, крысы часто используются в фундаментальных научных исследованиях для воспроизведения модели ХСН (Katz et al., 2019). Использование животных на доклинических этапах при моделировании ХСН позволяет более детально понять механизмы развития патологии, а также внедрять новые методы лечения.

В настоящее время предлагаются различные методы моделирования ХСН у лабораторных животных, однако результативность и информативность этих моделей изучены недостаточно. Существующие сейчас различные модели ХСН можно поделить на две большие группы: хирургические и фармакологические. У обеих групп моделей имеются как недостатки, так и преимущества.

### ХИРУРГИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ХСН

Хирургические модели воссоздают перегрузку давлением и объемом.

Перегрузка объемом связана с возрастанием конечного диастолического объема в полостях сердца. В этом случае во время систолы сердце испытывает большую нагрузку для изгнания большего объема крови в большой и/или малый круг кровообращения. Перегрузка объемом представляет собой увеличение преднагрузки на сердце.

Перегрузка давлением возникает вследствие возрастания сопротивления выбросу крови из полостей сердца, что может наблюдаться, например, при стенозе клапанов сердца, сужении крупных артериальных стволов — аорты, легочной артерии. В этом случае возрастает постнагрузка на сердце. Моделирование перегрузочной формы ХСН приводит к гипертрофии миокарда.

Модель хронической перегрузки давлением воспроизведена (Hirata et al., 2015) на крысах с помощью частичной перевязки легочной артерии. Для исследования использовались восьминедельные самцы крыс, которых разделили на две опытные группы. В 1-й группе 28 животным произвели частичное перевязывание легочной артерии с помощью иглы 18 калибра, формируя отверстие, равное диаметру иглы. Во 2-й группе у 28 животных применяли танталовый зажим LT100 Ethicon, который был наполовину закрыт вокруг легочной артерии с помощью клипового аппликатора LX107 Ethicon, ограничивая поток крови через данный сосуд. Эхокардиографию проводили в предоперационный день, а затем — на 4-й и 8-й неделях после операции. Срезы ткани сердца брали для гистологического анализа (Hirata et al., 2015). Это исследование показало, что применение танталового полузакрытого зажима вокруг легочной артерии воспроизводимым образом индуцировало дисфункцию правого желудочка. Обе

группы (1-я и 2-я) показали значительно увеличенный импульсный доплеровский пик PAV (давление в легочной артерии). В 1-й группе PAV имело тенденцию к более существенному увеличению, чем во 2-й. При гистологических исследованиях сердца выявлены наличие фиброза правого желудочка и гипертрофия миокарда.

Описанное моделирование сердечной патологии должно оказаться ценным в исследовании и лечении правой сердечной недостаточности, вызванной перегрузкой давлением.

Однако при проведении процедуры возможна высокая смертность из-за кровотечения, внезапной остановки сердца или образования легочного тромба.

Один из распространенных хирургических способов воспроизведения ХСН — модель создания артериовенозного свища (фистулы длиной 1–1.2 мм) между брюшной аортой и нижней полую вену дистальнее ответвлений почечных артерий. Данная модель создает объемно-перегрузочную форму ХСН. В исследовании (Abassi et al., 2011) на крысах показано, что при данном моделировании патологии происходит активация ряда нейрогуморальных механизмов: эндотелиновой системы, включающей 3 вазоактивных пептида (эндотелин-1, эндотелин-2, эндотелин-3), ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), выработки антидиуретического гормона, повышения активности симпатoadренальной системы. Установлено, что активация РААС играет значительную роль в патогенезе сердечно-сосудистых и почечных проявлений. Прогрессирующая сердечная недостаточность связана с нарастающим ухудшением функции почек, что, в свою очередь, приводит к гемодинамическому и нейрогуморальному ухудшению сердечной недостаточности, тем самым увеличивая риск смертности в 7.5 раз. Авторами данной работы показано, что у крыс с аорто-венозной фистулой формируется гипертрофия и дилатация сердца, а также наблюдается ремоделирование миокарда (Abassi et al., 2011).

Поскольку эта модель имитирует высокий сердечный выброс при клинической сердечной недостаточности, она может быть применена для изучения изменений миокарда, главным образом гипертрофии сердца.

Несмотря на то, что эта модель считается относительно недорогой, она имеет свои недостатки: необходимо хорошо знать анатомию подопытных животных, а также технику проведения операции, так как ошибки в процессе хирургического моделирования могут привести к осложнениям и неправильной интерпретации результатов.

Проведено (Aboiyag et al., 2017) изучение возможных механизмов, лежащих в основе повреждения почек после моделирования сердечной дисфункции на крысах созданием ХСН, индуцирован-

ной инфраренальной аортокавальной фистулой. Все измерения выполняли спустя  $28 \pm 2$  дней после индукции свища. С использованием наркоза устанавливали ряд гемодинамических показателей (артериального и внутрижелудочкового давления) с помощью системы PowerLab<sup>®</sup>/программного обеспечения (AD Instruments, Новая Зеландия). Частоту сердечных сокращений (ЧСС) определяли по сигналу ЭКГ. После завершения гемодинамических измерений животных умерщвляли под изофлурановой анестезией и быстро удаляли ткани крови, сердца, легких и почек. Проведенные *in vivo* гемодинамические измерения контрольных крыс и крыс с ХСН показали, что центральное венозное и левое конечное диастолическое давление были значительно увеличены у крыс с аортокавальной фистулой. У экспериментальных животных с ХСН наблюдалась гипертрофия миокарда, легких, повышение конечного диастолического и систолического объемов левого желудочка. Гистоморфологический анализ срезов тканей почек животных с ХСН позволил установить патологические изменения в структуре почек — атрофию клубочков и канальцев. Кроме этого, в области канальцев авторами исследования зафиксированы наличие пикнотических ядер и признаки дегенерации, проявляющиеся в десквамации клеток эпителиальных канальцев. Результаты экспериментов показали, что при моделировании сердечной недостаточности наблюдается также повреждение почек, что часто приводит к кардиоренальному синдрому (Aboiyag et al., 2017).

Также есть много различных вариаций формирования ХСН в результате развития кардиоренального синдрома на фоне сужения нижней полую вены. В данных случаях диаметр нижней полую вены уменьшали с помощью хирургической проволоки, металлического зажима.

Однако у данной модели в различных вариациях обнаруживается несколько недостатков. Не всегда есть точное описание самой техники, а также иногда формировались местные, а не системные застойные явления. Также наблюдалась высокая летальность (Cops et al., 2019).

Одна из последних вариаций данной модели — формирование абдоминального венозного застоя (Cops et al., 2018). После проведения правосторонней переднебоковой торакотомии между 5-м и 6-м ребрами, проколов плевры, легкие отодвигали в сторону и отделяли плевру от окружающих тканей. Сужение осуществлялось с помощью хирургической проволоки вокруг грудного отдела нижней полую вены и иглы 20G (0.812 мм), после иглу удаляли и рану зашивали. Образцы крови на биохимический анализ собирали в исходном состоянии и через 12 нед. после операции из хвостовой артерии (анализировали креатинин, цистатин С и мочевины). Двадцатичетырехчасовые об-

разцы мочи также брали в исходном состоянии и через 12 нед. после операции для анализа на креатинин и альбумин. Эхокардиографию проводили в исходном состоянии и через 12 нед. после операции. Инвазивные изменения давления осуществляли через 12 нед. после операции. Срезы почечной ткани брали для гистологического анализа. Среди гемодинамических изменений выявлено значительное повышение абдоминального венозного давления. Биохимический анализ показал повышение у экспериментальной группы крыс ряда параметров: креатинина плазмы, цистатина С и микроальбумина мочи. На ЭхоКГ зафиксировано значительное увеличение конечного диастолического диаметра левого желудочка. Гистоморфологические исследования срезов почечной ткани показали достоверное увеличение площади поверхности клубочка и ширины Боуменова пространства. Таким образом, данная модель ХСН еще раз подтвердила развитие почечной недостаточности у опытных крыс при воспроизведении сердечной патологии.

Моделирование сердечной недостаточности созданием аортокавального шунта модифицировано в исследовании, проведенном на белых крысах (Treskatsch et al., 2014). После лапаротомии аорту прокалывали одноразовой иглой 16G (Braun, Melsungen, Германия) дистальнее почечных артерий. Затем иглу продвигали через стенку аорты в соседнюю нижнюю полую вену. После временного сжатия аорты и венозных сосудов выше и ниже места прокола иглу осторожно извлекали и место прокола аорты заклеивали каплей цианоакрилатного клея. Проподимость свища визуализировалась пульсирующим потоком оксигенированной крови в нижнюю полую вену из инфраренальной аорты. Сосуды контрольных животных также временно сжимали и склеивали, но без какой-либо пункции аорты (Treskatsch et al., 2014). Показано, что массы тела достоверно не различались между контролем и экспериментальной группой через  $28 \pm 2$  дней после индукции фистулы. Однако весовые индексы сердца и легких были значительно увеличены. Центральное венозное и левое конечное диастолическое давление были значительно повышены, а сердечный выброс почти в два раза выше у крыс с ХСН. Также у животных с сердечной недостаточностью, развившейся после создания аортокавального шунта, значительно повышена концентрация  $\text{tBNP-45}$  в плазме крови. Электронная микроскопия левых желудочков опытных крыс показала: наличие фрагментированного ядерного хроматина, уменьшение размера миофибрилл, набухание митохондрий, вакуолизацию и иммиграцию фагоцитарных лейкоцитов. Выдвинуто предположение об апоптотических изменениях в миокарде левого желудочка во время прогрессирующего течения сердечной недостаточности.

Данная модель хорошо описывает изменения, наблюдаемые при прогрессировании сердечной недостаточности.

Однако основным осложнением было неконтролируемое кровотечение в месте пункции при индукции аортокавального шунта.

Хирургические модели ХСН в эксперименте применяют и российские ученые. Так, на крысах проведено (Казаченко и др., 2008, 2013) перманентное лигирование левой коронарной артерии (коронароокклюзия). После наркотизации крыс хлоралгидратом (500 мг/кг, внутривенно) обрабатывали гортань 2%-ным раствором лидокаина и осуществляли интубацию трахеи. Для обеспечения принудительной подачи воздуха в легкие был использован аппарат ИВЛ. Доступ к сердцу осуществляли путем торакотомии в 4-м межреберье слева от края тела грудины до передней аксиллярной линии. После рассечения перикарда производили лигирование ствола левой коронарной артерии с помощью атравматической иглы. Затем производили послойное ушивание раны (Казаченко и др., 2013). Несмотря на сложности при создании данной модели, получены хорошие результаты по моделированию ХСН. Так, через шесть месяцев после хирургического вмешательства зафиксирована дилатация всех камер сердца, снижена сократимость миокарда, у большинства крыс после коронароокклюзии отмечены признаки очагового кардиосклероза.

#### ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ХСН

Одна из самых распространенных фармакологических моделей, используемых для моделирования ХСН, — модель с изопротеренолом. Изопротеренол, являясь агонистом адренергических рецепторов, способен активировать аденилатциклазу, что приводит к накоплению в клетках цАМФ, влияющего на протеинкиназную систему, которая лишает миозин способности соединяться с актином. Активация данного механизма препятствует сокращению гладкой мускулатуры и способствует расслаблению бронхов. В свою очередь применение изопротеренола вызывает учащение и усиление сокращений сердца, увеличивает сердечный выброс и вместе с тем уменьшает общее периферическое сопротивление сосудов, снижает артериальное давление, уменьшает наполнение желудочков сердца, повышает потребность миокарда в кислороде (Гурова и др., 2012).

Для биологического моделирования ХСН изопротеренол животным вводят в различных дозировках и с разной степенью длительности. При введении подкожно изопротеренола в дозе 80 мг/кг дважды с интервалом в 24 ч развитие ХСН контролировали (Казаченко и др., 2008, 2013) с помощью эхокардиографии, являющейся высокоин-

формативным неинвазивным методом оценки функционирования сердечно-сосудистой системы у крыс в динамике развития создаваемой патологии. Проведение эхокардиографии выполняли трижды: в начале эксперимента, после 30 и после 60 дней. Через месяц после введения изопротеренола наблюдались гипертрофия левого желудочка и достоверное снижение показателей сократимости: комплексной серологической реакции, фракции укорочения, фракции выброса (Саркисян, 2010).

Преимуществом данной модели является то, что препарат вводят подкожно, что проще, чем при внутривенном введении, и не требуется дополнительной подготовки для проведения манипуляции. Также удобно то, что препарат вводят двукратно, что дает возможность быстрее получить желаемый результат и сократить время эксперимента.

Недостатком является то, что развивается лишь умеренная сердечная недостаточность.

Другой вариацией изопротереноловой модели является введение препарата в дозировке 10 мг/кг в сутки подкожно в течение 14 дней. Исследование проводилось на самцах и самках мышей. Результаты исследований показали, что к концу эксперимента фракция выброса снижена на 25% у самцов и на 21% у самок (Grant et al., 2020). ХСН подтверждена гистопатологическим анализом ткани миокарда. В работе продемонстрировано отсутствие значимых половых различий при моделировании патологии. Как у самок, так и у самцов зафиксированы в одинаковой степени выраженные дисфункция миокарда, гипертрофия и фиброз.

Недостатком данной модели является необходимость в течение 2 нед. ежедневно вводить лекарственный препарат, что может вызвать трудности в организации процесса эксперимента по причине ежедневного стресса, который испытывают животные.

В то же время постепенное введение небольшой дозы препарата дает возможность избежать и возможных осложнений, которые могут возникнуть при введении больших дозировок препарата, и связанных с этим летальных исходов лабораторных животных, находящихся в процессе эксперимента.

Еще одним вариантом изопротереноловой модели является введение данного препарата совместно с флуоксетином в дозе 30 мг/кг внутрибрюшинно в течение 7 дней половозрелым крысам-самцам линии Вистар (Мазитов и др., 2013). Гистологические исследования проводили на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином и по Ван Гизону. На препаратах левого желудочка, окрашенных по Ван Гизону, у группы опытных животных через 7 дней обнаружены выраженный

фиброз, явления инфильтрации и увеличение площади поперечного сечения кардиомиоцитов, что свидетельствует о развитии патологической гипертрофии миокарда. Отмечено, что фиброз наблюдался намного чаще, чем инфильтрация. В работе также показано, что при использовании данной модели воспроизведения патологии сердца снижается реакция силы сокращения миокарда на серотонин и на агонист 5-HT<sub>4</sub>-рецепторов.

Несмотря на видимые преимущества, данная модель также не лишена недостатков. Например, совместное введение изопротеренола и флуоксетина увеличивает стоимость проводимого эксперимента в отличие от моделей с одним лекарственным препаратом. К минусам данной фармакологической модели также можно отнести методику введения. Внутрибрюшинное введение препарата требует дополнительного оснащения и подготовки. Также возможны побочные эффекты при неправильном введении препарата.

На белых беспородных крысах-самках сердечную недостаточность моделировали путем введения экспериментальным группам животных изопротеренола в разных дозах (Гурова и др., 2012). Препарат вводили подкожно четырем опытным группам крыс в дозировке 10, 30, 50, 80 мг/кг соответственно с интервалом 24 ч. Контрольным животным вводили физраствор NaCl в эквивалентных объемах. Регистрацию ЭКГ осуществляли через 24 ч после последнего введения изопротеренола. Показано дозозависимое увеличение ЧСС, однако наибольшая доза — 80 мг/кг, наоборот, приводит к снижению ЧСС, что, вероятно, связано с нарушением проводимости. По результатам ЭКГ во всех экспериментальных группах зафиксированы патологические изменения (подъем сегмента ST и снижение амплитуды зубца R). Отмечено, что степень выраженности данных изменений находится в прямой корреляции с вводимой дозой вещества. Полученные результаты подтверждены морфологически с помощью метода поляризационной микроскопии.

Сходным с изопротеренолом действием обладают монокроталин и доксорубин.

Монокроталин — это пирролизидиновый алкалоид, вызывающий легочно-сосудистый синдром, характеризующийся пролиферативным легочным васкулитом и легочной гипертензией. Данный препарат увеличивает проницаемость капилляров и индуцирует интерстициальный отек, фиброз, накопление макрофагов и альвеолярный отек. Наблюдаемое со временем усиление легочного сосудистого сопротивления приводит к перегрузке правого желудочка давлением, о чем свидетельствует увеличение правого желудочка у

крыс. Установлено, что введение монокроталина подкожно в дозе 60 мг/кг крысам линии Вистар через месяц привело к гипертрофии правого желудочка и развитию легочной гипертензии. Отмечено более тяжелое проявление легочной гипертензии у самцов (Колосеев и др., 2020). Также показано (Казаченко и др., 2008), что однократное внутривентральное введение монокроталина в дозе 60 мг/кг у части животных вызывает развитие легочной гипертензии, гипертрофии правого желудочка и выраженной правожелудочковой сердечной недостаточности.

Тот факт, что не у всей группы животных наблюдалось достоверное снижение сократимости левого желудочка, не сделал эту модель широко распространенной в практике. К тому же именно доказанная токсичность монокроталина для миокарда ограничивает актуальность этой модели для изучения правожелудочковой недостаточности (Cops et al., 2019).

Рядом авторов описан опыт использования доксорубина при моделировании сердечной патологии. Для воспроизведения ХСН шесть инъекций доксорубина в дозировке 15 мг/кг осуществляли в течение 14 дней. Препарат вводили внутривентрально, растворяя содержимое 1 флакона (10 мг) в 5 мл растворителя (0.9%-ного изотонического раствора NaCl). Особенности доксорубиновой модели ХСН – прогрессирующее снижение сократимости миокарда левого желудочка и развитие его эксцентрического ремоделирования (Казаченко и др., 2013).

Однако многими исследователями отмечено, что при использовании доксорубина наблюдается высокая летальность экспериментальной группы крыс, что, вероятно, связано с дозозависимой кардиотоксичностью доксорубина.

Одной из самых популярных моделей ХСН, которую часто воспроизводят в эксперименте в России, является мезатоновая модель В.И. Инчиной (Крот, Федорова, 2011). Мезатон – синтетический альфа-адреномиметик с мощным стимулирующим воздействием на альфа-адренорецепторы (Лискова и др., 2014). Препарат вводят подкожно в дозировке 0.01 г ежедневно в течение 14 дней (Крот, Федорова, 2011). Через 15 мин после введения мезатона животным необходимо подвергнуть физической нагрузке длительностью 20 мин, например плаванию в небольшом бассейне. При данном моделировании патологии у животных наблюдаются дезорганизация мышечных волокон, деструктивные изменения кардиомиоцитов, увеличение стромального компонента миокарда, возрастание объема микроциркуляторного русла.

Плюсом данной модели является простота введения и невысокая цена препарата.

Недостаток данной модели в том, что организация физической нагрузки для подопытных животных требует дополнительного оснащения и специальной подготовки персонала, осуществляющего эксперимент.

Возможны вариации моделирования ХСН без использования фармакологических препаратов. Один из альтернативных способов – введение силиконового масла в плевральные полости крыс по методике Н.Н. Пятницкого и Ю.А. Блинкова (Сидоров, 2012). В данной методике используется шприц с толстой иглой, при помощи которого в каждую плевральную полость вводится по 1.5 мл масла на 100 г веса крысы. Спустя 30 дней проводят повторную инъекцию масла по 1.0 мл на 100 г веса в обе плевральные полости. Показано, что масло оказывает сопротивление сердечным сокращениям, развивается компенсаторная гипертрофия миокарда, а в последующем – дилатация полостей сердца. Наличие у крыс ХСН подтверждается патоморфологическими методами.

