

ОСОБЕННОСТИ ПЕРСИСТЕНЦИИ ИНДИГЕННЫХ ШТАММОВ БИФИДОБАКТЕРИЙ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

© 2023 г. О. В. Бухарин^{а,*}, Е. В. Иванова^{а,**}

^аИнститут клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

*E-mail: ofrc@list.ru

**E-mail: walerevna13@gmail.com

Поступила в редакцию 03.05.2023 г.

После доработки 10.05.2023 г.

Принята к публикации 20.05.2023 г.

В представленном обзоре авторы обращают внимание на индигенную бифидофлору, которая не всегда используется при отборе природных бифидобактерий для пополнения микрофлоры кишечника человека эффективными штаммами. В то же время использование индигенной бифидофлоры фактически расширяет возможности получения новых штаммов, пригодных для пробиотических целей. Природа разумно организовала постоянное совершенствование нормальной микрофлоры кишечника человека, нашего главного помощника, продлевая тем самым нашу жизнь. Найти замену этому процессу довольно сложно, но вполне осуществимо.

Ключевые слова: индигенные бифидобактерии, персистенция, пробиотики, лизоцим.

DOI: 10.31857/S0869587323060051, **EDN:** GYOJNI

Человечество живёт в огромном мире разнообразных микроорганизмов, как полезных для нас, так и патогенных, бросающих вызовы в виде эпидемий и даже пандемий (пример тому – грипп). В Оренбургском НИИ клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН постоянно идёт работа над решением вопроса: где взять такие микробы, которые будут нашими помощниками, то есть где найти такие пробиотики, которые защи-

тят наш организм от чуждых штаммов? Ещё И.И. Мечников выделял такие микробы из кишечника человека и знал об их защитных качествах. Но сегодня уже не XIX в., и мы располагаем знаниями наших предшественников, полученными в ходе большой и кропотливой работы.

Наладив “дружбу” с микробным миром, мы поняли: нас интересует всё, что относится к нашим “сожителям”. С подачи Мечникова мы занялись обитающими в кишечнике человека бифидобактериями. Известно, что они выступают одними из немногих симбионтов человека, не обладающих патогенными свойствами [1] вне зависимости от состояния иммунитета хозяина. Их можно по праву отнести к индигенной (своей) микробиоте, уже получившей “образование” в организме человека. *Индигенная микрофлора* – бифидобактерии – постоянно присутствует в кишечнике человека, помогает нам и защищает нас, по сути – это залог нашего здоровья. Индигенность микроорганизмов тесно связана с их длительным выживанием в организме хозяина – *персистенцией*. Это широко распространённое явление в инфектологии, следствие паразит-хозяинных отношений [2, 3]. Персистенция привлекает внимание исследователей как своей малой изученностью, так и теми новыми подходами, которые открываются благодаря этому явлению в инфекто-



БУХАРИН Олег Валерьевич – академик РАН, научный руководитель ИКВС УрО РАН. ИВАНОВА Елена Валерьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией инфекционной симбиологии ИКВС УрО РАН.

логии¹. В обзоре рассматриваются особенности физиологии индигенных штаммов бифидобактерий кишечника человека с выявлением большого количества неизученных вопросов персистенции.

Сегодня понимание основ персистенции бифидобактерий, её механизмов и участие в формировании роли этих штаммов в организме хозяина остаются малоизученными. Мы провели анализ обширного экспериментально-клинического материала и современных опубликованных данных по факторам и механизмам персистенции прокариот на примере индигенных штаммов бифидобактерий кишечника человека.

Персистенция микроорганизмов — результат взаимной адаптации прокариот и хозяина. Как бактерии, так и хозяин обладают удивительной пластичностью, служащей основой их сложных взаимоотношений в процессе эволюции. Именно это свойство микробных клеток в отношении стрессовых воздействий среды позволило им выработать различные механизмы выживания в конкретном специфическом биотопе, а также механизмы общего характера [6]. Покой бактерий — универсальная форма их адаптации к меняющимся условиям среды, когда происходит реверсия микробной клетки с сохранением её биологического потенциала [7], направленная на сохранение и выживание собственной популяции. Покой прокариот также может рассматриваться как проявление персистенции.

В качестве одного из важных механизмов взаимной адаптации симбионтов можно рассматривать универсальный принцип саморегуляции с формированием обратных связей со стороны прокариотических клеток, где варьирующий признак микроорганизмов — способность к персистенции, а в случае хозяина — иммунокомпетентность. Именно эти характеристики симбионтов становятся решающими на этапе их взаимной адаптации в конкретной экологической нише хозяина [2, 8].