Несмотря на небольшие финансовые затраты при воспроизведении данной модели, не требующей дорогостоящего оборудования, введение силиконового масла приводит к тотальному давлению жидкости на все отделы миокарда, что может быть фактором риска повышенной летальности для животных экспериментальных групп.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процесс разработки новых лекарственных препаратов и способов медикаментозного лечения хронической сердечной недостаточности требует доклинической апробации на воспроизводимых моделях. Использование мелких грызунов в исследованиях удобно как в техническом, так и в экономическом плане. Для понимания патофизиологических механизмов сердечной недостаточности, выявления новых молекулярных мишеней и оценки специфической терапии моделирование патологии на мелких грызунах, в основном на крысах, невозможно переоценить. Анализ литературных данных за несколько последних десятилетий показывает, что в настоящее время не существует идеальной модели, которая полностью бы воспроизвела каждый из аспектов прогрессирования хронической сердечной недостаточности. Для воспроизведения хирургических моделей важно понимание анатомии, физиологии сердца, артерий и других органов, хороший послеоперационный уход. При создании фармакологических моделей важно правильно подобрать препарат и его дозировку, так как большие дозы вводимого вещества могут привести к инфаркту миокарда и

даже гибели животного в ходе эксперимента. В то время как некоторые модели воспроизводят нейро-эндокринные изменения, другие лучше воспроизводят ремоделирование, которое происходит при хронической сердечной недостаточности.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам НИИ экспериментальной биологии и медицины ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бойцов С.А., Агеев Ф.Т., Свирида О.Н. и др.* Совершенствование оказания медицинской помощи пациентам с хронической сердечной недостаточностью на амбулаторном этапе // Кубан. науч. мед. вестн. 2021. Т. 28. № 4. С. 14–24.
- Гурова Н.А., Харитоновна М.В., Паньшин Н.Г., Сорокин С.М.* Моделирование изопроterenоловой ишемии миокарда у крыс // Волгоград. науч.-мед. журн. 2012. № 2 (34). С. 51–54.
- Казаченко А.А., Оковитый С.В., Куликов А.Н. и др.* Возможности фармакологического моделирования хронической сердечной недостаточности // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2008. № 4 (24). С. 32–35.
- Казаченко А.А., Оковитый С.В., Куликов А.Н. и др.* Экспериментальное моделирование хронической сердечной недостаточности // Биомедицина. 2013. № 3. С. 41–48.
- Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Черногорюк Г.Э. и др.* Хроническая сердечная недостаточность: синдром или заболевание? // Бюл. сиб. мед. 2020. Т. 19. № 1. С. 134–139.
- Колосов Н.Л., Суслонина О.В., Смирнова С.Л., Рощевская И.М.* Биоэлектрический импеданс тела крыс линии Вистар разного пола при монокроталиновой модели легочной артериальной гипертензии // Вестн. Урал. мед. академич. науки. 2020. Т. 17. № 2. С. 98–109.
- Крот Е.В., Федорова Н.П.* Функциональная морфология кардиомиоцитов крыс линии Wistar на фоне хронической сердечной недостаточности // Здоровье и образование в XXI в. 2011. Т. 13. № 1. С. 23–25.
- Лискова Ю.В., Саликова С.П., Стадников А.А.* Экспериментальные модели сердечной недостаточности: состояние вопроса и результаты собственного исследования // Морфол. вестн. 2014. № 1. С. 46–53.
- Мазитов Т.М., Нигматуллина Р.Р., Исламов Р.Р.* Морфофункциональные показатели левого желудочка сердца крыс в изопроterenол-флуоксетиневой модели хронической сердечной недостаточности // Успехи соврем. естествозн. 2013. № 6. С. 44–49.
- Подобед И.В., Кравченко Е.С., Тестова С.Г.* Сочетание терапевтического и гериатрического подходов в оценке состояния пациентов с хронической сердечной недостаточностью // Соврем. пробл. здравоохр. мед. стат. 2020. № 2. С. 83–92.
- Саркисян К.Х.* Изменения индивидуальной чувствительности к изадрину у бодрствующих и наркотизированных животных // Биомедицина. 2010. № 3. С. 119–121.
- Сидоров А.В.* Уровень катехоламинов и биогенных аминов в миокарде у крыс с хронической сердечной недостаточностью на фоне длительного применения ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, бета-адреноблокаторов и их комбинаций // Вестн. КГУ им. Н.А. Некрасова. 2012. № 1. С. 14–18.
- Abassi Z., Goltzman I., Karram T. et al.* Aortocaval fistula in rat: a unique model of volume-overload congestive heart failure and cardiac hypertrophy // J. Biomed. Biotechnol. 2011. V. 2011. P. 729497. <https://doi.org/10.1155/2011/729497>
- Aboryag N.B., Mohamed D.M., Dehe L. et al.* Histopathological changes in the kidney following congestive heart failure by volume overload in rats // Oxid. Med. Cell. Longev. 2017. V. 2017. № 2. P. 6894040.
- Cops J., Mullens W., Verbrugge F.H. et al.* Selective abdominal venous congestion to investigate cardiorenal interactions in a rat model // PLoS One. 2018. V. 13. № 5. P. e0197687. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197687>
- Cops J., Haesen S., Moor B.D. et al.* Current animal models for the study of congestion in heart failure: an overview // Heart Fail. Rev. 2019. V. 24. № 3. P. 387–397.
- Hirata M., Ousaka D., Arai S. et al.* Novel model of pulmonary artery banding leading to right heart failure in rats // BioMed Res. Int. 2015. V. 2015. P. 753210. <https://doi.org/10.1155/2015/753210>
- Grant M., Abdelgawad I.Y., Lewis C.A. et al.* Isoproterenol-induced cardiac dysfunction in male and female C57Bl/6 mice // bioRxiv. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.04.17.0464175>
- Katz M.G., Fargnoli A.S., Gubara S.M. et al.* Surgical and physiological challenges in the development of left and right heart failure in rat models // Heart Fail. Rev. 2019. V. 24. № 5. P. 759–777.
- Treskatsch S., Feldheiser A., Rosin A.T. et al.* A modified approach to induce predictable congestive heart failure by volume overload in rats // PLoS One. 2014. V. 9. № 1. P. e87531. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087531>

## **Evaluation of the Effectiveness and Reproducibility of Biological Models of Chronic Heart Failure**

**V. I. Bolotskikh<sup>a</sup>, A. V. Makeeva<sup>a</sup>, \*, M. V. Lushchik<sup>a</sup>,  
Ek. N. Mokasheva<sup>a</sup>, Ev. N. Mokasheva<sup>a</sup>, and V. V. Shishkina<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Burdenko Voronezh State Medical University, Ministry of Health, Voronezh, Russia*

*\*e-mail: a.makeeva@vrngmu.ru*

Chronic heart failure (CHF) has been attracting the attention of researchers and doctors for a long time, since, unfortunately, the number of patients with this pathology is growing every year. The study of the etiology, pathogenesis, treatment methods and possible consequences of CHF is important for effective treatment and prevention. Cardiac pathology is characterized by the appearance of shortness of breath, the development of chronic fatigue, edema, decreased physical activity due to a violation of normal perfusion of organs and tissues and the development of chronic hypoxia. In this regard, modeling of heart failure in animals seems to be a very relevant and promising direction, as it makes it possible to study in detail the etiopathogenetic features of the development of CHF and complications. The preclinical stage of the study of drugs on animals allows you to evaluate the mechanism of action of the drug, choose the right dosage, describe side effects. The use of small rodents in the creation of CHF models is less time-consuming and economically more profitable than conducting research on large animals. This article provides an analysis of the effectiveness and reproducibility of biological models of CHF. The most common modern surgical and pharmacological models, experimental methods, the main hemodynamic and histomorphological changes observed during the development of CHF in animals, as well as the disadvantages and advantages of different types of modeling are described.

*Keywords:* chronic heart failure, biological modeling, myocardial hypertrophy, isoproterenol, surgical models, pharmacological models

УДК 615.017

## НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ МИШЕНИ КОРРЕКЦИИ ВОСПАЛЕНИЯ ЛЕГКИХ, ВЫЗВАННОГО АЭРОЗОЛЯМИ ПОВРЕЖДАЮЩИХ ФАКТОРОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

© 2022 г. О. А. Яковлев<sup>1, \*</sup>, М. А. Юдин<sup>1, 2</sup>, С. В. Чепур<sup>1</sup>,  
Н. Г. Венгервич<sup>1, 3</sup>, А. В. Степанов<sup>1</sup>, А. А. Бабкин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: gniiivm\_15@mil.ru

Поступила в редакцию 15.03.2022 г.

После доработки 22.03.2022 г.

Принята к публикации 25.03.2022 г.

Приведены данные о современном состоянии особенностей патогенеза формирования воспаления в организме, в частности в легких, при воздействии повреждающих факторов различной природы: возбудителей инфекций, химических токсикантов, а также инкорпорированных радионуклидов и др. Рассмотрены особенности самого воспаления, как типового патологического процесса, приведены сведения о медиаторах, индуцирующих так называемую проразрешающую фазу проявлений воспаления, обоснованы подходы к нейроиммунной коррекции неспецифического воспаления. Обобщены данные об альтернативных подходах к коррекции неспецифического воспаления: факторы свертывающей системы, модуляторы интегрированного стрессового ответа, модуляторы сигма-1-рецепторов. На основании представленных данных сформулированы общие направления терапии неспецифического воспаления легких, включающие рефлексогенную и противовоспалительную терапию в комбинации с препаратами мультимодального действия, а также проразрешающую терапию в комбинации с препаратами, препятствующими фиброзированию.

*Ключевые слова:* воспаление, легкие, пульмонопротекторы, флогены, аэрозоли, неспецифическая фармакологическая коррекция, интегрированный стрессовый ответ

DOI: 10.31857/S004213242204010X

### ВВЕДЕНИЕ

Возбудители инфекций, химические токсиканты, а также инкорпорированные радионуклиды (далее повреждающие факторы) опосредуют специфические и неспецифические респираторные нарушения в результате аэрогенного воздействия. При этом формирование воспалительной реакции выступает в качестве ключевого триггера, опосредующего их повреждающее действие. Выраженность и интенсивность этого процесса зависит от характеристик биодоступности повреждающих факторов и от размера ингалированных частиц аэрозоля: чем крупнее частицы вдыхаемого аэрозоля, тем менее вероятно их осаждение в нижних отделах дыхательного тракта (Cargnello Roux, 2011). В профиле осаждения аэрозоля важную роль играет геометрия различных областей трахеобронхиального дерева. Диаметр определяет

необходимое смещение частицы до ее контакта с эпителиальной выстилкой, поперечное сечение обуславливает скорость движения воздуха (Башарин и др., 2022), а характер ветвлений бронхов влияет на смешивание между вдыхаемым и резервным воздухом (Чепур и др., 2019; Codagnone et al., 2018).

При аэрозольном поступлении основой последующих взаимодействий повреждающего фактора с организмом служит уровень нейроиммуноэндокринной реакции, определяющей интенсивность неспецифических воспалительных процессов, нередко заканчивающихся летальным исходом или выраженными морфофункциональными изменениями легочной ткани, существенно снижающими качество жизни: хронической обструктивной болезнью легких, диффузным фиброзом легких, дыхательной недостаточностью и т.п. Поэтому тактика профилактики и лечения пострадавших с



**Рис. 1.** Основные направления терапии неспецифического воспаления легких, вызванного неблагоприятными факторами внешней среды.

подобной патологией должна предусматривать экстренное, по возможности, ингаляционное введение лекарственных средств, препятствующих индукции триггерных механизмов воспалительной реакции, нивелирующих начальную фазу воспаления и ускоряющих формирование адаптивного комплекса структурно-функциональных перестроек.

Для определения возможных направлений терапии ингаляционных поражений легких следует учитывать молекулярно-клеточные механизмы индукции, поддержания и разрешения воспаления, присущие действию широкого спектра повреждающих факторов. На настоящий момент схема коррекции неспецифического воспаления легких (пульмопротекция) основана на применении средств противовоспалительной и проразрешающей терапии, а также на блокировании патологических рефлекторных реакций (рис. 1).

### КОРРЕКЦИЯ СОБСТВЕННО ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ

Известно, что взаимодействие организма с повреждающим фактором инициирует высвобождение провоспалительных медиаторов. Так, прямое повреждение клеток химическими токсикантами приводит к высвобождению молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждением DAMPs (damage-associated molecular patterns), тогда как повреждение, вызванное биопатогеном, – молекулярных фрагментов, ассоциированных с патогеном

PAMPs (pathogen-associated molecular patterns). Выделяют также универсальную систему молекулярных сигналов, ассоциированную с нарушением клеточного гомеостаза, экспрессией генов, воспалением, аллергией и репарацией тканей. Вышеперечисленные сигнальные молекулы представлены: белками; РНК; ДНК; липополисахаридами (ЛПС); экзо- и эндотоксинами; различными гликанами, которые активируют рецепторы распознавания паттернов – toll-подобные рецепторы TLR<sub>1-11</sub>, NOD-подобные рецепторы NBS-LRR (nucleotide-binding site leucine-rich repeat), RIG-I-подобные рецепторы (RLR); мембранными 2'-5'-олигоаденилатсинтазами и протеинкиназами, активируемыми двухспиральной РНК и др. (Чепур и др., 2019; Di Salvo et al., 2021). Сочетанное или изолированное воздействие этих молекулярных образцов определяет индукцию воспаления. Некоторые ксенобиотики (флогены) могут предопределять их активацию без прямого повреждения тканей, предположительно посредством стрессорных молекул MICA, MICB, RAE-1, ULBP1, ULBP2, ULBP3 с высоким аффинитетом к киллер-ингибирующим рецепторам NK-клеток (Zingoni et al., 2018). Считается, что ткане- и стрессор-специфическое представительство, концентрация и длительность действия данных сигналов программируют воспалительную реакцию и определяют ее специфичность. Отмеченные обстоятельства диктуют необходимость выявления наиболее значимых предикторов неспецифического воспаления.

Вне зависимости от природы повреждающего фактора нарушение целостности клеток ведет к высвобождению во внеклеточную среду значительного объема цитозольного и внутриядерного содержимого, включающего консервативные гидрофобные домены — алармины. Алармины представлены дефензинами, кателицидинами, нейротоксином эозинофилов, ядерным негистоновым белком B1 — HMGB1, белками теплового шока HSP, нуклеиновыми кислотами, гистонами, нуклеосомами. Выступая в роли лигандов специфических рецепторов: TLRs, гликан-связывающего рецептора RAGE (receptor for advanced glycation endproducts), рецепторов фагоцитоза, включая MerTK и MFG-E8, рецептора лектина С-типа — CLR, рецептора-мусорщика SR (scavenger receptor) и др., алармины индуцируют воспалительную реакцию (Anfinogenova et al., 2020). Так, массивный некроз тканей при хирургических операциях приводит к системной воспалительной реакции, которая в 4–7% случаев заканчивается летальным исходом (Бакулина и др., 2017). Рецепторы аларминов выступают ассоциирующим звеном в ответ на повреждающие стимулы, а воздействие на них оправдано с точки зрения универсальности коррекции неспецифического воспаления.

Влияние DAMPs опосредовано значительным представительством рецепторов, среди которых существенная роль принадлежит TLR4. Проявляя способность к рецепции огромного числа DAMPs, включая бактериальные ЛПС, TLR4 служат универсальным триггером развития неспецифического воспаления, подкрепление которого обусловлено клетками иммунной системы человека. Существовая в виде гомо- и гетеродимерных комплексов с рецепторами других подтипов, которые находятся как на цитолемме, так и внутриклеточно в цитоплазме, TLR4 запускают механизмы врожденного иммунитета. Способность связываться со всеми адаптерными белками обуславливает основную роль TLR4 в формировании неспецифического воспаления, включая цитокиновую секрецию, выработку провоспалительных ИЛ-13 и ИЛ-18, а также процессов аутофагии и апоптоза (Бакулина и др., 2017).

TLR4 участвуют в патогенезе хронических воспалительных заболеваний, острого сепсиса, а также жизнеугрожающих осложнений опасных инфекций (Perrin-Cocon et al., 2017). Так, нокаут генов по TLR4 защищает грызунов от гибели в результате нарушения сократимости миокарда, вызванного токсином *Bacillus anthracis* (Kandadi et al., 2012). На настоящий момент доказано (Imai et al., 2008), что тяжесть острого повреждения легких при воздействии повреждающих факторов зависит от степени активации сигнального пути врожденного иммунитета TLR4—TRIF—TRAF6, где TLR4 (toll-like receptor 4) — толл-подобный рецептор 4, TRIF (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- $\beta$ ) — TIR-домен-содержащий адаптер, инду-

цирующий интерферон- $\beta$ , TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6) — фактор 6, ассоциированный с рецептором TNF. В свою очередь, использование антагонистов TLR4 предотвращает секрецию провоспалительных цитокинов, миграцию дендритных клеток, индуцированную ЛПС, а также снижает острое повреждение легких и летальность, ассоциированные с вирусной инфекцией.

В качестве блокаторов TLR4 можно использовать антагонисты  $\mu$ -опиоидных рецепторов (налтрексон и налтрексон). Их эффективность в отношении TLR4-зависимой патологии — нейропатической боли или аддикции — продемонстрирована в ряде работ (Watkins et al., 2014; Wang et al., 2016). Наиболее перспективным средством коррекции гипериммунного ответа на данный момент считается правовращающий изомер налтрексона (Selfridge et al., 2015). Именно с ним связывают способность таргетно блокировать каскад PAMPs-ассоциированных ЛПС-зависимых стимулов в отношении TLR4.

Выброс медиаторов в кровеносное русло способствует рекрутингу нейтрофилов и моноцитов костномозгового происхождения, которые мигрируют в очаг воспаления, где подвергаются дифференцировке. В очаге воспаления эпителиальные и иммунокомпетентные клетки начинают продуцировать цитокины и хемокины: MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1), CCR2 (C-C motif chemokine receptor type 2), CXCL-1 (C-X-C motif chemokine ligand 1), среди которых приоритетная роль в развитии и прогрессировании воспалительного процесса принадлежит ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ . В результате воздействия протеолитических ферментов ФНО- $\alpha$  высвобождается от связи с цитолеммой и взаимодействует с одноименным рецептором на поверхности макрофагов, дендритных клеток, Т-лимфоцитов и активирует домен апоптоза через митоген-активированную протеинкиназу p38-MAPK и NF- $\kappa$ B. MAPK активирует факторы транскрипции Ets и, как следствие, экспрессию генов *fas*, в результате чего увеличивается продукция провоспалительных протеинов II класса (DP, DQ, DR), антигенов HLA Т-клеточного рецептора, AP-1, регулирующего транскрипцию циклина 1D, и провоспалительных ростовых факторов NGF, EGF, PDGF и др. (Cargnello, Roux, 2011). Результат активации нейтрофилов и моноцитов — накопление активных форм кислорода и азота.

В плане скрининга эффективных пульмонопротекторов возможно использовать модель повреждения легких сигаретным дымом, основываясь на общих патогенетических механизмах поражения легких, присущих многим повреждающим факторам (рис. 2).

Среди молекулярных мишеней, воздействие на которые может способствовать профилактике и ле-

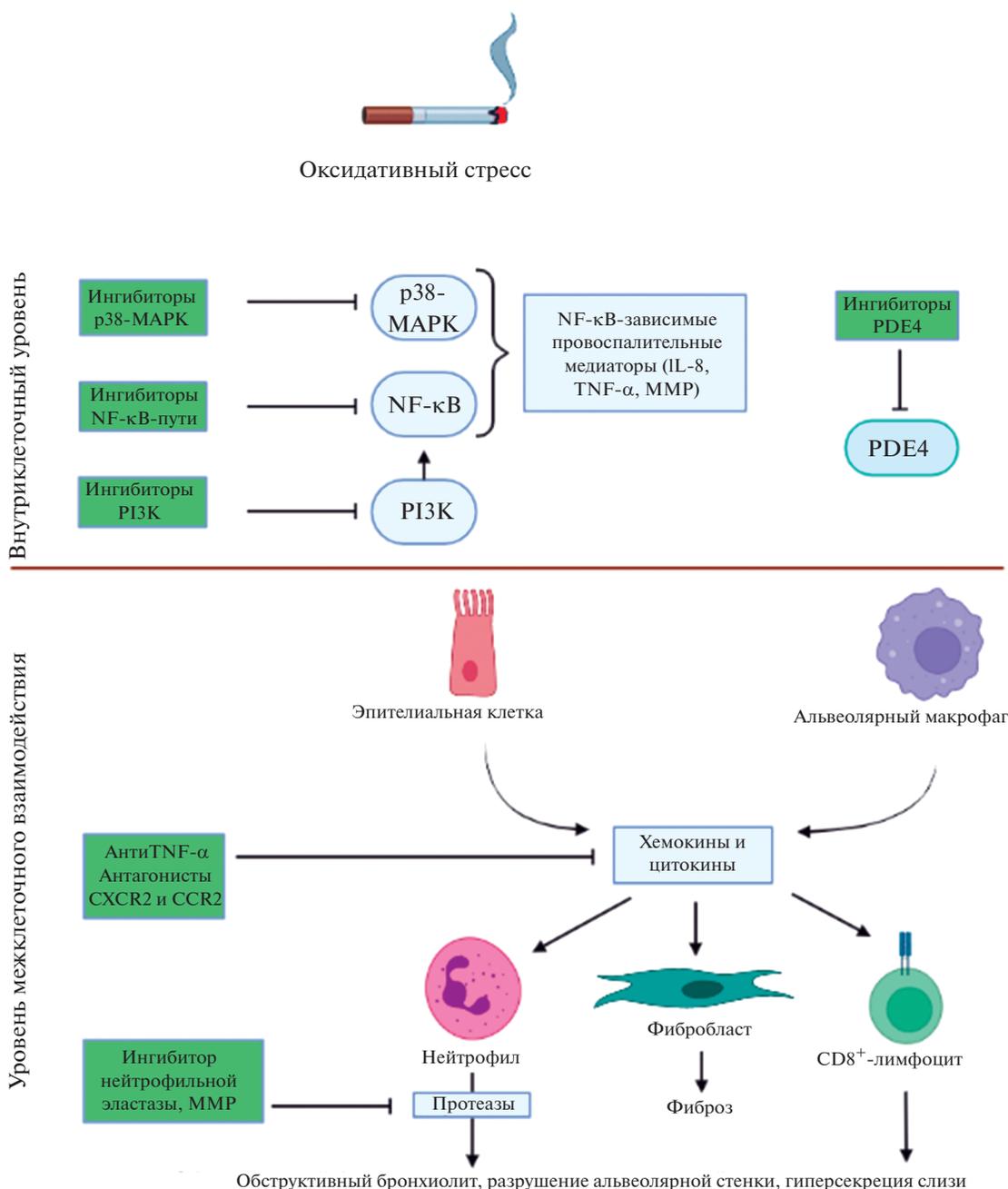


Рис. 2. Патогенетические звенья поражения легких сигаретным дымом.

чению неспецифического воспаления легких, целесообразно выделить (Yao et al., 2008):

1. Ингибиторы клеточного сигналинга: ингибиторы фосфодиэстеразы В-типа (PDE4B) и 4-го типа (рофлумиласт, циломиласт, GRC3886 и GSK842470); ингибиторы p38-MAPK (SB 203580, SB 239063 и RWJ 67657, SD282, GSK-681323, GSK-85633); ингибиторы IKK-2 (находятся в стадии разработки); ингибиторы фосфоинозитид-3-киназы PI3K δ- и γ-типов (LY294002).

2. Ингибиторы цитокинов и хемокинов: антагонисты CCL2 (MCP-1) и CCR2 (CCX915, INCB3284, антитела ABN912, INCB8696, JNJ-27553292, SKL-2841 и INCB3344); антагонисты CXCL1, CXCL8 (SB-265610, SCH 527123); ингибиторы ФНО-α (инфиксимаб, этанерцепт, адалумимаб).

3. Модификаторы гистондеацетилаз HDAC (вориностат и ромидеписин).

4. Антипротеиназы: ингибиторы эластаз нейтрофилов (ZD0892, AZD3342, α-1-антитрипсин);

ингибиторы ММР-1, -2, -9, -12 (макрофагальных) типов (маримастат, BMS-561392 и GW3333).

### СРЕДСТВА, ИНДУЦИРУЮЩИЕ ПРОРАЗРЕШАЮЩУЮ ФАЗУ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ

Несмотря на то, что разрешение — это исход воспаления любой этиологии, этот период характеризуется активным процессом, регулируемым специальными проразрешающими липидными медиаторами (ПЛМ). Их синтез начинается в момент активации нейтрофилов (минуты, часы) и продолжается до функционально-структурного восстановления ткани легкого (сутки, недели). ПЛМ снижают выраженность воспалительной реакции без депрессии иммунной системы, защищают ткани от повреждения, ускоряют удаление этиологических факторов воспаления и апоптотических лейкоцитов, способствуя восстановлению гомеостаза (Krishnamoorthy et al., 2018). ПЛМ образуются в результате ферментирования жирных кислот: липоксины — из арахидоновой кислоты, Е-серия резолвинов — из эйкозапентаеновой кислоты, D-серия резолвинов, протектинов и марезинов — из докозагексаеновой кислоты. При определенных условиях могут образовываться высокоактивные конъюгаты, например ПЛМ-сульфидили ПЛМ-ацетил-производные (Chiang, Serhan, 2020).

Большое количество публикаций, посвященных резолвинам, в последнее время связано, в том числе, с перспективами их использования при лечении COVID-19, поскольку гипервоспалительная реакция, вплоть до цитокинового шторма, представляет одну из основных причин высокой летальности при коронавирусной инфекции (Panigrahy et al., 2020). Основой этому послужили результаты применения средств проразрешающей терапии на моделях патологии легочной ткани, при этом наибольшую перспективность представляет использование резолвина D1. Так, показано (Xia et al., 2019), что резолвин D1 при внутрибрюшинном введении уменьшал вентиляционно-ассоциированное повреждение легких мышей, выраженность эмфиземы и хронического воспаления на модели хронического (Hsiao et al., 2015) и острого (Hsiao et al., 2013) воздействия сигаретного дыма. Резолвин D1 способствовал разрешению воспаления легких на модели инфекции, вызванной синегнойной палочкой *Pseudomonas aeruginosa* (Codagnone et al., 2018) или на модели ЛПС-индуцированного повреждения легких (Wang et al., 2014). Резолвин D1 ограничивал септическое повреждение легких мышей, вызванное (Zhuo et al., 2018) перевязкой и пункцией слепой кишки.

Важнейшая особенность биохимических превращений резолвинов связана с их чувствительностью к ацетилирующему действию аспирина.

Так, на модели паракват-индуцированного повреждения легких мышей аспирин-индуцированный резолвин D1 оказывал защитное действие, снижая оксидативный стресс, воспалительную реакцию и отек легких (Hu et al., 2019), а на модели пневмонии смешанной этиологии уменьшал воспаление и инфильтрацию легких (Wang et al., 2017).

В разрешении воспаления, помимо резолвинов, участвуют липоксины, марезины, а также различные протеины — аннексин A1, TIM-4 (T-cell immunoglobulin and mucin domain 4), действие которых реализуется благодаря модификации сигнального пути (PI3K, связанной с АТФ) и работы внутриклеточных регуляторов воспалительных реакций (семейство протеинкиназ В (PKB) и серинтреониновой специфичности). Показано, что, связываясь со специфическим N-формильным пептидным рецептором 2-го типа (FPR2) мембран лейкоцитов, аннексин A1 уменьшает вызванную N-формилметионин-содержащими олигопептидами (включая продукты арахидоновой кислоты) эпителиальную адгезию, процессы миграции лейкоцитов, хемотаксис и фагоцитоз (Schloer et al., 2019).

Вышеприведенные данные свидетельствуют о перспективности применения резолвинов, в частности резолвина D1, в качестве средств, индуцирующих проразрешающую фазу неспецифического воспаления.

### НЕЙРОИММУННАЯ КОРРЕКЦИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ЛЕГКИХ

Острое воздействие повреждающих факторов и в первую очередь токсических веществ на легкие обусловлено не только нарушением целостности тканей вследствие прямого цитолитического действия, но и гиперактивацией защитных функций организма, таких как выделение слизи, кашель, бронхоспазм, отек, а также нейрогенное воспаление. Уменьшить интенсивность рефлекторных реакций можно, разомкнув рефлекторную дугу, представленную афферентной, центральной и эфферентной фазами. Этот подход успешно реализуется применением  $\beta_2$ -адреномиметиков и  $M_3$ -холиноблокаторов в качестве средств ургентной терапии поражений пульмонотоксикантами (De Virgiliis, Di Giovanni, 2020).

Дыхательный эпителий содержит легочные нейроэндокринные клетки, часть из которых ассоциирована с отростками нервных клеток и называется НЭТ (нейроэпителиальные тельца), которые способны к высвобождению иммунотропных аминов и пептидов. Доказаны роль НЭТ в развитии легких, в течении воспалительных заболеваний, а также способность НЭТ выступать в качестве стволовых клеток (Yeger et al., 2019).

Показано, что иннервация НЭТ, по аналогии с эндотелием сосудов, осуществляется чувствительными волокнами узлового и яремного ганглиев *n. vagus*, которые экспрессируют мембранные рецепторы к нейротропным факторам и пуринам соответственно. Активация волокон эндогенными и экзогенными медиаторами вызывает деполяризацию нейронов с последующим выбросом нейропептидов как в легких, так и вблизи вторичных нейронов ядра одиночного пути, запуская при этом рефлекторный кашель. В развитии кашля также участвуют медленнопроводящие (~1 м/с) немиелинизированные волокна С-типа, которые экспрессируют TRPV1-рецепторы (Nassenstein et al., 2018).

Парасимпатическая эфферентная регуляция нейроиммунных процессов в легких анатомо-гистологически обеспечивается преганглионарными нейронами дорзального моторного ядра *n. vagus*, достигающего интрамуральных ганглиев трахеи, содержащих ацетилхолин-продуцирующие нейроны и нехолинергические нейроны нервного сплетения Ауэрбаха вблизи наружного продольного мышечного слоя пищевода. Последние в качестве нейромедиаторов высвобождают интестициальный вазоактивный пептид VIP (vasoactive intestinal peptide) и NO (Yildiz-Pekoz, Ozsoy, 2017).

В отличие от нейронального ацетилхолина, высвобождение его ненейрональной доли происходит некантово. Так, на экспериментальной модели бронхиальной астмы на животных применение антихолинергических препаратов обеспечивало бронхолитический эффект, уменьшение слизи и воспаления и ремоделирование через процесс блокирования M<sub>3</sub>R. Провоспалительный эффект ацетилхолина, включающий повышение хемотаксиса нейтрофилов и стимуляцию продукции активных форм кислорода, вероятно, также опосредован активацией M<sub>3</sub>R, что подтверждается применением фармакологических зондов (Shen et al., 2020).

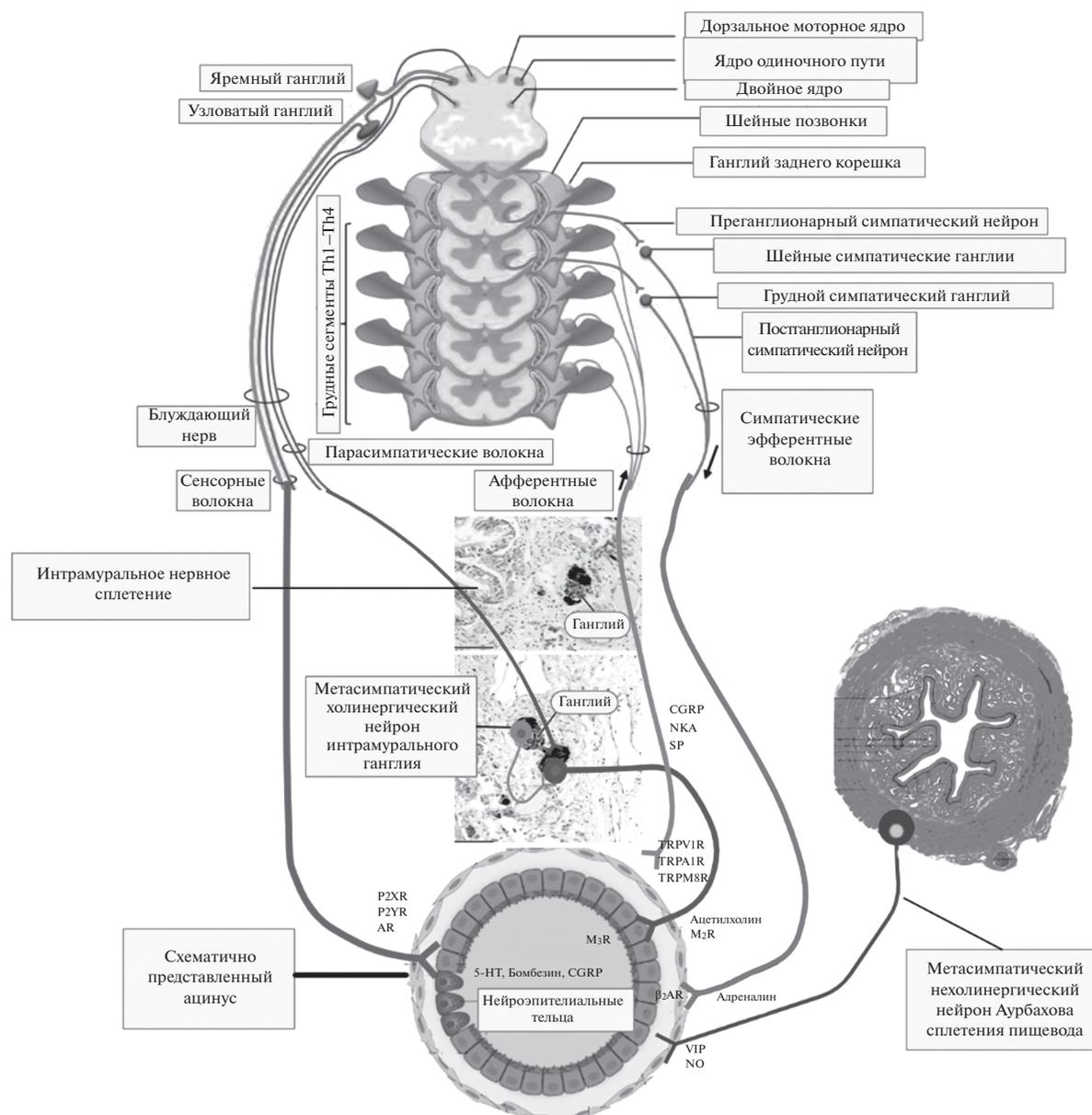
VIP-ергические парасимпатические нервные волокна широко колокализированы с пептидом, активирующим аденилатциклазу гипофиза. Оба медиатора усиливают вазодилатацию и бронходилатацию. В дополнение тучные клетки и Th<sub>2</sub>-лимфоциты синтезируют VIP, который оказывает противовоспалительный эффект, что подтверждено на различных моделях воспаления легких. Так, профилактическое введение интратрахеально аналога VIP снижало рекрутинг воспалительных клеток на 70% в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (Prescott et al., 2020). Позднее взаимодействие между сенсорными нейронами и эозинофилами, а также антиген-презентирующими клетками подтверждено гистологически. Эозинофилы влияют на ветвление сенсорных нейронов, предположительно за счет избыточной секреции фактора роста нервов. В свою очередь доказано, что нервные волокна стимулируют миграцию эозинофилов

за счет секреции эотаксина-1. Существенная роль в организации нейроиммунных взаимодействий принадлежит тучным клеткам, которые способны активировать TRPV1-рецептор через H<sub>1</sub>-рецептор нейронов.

Клиническая значимость нейроиммунного взаимодействия в обеспечении воспалительных процессов подтверждается клиническим успехом рефрактерной терапии бронхиальной астмы путем вагальной термопластики и стимуляции блуждающего нерва (Caravaca et al., 2019). Нейроиммунные взаимодействия на анатомическом уровне, выступающие в качестве мишеней фармакологической коррекции воспаления, схематично отображены на рис. 3.

Стимуляция парасимпатических волокон индуцирует бронхоспазм, гиперсекрецию слизи и вазодилатацию легочных сосудов через активацию мускариновых холинорецепторов 3-го типа M<sub>3</sub>-XP. Мускариновые холинорецепторы 2-го типа представлены на пресинаптических терминалях, а их активация ослабляет высвобождение ацетилхолина и препятствует бронхоспазму. Многие факторы биологической природы, например вирусы парагриппа, нарушают функцию M<sub>2</sub>-XP, что приводит к усилению выброса ацетилхолина и повышению тонуса гладкой мускулатуры. Учитывая способность легочных макрофагов экспрессировать M<sub>2</sub>-XP, M<sub>3</sub>-XP, можно сделать вывод о корреляции между активностью ацетилхолиновой системы и выраженностью воспаления (Koarai et al., 2012). Обратная положительная связь подтверждается способностью ИФН $\gamma$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  повышать экспрессию M<sub>2</sub>-XP, что, в частности, показано на моделях вирусных инфекций, в том числе SARS-CoV-2 (Rynko et al., 2014). Активация С-волокон, содержащих кальцитонин, ген-связанный пептид CGRP, такикинины (субстанция P и нейрокинин A), вызывает спазм гладкой мускулатуры дыхательных путей, вазодилатацию, избыточное образование слизи, что в совокупности формирует клинические проявления синдрома неспецифического воспаления. Показано, что P2RY1<sup>+</sup>-нейроны блуждающего нерва обеспечивают запуск каскада реакции воспаления в ответ на ингаляционное поступление различных ирритантов, при этом рецепторы растяжения дыхательных путей Piezo2 интегрируют и координируют защитные рефлексы, в частности ларингоспазм (Nonomiga et al., 2017). В реализации неспецифического воспаления при воздействии повреждающих факторов участвуют сенсорные клетки, богатые НЭТ с биоактивными медиаторами: бомбезином, серотонином, CGRP (Noguchi et al., 2020).

Перспективными мишенями фармакологической коррекции рефлекс-зависимого воспаления могут являться катионные каналы, действующие через транзиторный рецепторный



**Рис. 3.** Схематичное отображение нейроиммунных взаимодействий, выступающих в качестве мишеней фармакологической коррекции воспаления. P2XR – семейство АТФ-открываемых P2X-пуринергических рецепторов; P2YR – семейство АТФ-открываемых P2Y-пуринергических рецепторов; AR – адренорецепторы; M<sub>2</sub>R – мускариновый ацетилхолиновый рецептор 2-го типа; M<sub>3</sub>R – мускариновый ацетилхолиновый рецептор 3-го типа; CGRP – кальцитонин ген-связанный пептид; β<sub>2</sub>AR – β<sub>2</sub>-адренорецепторы; VIP – вазоинтестинальный пептид; NO – оксид азота; TRPV1R – рецептор транзитного потенциала по ванилоиду, член 1-го подсемейства; TRPA1R – рецептор транзитного потенциала по анкирину, член 1-го подсемейства; TRPM8R – рецептор транзитного потенциала по меластатину, член 8-го подсемейства; NKA – нейрокинин А; SP – субстанция P; 5-НТ – серотонин.

потенциал (TRP-канал): ванилоидные (TRPV1), анкириновые (TRPA1) и меластатиновые (TRPM8), а также рецепторы медиаторов эфферентных волокон легочной ткани (субстанция P и CGRP). Локализуясь на ноцицептивных периферических нейронах TRPA1, TRPV1 и TRPM8, они ответственны за восприятие острой и хронической боли, инициирование рефлекторного кашля, развитие приступов астмы, повреждение легких и асептиче-

ское воспаление (Grace et al., 2013). Их особенность – возможность активации воспалительных процессов вне связи с конкретным пульмоноотоксикантом, а только посредством попадания частиц с диаметром менее 2.5 мкм, так называемых тонкодисперсных частиц (ТЧ2.5). Экспериментально показано, что профилактическое лечение антагонистами TRPV1- и TRPA1-рецепторов эффективно предотвращает воспаление легких и гиперчувстви-

тельность бронхов, вызванные интраназальной инстилляцией ТЧ2.5 мышам в дозе 7.8 мг/кг (Xu et al., 2019).