На протяжении последних десятилетий изучение персистенции прокариот в рамках системы “паразит–хозяин” позволило определить ключевую функцию пептидогликана бактерий [2, 9], представить оригинальную классификацию механизмов персистенции и выявить новые микробные секретлируемые факторы инактивации защиты хозяина (антилизоцимная, антилактоферриновая, антикомплементарная, антикарнозиновая активность), а также факторы их регуляции различной природы [9, 10]. Установлено, что персистентные свойства оказались универсаль-

ными как для патогенов, так и для представителей индигенной микробиоты хозяина [2, 9]. Бифидобактерии как индигенные симбионты человека обладают широким спектром секретлируемых факторов персистенции [11, 12]. Эти особенности установлены и у таких представителей нашей микробиоты, как лактобактерии, энтерококки, кишечные палочки, коринебактерии и др. [9, 13].

Отличительной особенностью персистентного потенциала бифидобактерий служит наличие умеренных значений признаков по сравнению с высокоперсистентными патогенами [14, 15]. Вероятно, для индигенной микробиоты персистентные свойства обеспечивают прежде всего *защиту микробной клетки* в условиях толстого кишечника, где факторы врождённого иммунитета хозяина постоянно воздействуют на микроорганизмы. Поэтому при описании персистентного потенциала индигенной микробиоты корректнее характеризовать секреторные факторы не как “антифакторы”, а, скорее, как признаки, определяющие их резистентность (устойчивость) к антимикробным белкам хозяина.

Известно, что белковые компоненты врождённого иммунитета, включая лактоферрин, лизоцим, β-дефенсины, иммуноглобулины и цитокины, могут оказывать прямое или опосредованное воздействие на микроорганизмы [12, 16]. В антибактериальную активность вовлечены как ферментативные, так и катионные свойства лизоцима типа С [17]. Деградация и лизис бактерий лизоцимом — природным антисептиком — усиливают высвобождение бактериальных продуктов, включая пептидогликан, что активирует рецепторы распознавания образов в иммунокомпетентных клетках организма человека. Как это ни парадоксально, лизоцим также важен на этапе подавления процесса воспаления на участках слизистой оболочки [18]. Антимикробная активность лактоферрина в отношении бифидобактерий отмечается при ограниченном содержании железа в среде. Восстановленные β-дефенсины с сульфидрильными группами проявляют выраженную антимикробную активность в отношении бифидобактерий [19]. Показано, что многие протективные белки организма человека, имея различные происхождение и структуру, обладают рядом сходных лигандов и механизмов фиксации, что обеспечивает синергетический (усиливающийся) антимикробный эффект [16].

Микроорганизмы через секретлируемые факторы инактивируют антимикробные белки в своём микроокружении и ускользают от действия протективных белков, создавая оптимальные условия для заселения ниши хозяина. Однако персистентный потенциал индигенных бифидобактерий не способствует формированию локальной недостаточности факторов врождённого имму-

¹ Приведённые выше термины пришли из латыни: *indigena, aef* — коренной, природный, местный [4]; *persistentia, aef* — сохранение предыдущего состояния, упорство, постоянство [5]; *persistere* — быть настойчивым, упорным [5].

нитета хозяина, сохраняя физиологическое состояние кишечного биотопа [20]. Об этом свидетельствуют результаты исследования в системе “лизоцим—лизоцимрезистентность”, позволившие провести корреляционный анализ экспрессии персистентных характеристик бифидобактерий и соответствующих факторов местного иммунитета кишечника человека [12]. Таким образом, персистентные индигенные штаммы бифидофлоры имеют секретлируемые факторы, способствующие преодолению природного барьера слизистых организма и не нарушающие его гомеостаза в микросимбиозе.

Для индигенных бифидобактерий показан ряд механизмов преодоления противомикробной активности катионных пептидов хозяина, что впоследствии используется для их собственного роста и размножения. Углеводные цепи, связанные с лактоферрином, могут служить источником углерода для бифидобактерий [19]. Биоактивные пептиды грудного молока (α -лактальбумин, лактоферрин, IgA, остеокальцин, лизоцим) обладают бифидогенным эффектом [12]. Всё сказанное позволяет прийти к выводу, что индигенная микробиота кишечника формировалась вследствие взаимной адаптации организма хозяина и бактерий, в результате чего микробные клетки, используя антимикробные белки хозяина в качестве *питательного субстрата*, приобрели важное *селективное преимущество* в занимаемом биотопе.