Другой представитель семейства рецепторов TRP – TRPC6 – экспрессируется на эозинофилах, нейтрофилах, тучных клетках и CD4<sup>+</sup>-лимфоцитах, и его активация вовлечена в патогенез астмы и аллергического воспаления. В свою очередь активация TRPV1 на С-волоконках сенсорных нейронов приводит к высвобождению тахикининов и усилению рекрутинга иммунных клеток (Jia, Lee, 2007).

TRPA1-рецепторы активируются лакриматорами (CS, CN, CR), лекарственными средствами (парацетамол, дифенгидрамин), продуктами горения, химиотерапевтическими агентами, сигаретным дымом, а также другими поллютантами (Belvisi, Birrell, 2017). В настоящее время в качестве наиболее вероятных кандидатов, способных блокировать TRP-каналы, рассматривают: AG489, выделенный из яда паука *Agelenopsis aperta*, HCRG21, выделенный из актинии *Heteractis crispa*, JYL-1421 и AMG8562 (Кветкина и др., 2019).

## АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ПОДХОДЫ К КОРРЕКЦИИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ

### *Факторы свертывающей системы крови*

Факторы свертывающей системы крови относят к провоспалительным факторам, тогда как вещества, оказывающие противоположное действие, обладают противовоспалительным эффектом, что показано на различных моделях повреждения легких (Choi et al., 2008). Так, на модели ЛПС-индуцированного повреждения легких крыс введение гепарина с помощью небулайзера в дозе 1000 UI/кг обеспечивало снижение экспрессии гена плазминогена, а также эффекторов TGFβ – Smad 2, Smad 3 – и NF-κB – P-selectin, CCL2. Превентивная ингаляция гепарина обладала выраженным защитным действием (Chimenti et al., 2017). Помимо этого, гепарин обладал противоастматическим действием на моделях аллерген-, аденозин-индуцированной астмы и астмы физического усилия за счет предупреждения дегрануляции тучных клеток (Mousavi et al., 2015). Ингаляционное введение гепарина при состояниях, сопровождающихся воспалением легочной ткани и системной гиперкоагуляцией, становится обязательным показанием для пациентов с тяжелыми формами COVID-19 (van Nagen et al., 2020). В настоящий момент доказано, что ингаляции нефракционированного гепарина обеспечивают противовоспалительное действие за счет:

– блокады гепарансульфат-содержащих рецепторов цитолеммы, рассматриваемых в качестве транслокационного кофактора шиповидного белка пепломера (spike) к рецептор-связывающе-

му домену рецептора ангиотензин-превращающего фермента 2 (ACE2) (Clausen et al., 2020);

– снижения экспрессии провоспалительных медиаторов и ингибирования системы комплемента, за счет взаимодействия с C1-компонентом (Shi et al., 2021);

– дезагрегации ДНК и актина с последующей активацией эндогенной ДНКазы и снижением электростатических взаимодействий между молекулами муцина (Broughton-Head et al., 2007);

– инактивации тромбина, фактора Ха, калликреина, сериновых протеаз и уменьшения избыточного отложения фибрина (Camprubi-Rimblas et al., 2018).

Помимо гепарина, практический интерес представляет антитромбин, который, обладая схожей с гепарином противовоспалительной активностью, лишен побочных эффектов последнего (остеопороз и тромбоцитопения). На модели пневмонии у крыс, вызванной *Streptococcus pneumoniae*, внутривенное введение антитромбина приводило к снижению количества нейтрофилов в бронхоальвеолярном лаваже, а спустя 48 ч – к существенному падению уровней ФНО-α, ИЛ-6 и цитокин-индуцированного нейтрофильного хемоаттрактанта 3 CINC-3 (cytokine-induced neutrophil hemoattractant), также на модели острого повреждения легких эндотоксином – к снижению экспрессии ERK1/2 и p38-MAPK (Sun et al., 2009).

### *Модуляторы интегрированного стрессового ответа*

Каждая эукариотическая клетка при воздействии на нее повреждающих факторов интегрировано реагирует на это снижением синтеза белка с двумя целями: и предотвращения накопления его дефектных форм, и препятствия репликации био-агента, а также повышением экспрессии генов, позволяющих специфично адаптироваться либо к повреждающим факторам, либо к факторам, запускающим апоптоз (Emanuelli et al., 2020). Для различных стрессовых факторов существуют внутриклеточные сенсоры-киназы, запускающие интегрированный стресс-ответ ISR (integrated stress response). При наличии в цитозоле двухцепочечных ДНК (дсДНК) цитозольная протеинкиназа R (PKR) и PKR-подобная киназа эндоплазматического ретикулума активируют киназы эукариотического фактора инициации 2α (eIF2α), при оксидативном стрессе и дефиците Fe<sup>2+</sup> активируется гем-регулирующий ингибитор HRI (heme-regulated inhibitor), при дефиците аминокислот активируется киназа, контролирующая общую подавляемость GCN2 (general control non-derepressible). После фосфорилирования α-субъединицы фактора инициации трансляции 2 (eIF2) последний взаимодействует с метионин-перено-

сящей РНК (тРНК) на рибосоме и запускает трансляцию.

В норме eIF2 $\alpha$  гидролизует связанный ГТФ, который восполняется фактором обмена гуаниновых нуклеотидов eIF2 $\beta$ . Однако при воздействии повреждающих факторов eIF2 $\alpha$  в основном представлен фосфорилированной формой, которая легко связывается с eIF2 $\beta$  и ингибирует дальнейший обмен ГТФ.

По этой причине синтез белка может существенно замедляться, что способствует активации факторов транскрипции ATF4 и CHOP и повышению экспрессии геном *GADD34* белка, индуцированного повреждением DIP (damage-induced protein). DIP формирует комплекс с протеинфосфатазой PP1 и G-актином, обеспечивая функционирование eIF2 $\alpha$ -специфических фосфатаз и сохранение трансляции. Указанный механизм позволяет временно активировать ISR, тогда как при отсутствии такого взаимодействия можно наблюдать клеточную гибель (Pakos-Zebgucka et al., 2016).

Функция ISR рассматривается с противоположных позиций относительно вирусной инвазии. Это связано, как правило, с самой природой патогена. Активация PKR вирусной ДНК считается частью противовирусного иммунитета, однако многие вирусы совершенствуют системы противодействия данному механизму. Для вирусов семейств *Togaviridae*, *Reoviridae* и вируса гепатита С фосфорилирование eIF2 $\alpha$  может способствовать трансляции их мРНК (Fusade-Boyer et al., 2019). Для других быстро реплицирующихся вирусов, напротив, реализация такого механизма существенно замедляет внутриклеточную сборку белкового капсида вирусных частиц.

ISR представляет собой универсальный неспецифический защитный механизм в ответ на действие повреждающих факторов различной природы. Однако избыточный ISR может оказаться неблагоприятным для клетки и не являться адаптивным. В связи с этим разрабатываются фармакологические инструменты для снижения интенсивности ISR в виде так называемых ингибиторов интегрированного стресс-ответа – ISRIB. Механизм их действия заключается в связывании по аллостерическому сайту с eIF2 $\beta$  – основной мишенью фосфорилированного eIF2 $\alpha$  – и в усилении рекрутинга гуанидиновых остатков при наличии фосфорилированного eIF2 $\alpha$  (Zyryanova et al., 2021). Следовательно, ISRIB переводит неактивный комплекс, участвующий в синтезе белка, в активный, восстанавливая потенциал клетки к синтезу защитных белков. Дисфункция ISR может лежать в основе состояний, сопряженных с недостаточной функцией системы эндогенной защиты от поражающих факторов различной природы, что требует проработки вопроса о целенаправленной фармакологической коррекции дис-

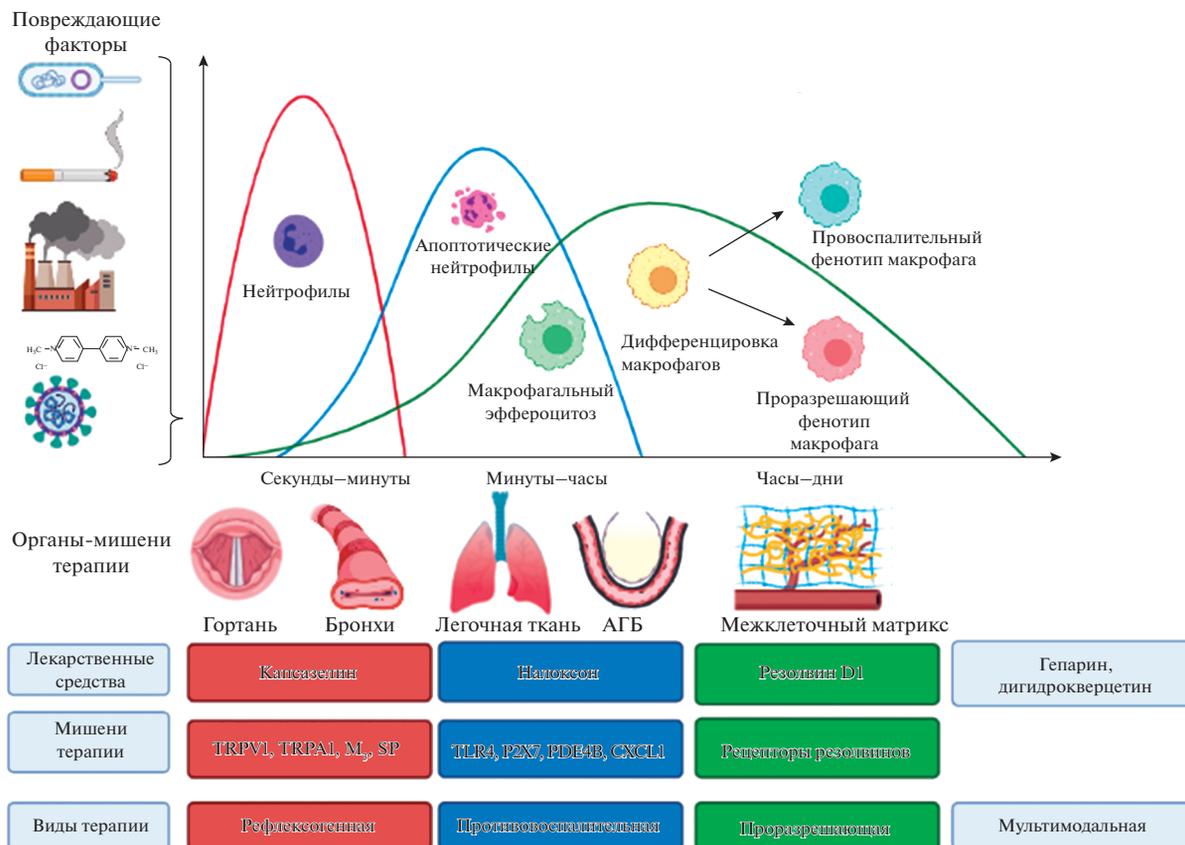
функциональной ISR. На данный момент синтезировано несколько модулирующих ISR соединений, структурно схожих с ISRIB.

Несмотря на то, что ISR представляет собой новую мишень в противопневмонийной защите (van 't Wout et al., 2014), уже есть доказательства эффективности модуляторов ISR при различных патологиях дыхательной системы. Так, ISRIB в дозе 2.5 мг/кг при внутрибрюшинном введении снижал выраженность блеомецин- и асбестоз-индуцированного легочного фиброза, в том числе по причине снижения избытка образования коллагена. Помимо этого, ISRIB способствует облегчению трансформации альвеолярных макрофагов 2-го типа в альвеолярные макрофаги 1-го типа, что необходимо для поддержания газообмена в легких (Watanabe et al., 2021). ISRIB, как салубринал и Sal003, ингибирует фосфатазу eIF2 $\alpha$ . Sefphin1 (производное гуанабеза) селективно блокирует GADD34-фосфатазу и стресс-индуцированную протеинфосфатазу 1 (PPP1R15A), в результате чего освободившаяся серин/треониновая фосфатаза PP1 дефосфорилирует eIF2 $\alpha$ . По всей видимости, за счет дополнительного действия на протеинфосфатазу у последнего при курсовом введении в течение 11 сут в дозе 5 мг/кг прослеживали противовирусную активность на модели заражения кроликов вирусом миксомы. Таким образом, применение модуляторов ISR с целью предотвращения фиброзирующих процессов в легких после ингаляционного воздействия патологических факторов может оказаться перспективным. Противовоспалительный потенциал данного класса соединений хорошо реализуется, особенно при заболеваниях, связанных с неправильной сборкой белков (с фолдингом), при так называемых болезнях накопления, однако относительно бактериальных и вирусных поражений до настоящего времени нет однозначного мнения (Pierre, 2019).

#### *Мультимодальные агенты*

Поскольку воспалительный процесс характеризуется вовлечением огромного числа эффекторных клеток и их сигнальных путей, в плане его нивелирования может оказаться оправданным использование противовоспалительных средств мультимодального типа действия, например веществ растительного происхождения, относящихся к флаваноидам – кверцетина и его аналога дигидрокверцетина (Adhikari et al., 2021).

На модели ЛПС-индуцированного повреждения клеточной линии TC-1 показано, что таксифолин снижает цитотоксическое действие и уровень летальности посредством модуляции NF- $\kappa$ B-сигналинга (Liu et al., 2020). С помощью компьютерного моделирования доказана потенциальная возможность таксифолина и раментина выступать в качестве ингибиторов главной проте-



**Рис. 4.** Хронология молекулярно-клеточных изменений при воспалении легких и своевременные терапевтические подходы.

АГБ – аэрогематический барьер; повреждающие факторы сверху вниз: бактерии, сигаретный дым, промышленные аэро-поллютанты, пульмоноотоксиканты по типу параквата, вирусы.

азы (M<sup>pro</sup>) SARS-CoV-2 при удовлетворительных характеристиках переносимости (Fischer et al., 2020). Таксифолин показал способность подавлять оксидативный стресс и воспаление легких, вызванное бензо[а]пиреном (125 мг/кг) при курсовом введении мышам в дозе 20–40 мг/кг на протяжении 14 сут. Корректирующее действие было обусловлено высоким уровнем экспрессии NF-E<sub>2</sub>-связанного фактора 2 (Nrf2), NAD(P)H-хинон дегидрогеназы-1 (NQO1), гена гемоксигеназы 1 (HO-1), супероксиддисмутазы (SOD), где Nrf2 отводится ведущая роль в подавлении воспаления через ингибирование NF-κB-сигнального пути (Islam et al., 2021).

Кверцетин проявляет противовоспалительные, антиоксидантные свойства, а также блокирует перекисное окисление липидов, агрегацию тромбоцитов и сосудистую проницаемость. Его эффективность продемонстрирована на моделях ЛПС-индуцированной продукции ФНО-α в макрофагах, ЛПС-индуцированной продукции ИЛ-9 в легочных клетках линии A54, ЛПС-индуцированного повышения мРНК и ФНО-α в глиальных клетках, FcεRI-опосредованного высвобождения провоспалительных цитокинов, триптаз и

гистамина из культуры тучных клеток (Jafarina et al., 2020). Кверцетин обладает бронходилатирующим действием, предположительно за счет усиления нисходящих сигналов β-адренорецепторов гладкой мускулатуры бронхов и за счет ингибирования ФДЭ4. Воздействие увеличивалось при его ингаляционном введении в растворе ФБР-буфера с помощью небулайзера и предупреждало метахолин-индуцированное повышение резистентности дыхательных путей. Отмеченная способность вещества повышать изопреналин-индуцированную релаксацию бронхов может быть востребована при развитии тахифилаксии к агонистам β-адренорецепторов, которая осложняет терапию не только приступа бронхиальной астмы, но и поражения аэрополлютантами.

*Антидепрессанты – модуляторы сигма-1-рецептора*

Флувоксамин – селективный ингибитор обратного захвата серотонина (СИОЗС) – обладает высоким сродством к сигма-1-рецепторам в терапевтически релевантных дозах. Механизмы

его противовоспалительного и иммуномодулирующего действия до конца не изучены, однако способность блокировать перенос SARS-CoV-2 через эндолизосомы и гиперкоагуляцию при COVID-19 указывает на потенциальную возможность влияния на мембранообразование лизосом (Marčec, Likić, 2021). Так в двойном слепом рандомизированном исследовании взрослых пациентов с COVID-19 лица, получавшие флувоксамин, имели более низкую вероятность клинического ухудшения в течение 15 дней. Позднее было высказано предположение, что положительный терапевтический эффект может быть также связан с ингибированием кислой сфингомиелазы и со способностью влиять на протонирование мембран и тем самым содействовать удержанию вирусной частицы в лизосоме (Sukhatme et al., 2021). Известно, что СИОЗС влияют на агрегацию тромбоцитов путем снижения в них содержания серотонина. Спустя 12 нед. терапии флувоксамином в дозе 100–150 мг/сут концентрация серотонина в тромбоцитах снижается на 86%, а в плазме крови – на 60% (Celada et al., 1992). Снижая концентрацию серотонина в тромбоцитах, СИОЗС способны ослаблять их потенциал к агрегации и предотвращать состояние гиперкоагуляции на фоне воспаления, вызванного повреждающими факторами. Дополнительное противовоспалительное действие флуоксамина сопряжено со способностью ингибировать распад мелатонина в печени, что ведет к повышению его концентрации в плазме крови. Блокируя дегрануляцию тучных клеток, он снижает опосредованные гистамином отек тканей и гиперкоагуляцию. С другой стороны, флувоксамин уменьшает проявления гиперцитокинемии на модели ЛПС-индуцированного сепсиса. Данный эффект может быть опосредован влиянием флуоксамина на резидентный белок эндоплазматического ретикулума – сигма-1-рецептор, который считается естественным фактором ингибирования продукции цитокинов (Rosen et al., 2019). Способность флуоксамина понижать уровни провоспалительных цитокинов объясняет сокращение избытка IL-6 у пациентов, перенесших COVID-19.

Таким образом, порядок применения терапевтических средств, направленных на снижение активности провоспалительных цитокинов, целесообразно корректировать, исходя из конкретных периодов потенциального роста их уровня после воздействия повреждающих факторов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Острое и хроническое воздействие повреждающих факторов химического и биологического происхождения на дыхательную систему и организм в целом встречается повсеместно и представляет значительную долю в структуре общей заболеваемости и смертности (рис. 4). Применение стан-

дартизованных схем терапии не всегда приводит к полному выздоровлению пораженных лиц. Так, например, при COVID-19 у выздоровевших могут отмечаться отдаленные последствия, снижающие качество их жизни. В этой связи актуализируется необходимость изучения и разработки универсальных (неспецифических) средств терапии воспаления легких, предусматривающих блокаду патогенетических каскадов, и направленного лечебно-профилактического воздействия на ключевые этапы воспаления с целью ускорения разрешения воспаления и прерывания дезадаптивных рефлекторных реакций.