Не менее важен в адаптации симбионтов тот факт, что индигенная микробиота, её компоненты и метаболиты, взаимодействуя с образующими рецепторами и антимикробными молекулами, играют *регуляторную роль* в осуществлении физиологических процессов в организме, в поддержании баланса цитокинов и микробицидных веществ [12]. Такое сложное и сбалансированное взаимодействие между микробиотой и иммунитетом, направленное на поддержание целостности кишечного барьера в условиях постоянно изменяющихся факторов окружающей среды [21], обеспечивает поддержание гомеостаза кишечника и персистенцию индигенных штаммов бифидофлоры.

Таким образом, феномен персистенции индигенных микроорганизмов следует рассматривать как частный случай сформированного в процессе эволюции адаптивного потенциала прокариот в организме человека, не имеющего патогенетической основы и направленного исключительно на защиту микробной клетки от протективных факторов хозяина. Наличие секретлируемых начал у штаммов может обеспечивать селективное преимущество индигенной популяции бифидобактерий в толстом кишечнике, а также определять их регуляторную роль в поддержании баланса цитокинов и микробицидных веществ слизистых.

Персистентный потенциал — совокупность факторов колонизации микроорганизмов в условиях адаптации их к хозяину. Толстый кишечник человека как экологическая ниша обеспечивает идеальную среду обитания для различных микроорганизмов. Индигенные представители кишечного микросимбиоза, участвуя в метаболических, защитных и структурных процессах организма человека, сохраняются в течение всей жизни и поддерживают его здоровье [22]. Колонизация видами бифидобактерий различных экологических ниш подтверждает идею об антропогенном влиянии, которое могло способствовать горизонтальной передаче штаммов между хозяевами. Так, определённые виды (например, *B. asteroides*, *B. bohemicum*, *B. bombi* и *B. indicum*), которые ранее считались высокоспециализированными колонизаторами кишечника насекомых, широко распространены среди различных млекопитающих [23]. Однако для бифидобактерий характерна преимущественно вертикальная передача, которая происходит между матерью и новорождённым во время родов и при последующем грудном вскармливании. Установлено, что идентичные штаммы присутствуют в кишечной микробиоте и матери, и ребёнка, а на их распространённость и обилие влияют как способ родоразрешения и тип вскармливания, так и воздействие антибиотиков. Наиболее часто вертикальной передаче от матери к ребёнку подвергаются *B. brevis*, *B. longum* subsp. *longum*, *B. bifidum* [1, 23]. Это удивительное явление наблюдается не только у людей, но и у других видов млекопитающих.

Вопрос соотношения факторов *колонизации и персистенции* микроорганизмов может иметь значение на этапе определения эволюционно-экологической особенности индигенности прокариот в микросимбиозе хозяина. Это также позволяет выявить некоторые адаптивные черты индигенных штаммов, обеспечивающие их колонизацию и длительное выживание в условиях толстого кишечника человека. Данная тема недостаточно исследована, многогранна, и к ней можно применять разные подходы.

Сегодня, чтобы определить индигенность бактерий, нужно выявить ряд генофенотипических особенностей микробных клеток, связанных со структурными компонентами их клеточной поверхности и процессами анаэробной ферментации субстратов. Это и было сделано на примере анализа индигенных штаммов *Lactobacillus ruminis*, что позволило установить детерминанты, которые обеспечивают их коренную сущность в кишечнике человека и животных [22]. Штаммы бифидобактерий в процессе эволюции претерпели специфическую генетическую и метаболическую адаптацию, чтобы облегчить приспособление и колонизацию кишечника хозяина [1, 23]. Так, геномы бифидобактерий кодируют разные типы

пилей², известные как сортаза-зависимые пили и пили типа IVb, Tad, которые имеют первостепенное значение при колонизации кишечника и способны модулировать незрелую иммунную систему новорождённого [23, 24]. Кроме того, установлена роль индигенных бифидобактерий в ферментации гликановых ресурсов кишечника через выстраивание трофических связей между микросимбионтами, сопряжённая с продукцией биологически активных веществ (жирные кислоты, γ -аминомасляная кислота, биотин, витамины группы B, K, спермидин, триптофан, тирозин и др.) [12, 25].

Успешной колонизации кишечного биотопа человека индигенными штаммами способствует также комплекс их персистентных характеристик. С помощью факторного анализа комплекса биологических свойств более 200 индигенных штаммов бифидобактерий от здорового контингента выявлено два стабильных параметра этих микросимбионтов, определяющих высокий уровень содержания жизнеспособных клеток в кишечнике, – лизоцимрезистентность (ЛР) и биоплёнообразование (БПО) (табл. 1, значения нагрузок больше 0.8 по фактору 1, 44.5% общей дисперсии). Для уточнения полученных данных применялся метод статистической обработки, выявивший системообразующий фактор [25], что позволило подтвердить информативность данных признаков и использовать их при отборе индигенных штаммов бифидобактерий.