Общие направления терапии неспецифического воспаления должны включать: непосредственно после воздействия поражающих факторов – рефлексогенную терапию, затем – противовоспалительную терапию в комбинации с препаратами мультимодального действия, затем – проразрешающую терапию в комбинации с препаратами, препятствующими фиброзированию.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В процессе сбора данных для статьи эксперименты с использованием животных не проводились.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бакулина Л.С., Литвиненко И.В., Накатис Я.А. и др. Сепсис: пожар и бунт на тонущем в шторм корабле. Часть 1. Триггеры воспаления. Рецепция триггеров воспаления и сигнальная трансдукция. СПб.: СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2017. 272 с.
- Башарин В.А., Ченур С.В., Толкач П.Г. и др. Токсикология продуктов горения полимерных материалов. СПб.: Левша. Санкт-Петербург, 2022. 104 с.
- Кветкина А., Калужский Л., Лейченко Е. и др. Новые мишени пептида Кунитц-типа актинии *Heteractis magnifica* // ДАН. 2019. Т. 487. № 2. С. 221–224.
- Ченур С.В., Плужников Н.Н., Сайганов С.А. и др. Гипотеза матричного синтеза аperiодических полисахаридов // Успехи соврем. биол. 2019. Т. 139. № 6. С. 583–593.
- Adhikari B., Marasini B. P., Rayamajhee B. et al. Potential roles of medicinal plants for the treatment of viral diseases focusing on COVID-19: a review // *Phytother. Res.* 2021. V. 35. № 3. P. 1298–1312.
- Anfinogenova N.D., Quinn M.T., Schepetkin I.A., Atochin D.N. Alarmins and c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling in neuroinflammation // *Cells.* 2020. V. 9. № 11. P. 2350.
- Belvisi M.G., Birrell M.A. The emerging role of transient receptor potential channels in chronic lung disease // *Eur. Respir. J.* 2017. V. 50. № 2. P. 1601357.

- Broughton-Head V.J., Shur J., Carroll M.P. et al.* Unfractionated heparin reduces the elasticity of sputum from patients with cystic fibrosis // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2007. V. 293. № 5. P. L1240–L1249.
- Camprubí-Rimblas M., Tantinyà N., Bringué J. et al.* Anticoagulant therapy in acute respiratory distress syndrome // *Ann. Transl. Med.* 2018. V. 6. № 2. P. 36.
- Caravaca A.S., Gallina A.L., Tarnawski L. et al.* An effective method for acute vagus nerve stimulation in experimental inflammation // *Front. Neurosci.* 2019. V. 13. P. 877.
- Cargnello M., Roux P.P.* Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2011. V. 75. № 1. P. 50–83.
- Celada P., Dolera M., Alvarez E., Artigas F.* Effects of acute and chronic treatment with fluvoxamine on extracellular and platelet serotonin in the blood of major depressive patients. Relationship to clinical improvement // *J. Affect. Disord.* 1992. V. 25. № 4. P. 243–249.
- Chiang N., Serhan C.N.* Specialized pro-resolving mediator network: an update on production and actions // *Essays Biochem.* 2020. V. 64. № 3. P. 443–462.
- Chimenti L., Camprubí-Rimblas M., Guillaumat-Prats R. et al.* Nebulized heparin attenuates pulmonary coagulopathy and inflammation through alveolar macrophages in a rat model of acute lung injury // *Thromb. Haemost.* 2017. V. 117. № 11. P. 2125–2134.
- Choi G., Hofstra J.J., Roelofs J.J. et al.* Antithrombin inhibits bronchoalveolar activation of coagulation and limits lung injury during *Streptococcus pneumoniae* pneumonia in rats // *Crit. Care Med.* 2008. V. 36. № 1. P. 204–210.
- Clausen T.M., Sandoval D.R., Spliid C.B. et al.* SARS-CoV-2 infection depends on cellular heparan sulfate and ACE2 // *Cell.* 2020. V. 183. № 4. P. 1043–1057.
- Codagnone M., Cianci E., Lamolinara A. et al.* Resolvin D1 enhances the resolution of lung inflammation caused by long-term *Pseudomonas aeruginosa* infection // *Muc. Immunol.* 2018. V. 11. № 1. P. 35–49.
- De Virgiliis F., Di Giovanni S.* Lung innervation in the eye of a cytokine storm: neuroimmune interactions and COVID-19 // *Nat. Rev. Neurol.* 2020. V. 16. № 11. P. 645–652.
- Di Salvo E., Di Gioacchino M., Tonacci A. et al.* Alarmins, COVID-19 and comorbidities // *Ann. Med.* 2021. V. 53. № 1. P. 777–785.
- Emanuelli G., Nassehzadeh-Tabriz N., Morrell N.W., Marciniak S.J.* The integrated stress response in pulmonary disease // *Eur. Respir. Rev.* 2020. V. 29. № 157. P. 200184.
- Fischer A., Sellner M., Neranjan S. et al.* Potential inhibitors for novel coronavirus protease identified by virtual screening of 606 million compounds // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 10. P. 3626.
- Fusade-Boyer M., Dupré G., Bessière P. et al.* Evaluation of the antiviral activity of Sephin1 treatment and its consequences on eIF2 $\alpha$  phosphorylation in response to viral infections // *Front. Immunol.* 2019. V. 10. P. 134.
- Grace M.S., Dubuis E., Birrell M.A., Belvisi M.G.* Pre-clinical studies in cough research: role of transient receptor potential (TRP) channels // *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2013. V. 26. № 5. P. 498–507.
- Hsiao H.M., Sapinoro R.E., Thatcher T.H. et al.* A novel anti-inflammatory and pro-resolving role for resolvin D1 in acute cigarette smoke-induced lung inflammation // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 3. P. e58258.
- Hsiao H.M., Thatcher T.H., Colas R.A. et al.* Resolvin D1 reduces emphysema and chronic inflammation // *Am. J. Pathol.* 2015. V. 185. № 12. P. 3189–3201.
- Hu X., Shen H., Wang Y. et al.* Aspirin-triggered resolvin D1 alleviates paraquat-induced acute lung injury in mice // *Life Sci.* 2019. V. 218. P. 38–46.
- Imai Y., Kuba K., Neely G.G. et al.* Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury // *Cell.* 2008. V. 133. № 2. P. 235–249.
- Islam J., Shree A., Vafa A. et al.* Taxifolin ameliorates benzo[a]pyrene-induced lung injury possibly via stimulating the Nrf2 signalling pathway // *Int. Immunopharmacol.* 2021. V. 96. P. 107566.
- Jafarinia M., Hosseini M.S., Kasiri N. et al.* Quercetin with the potential effect on allergic diseases // *Allerg. Asthma Clin. Immunol.* 2020. V. 16. P. 36.
- Jia Y., Lee L.-Y.* Role of TRPV receptors in respiratory diseases // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Bas. Dis.* 2007. V. 1772. № 8. P. 915–927.
- Kandadi M.R., Frankel A.E., Ren J.* Toll-like receptor 4 knockout protects against anthrax lethal toxin-induced cardiac contractile dysfunction: role of autophagy // *Br. J. Pharmacol.* 2012. V. 167. № 3. P. 612–626.
- Koarai A., Traves S.L., Fenwick P.S. et al.* Expression of muscarinic receptors by human macrophages // *Eur. Respir. J.* 2012. V. 39. № 3. P. 698–704.
- Krishnamoorthy N., Abdounour R.E., Walker K.H. et al.* Specialized proresolving mediators in innate and adaptive immune responses in airway diseases // *Physiol. Rev.* 2018. V. 98. № 3. P. 1335–1370.
- Liu J.H., Cao L., Zhang C.H. et al.* Dihydroquercetin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through modulating FOXO3-mediated NF- $\kappa$ B signaling via miR-132-3p // *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2020. V. 64. P. 101934.
- Marčec R., Likić R.* Could fluvoxamine keep COVID-19 patients out of hospitals and intensive care units? // *Croat. Med. J.* 2021. V. 62. № 1. P. 95–100.
- Mousavi S., Moradi M., Khorshidahmad T., Motamedi M.* Anti-inflammatory effects of heparin and its derivatives: a systematic review // *Adv. Pharmacol. Sci.* 2015. V. 2015. Art. 507151.
- Nassenstein C., Krasteva-Christ G., Renz H.* New aspects of neuroinflammation and neuroimmune crosstalk in the airways // *J. Allerg. Clin. Immunol.* 2018. V. 142. № 5. P. 1415–1422.
- Noguchi M., Furukawa K.T., Morimoto M.* Pulmonary neuroendocrine cells: physiology, tissue homeostasis and

- disease // *Dis. Model. Mech.* 2020. V. 13. № 12. P. dmm046920.
- Nonomura K., Woo S.H., Chang R.B. et al.* Piezo2 senses airway stretch and mediates lung inflation-induced apnoea // *Nature*. 2017. V. 541. № 7636. P. 176–181.
- Pakos-Zebrucka K., Koryga I., Mnich K. et al.* The integrated stress response // *EMBO Rep.* 2016. V. 17. № 10. P. 1374–1395.
- Panigrahy D., Gilligan M.M., Huang S. et al.* Inflammation resolution: a dual-pronged approach to averting cytokine storms in COVID-19? // *Cancer Met. Rev.* 2020. V. 39. № 2. P. 337–340.
- Perrin-Cocon L., Aublin-Gex A., Sestito S.E. et al.* TLR4 antagonist FP7 inhibits LPS-induced cytokine production and glycolytic reprogramming in dendritic cells, and protects mice from lethal influenza infection // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 40791.
- Pierre P.* Integrating stress responses and immunity // *Science*. 2019. V. 365. № 6448. P. 28–29.
- Prescott S.L., Umans B.D., Williams E.K. et al.* An airway protection program revealed by sweeping genetic control of vagal afferents // *Cell*. 2020. V. 181. № 3. P. 574–589.
- Rosen D.A., Seki S.M., Fernández-Castañeda A. et al.* Modulation of the sigma-1 receptor-IRE1 pathway is beneficial in preclinical models of inflammation and sepsis // *Sci. Transl. Med.* 2019. V. 11. № 478. P. eaau5266.
- Rynko A.E., Fryer A.D., Jacoby D.B.* Interleukin-1 $\beta$  mediates virus-induced M2 muscarinic receptor dysfunction and airway hyperreactivity // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2014. V. 51. № 4. P. 494–501.
- Schloer S., Hübel N., Masemann D. et al.* The annexin A1/FPR2 signaling axis expands alveolar macrophages, limits viral replication, and attenuates pathogenesis in the murine influenza A virus infection model // *FASEB J.* 2019. V. 33. № 11. P. 12188–12199.
- Selfridge B.R., Wang X., Zhang Y. et al.* Structure-activity relationships of (+)-naltrexone-inspired Toll-like receptor 4 (TLR4) antagonists // *J. Med. Chem.* 2015. V. 58. № 12. P. 5038–5052.
- Shen X., Wang Q., Lin Y. et al.* Voltage-dependent modulation of TRPA1 currents by diphenhydramine // *Cell Calcium*. 2020. V. 90. P. 102245.
- Shi C., Tingting W., Li J.P. et al.* Comprehensive landscape of heparin therapy for COVID-19 // *Carbohydr. Polym.* 2021. V. 254. P. 117232.
- Sukhatme V.P., Reiersen A.M., Vayttaden S.J., Sukhatme V.V.* Fluvoxamine: a review of its mechanism of action and its role in COVID-19 // *Front. Pharmacol.* 2021. V. 12. P. 652688.
- Sun H.M., Hong L.Z., Shen X.K. et al.* Antithrombin-III without concomitant heparin improves endotoxin-induced acute lung injury rats by inhibiting the activation of mitogen-activated protein kinase // *Chin. Med. J. (Engl.)*. 2009. V. 122. № 20. P. 2466–2471.
- van Haren F.M.P., Page C., Laffey J.G. et al.* Nebulised heparin as a treatment for COVID-19: scientific rationale and a call for randomized evidence // *Crit. Care*. 2020. V. 24. № 1. P. 454.
- van 't Wout E.F., Hiemstra P.S., Marciniak S.J.* The integrated stress response in lung disease // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2014. V. 50. № 6. P. 1005–1009.
- Wang L., Yuan R., Yao C. et al.* Effects of resolvin D1 on inflammatory responses and oxidative stress of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice // *Chin. Med. J. (Engl.)*. 2014. V. 127. № 5. P. 803–809.
- Wang X., Zhang Y., Peng Y. et al.* Pharmacological characterization of the opioid inactive isomers (+)-naltrexone and (+)-naloxone as antagonists of toll-like receptor 4 // *Br. J. Pharmacol.* 2016. V. 173. № 5. P. 856–869.
- Wang H., Anthony D., Yatmaz S. et al.* Aspirin-triggered resolvin D1 reduces pneumococcal lung infection and inflammation in a viral and bacterial coinfection pneumonia model // *Clin. Sci. (Lond.)*. 2017. V. 131. № 18. P. 2347–2362.
- Watanabe S., Markov N.S., Lu Z. et al.* Resetting proteostasis with ISRIB promotes epithelial differentiation to attenuate pulmonary fibrosis // *PNAS USA*. 2021. V. 118. № 20. P. e2101100118.
- Watkins L.R., Wang X., Mustafa S., Hutchinson M.R.* *In vivo* veritas: (+)-naltrexone's actions define translational importance: a letter in response to Skolnick et al. "Translational potential of naloxone and naltrexone as TLR4 antagonists" // *Trends Pharmacol. Sci.* 2014. V. 35. № 9. P. 432–433.
- Xia H., Wang J., Sun S. et al.* Resolvin D1 alleviates ventilator-induced lung injury in mice by activating PPAR $\gamma$ /NF- $\kappa$ B signaling pathway // *Biomed. Res. Int.* 2019. V. 2019. P. 6254587.
- Xu M., Zhang Y., Wang M. et al.* TRPV1 and TRPA1 in lung inflammation and airway hyperresponsiveness induced by fine particulate matter (PM<sub>2.5</sub>) // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019. V. 2019. Art. 7450151.
- Yao H., De Boer W. I., Rahman I.* Targeting lung inflammation: novel therapies for the treatment of COPD // *Curr. Respir. Med. Rev.* 2008. V. 4. № 1. P. 57–68.
- Yeger H., Pan J., Cutz E.* Precursors and stem cells of the pulmonary neuroendocrine cell system in the developing mammalian lung // *Airway chemoreceptors in the vertebrates. Structure, evolution and function* / Eds G. Zaccane, E. Cutz, D. Adriaensen, C.A. Nurse, A. Mauceri. Boca Raton: CRC Press, 2019. P. 291–310.
- Yildiz-Pekoz A., Ozsoy Y.* Inhaled heparin: therapeutic efficacy and recent formulations // *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug Deliv.* 2017. V. 30. № 3. P. 143–156.
- Zhuo Y., Zhang S., Li C. et al.* Resolvin D1 promotes SIRT1 expression to counteract the activation of STAT3 and NF- $\kappa$ B in mice with septic-associated lung injury // *Inflammation*. 2018. V. 41. № 5. P. 1762–1771.
- Zingoni A., Molfetta R., Fionda C. et al.* NKG2D and its ligands: "One for all, all for one" // *Front. Immunol.* 2018. V. 9. P. 476.
- Zyryanova A.F., Kashiwagi K., Rato C. et al.* ISRIB blunts the integrated stress response by allosterically antagonising the inhibitory effect of phosphorylated eIF2 on eIF2B // *Mol. Cell*. 2021. V. 81. № 1. P. 88–103.

## Non-Specific Targets for Correction of Pneumonia Caused by Aerosols Containing Disturbing Factors of Different Nature

O. A. Yakovlev<sup>a, \*</sup>, M. A. Yudin<sup>a, b</sup>, S. V. Chepur<sup>a</sup>,  
N. G. Vengerovich<sup>a, c</sup>, A. V. Stepanov<sup>a</sup>, and A. A. Babkin<sup>a</sup>

<sup>a</sup>State Research Testing Institute of Military Medicine, St. Petersburg, Russia

<sup>b</sup>Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russia

<sup>c</sup>St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia

\*e-mail: gniiivm\_15@mil.ru

The review article presents data on the current state of features of pathogenesis of the formation of inflammation in a body and lungs under the impact of disturbing factors of various nature (infections agents, chemical toxicants, as well as incorporated radionuclides, etc.). The features of inflammation itself, as a typical pathological process, are considered. The data on mediators that induce a so-called «pro-resolving» phase of correction of inflammation manifestations are presented, and approaches to neuroimmune correction of nonspecific inflammation are substantiated. The data on alternative approaches to the correction of nonspecific inflammation are summarized: blood coagulation factors, modulators of the integrated stress response, modulators of sigma-1 receptors. Based on the presented data, general directions for the treatment of nonspecific pneumonia have been formulated, including reflexogenic and anti-inflammatory therapy in combination with multimodal drugs, as well as pro-resolving therapy in combination with drugs that prevent fibrosis.

*Keywords:* inflammation, lungs, pulmonary protectors, phlogogens, aerosols, non-specific pharmacological correction, integrated stress response

УДК 612

## НЕЙРОТРОПИЗМ КАК МЕХАНИЗМ ПОРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ КОРОНАВИРУСА

© 2022 г. О. А. Гомазков\*

*Научно-исследовательский институт биомедицинской химии  
им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия**\*e-mail: oleg-gomazkov@yandex.ru*

Поступила в редакцию 15.04.2022 г.

После доработки 18.04.2022 г.

Принята к публикации 18.04.2022 г.

Клинические данные свидетельствуют, что COVID-19 сопровождается многими симптомами поражения центральной и периферической нервной системы. В данной статье нейротропизм коронавирусов рассматривается в качестве основного механизма поражения нервной ткани и сопутствующей дисфункции ЦНС. Новые данные демонстрируют дополнительные механизмы трансфекции коронавируса. Описание некоторых трансмембранных белков (нейропилина и др.) послужило дополнительным аргументом для изучения нейротропизма SARS-CoV-2, поскольку эти молекулы выступают как кофакторы трансфекции вируса в тканях легких, мозга и других органов. Изучение повреждающего эффекта SARS-CoV-2 на уровне отдельного нейрона формулируется как рабочая задача при исследованиях нейротропизма. Описан новый подход биомедицинского анализа – методология органоидов, активно используемый в настоящее время для моделирования взаимоотношений хозяин–патоген. Многочисленные сведения о патогенезе COVID-19 свидетельствуют, что астроциты и микроглия оказываются мишенями SARS-CoV-2. Таким образом, нейровоспаление можно считать проявлением нейротропизма и следствием нейральных и психических осложнений патогенеза.

*Ключевые слова:* COVID-19, нейротропизм, SARS-CoV-2, неврологические осложнения, органоиды, нейроглия

**DOI:** 10.31857/S0042132422040068

### ВВЕДЕНИЕ

Развитие событий, связанных с пандемией COVID-19, пробудило масштабные исследования патогенеза этого заболевания, сложного комплекса сопутствующих негативных процессов и последствий. Анализ клинического опыта показывает, что патогенез респираторного дистресс-синдрома, вызываемого вирусом SARS-CoV-2, приобрел огромный диапазон проявлений. Речь идет о клинических нарушениях целых систем, отдельных органов, тканей, биохимических реакций. COVID-19 развивается как диссонанс клеточно-молекулярных процессов, служащих обоснованием для определения звеньев патогенеза. Типичным клиническим проявлением COVID-19 является диффузное альвеолярное повреждение легких с выраженной микроангиопатией в форме двусторонней пневмонии. Системная инфекция сопровождается резким увеличением циркулирующих в крови хемокинов и интерлейкинов, которые, проникая через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), попадают в головной мозг. Клинические материалы свидетельствуют о разнообразной симптоматике непосредственных

или отдаленных нейродегенеративных и психических расстройств.

Данные о нейроинвазивном потенциале SARS-CoV-2 подтверждают поражение структур головного мозга и периферической нервной системы. Конкретизация патогенеза, выявление клеточных и биохимических мишеней SARS-CoV-2 имеют значение для определения стратегии терапии. В данном изложении учитываются такие аспекты патогенеза COVID-19, которые позволяют анализировать клеточные и биохимические механизмы вирусной инвазии, ведущей к разнообразным формам нейродегенеративных и психических осложнений.

Нейротропизм относят к ведущим механизмам нейродеструктивного влияния SARS-CoV-2. Данные экспериментальных исследований служат предваряющей темой трактовки механизмов клеточного тропизма коронавирусов. Помимо традиционного рассмотрения ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2) как главного транспортера для внедрения коронавируса, анализируется участие сопутствующих молекул (нейропилинов и других белков) – усилителей трансфекции, способствующих нейротропизму SARS-CoV-2. Проникнове-

нию вируса в ткани мозга сопутствуют процессы, в которых ведущую роль играет диссонанс иммунной защиты. Поражение систем головного мозга является следствием нейровоспаления как измененного фенотипа клеток микроглии и астроцитов. Клинические исследования свидетельствуют, что астроциты и микроглия оказываются мишенями нейротропных вирусов, включая SARS-CoV-2. Феномен нейротропизма SARS-CoV-2 нередко оказывается продленным в постковидный период, оставляя след в виде нейродегенеративных проявлений, но еще более – нейропсихических расстройств.

### КОВИД И ПОРАЖЕНИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Клинический опыт включает значительный материал, свидетельствующий о негативных влияниях коронавируса на функции головного мозга, о проявлениях нейротропизма и нейроинвазии, которые становятся причинами нейродегенеративных и нейропсихических расстройств при COVID-19. Исходные процессы патогенеза: экспрессия цитокинов, дисфункция эндотелия, нейровоспаление, гиперкоагуляция, иммунотромбоз – определяют масштабность полиорганной патологии (Correia et al., 2020; Tsigoulis et al., 2020; Morgado et al., 2021). Рассмотрение клинических историй позволяет определить клетки мозга как вторую по значимости патогенетическую мишень при COVID-19, которая нуждается в ранней защите от нейроинвазии (Li Z. et al., 2020). Отмечается осложненный фон заболеваний у пациентов с коморбидной симптоматикой, в первую очередь с возрастными, нейродегенеративными и психическими дисфункциями. Отдельным направлением изучения стали постковидные осложнения (Costas-Carrera et al., 2022).

Неврологические манифестации в остром периоде COVID-19 включают нарушения мозгового кровообращения и системные церебральные расстройства. Развитие ишемии затрагивает мелкие перфорирующие сосуды, нарушает кровоснабжение лимбических зон головного мозга (Соколова, Федин, 2020). Такие расстройства мозгового кровообращения обычно характеризуются как осложнения ишемической болезни, артериальной гипертензии, тромботических проявлений диабета (Гусев и др., 2020).

Данные эпидемиологии и посмертного исследования головного мозга позволяют предположить, что вирусные инфекции, включая SARS-CoV-2, могут способствовать обострению болезни Альцгеймера. Результаты предыдущего периода исследований показали, что вирусные фрагменты штаммов CoVs обнаруживались в образцах головного мозга совместно с патогенным бета-амилоидом. Области мозга, повреждаемые вирусом, относятся

к лимбической системе коры и подкорковых структур, которые связаны с памятью и когнитивными процессами (Arbour et al., 2000).

Нарастающее число случаев представляет доказательство нейропсихических проявлений, связанных с COVID-19. Клинические протоколы документируют разнообразие характерных симптомов: посттравматические стрессовые состояния, депрессия, тревожность, обсессивно-компульсивные явления, впервые возникающий психоз, нейрокогнитивный синдром и др. (Федин, 2021). Внедрение вируса в ткани головного мозга может сопровождаться церебральной дисфункцией с когнитивными нарушениями, в первую очередь у ослабленных или пожилых пациентов. Эти расстройства могут быть вызваны нарушенной функцией эндотелия и нейровоспалением (Steardo et al., 2020).

Таким образом, большое количество клинических отчетов и обзоров описывает широкий спектр неврологических симптомов, которые имеют место у пациентов COVID-19. Ключевым остается вопрос: какая часть клинических признаков определяется непосредственным влиянием вируса, а какая – является следствием сопряженных патологических процессов, вызванных инфицирующим воздействием? Такая постановка проблемы соответствует выделению нейротропизма для конкретизации клеточных и молекулярных компонентов патогенеза и определения новых мишеней фармакотерапии.

### НЕЙРОТРОПИЗМ. БИОХИМИЯ И КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ АГРЕССИИ SARS-CoV-2

Известное в современной медицинской литературе понятие нейротропизма определяется как усиление биохимических механизмов, способствующих внедрению и размножению определенных штаммов вирусов именно в нервной ткани. В основе тропизма – наличие комплементарности химических структур клетки-хозяина и лигандов вириона для реализации его репликации. Сравнение с другими штаммами коронавируса свидетельствует о типологии нейротропизма в качестве общей черты инфицирования, выраженной, однако, для SARS-CoV-2 в наибольшей степени (Desforges et al., 2014; Hu et al., 2020).

Ставится вопрос о резонах, которые определяют положение о нейротропизме SARS-CoV-2 в рамках клинической панорамы COVID-19. Хотя описание механизмов нейроинвазии постоянно дополняется новыми фактами, сохраняется необходимость пояснить, является ли SARS-CoV-2 действительно нейротропным агентом или нейродеструктивные процессы есть следствие системных клеточных и биохимических процессов

COVID-19 (ElBini Dhouib, 2021). Можно акцентировать, что головной мозг, как ультрасложная и динамичная клеточно-тканевая система, может представлять привлекательную среду для репликации SARS-CoV-2. В то же время цитокиновый шторм и клеточное воспаление ведут к стохастической активации компонентов иммунной системы, провоцируя сосудистые расстройства эндотелия, иммуотромбоз, повреждение паренхимы и нейронов головного мозга. Нейродегенеративные механизмы: фосфорилирование тау-белка, агрегация синуклеина, накопление токсических белков — зарегистрированы во многих инфицированных структурах (Nath, Smith, 2021).

Представления о нейротропизме подкрепляются сведениями о присутствии ACE2 в некоторых областях головного мозга. Результаты генетического анализа показали, что фермент имеет высокую концентрацию в черной субстанции, желудочках мозга, средней височной извилине. Согласно распределению по типам клеток, экспрессия ACE2 обнаружена в возбуждающих и тормозных нейронах височной извилины и коре мозга (Chen et al., 2021). Можно полагать, что региональное присутствие в отделах мозга ACE2 как постоянного спутника трансфекции коронавируса оказывается первичным аргументом нейроинвазивного механизма.

#### *Основные пути проникновения SARS-CoV-2 в мозг*

Первичной задачей исследователей становится определение того, как вирус реализует свой нейротропизм, проникая в структуры головного мозга? Современный клинический опыт указывает на то, что SARS-CoV-2, взаимодействуя с белком ACE2, использует возможности комплексной “гематогенной” трансфекции и/или непосредственной нейрогенной инвазии в головной мозг.

Условно именуемый гематогенный путь включает повреждения сосудистого эндотелия и нарушение защитной функции ГЭБ. В модельных опытах было установлено, как пораженные клетки пропускают инфекцию в зоны головного мозга (Buzhdygan et al., 2020). Предыдущие исследования с различными штаммами SARS-CoVs показали возможность поражения нейронов, расположенных в центрах продолговатого мозга (Netland et al., 2008). Перенося эту информацию на нынешнюю ситуацию с COVID-19, следует полагать (Li Y.C. et al., 2020), что негативные исходы нередко связаны с нейроинвазивной дисфункцией кардиореспираторного центра головного мозга.

Гибель эндотелиальных клеток нарушает микросреду паренхимы мозга, обеспечивая доступность других участков для вируса (Alquisiras-Burgos et al., 2021). При патологоанатомическом исследовании установлено наличие частиц вируса SARS-CoV-2 в эндотелии микрососудов лоб-

ной доли головного мозга (Paniz-Mondolf et al., 2020). За счет распространения ACE2 в эндотелии коронавируса получает возможности полиорганного поражения большого сосудистого полотна (Baig et al., 2020).

Другая часть аргументов позволяет сформулировать транснейронную гипотезу: SARS-CoV-2 проникает в мозг через обонятельные, вкусовые и тройничные пути, особенно на ранней стадии инфекции (Liu et al., 2021). От обонятельной луковицы ведут прямые нейронные связи к миндалевидному телу, энторинальной области и гиппокампу. Проникая через решетчатую пластинку головного мозга, инфекция достигает нейронной сети, участвуя в ее поражении (Aghagholi et al., 2021).

Предприняты попытки обосновать потерю обоняния, типичный симптом COVID-19, за счет инфицирования SARS-CoV-2 обонятельной системы. Инфицирование может происходить посредством аксонального транспорта вируса через обонятельный нерв и внедрения в обонятельную область коры (Brann et al., 2020). МРТ-исследования выявили наличие вируса в эпителии носовых полостей и реснитчатых клетках пациентов на ранней фазе заболевания (Politi et al., 2020).

РНК SARS-CoV-2 обнаруживается при аутопсийных исследованиях в тех областях мозга, которые рассматриваются в качестве зон контакта с окружающей средой. У пациентов обнаружены фрагменты РНК вируса в зонах, включавших обонятельную луковицу, миндалин, энторинальную область, височный и лобный неокортекс. Эти участки головного мозга ответственны за реакции эмоциональной и пространственной памяти и выполнение когнитивных функций (Serrano et al., 2021).

#### *SARS-CoV-2 в спинномозговой жидкости*

Ликвор, или спинномозговая жидкость, поддерживает трофические и обменные процессы между кровью и мозгом за счет пульсирующего потока. Заражение SARS-CoV-2, как и другими коронавирусами, может происходить через эту систему. В спинномозговой жидкости пациентов обнаружено присутствие антител SARS-CoV-2, которые могут служить индикаторами инфицирующего поражения. Было продемонстрировано также наличие осколков вируса в цереброспинальной жидкости при менингоэнцефалитных проявлениях COVID-19 (Moriguchi et al., 2020). Электронная микроскопия позволяет идентифицировать в аутопсийном материале мозга следы коронавируса в нейронах и эндотелиальных клетках (Baig et al., 2020). Среди выявляемых продуктов SARS-CoV-2 — белки S1 и S2, фрагменты вирусной оболочки и нуклеопротеины (Benameur et al., 2020).

Таким образом, при сравнении клинических и биохимических исследований выделены признаки, подтверждающие нейроинвазию SARS-CoV-2.

1. У пациентов с выявленным в цереброспинальной жидкости вирусом практически отсутствовали респираторные симптомы, скорее манифестировались признаки энцефалита или демиелинизирующей патологии, что, по-видимому, обусловлено непосредственным проникновением вируса в спинномозговую жидкость.

2. Сравнительный анализ показывает, что количественное содержание SARS-CoV-2 в ликворе ассоциируется с выраженностью неврологической симптоматики: самое высокое — у пациентов с энцефалитом и меньшее — при нарушениях мозгового кровообращения, при энцефалопатии и при синдроме Гийена–Барре (Li Y.C. et al., 2021).

3. Наличие антител SARS-CoV-2 в ликворе у пациентов с интактным ГЭБ может быть доказательством прямой инвазии вируса в головной мозг. Попадая в спинномозговую жидкость, коронавирус проникает в основные области, включая ствол мозга, где расположены ядра, контролируемые кардиореспираторные функции. Проникновение SARS-CoV-2 в ствол мозга может быть одной из причин развития острой дыхательной недостаточности при COVID-19 (Dey et al., 2021).

#### *Нейропилин и другие посредники трансфекции вируса*

Данные последнего периода свидетельствуют, что в патогенезе COVID-19, помимо ACE2, выявляются дополнительные, усиливающие пути проникновения коронавируса в клетки хозяина. Участие трансмембранных белков в качестве независимых сайтов стыковки с фрагментами вируса послужило основой для новой концепции тканевого тропизма SARS-CoV-2. Новый взгляд на типологию клеточного тропизма SARS-CoV-2 допускает присутствие (экспрессию) молекулярных посредников трансфекции вируса: мембраносвязанной сериновой протеазы TMPRSS2, фурина, катепсина L, басигина, нейропилина-1 (NRP-1) (Coutard et al., 2020; Daly et al., 2020). Одним из новых участников патогенеза COVID-19 оказывается белок нейропилин (Sarabipour, Mac Gabhann, 2021).

Нейропилины — это особая группа гликопротеинов, много лет пребывавшая вне интереса биологов и патофизиологов. Обнаруженный в развивающемся головном мозге, нейропилин был идентифицирован как нейропиль — рецептор развития аксонов (Kawakami et al., 1996). Исследования, выполненные в доковидный период, представляют обобщенную картину процессов с участием нейропилинов NRP-1 и NRP-2. Благодаря разнообразию связей, нейропилины причастны к миграции и инвазии различных клеток, мембран-

ным нарушениям, ангиогенезу и др. Нейропилины являются связующими компонентами, участвующими в контроле многих физиологических процессов (Plein et al., 2014; Kofler, Simons, 2016).

NRP-1 — и host factor клеточного проникновения SARS-CoV-2, и компонент усиления контактируемости (Perez-Miller et al., 2021). В традиционной трактовке связывающий домен структуры коронавируса взаимодействует исключительно с ACE2; согласно новым данным, эндогенная протеаза фурина за счет S1- и S2-фрагментов вируса формирует связь с рецепторами нейропилинов. В качестве контрольного доказательства установлено, что блокирование этого взаимодействия снижало инфекционность SARS-CoV-2 в культуре клеток (Kielian, 2020; Daly et al., 2020). Аутопсийный анализ клеток обонятельного эпителия у больных COVID-19 показал, что NRP-1 облегчает проникновение и усиливает патогенные эффекты коронавируса (Cantuti-Castelvetri et al., 2020).

Для изучения NRP-1 в отдельных структурах головного мозга человека был использован метод секвенирования. Экспрессия РНК была самой высокой в гиппокампе, в сравнении с обонятельной областью, базальными ганглиями, таламусом, гипоталамусом, средним мозгом. Отсюда следует заключение о большом разнообразии возможных неврологических проявлений при COVID-19. Анализ путей вирусной инвазии при COVID-19 выявляет комплексный механизм неврологических осложнений. Появление в поле зрения нового фактора — NRP-1 — дополняет представление о нейротропизме SARS-CoV-2 новыми деталями биохимических инцидентов (Davies et al., 2020).

Таким образом, если до недавнего времени представления о проникновении SARS-CoV-2 в клетки хозяина связывались преимущественно с ролью ACE2 в качестве уникального посредника (Hopkins et al., 2021), новые данные демонстрируют другие механизмы, усиливающие трансфекцию коронавируса при COVID-19.

Участие некоторых трансмембранных белков послужило новым аргументом тканевого тропизма SARS-CoV-2, когда эти эндогенные соединения действуют как кофакторы трансфекции вируса в ткани легких, мозга и других органов пациента (Sarabipour, Mac Gabhann, 2021).

Следует, однако, оговориться, что на примере нейропилинов их распространенность по многим тканям и сопряженность с патогенетическими процессами иммунотромбоза и поражения органов требует контроля и избирательной стратегии таргетной терапии (Гомазков, 2022).

## МЕТОДОЛОГИЯ ОРГАНОИДОВ – НОВЫЙ ПОДХОД В АНАЛИЗЕ НЕЙРОТРОПИЗМА

### *Органоиды как субклеточные модельные системы*

Изучение механизмов повреждающего эффекта SARS-CoV-2 на уровне нейрона формулируется как рабочая задача анализа нейротропизма. Очевидные сложности прижизненного исследования клеточных и молекулярных процессов побуждают к использованию новых методологий. Значительное распространение новый подход получил в изучении клеточного тропизма и механизмов поражения, вызываемого инвазией SARS-CoV-2 (Katsura et al., 2020; Ramani et al., 2020; Yang et al., 2020).

Метод органоидов головного мозга предполагает создание модельных систем из эмбриональных стволовых или индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, демонстрируя разнообразные подходы к применению этого инструмента в регенеративной медицине. Эти системы охарактеризованы как трехмерные (3D) клеточные структуры, поскольку они отражают цитоархитектуру тканей, сходную с развивающимися элементами мозга (Renner et al., 2017). Первые опыты с трехмерной (тканевой) системой органоидов посвящены фенотипическому анализу головного мозга. Метод использован в изучении коры мозга человека и некоторых форм нейрональных расстройств (Lancaster et al., 2013). Исследования показали большую ценность органоидов в качестве экспериментальных платформ, в данном случае – исследований, связанных с патогенезом COVID-19 (Lv et al., 2021). Использование органоидов предоставляет возможность выявления тканеспецифических форм взаимодействия SARS-CoV-2 с клетками хозяина (Tiwari et al., 2021).

### *Моделирование эффектов SARS-CoV-2 на уровне отдельного нейрона*

Экспериментально выявленный нейротропизм SARS-CoV-2 – его селективная инвазивность относительно различных структур мозга – рассматривается в качестве причины нейрональной дисфункции COVID-19. Была использована созданная на основе hPSC платформа субклеточных микроструктур коры головного мозга, гиппокампа, гипоталамуса и среднего мозга, подвергнутых воздействию реконвалесцентной сыворотки пациента. Идентичность клеток, получаемых в модельной системе, подтверждалась иммунным маркированием белков MAP2, PU.1 и GFAP (Ramani et al., 2021).

В серии работ установлено, что вирус может продуктивно заражать нейроны коры мозга и нейральные прогениторы в трехмерных системах (Мао, Jin, 2020; Zhang et al., 2020). Сравнительные исследования штаммов коронавируса продемонстрировали особую способность SARS-CoV-2 репли-

цироваться в различных типах нервных клеток (Chu et al., 2020). Инкубация с SARS-CoV-2 приводила к накоплению вирусных частиц, которое сопровождалось повышением уровня вирусной РНК (Bullen et al., 2020). Аутопсийные материалы подтверждали наличие фрагментов SARS-CoV-2 в нейронах коры у больных COVID-19 (Song et al., 2021).

Результаты последующих экспериментов выявили деструкцию органоидных клеток хорионного сосудистого сплетения желудочков мозга под действием SARS-CoV-2 (Jacob et al., 2020). Поражение хорионных клеток вызывает увеличенную вирусную репликацию РНК, экспрессию иммунного ответа, нейровоспаление и массивированный апоптоз (Pellegrini et al., 2020).

### *Модели органоидов и выявление пособников вирусной трансфекции*

С выявлением ключевой роли ACE2 в проникновении SARS-CoV-2 в ткани легких основное внимание было привлечено к этому ферменту. В самом деле, ACE2 играет роль Троянского коня и служит высокоаффинным акцептором вируса.

Применение новых клеточных технологий позволяет представить более тонкие аргументы для доказательства обязательной роли ACE2 в тканевой трансфекции вируса. В экспериментах на культурах эндотелиальных клеток человека, полученных из легких, почек, сердца и головного мозга, на фоне нокаутного удаления ACE2 установлено отсутствие инфицирующего действия SARS-CoV-2. Результаты подтверждались обратным контролем с внесением в культуры рекомбинантных белков ACE2 и с последующим увеличением титров инфицирования и лизиса эндотелиальных клеток. Инфекция SARS-CoV-2 эндотелиальных клеток на фоне экспрессированного ACE2 вызывала прокоагуляционные и воспалительные реакции, типичные для патогенеза COVID-19 (Conde et al., 2020).

Исследования на 3D-модели нейронов человека показали, что, хотя органоиды экспрессируют низкий уровень ACE2, нейроны человека действительно служат активной мишенью для SARS-CoV-2. При поражении вирусом органелл коры головного мозга отмечается гиперфосфорилирование тау-белка и гибель нейронов (Ramani et al., 2020). Кроме того, в экспериментах с органоидами мозга человека, обработанными антителами против ACE2, отмечалось лишь небольшое снижение вирусной трансфекции, что косвенно свидетельствует о возможной роли дополнительных факторов, способствующих репликационной активности SARS-CoV-2 (Yang et al., 2020). Новые факты позволяют допустить участие других “сопроводителей” проникновения вируса и могут объяснить, почему SARS-CoV-2 имеет столь большой

спектр мишеней поражения в различных органах человека. При использовании модельных платформ органоидов легких и головного мозга подтверждено участие в инфекции SARS-CoV-2 нейропилина-1 (NRP-1), катепсина L1 (CTSL1), фурина (PACE), базигина (BSG = CD147) (Tiwari et al., 2021).