Среди персистентных характеристик бифидобактерий, значимых по фактору 2, установлена способность штаммов влиять на уровень ключевых медиаторов Th1- (TNF α и IFN γ) и Th2-иммунного ответа хозяина (IL-10). Выявленная активность бифидобактерий может быть связана с наличием у них таких белков, как ингибитор сериновой протеазы серпин, а также внеклеточных макромолекул – экзополисахаридов (EPS) [12]. Среди детерминант серин-треониновых протеинкиназ выявлен ген цитокинового рецептора FN3, специфически связывающего фактор некроза опухоли (ФНО) α . Всё это позволяет предположить, что индигенные штаммы, колонизируя слизистые оболочки кишечника, через секреторные факторы персистенции регулируют уровень медиаторов, влияя на дифференцировку клеток и направленность реакций иммунитета.

Выявление лизоцимрезистентности и биоплёнообразования позволяет сделать вывод об их вкладе в обеспечение процессов *закрепления и длительного выживания* индигенных штаммов в организме в результате эволюции проکاریот совместно с иммунной системой хозяина.

² Пили – нитевидные белковые структуры, расположенные на поверхности клеток многих бактерий.

Жизнь адаптированного микроорганизма в организме хозяина – серия шагов клеточной активации в ответ на комплекс окружающих условий биотопа хозяина. Персистенция проکاریот лежит в основе формирования симбиотических взаимодействий бактерий с хозяином, где основной биомиссией иммунитета служит клеточная стенка – её *пептидогликан* (ПГ) [2, 9]. Не исключено, что тезис о бактериальном пептидогликане как иммунологической мишени может быть подкреплён его чувствительностью ко многим факторам защиты хозяина, в отношении которых другие бактериальные компоненты проявляют высокую резистентность. С учётом этого становится понятна основная роль пептидогликана в понимании центрального вопроса инфекционной иммунологии – распознавания “своего” и “чужого” [2, 25], а следовательно, и участия в феномене микробной персистенции. Таким образом, любые адаптационные процессы микроба, направленные на защиту (или изоляцию) пептидогликановой структуры клеточной стенки, по-видимому, можно рассматривать в качестве механизмов персистенции.

Для бифидобактерий характерна выраженная устойчивость к универсальному антимикробному белку хозяина – лизоциму, известная как *лизоцимрезистентность* [26]. Её ключевая роль в сохранении популяции бифидобактерий в кишечнике человека позволила нам более подробно остановиться на изучении процессов взаимодействия проکاریот и лизоцима. Учитывая способность бифидобактерий проявлять устойчивость к бактерицидному действию белка в концентрациях, в 20–25 раз превышающих его физиологический уровень в кишечнике [27], можно предположить, что лизоцимрезистентность для бифидобактерий – *основная стратегия их персистенции*. Подтверждением этому служит тот факт, что высокая устойчивость к лизоциму у бифидобактерий как в кишечнике, так и в материнском молоке выступает фактором отбора индигенных для человека видов *Bifidobacterium* spp. Напротив, не относящиеся к таковым штаммы (*human-residential bifidobacteria*) чувствительны к литическому действию лизоцима [27], что может свидетельствовать о селективном влиянии антимикробного белка на процессы колонизации и выживания проکاریот в кишечнике хозяина. Однако механизмы или процессы, участвующие в формировании и регуляции устойчивости бифидобактерий к лизоциму, недостаточно изучены.

Среди известных сегодня механизмов лизоцимрезистентности проکاریот можно выделить два основных процесса, реализуемых через *нейтрализацию мурамидаз с помощью ингибиторов лизоцима* (секреторные и сорбционные факторы), а также через *модификацию пептидогликана* микроорганизмов, поскольку этот биополимер высту-

Таблица 1. Факторная нагрузка биологических признаков индигенных штаммов бифидобактерий толстого кишечника человека