Суммируя приведенную информацию, можно выделить несколько позиций, иллюстрирующих концепцию нейротропизма SARS-CoV-2.

1. Использование органоидов как нового подхода биомедицинского анализа предоставило возможности моделирования взаимодействия хозяина и патогена. Диапазон тканей человека, “привлекательных” для инфицирования вирусом, включает значительное разнообразие органов и клеточных структур.

2. Эксперименты с использованием платформ органоидов головного мозга подтвердили акцепцию вируса SARS-CoV-2 в нейронах и других типах клеток в качестве доказательства нейротропности и реплицирования (рис. 1). Эти материалы послужили подтверждением аутопсийных и аналитических *in silico* исследований SARS-CoV-2 в структурах головного мозга при COVID-19.

3. Деструктивная активность в органоидах подтверждает способность вируса непосредственно поражать клетки мозга. Органоидные методы иллюстрируют ограниченную тропность SARS-CoV-2 в отношении нейронов и астроцитов нескольких областей мозга, однако существенно более высокую приверженность к поражению хороидного сосудистого сплетения желудочков.

4. Представленные результаты иллюстрируют концепцию нейротропизма как механизма патогенеза SARS-CoV-2. Как обсуждалось ранее, нейротоксические эффекты не могут быть вызваны только вирусом, но также обусловлены индуцированными процессами цитоиммунной токсичности, сосудистого воспаления, тромбоза. Инфекция SARS-CoV-2 органоидов демонстрирует нарушенный контроль транскрипции, нарушение клеточной функции и повышенную гибель клеток.

Аналитическая картина использования комбинаций органоидов представляет новый уровень патофизиологического исследования нейропатологии SARS-CoV-2. Результаты предоставляют доказательства выраженного нейротропизма SARS-CoV-2 и конкретизации отделов и клеток головного мозга, подверженных вирусной агрессии (Song et al., 2021).

*Органоиды клеток мозга.  
Ограничения и перспективы*

Несмотря на документальность представленного материала, относительная универсальность методов с использованием платформ органоидов

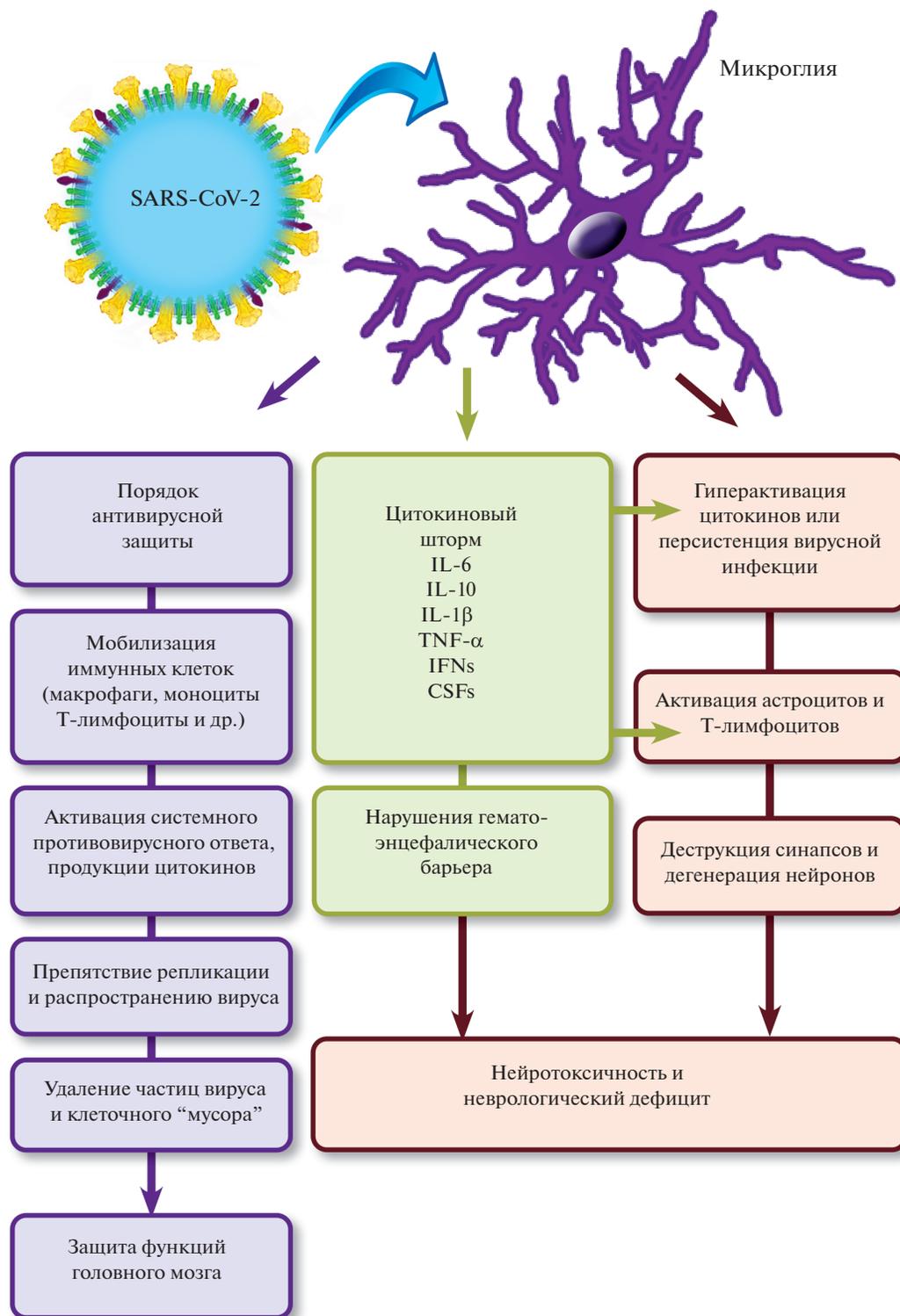
может быть, однако, ограничена. Авторы, описывающие доказательные результаты исследований, высказывают ряд положений, влияющих на интерпретацию (Jacob et al., 2020; Ramani et al., 2021; Trevisan et al., 2021). Вероятно, может быть оспорена структурная и функциональная адекватность платформ, получаемых на основе трансформируемых стволовых клеток, поскольку искусственные модели воспроизводятся в условиях ограниченного контакта с цитозольной средой. Используемое в культуре непосредственное воздействие SARS-CoV-2 отражает лишь общую схему контагиозности на материале органоидов. Клиническая картина влияния огромного количества биохимических компонентов среды, а также интенсивность и продолжительность действия вируса, по видимому, далеки от соответствия моделям.

Тем не менее, по трактовке (Ramani et al., 2021), органоидные платформы представляют почти идеальные модельные системы изучения поражающего потенциала вирусов, нацеленных на нейральные клетки. Использование систем органоидов показало, что SARS-CoV-2 обладает определенной нейротропностью с демонстрацией молекулярных и патохимических паттернов поражения. Однако эти данные в моделировании COVID-19 остаются еще верхушкой айсберга. В целом, эта методология с большими возможностями экспериментальных вариаций демонстрирует фактологию вирусного нейротропизма и реперные точки регуляторного контроля. Данный подход служит лабораторным дополнением к огромному массиву клинических работ. Система модельного клеточного скрининга может быть также использована в поиске новых целевых терапевтических средств.

## НЕЙРОГЛИЯ КАК ФАКТОР НЕЙРОТРОПИЗМА КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Микроглия представляет собой нейрональные мононуклеарные фагоциты с характерной клеточной организацией и специфической экспрессией генов. Клетки микроглии как основные нейроиммунные стражи мозга постоянно отслеживают изменения в окружающей среде, реагируя на появление патогенов, токсинов или клеточных обломков. В экспериментах (Nickman et al., 2013) при использовании прямого секвенирования РНК для определения транскриптомов установлено, что микроглия синтезирует особые белки сенсорного распознавания. При этом демонстрируются нейропротекторные или нейротоксические ответы как форма реагирования на чужеродные агенты.

Цитокиновый шторм представляет собой амплифицирующийся процесс высвобождения провоспалительных цитокинов, который является основным фактором развития острого респираторного синдрома.



**Рис. 1.** Моделирование инфекции органов SARS-CoV-2 с использованием технологии органоидов *in vitro* (по: Trevisan et al., 2021, адаптировано). С применением технологии стволовых клеток и органоидов были исследованы механизмы действия коронавируса SARS-CoV-2 на структуры эпителия легких человека, ЦНС, желудочно-кишечного тракта и сердечно-сосудистой системы. Архитектуру и физиологию различных тканей и органов можно воспроизвести в двухмерных и трехмерных культурах дифференцированных клеток и органоидов человека. Эти клеточные системы *in vitro* создаются из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, первичных клеток, клеточных линий и биоптатов тканей *ex vivo*. Совместное культивирование с иммунными клетками позволяет представить возможные ответы противовоспалительных иммунных систем клеток-хозяев на воздействие вирусного агента. Результаты исследований продемонстрировали потенциал моделей *in vitro* для анализа вирусного тропизма и ответа клеток-хозяев.

торного дистресс-синдрома и синдрома полиорганной дисфункции при COVID-19. Однако, как свидетельствует клинический опыт, нередко цитокиновый шторм и последующее клеточное воспаление ведут к стохастической активации компонентов иммунной системы, провоцируя повреждение паренхимы и нейронов головного мозга. В итоге цитокины могут быть непосредственными (за счет селективного нейротропизма) или опосредованными (при нарушении ГЭБ) факторами нейротоксичности, повреждения и гибели клеток (Vargas et al., 2020; Aghagoli et al., 2021). Эти сведения служат прологом к дополнительному рассмотрению SARS-CoV-2 в качестве причины нейроинвазивных процессов при COVID-19, поскольку инфекция провоцирует трансформированную реакцию резидентных иммунных и глиальных клеток, исходно предназначенных для защиты мозга.

#### *Микроглия как сенсор вторжения вируса*

Согласно общему положению, микроглия служит основным сенсором вирусных инфекций в ЦНС (Chen et al., 2019). Микроглия оснащена молекулярными механизмами распознавания, которые, активируя внутриклеточные сигнальные каскады, способствуют экспрессии антивирусных цитокинов (Dantzer, 2018). Непосредственное внедрение вируса в нервную систему и его репликация влияют на прямую инфекцию иммунных клеток, недостаточность врожденного иммунного ответа, нарушение регуляции цито- и хемокинов, аутоиммунитет и дисфункцию нейронов (Awogbindin et al., 2021).

Серии публикаций подтверждают, что микроглия использует молекулярные паттерны распознавания DAMPs/PAMPs (damage-associated molecular patterns/pathogen-associated molecular patterns) с включением внутриклеточных сигнальных процессов, стимулируя механизмы транскрипции и, соответственно, экспрессии защитных цитокинов (Furr, Marriott, 2012). Вирусные эпитопы распознаются рецепторными структурами плазматической мембраны в эндосомах и в цитоплазме иммунных клеток (Pichlmair, Reis e Sousa, 2007; Pedraza et al., 2010). Специализированные мембранные структуры моноцитов и макрофагов, идентифицированные как Toll-подобные рецепторы, сканируют фрагменты патогенов (Ronald, Beutler, 2010). Активация Toll-подобных рецепторов структурами PAMPs и DAMPs запускает сигнальный каскад, который завершается синтезом и высвобождением провоспалительных цитокинов (O'Neill et al., 2013). Клинический анализ COVID-19 свидетельствует, что при энцефалопатии с полиорганной дисфункцией отмечается повышенный уровень маркеров системного воспаления (Cummins et al., 2020; Helms et al., 2020; Koralnik, Tyler, 2020).

#### *Нейровоспаление. Иммунные клетки как посредники вирусной агрессии*

Важным этапом патогенеза оказывается инфильтрация в ткани головного мозга инфицированных иммунных клеток. Вирусы могут проникать с клетками, выполняющими роль своеобразного транспортера. Моноциты, нейтрофилы и Т-клетки проникают в мозг через сосудистую сеть мозговых оболочек и сосудистое сплетение, обозначая путь вирусной агрессии (Bergmann et al., 2006; Engelhardt et al., 2017).

Особенности иммунного ответа позволяют сформулировать (Tavčar et al., 2021) общий взгляд на многослойную картину патофизиологических процессов. Системное воспаление, которое развивается после заражения SARS-CoV-2, обусловлено гиперактивацией врожденной иммунной системы и высвобождением провоспалительных медиаторов. Эти сопряженные реакции служат клиническим признаком COVID-19. Нейровоспаление включает экстенсивную активацию глиальных клеток, рилизинг провоспалительных цитокинов, антиоксидантов, свободных радикалов и нейротрофических факторов. В соответствии с положением о двойном (нейротоксическом и протективном) фенотипе этих процессов подчеркивается зависимость от возраста пациентов, инфекционных стимулов и патофизиологического состояния, что является особенно актуальным при COVID-19 (Matias et al., 2019).

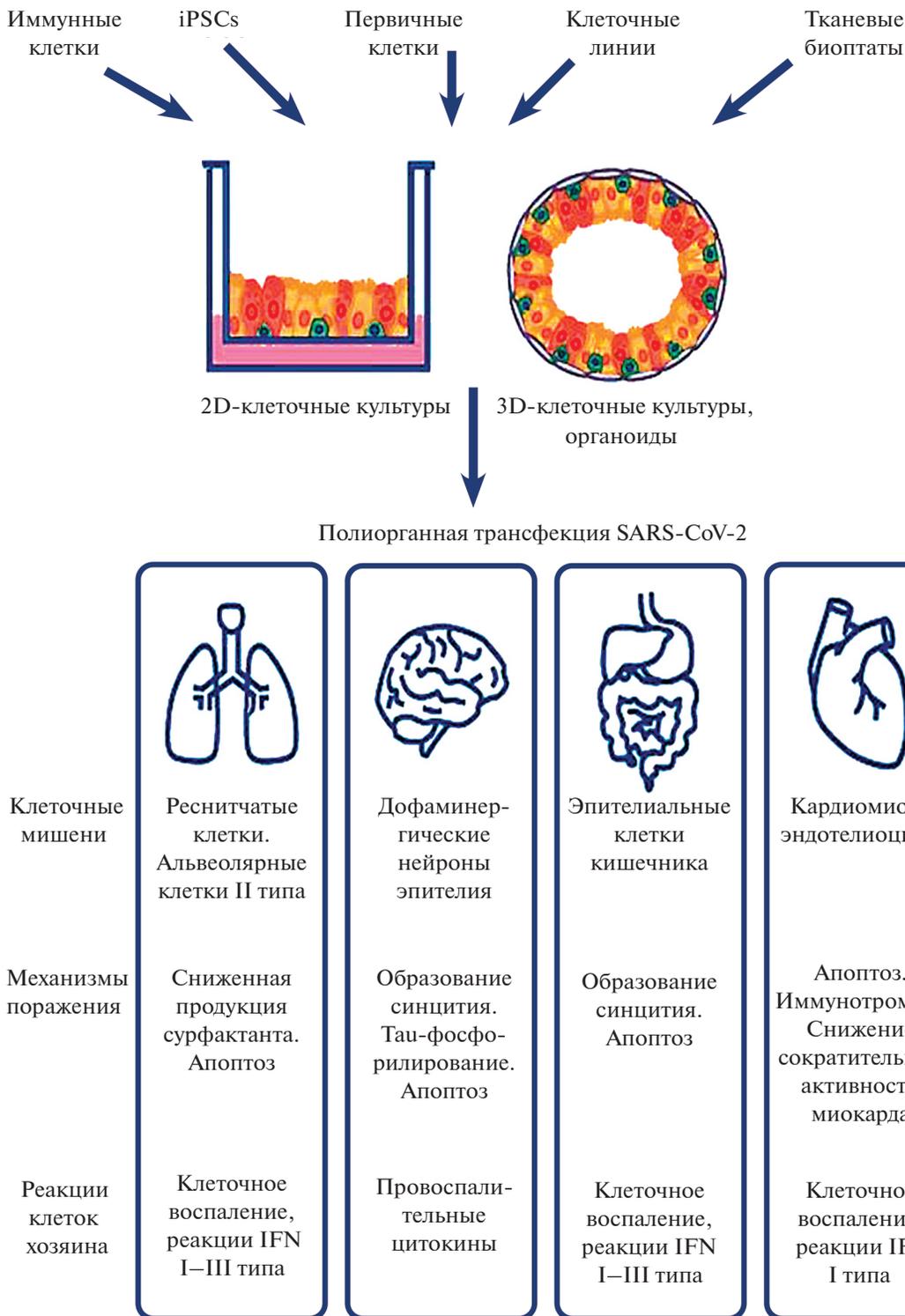
Клинические материалы свидетельствуют, что реактивный фенотип, индуцированный вирусом SARS-CoV-2, играет роль в поддержании нейровоспаления как ведущая причина нейродегенеративных и психических расстройств (Merad, Martin, 2020; Murta et al., 2020; Valenza et al., 2021). Активация микроглии в пораженных областях отмечается в большей части клинических случаев COVID-19. Частота выявления фрагментов коронавируса намного выше в зонах мозга с микроглиозом или лимфоцитарной инфильтрацией, по сравнению с участками гипоксических или сосудистых повреждений (Li Y.C. et al., 2021).

Суммируя эти данные, можно выстроить последовательность процессов нейротропизма вирусной инвазии.

1. Повреждение эндотелиальных клеток и нарушение защитных функций ГЭБ ведет к трансдукции провоспалительных сигналов с периферии в паренхиму мозга с активированием воспалительного ответа микроглии и астроцитов.

2. Глиальные клетки, астроциты и микроглия играют ключевую роль в патогенезе воспалительных и дегенеративных расстройств и могут рассматриваться (Vargas et al., 2020) как нейротропные мишени вирусов SARS-CoV-2 (рис. 2).

3. Астроциты оказываются основными исполнителями в системе нейровоспаления: акцепция



**Рис. 2.** Соотношение нейродеструктивного влияния SARS-CoV-2 и противовирусной защиты с участием иммунных механизмов микроглии (по: Vargas et al., 2020, адаптировано). Клетки микроглии действуют как механизм иммунного ответа, необходимого для предупреждения вирусного влияния и активации системного противовирусного ответа. Это событие включает рекрутирование периферических моноцитов/макрофагов, усиление реакции врожденного иммунитета, повышенную продукцию цитокинов и активацию Т-клеток, комплекса механизмов, контролирующих распространение вируса. В тяжелых случаях COVID-19 чрезмерная активация клеток микроглии может способствовать негативным эффектам путем реактивации астроцитов или опосредованной Т-лимфоцитами нейротоксичности – явлений, способствующих потере синапсов и дегенерации нейронов.

вирусом ACE2 служит активации микроглии и стимулирует релизинг провоспалительных цитокинов.

4. Эти реакции влияют на трансформацию фенотипа астроцитов в реактивную форму и на стимулирование нейровоспаления в комплексе нейродеструктивных процессов при COVID-19.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Концепцию нейротропизма применительно к патогенезу COVID-19 можно рассматривать как обобщение доказательств сложного процесса. Анализ данных, полученных в последнее время в эксперименте и клинике, позволяет определить новые терапевтические решения. В данном заключении представлены основные позиции, изложенные в статье, которые обосновывают этот взгляд.

1. Серии экспериментальных исследований и клинические данные о нейроинвазивном потенциале SARS-CoV-2 подтверждают факты поражения головного мозга и периферической нервной системы. Конкретизация патогенеза, выявление клеточных и биохимических мишеней имеют значение для стратегии терапии. В данном сообщении излагаются базовые принципы, которые позволяют анализировать новые аспекты нейродегенеративных и психических осложнений в патогенезе COVID-19. В этом контексте заслуживает отдельного анализа идея нейротропизма как ведущей причины вызываемой SARS-CoV-2 инфекции, а также последующей дисфункции и поражения ЦНС пациента.