Биологический параметр штаммов	Фактор 1 (44.5% общей дисперсии)	Фактор 2 (24.7% общей дисперсии)	Фактор 3 (11.7% общей дисперсии)	Фактор 4 (19.1% общей дисперсии)
ЛР	0.914129	0.063617	0.082075	0.029637
БПО	0.865975	0.063564	0.091068	-0.084630
АА	0.779277	-0.071679	-0.094985	0.109659
УК	0.734464	-0.035133	-0.242782	0.121949
AIgA	0.611673	-0.000551	0.007377	0.245118
ПЦ ФНО α	0.440550	0.333862	-0.085242	0.089914
АЛФА	0.363192	-0.059483	0.287917	-0.000440
ПЦ ИЛ-17	0.180594	0.037218	0.075754	0.128385
ПК	0.172401	0.088339	-0.257906	0.693880
МК	0.121607	-0.050960	-0.067217	0.690104
изоКК	0.118812	-0.130645	-0.157501	0.148003
АПА ИЛ-17	0.100890	0.257735	0.106234	-0.074004
АПА ИЛ-1Ra	0.050419	-0.065830	-0.099429	0.148489
АПА ИНФ-γ	0.034010	0.797927	0.008107	0.142177
АПА ИЛ-10	0.018538	0.840131	-0.065623	0.031689
АПА ИЛ-6	0.016045	0.551067	-0.020170	-0.106414
ПЦ ИЛ-1Ra	0.011463	0.113173	0.007635	-0.017154
ВК	-0.011166	0.189828	-0.773116	-0.008328
ПЦ ИЛ-6	-0.040552	0.086985	0.229670	0.769763
изоМК	-0.102351	-0.009125	-0.546565	0.088066
АПА ФНОα	-0.107663	0.712618	0.024176	-0.052118
ПЦ ИНФ- γ	-0.163375	0.140905	-0.072830	-0.063293
КК	-0.191348	-0.109181	-0.801704	-0.018657
ПЦ ИЛ-10	-0.341917	0.354778	0.058292	-0.012347

Примечание: уровень уксусной (УК), пропионовой (ПК), масляной (МК), изомасляной (изоМК), валериановой (ВК), капроновой (КК) и изокапроновой (изоКК) кислот, продуцируемых штаммами; биоплёнообразование (БПО), лизоцимрезистентность (ЛР), антилактоферриновая (АЛФА), антииммуноглобулиновая (AIgA) активность, антипептидная активность (АПА) в отношении ФНО α , ИНФ- γ , ИЛ-6, ИЛ-17, ИЛ-10, ИЛ-1Ra; антагонистическая активность (АА) и уровень иммунорегуляторной активности – способность штаммов влиять на продукцию (ПЦ) лимфоцитами ФНО α , ИНФ- γ , ИЛ-6, ИЛ-17, ИЛ-10, ИЛ-1Ra.

пает мощным раздражителем иммунной системы [2, 9]. Специфические ингибиторы лизоцима, такие как белки семейства Iyu и Pli/Mli, выявлены у грамотрицательных бактерий (*Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp.), что соотносится с их выраженной антилизозимной активностью [25]. Энтеротоксин типа С грамотрицательных бактерий также обладает способностью ингибировать лизоцим как неспецифиче-

ский фактор [2]. Среди грамположительных микроорганизмов (*Clostridium difficile*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*) отмечается наличие бактериальных рецепторов – большое и разнообразное семейство σ -факторов, в отсутствие которых штаммы становятся более чувствительными к лизоциму и ряду антимикробных факторов хозяина [28].

Анализ известных геномов бифидобактерий показал, что данные микроорганизмы не являются носителями специфических ингибиторов лизоцима. Выявление секретируемых начал у бифидобактерий позволило установить, что их лизоцимрезистентность, в отличие от комменсальных и патогенных микроорганизмов, — *неспецифический признак*, который может быть связан с их метаболизмом и продукцией ацетата [29].

Метаболическая активность бифидобактерий, обеспечивающая только незначительное снижение лизоцима в микроокружении, создаёт основу для процесса модификации пептидогликана — *О-ацетилирования*. В геномах бифидобактерий выявляются два варианта генов О-ацетилтрансфераз N-ацетилмурамовой кислоты. Данные детерминанты имеются среди всех индигенных видов бифидобактерий кишечника человека, присутствуют в геноме всех секвенированных нами штаммов и способны обеспечивать резистентность к его ферментативному действию. Использование такого механизма выживания в кишечной среде обуславливает преимущество бифидобактерий по сравнению с рядом прокариот, для которых характерны процессы де-N-ацетилирования пептидогликана [29].

Наряду с модификацией пептидогликана прокариот одним из важных механизмов персистенции индигенных штаммов кишечника человека можно рассматривать процесс *“экранирования” пептидогликана*, который представляет собой механическую защиту пептидогликана при помощи структурных элементов, позволяющую бактериям создать “камуфляж” пептидогликанового полимера. Особенностью грамположительных микроорганизмов выступает их способность при контакте с сывороткой крови и иммуноглобулином человека образовывать дополнительный капсулоподобный (иммуноглобулиновый) покров [2, 9].

Среди поверхностных структур бифидобактерий стоит выделить гликаны, участвующие во взаимодействии с подобными структурами секреторного компонента (SC) иммуноглобулина А [30]. Традиционно секреторный иммуноглобулин А (sIgA) рассматривается как невоспалительный фактор, обладающий нейтрализующим эффектом на патогены и их компоненты. Вместе с тем взаимодействие между sIgA и индигенной бифидофлорой характеризуется низкой аффинностью в отличие от патогенов. Клетки бифидобактерий, покрытые sIgA, контактируют с поверхностью эпителия, способствуя укреплению кишечного барьера и снижению провоспалительных реакций. Показано, что связь между кишечными микроорганизмами и sIgA двусторонняя. Так, микробиота может модулировать распределение sIgA в кишечнике [30, 31].

Всё перечисленное открывает перспективу в исследовании новых механизмов персистенции индигенной бифидофлоры. Если учесть, что сейчас активно изучаются различные механизмы защиты пептидогликана у бактерий, то приходится лишь сожалеть о том, сколько ещё природоподобных технологий не создано, в то время как инфекционная симбиология выступает основой для решения подобных вопросов. В своей работе мы провели скрининг тест-культур как индигенной, так и неиндигенной и патогенной флоры человека (*Shigella zonnei* 1776, *Shigella flexneri* 337, *Klebsiella pneumoniae* ICIS-278, *Escherichia coli* 157, *Staphylococcus aureus* 209, *Proteus mirabilis* 50/10) с помощью реакции агглютинации с использованием пула иммуноглобулинов человека для оценки их иммунологической активности. Этот эксперимент позволил не только охарактеризовать иммунологическую активность различных микроорганизмов, но и сравнить результаты с методом определения чужеродности данных культур [32]. Установлено, что иммунологическая активность бифидобактерий невыраженная; это может говорить о низкой аффинности иммуноглобулинов к пептидогликану этих представителей нормобиоты, в отличие от патогенных тест-культур, что подтверждается опубликованными данными [30].

Таким образом, основной стратегией персистенции индигенной бифидофлоры служит *устойчивость к действию лизоцима хозяина*, реализуемая через модификацию пептидогликана — *О-ацетилирование пептидогликана* (широкая распространённость детерминант О-ацетилтрансфераз у бифидобактерий), и *способность неспецифически ингибировать уровень лизоцима* в среде. Кроме того, формирование комплексов бифидобактерий с иммуноглобулинами может также иметь решающее значение для персистенции индигенной микробиоты в кишечнике человека. Выявление особенностей персистирования микроорганизмов позволило дать ответ на вопрос: как отличить “свои” микроорганизмы от “чужих”? Это весьма сложно ввиду недостатка знаний о деталях этого процесса. Возможно, дальнейшее исследование поверхностных структур и секретируемых факторов микроорганизмов поможет расширить и пополнить новыми компонентами персистенцию представителей индигенной флоры.

Стратегия выживания индигенных микроорганизмов строится на способности прокариот к регуляции физиологических путей жизнедеятельности клеток хозяина. В работах, посвящённых изучению индигенной бифидофлоры кишечника человека, показано, что бифидобактерии — ключевое звено микробиоты в регуляции кишечного гомеостаза, основанное на формировании функциональных групп штаммов:

- первая, регулирующая баланс микробицидных белков и цитокинов;
- вторая, осуществляющая дискриминацию патогенов;
- третья, участвующая в поддержании барьерной функции энтероцитов в толстом кишечнике [33].

Сложилось представление о роли бифидофлоры в формировании иммунного гомеостаза кишечного биотопа, где первичная дискриминация чужеродного материала бифидофлорой – инициальный этап последующего иммунологического сигналинга [34].

Рассмотрение вопроса персистенции индигенных культур бифидобактерий позволило установить роль ацетата в дискриминации неиндигенной грамположительной микробиоты по механизмам лизоцимрезистентности. Это новое понимание физиологических эффектов прокарриот в организме, понимание протективной роли бифидофлоры в организме хозяина. Однако вопрос о возможных путях взаимодействия бифидобактерий с неиндигенными бактериями в зависимости от механизмов их персистенции пока не изучался.

Определена роль ацетата в персистенции индигенных бифидобактерий в кишечном биотопе через лизоцимрезистентность в модельных условиях ацетилирования–деацетилирования пептидогликана. Проведённый эксперимент показал способность нейтральной соли ацетата в физиологических концентрациях, создаваемых бифидобактериями, снижать устойчивость к лизоциму бактерий с механизмом деацетилирования пептидогликана – листерий (на примере штамма *Listeria monocytogenes* ICIS-280) [29]. Присутствие ацетата в среде смещает равновесие обратимой реакции деацетилирования, катализируемой де-N-ацетилазой неиндигенной микробиоты, в сторону немодифицированного пептидогликана бактерий [29]. Это значит, что пептидогликан остаётся чувствительным к действию лизоцима, возвращаясь к элиминации прокарриот из кишечного биотопа. Выделяемый бифидобактериями в процессе катаболизма ацетат влияет на персистентный потенциал неиндигенных микроорганизмов, выполняя, по сути, функцию регулятора лизоцимрезистентности в биотопе.