2. Головной мозг, будучи сверхсложной и динамичной клеточно-тканевой системой, может составлять привлекательную среду для репликации SARS-CoV-2. Представленные результаты иллюстрируют нейротропизм как комплексный механизм патогенеза SARS-CoV-2. Хотя описание нейроинвазии постоянно дополняется новыми фактами, сохраняется необходимость прояснить, является ли SARS-CoV-2 непосредственным нейротропным агентом или нейродеструктивные процессы есть следствие системных клеточных и биохимических изменений.

3. Анализ путей вирусной инвазии при COVID-19 выявляет последовательный механизм неврологических осложнений. До недавнего времени представления о проникновении вируса в клетки хозяина связывались преимущественно с ролью ACE2 в качестве уникального посредника; новые данные демонстрируют дополнительные механизмы трансфекции SARS-CoV-2. Описание некоторых трансмембранных белков (нейропиплина и др.) послужило новым аргументом в концепции нейротропизма, когда такие молекулы выступают кофакторами проникновения вируса в ткани легких, мозга, других органов пациента.

4. Сложности прижизненного исследования клеточных и молекулярных процессов побуждают к внедрению новых методологий. Использование моделей органоидов в качестве нового подхода биомедицинского анализа предоставило возможности моделирования взаимодействий хозяина и патогена. Диапазон тканей человека, “привлекательных” для инфицирования, включает разнообразие органов и клеточных структур. Изучение механизмов повреждающего эффекта SARS-CoV-2 на уровне отдельного нейрона формулируется как рабочая задача при исследованиях нейротропизма. Использование платформ органоидов представляет новый уровень исследования ковидной нейропатологии.

5. Проникновение инфицирующего начала в мозг пациента и следующий за этим диссонанс иммунной защиты являются проявлениями нейротропизма. Клинические материалы по COVID-19 свидетельствуют, что астроциты и микроглия оказываются мишенями вирусов SARS-CoV-2. Нейродеструктивные процессы при COVID-19 могут быть связаны с проявлениями сосудистого воспаления, иммунотромбоза, цитоиммунной токсичности. Таким образом, микроглия и нейровоспаление рассматриваются как факторы нейротропизма, нейральных и психических осложнений патологии.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит профессора, члена-корреспондента РАН В.В. Поройкова за долговременное сотрудничество и помощь в работе.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 гг., № 122030100170-5).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гомазков О.А. Нейропиплин – новый игрок в патогенезе COVID-19 // Нейрохимия. 2022. Т. 39. № 2. С. 124–130.
- Гусев Е.И., Мартынов М.Ю., Бойко А.Н. и др. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) и поражение нервной системы: механизмы неврологических расстройств, клинические проявления, организация

- неврологической помощи // Журн. неврол. психиатр. им. С.С. Корсакова. 2020. Т. 120. № 6. С. 7–16.
- Соколова Л.П., Федин А.И. Когнитивные и вегетативные нарушения при новой коронавирусной болезни // Новости неврологии. 2020. № 11 (73). С. 3–12.
- Федин А.И. Неврологические осложнения COVID-19 // Новости неврологии. 2021. № 11 (85). С. 1–10.
- Aghagoli G., Gallo Marin B., Katchur N.J. et al. Neurological involvement in COVID-19 and potential mechanisms // Neurocrit. Care. 2021. V. 34 (3). P. 1062–1071.
- Alquisiras-Burgos I., Peralta-Arrieta I., Alonso-Palomares L.A. et al. Neurological complications associated with the blood-brain barrier damage induced by the inflammatory response during SARS-CoV-2 infection // Mol. Neurobiol. 2021. V. 58 (2). P. 520–535.
- Arbour N., Day R., Newcombe J., Talbot P.J. Neuroinvasion by human respiratory coronaviruses // J. Virol. 2000. V. 74. № 19. P. 8913–8921.
- Awogbindin I.O., Ben-Azu B., Olusola B.A. et al. Microglial implications in SARS-CoV-2 infection and COVID-19: lessons from viral RNA neurotropism and possible relevance to Parkinson's disease // Front. Cell. Neurosci. 2021. V. 15. P. 670298.
- Baig A.M., Khaleeq A., Ali U., Syeda H. Evidence of the COVID-19 virus targeting the CNS: tissue distribution, host–virus interaction, and proposed neurotropic mechanisms // ACS Chem. Neurosci. 2020. V. 11. P. 995–998.
- Benamer K., Agarwal A., Auld S.C. et al. Encephalopathy and encephalitis associated with cerebrospinal fluid cytokine alterations and coronavirus disease, Atlanta, Georgia, USA, 2020 // Emerg. Infect. Dis. 2020. V. 26. P. 2016–2021.
- Bergmann C.C., Lane T.E., Stohlman S.A. Coronavirus infection of the central nervous system: host–virus stand-off // Nat. Rev. Microbiol. 2006. V. 4. P. 121–132.
- Brann D.H., Tsukahara T., Weinreb C. et al. Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system suggests mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia // Sci. Adv. 2020. V. 6 (31). P. eabc5801.
- Bullen C.K., Hogberg H.T., Bahadiri-Talbot A. et al. Infectability of human BrainSphere neurons suggests neurotropism of SARS-CoV-2 // ALTEX. 2020. V. 37 (4). P. 665–671.
- Buzhdygan T.P., DeOre B.J., Baldwin-Leclair A. et al. The SARS-CoV-2 spike protein alters barrier function in 2D static and 3D microfluidic *in vitro* models of the human blood-brain barrier // Neurobiol. Dis. 2020. V. 146. P. 105131.
- Cantuti-Castelvetri L., Ojha R., Pedro L.D. et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity // Science. 2020. V. 370 (6518). P. 856–860.
- Chen Z., Zhong D., Li G. The role of microglia in viral encephalitis: a review // J. Neuroinflamm. 2019. V. 16. № 1. P. 76.
- Chen R., Wang K., Yu J. et al. The spatial and cell-type distribution of SARS-CoV-2 receptor ACE2 in human and mouse brain // Front. Neurol. 2021. V. 11. P. 573095.
- Chu H., Chan J.F., Yuen T.-T. et al. Comparative tropism, replication kinetics, and cell damage profiling of SARS-CoV-2 and SARS-CoV with implications for clinical manifestations, transmissibility, and laboratory studies of COVID-19: an observational study // Lancet Microbe. 2020. V. 1. P. e14–e23.
- Conde J.N., Schutt W.S., Gorbunova E.E., Mackow E.R. Recombinant ACE2 expression is required for SARS-CoV-2 to infect primary human endothelial cells and induce inflammatory and procoagulative responses // mBio. 2020. V. 11. P. e03185-20.
- Correia A.O., Feitosa P.W.G., Moreira J.L.S. et al. Neurological manifestations of COVID-19 and other coronaviruses // Neurol. Psych. Brain Res. 2020. V. 37. P. 27–32.
- Costas-Carrera A., Sánchez-Rodríguez M.M., Cañizares S. et al. Neuropsychological functioning in post-ICU patients after severe COVID-19 infection: the role of cognitive reserve // Brain Behav. Immun. Health. 2022. V. 21. P. 100425.
- Coutard B., Valle C., De Lamballerie X. et al. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade // Antiviral. Res. 2020. V. 176. P. 104742.
- Cummings M.J., Baldwin M.R., Abrams D. et al. Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study // Lancet. 2020. V. 395. P. 1763–1770.
- Daly J.L., Simonetti B., Klein K. et al. Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection // Science. 2020. V. 370 (6518). P. 861–865.
- Dantzer R. Neuroimmune interactions: from the brain to the immune system and *vice versa* // Physiol. Rev. 2018. V. 98 (1). P. 477–504.
- Davies J., Randeve H.S., Chatha K. et al. Neuropilin-1 as a new potential SARS-CoV-2 infection mediator implicated in the neurologic features and central nervous system involvement of COVID-19 // Mol. Med. Rep. 2020. V. 22 (5). P. 4221–4226.
- Desforges M., Le Coupance A., Stodola J.K. et al. Human coronaviruses: viral and cellular factors involved in neuroinvasiveness and neuropathogenesis // Virus Res. 2014. V. 194. P. 145–158.
- Dey J., Alam M.T., Chandra S. et al. Neuroinvasion of SARS-CoV-2 may play a role in the breakdown of the respiratory center of the brain // J. Med. Virol. 2021. V. 93 (3). P. 1296–1303.
- ElBini Dhoubi I. Does coronaviruses induce neurodegenerative diseases? A systematic review on the neurotropism and neuroinvasion of SARS-CoV-2 // Drug Discov. Ther. 2021. V. 14. № 6. P. 262–272.
- Engelhardt B., Vajkoczy P., Weller R.O. The movers and shapers in immune privilege of the CNS // Nat. Immunol. 2017. V. 18. P. 123–131.
- Furr S.R., Marriott I. Viral CNS infections: role of glial pattern recognition receptors in neuroinflammation // Front. Microbiol. 2012. V. 3. P. 201. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00201>
- Helms J., Kremer S., Merdji H. et al. Neurologic features in severe SARS-CoV-2 infection // N. Engl. J. Med. 2020. V. 382. P. 2268–2270.
- Hickman S.E., Kingery N.D., Ohsumi T.K. et al. The microglial sensome revealed by direct RNA sequencing // Nat. Neurosci. 2013. V. 16. P. 1896–1905.
- Hopkins C., Lechien J.R., Saussez S. More than ACE2? NRP1 may play a central role in the underlying patho-

- physiological mechanism of olfactory dysfunction in COVID-19 and its association with enhanced survival // *Med. Hypotheses*. 2021. V. 146. P. 110406.
- Hu J., Jolkonnen J., Zhao C. Neurotropism of SARS-CoV-2 and its neuropathological alterations: similarities with other coronaviruses // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2020. V. 119. P. 184–193.
- Jacob F., Pather S.R., Huang W.K. et al. Human pluripotent stem cell-derived neural cells and brain organoids reveal SARS-CoV-2 neurotropism predominates in choroid plexus epithelium // *Cell Stem Cell*. 2020. V. 27. P. 937–950.e9.
- Katsura H., Sontake V., Tata A. et al. Human lung stem cell-based alveolospheres provide insights into SARS-CoV-2-mediated interferon responses and pneumocyte dysfunction // *Cell Stem Cell*. 2020. V. 27. P. 890–904.e8.
- Kawakami A., Kitsukawa T., Takagi S., Fujisawa H. Developmentally regulated expression of a cell surface protein, neuropilin, in the mouse nervous system // *J. Neurobiol.* 1996. V. 29. P. 1–17.
- Kielian M. Enhancing host cell infection by SARS-CoV-2 // *Science*. 2020. V. 370 (6518). P. 765–766.
- Kofler N., Simons M. The expanding role of neuropilin: regulation of transforming growth factor- $\beta$  and platelet-derived growth factor signaling in the vasculature // *Curr. Opin. Hematol.* 2016. V. 23. P. 260–267.
- Koralnik I.J., Tyler K.L. COVID-19: a global threat to the nervous system // *Ann. Neurol.* 2020. V. 88. P. 1–11.
- Lancaster M.A., Renner M., Martinet C.-A. et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly // *Nature*. 2013. V. 501. P. 373–379.
- Li Z., Huang Y., Guo X. The brain, another potential target organ, needs early protection from SARS-CoV-2 neuroinvasion // *Sci. China Life Sci.* 2020. V. 63. P. 771–773.
- Li Y.C., Bai W.Z., Hashikawa T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV-2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients // *J. Med. Virol.* 2020. V. 92 (6). P. 552–555.
- Li Y.C., Zhang Y., Tan B.-H. What can cerebrospinal fluid testing and brain autopsies tell us about viral neuroinvasion of SARS-CoV-2 // *J. Med. Virol.* 2021. V. 93 (7). P. 4247–4257.
- Liu J.-M., Tan B.-H., Wu S. et al. Evidence of central nervous system infection and neuroinvasive routes, as well as neurological involvement, in the lethality of SARS-CoV-2 infection // *J. Med. Virol.* 2021. V. 93 (3). P. 1304–1313.
- Lv T., Meng F., Yu M. et al. Defense of COVID-19 by human organoids // *Phenomics*. 2021. V. 1 (3). P. 113–128.
- Mao X.-Y., Jin W.-L. iPSCs-derived platform: a feasible tool for probing the neurotropism of SARS-CoV-2 // *ACS Chem. Neurosci.* 2020. V. 11 (17). P. 2489–2491.
- Matias I., Morgado J., Gomes F.C.A. Astrocyte heterogeneity: impact to brain aging and disease // *Front. Aging Neurosci.* 2019. V. 11. P. 59. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00059>
- Merad M., Martin J.C. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages // *Nat. Rev. Immunol.* 2020. V. 20. P. 355–362.
- Morgado A.M., Bezerra A.L.M.S., Felix E.B.G. et al. COVID-19's clinical-pathological evidence in relation to its repercussion on the central and peripheral nervous system // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2021. V. 1353. P. 197–215.
- Moriguchi T., Harii N., Goto J. et al. A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2 // *Int. J. Infect. Dis.* 2020. V. 94. P. 55–58.
- Murta V., Villarreal A., Ramos A.J. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 impact on the central nervous system: are astrocytes and microglia main players or merely bystanders? // *ASN Neuro.* 2020. V. 12. P. 1759091420954960.
- Nath A., Smith B. Neurological issues during COVID-19: an overview // *Neurosci. Lett.* 2021. V. 742. P. 135533.
- Netland J., Meyerholz D.K., Moore S. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection causes neuronal death in the absence of encephalitis in mice transgenic for human ACE2 // *J. Virol.* 2008. V. 82 (15). P. 7264–7275.
- O'Neill L.A., Golenbock D., Bowie A.G. The history of Toll-like receptors – redefining innate immunity // *Nat. Rev. Immunol.* 2013. V. 13 (6). P. 453–460.
- Paniz-Mondolfi A., Bryce C., Grimes Z. et al. Central nervous system involvement by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) // *J. Med. Virol.* 2020. V. 92 (7). P. 699–702.
- Pedraza S.T., Guillermo B., Urcuqui-Inchima S. Viral recognition by the innate immune system: the role of pattern recognition receptors // *Colomb. Med.* 2010. V. 41. P. 377–387.
- Pellegrini L., Albecka A., Mallery D.L. et al. SARS-CoV-2 infects the brain choroid plexus and disrupts the blood-CSF barrier in human brain organoids // *Cell Stem Cell*. 2020. V. 27 (6). P. 951–961.e5.
- Perez-Miller S., Patek M., Moutal A. et al. Novel compounds targeting neuropilin receptor 1 with potential to interfere with SARS-CoV-2 virus entry // *ACS Chem. Neurosci.* 2021. V. 12 (8). P. 1299–1312.
- Pichlmair A., Reis e Sousa C. Innate recognition of viruses // *Immunity*. 2007. V. 27. P. 370–383.
- Plein A., Fantin A., Ruhrberg C. Neuropilin regulation of angiogenesis, arteriogenesis, and vascular permeability // *Microcirculation*. 2014. V. 21 (4). P. 315–323.
- Politi L.S., Salsano E., Grimaldi M. Magnetic resonance imaging alteration of the brain in a patient with coronavirus disease 2019 (COVID-19) and anosmia // *JAMA Neurol.* 2020. V. 77. № 8. P. 1028–1029.
- Ramani A., Müller L., Ostermann P.N. et al. SARS-CoV-2 targets neurons of 3D human brain organoids // *EMBO J.* 2020. V. 39. P. e106230.
- Ramani A., Pranty A.-I., Gopalakrishnan J. Neurotropic effects of SARS-CoV-2 modeled by the human brain organoids // *Stem Cell Reports*. 2021. V. 16 (3). P. 373–384.
- Ronald P.C., Beutler B. Plant and animal sensors of conserved microbial signatures // *Science*. 2010. V. 330 (6007). P. 1061–1064.
- Renner M., Lancaster M.A., Bian S. et al. Self-organized developmental patterning and differentiation in cerebral organoids // *EMBO J.* 2017. V. 36. P. 1316–1329.
- Sarabipour S., Mac Gabhann F. Targeting neuropilins as a viable SARS-CoV-2 treatment // *FEBS J.* 2021. V. 288 (17). P. 5122–5129.
- Serrano G.E., Walker J.E., Arce R. Mapping of SARS-CoV-2 brain invasion and histopathology in COVID-19 // *medRxiv*. 2021. Reprint. <https://doi.org/10.1101/2021.02.15.21251511>

- Song E., Zhang C., Israelow B. et al.* Neuroinvasion of SARS-CoV-2 in human and mouse brain // *J. Exp. Med.* 2021. V. 218 (3). P. e20202135.
- Steardo L., Steardo L.Jr., Zorec R., Verkhatsky A.* Neuroinfection may contribute to pathophysiology and clinical manifestations of COVID-19 // *Acta Physiol. (Oxf.)*. 2020. V. 229. № 3. P. e13473.
- Tavčar P., Potokar M., Kolenc M. et al.* Neurotropic viruses, astrocytes, and COVID-19 // *Front. Cell. Neurosci.* 2021. V. 15. P. 662578.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2021.662578>
- Tiwari S.K., Wang S., Smith D. et al.* Revealing tissue-specific SARS-CoV-2 infection and host responses using human stem cell-derived lung and cerebral organoids // *Stem Cell Reports*. 2021. V. 16 (3). P. 437–445.
- Trevisan M., Riccetti S., Sinigaglia A., Barzon L.* SARS-CoV-2 infection and disease modelling using stem cell technology and organoids // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22 (5). P. 2356.  
<https://doi.org/10.3390/ijms22052356>
- Tsivgoulis G., Palaodimou L., Katsanos A.H. et al.* Neurological manifestations and implications of COVID-19 pandemic // *Ther. Adv. Neurol. Disord.* 2020. V. 13. P. 1756286420932036.  
<https://doi.org/10.1177/1756286420932036>
- Valenza M., Steardo L.Jr., Steardo L. et al.* Systemic inflammation and astrocyte reactivity in the neuropsychiatric sequelae of COVID-19 // *Front. Cell. Neurosci.* 2021. V. 15. P. 748136.
- Vargas G., Geraldo L.H.M., Salomão N.G. et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and glial cells: insights and perspectives // *Brain Behav. Immun. Health.* 2020. V. 7. P. 100127.
- Yang L., Han Y., Nilsson-Payant B.E. et al.* A human pluripotent stem cell-based platform to study SARS-CoV-2 tropism and model virus infection in human cells and organoids // *Cell Stem Cell*. 2020. V. 27. P. 125–136.e7.
- Zhang B.Z., Chu H., Han S. et al.* SARS-CoV-2 infects human neural progenitor cells and brain organoids // *Cell Res.* 2020. V. 30 (10). P. 928–931.

## Neurotropism as a Mechanism of the Damage Action of the Coronavirus

O. A. Gomazkov\*

*Orekhovich Scientific Research Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia*

*\*e-mail: oleg-gomazkov@yandex.ru*

Clinical evidence suggests that COVID-19 is accompanied by many symptoms of damage to the central and peripheral nervous system. This article outlines new aspects of pathogenesis that consider the principle of neurotropism as the leading cause of SARS-CoV-2 infection and central nervous system dysfunction. New data demonstrate additional mechanisms for coronavirus transfection. The description of some transmembrane proteins (neuropilin, etc.) served as an additional argument for SARS-CoV-2 neurotropism, when these molecules act as cofactors for virus transfection in the tissues of the lungs, brain, and other organs. The study of the damaging effect of SARS-CoV-2 at the level of an individual neuron is formulated as a working task of neurotropism. The use of the organoid methodology, as a new approach to biomedical analysis, for modeling the relationship between the host and the pathogen is described. Numerous data on the pathogenesis of COVID-19 indicate that astrocytes and microglia are targets of SARS-CoV-2. Neuroinflammation is considered as an inverse manifestation of neurotropism and a consequence of neural and mental complications of pathogenesis.

*Keywords:* COVID-19, neurotropism, SARS-CoV-2, neurological complications, organelles, neuroglia