Полученные нами данные представляют особый интерес с точки зрения изучения участия персистенции в формировании роли индигенных штаммов в организме хозяина. С одной стороны, образование ацетата бифидобактериями – это их метаболическая активность; с другой – ацетат в пристеночной области кишечника в создаваемых концентрациях способен опосредованно выступать элементом неспецифического антагонизма через инактивацию одного из ключевых факто-

ров персистенции – устойчивости к лизоциму у неиндигенной микробиоты. Очевидно, ацетат – ключевой регулятор персистенции кишечных микросимбионтов через механизм лизоцимрезистентности, участвующий как в дискриминации неиндигенных грамположительных микроорганизмов (листерий) путём блокирования де-N-ацетилирования их пептидогликана, так и в сохранении индигенной грамположительной микробиоты с O-ацетилированием пептидогликана.

Человечество постоянно сталкивается с представителями микробного мира. Когда они нам вредят, вызывая болезни, мы вынуждены защищаться, но в ряде ситуаций нам требуется их содействие. Расширив рамки познания наших помощников – кишечной микробиоты, мы поняли, как грамотно Природа позаботилась о человеке, дав ему свои собственные, индигенные бактерии, которые помогают поддерживать гомеостаз. Именно поэтому здоровый кишечник – показатель здоровья всего организма. Конечно, это открытие не прошло мимо научного сообщества, и микроорганизмы стали использоваться для улучшения работы кишечника.

Занимаясь систематическим изучением симбиотических микроорганизмов кишечника, мы обратили внимание на то обстоятельство, что их персистенция остаётся в тени. Это побудило нас к исследованиям в данном направлении, а также к выявлению природы взаимоотношений бифидобактерий. В то же время понятно, что, длительно пребывая в кишечнике, бактерии персистируют и играют важную роль в работе пищеварительного тракта.

Нам открыт доступ к кладовой полезных микроорганизмов, которые могут укрепить нашу микробиоту. Изучение персистенции индигенных бифидобактерий позволило отбирать штаммы, которые будут включены в состав пробиотических препаратов (регистрационная заявка на патент № 2023109383), разработать способ биосовместимости (патент РФ № 2676910) перспективных штаммов (патенты РФ № 2670054, 2704423, 2726653) для пробиотических целей, которые зарегистрированы в отечественной и международной коллекциях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Li B., Chen D., Lin F. et al. Genomic Island-Mediated Horizontal Transfer of the Erythromycin Resistance Gene erm(X) among Bifidobacteria // Appl. Environ. Microbiol. 2022. V. 88 (10). e0041022.
2. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина, 1999.

3. Бухарин О.В. Персистенция бактериальных патогенов как физиологический феномен // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2008. № 1. С. 6–13.
4. Дворецкий И.Х. Латинско-русский словарь. М.: Русский язык, 1986.
5. Арnaudов Г.Д. Медицинская терминология (на пяти языках). София: Медицина и физкультура, 1979.
6. Бухарин О.В., Гинцбург А.Л., Романова Ю.М., Эль-Регистан Г.И. Механизмы выживания бактерий. М.: Медицина, 2005.
7. Эль-Регистан Г.И., Николаев Ю.А., Мулюкин А.Л. и др. Явление персистенции – формы и механизмы выживаемости популяций // Медицинский алфавит. Эпидемиология и гигиена. 2014. № 2. С. 49–54.
8. Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Симбиотические взаимоотношения человека и микроорганизмов // Физиология человека. 2012. № 1. С. 128–138.
9. Бухарин О.В., Вальшев А.В., Гильмутдинова Ф.Г. и др. Экология микроорганизмов человека / Отв. ред. О.В. Бухарин. Екатеринбург: УрО РАН, 2006.
10. Карташова О.Л., Уткина Т.М. Регуляция персистентных свойств микроорганизмов факторами различной природы // БОНЦ УрО РАН. 2013. № 1. С. 1–11.
11. Вальшев А.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б. и др. Видовая характеристика и факторы персистенции бифидофлоры кишечника в норме и при дисбиозах // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2009. № 2. С. 89–93.
12. Бухарин О.В., Перунова Н.Б., Иванова Е.В. Бифидофлора при ассоциативном симбиозе человека. Екатеринбург: УрО РАН, 2014.
13. Бухарин О.В., Лобакова Е.С., Немцева Н.В., Черкасов С.В. Ассоциативный симбиоз. Екатеринбург: УрО РАН, 2007.
14. Чайникова И.Н., Смолягин А.И., Скачков М.В. и др. Местный иммунитет и микрофлора кишечника при сальмонеллёзном бактерионосительстве и подходы к его санации // Медицинская иммунология. 2008. № 1. С. 35–42.
15. Бухарин О.В., Бондаренко В.М., Малеев В.В. Шигеллы и шигеллёзы / Под ред. А.А. Воробьёва. Екатеринбург: УрО РАН, 2003.
16. Кокряков В.Н. Очерки о врождённом иммунитете. СПб.: Наука, 2006.
17. Zhang X., Jiang A., Yu H. et al. Human Lysozyme Synergistically Enhances Bactericidal Dynamics and Lowers the Resistant Mutant Prevention Concentration for Metronidazole to *Helicobacter pylori* by Increasing Cell Permeability // Molecules. 2016. V. 21 (11). 1435.
18. Ragland S.A., Criss A.K. From bacterial killing to immune modulation: Recent insights into the functions of lysozyme // PLoS Pathog. 2017. V. 13 (9). e1006512.
19. Oda H., Wakabayashi H., Yamauchi K., Abe F. Lactoferrin and bifidobacteria // Biometals. 2014. V. 27 (5). P. 915–922.
20. Иванова Е.В. Бифидобактерии и система “лактоферрин – антилактоферриновая активность” при зубиозе и дисбиозе толстого кишечника человека // Российский иммунологический журнал. 2015. № 2. С. 693–695.
21. Wells J.M., Brummer R.J., Derrien M. et al. Homeostasis of the Gut Barrier and Potential Biomarkers // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2017. V. 312. P. 171–193.
22. Kant R., Palva A., von Ossowski I. An *in silico* pan-genomic probe for the molecular traits behind *Lactobacillus ruminis* gut autochthony // PLoS ONE. 2017. V. 12 (4). e0175541.
23. Rodriguez C.I., Martiny J.B.H. Evolutionary relationships among bifidobacteria and their hosts and environments // BMC Genomics. 2020. V. 21 (1). 26.
24. Milani C., Mangifesta M., Mancabelli L. et al. The Sortase-Dependent Fimbriome of the Genus *Bifidobacterium*: Extracellular Structures with Potential to Modulate Microbe-Host Dialogue // Appl. Environ. Microbiol. 2017. V. 83 (19). e01295-17.
25. Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Микросимбиоз. Екатеринбург: УрО РАН, 2014.
26. Sakurai T., Hashikura N., Minami J. et al. Tolerance mechanisms of human-residential bifidobacteria against lysozyme // Anaerobe. 2017. V. 47. P. 104–110.
27. Minami J., Odamaki T., Hashikura N. et al. Lysozyme in breast milk is a selection factor for bifidobacterial colonisation in the infant intestine // Benef. Microbes. 2016. V. 7 (1). P. 53–60.
28. Kaus G.M., Snyder L.F., Müh U. et al. Lysozyme Resistance in *Clostridioides difficile* Is Dependent on Two Peptidoglycan Deacetylases // J. Bacteriol. 2020. V. 202 (22). e00421-20.
29. Бухарин О.В., Андриющенко С.В., Перунова Н.Б., Иванова Е.В. Механизм персистенции индигенных бифидобактерий под действием ацетата в кишечном биотопе человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2021. № 3. С. 276–282.
30. Li Y., Jin L., Chen T. et al. The Effects of Secretory IgA in the Mucosal Immune System // Biomed. Res. Int. 2020. V. 2020. 2032057.
31. Бухарин О.В., Андриющенко С.В., Перунова Н.Б., Иванова Е.В. Экологическая детерминация индигенных бифидобактерий кишечника человека // Вестник РАН. 2022. № 9. С. 57–64; Bukharin O.V., Andryushchenko S.V., Perunova N.B., Ivanova E.V. Environmental Determination of Indigenous Bifidobacteria of the Human Intestine // Herald of the Russian Academy of Sciences. 2022. № 5. P. 629–635.
32. Бухарин О.В., Перунова Н.Б., Чайникова И.Н. и др. Ускоренный метод определения “свой-чужой” микроорганизмов в реакции агглютинации // Инфекция и иммунитет. 2020. № 4. С. 792–796.
33. Бухарин О.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б., Никуфоров И.А. Функциональные группы бифидофлоры кишечной микробиоты в ассоциативном симбиозе человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2018. № 1. С. 3–9.
34. Бухарин О.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б., Чайникова И.Н. Роль бифидобактерий в формировании иммунного гомеостаза человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2015. № 67. С. 98–104.