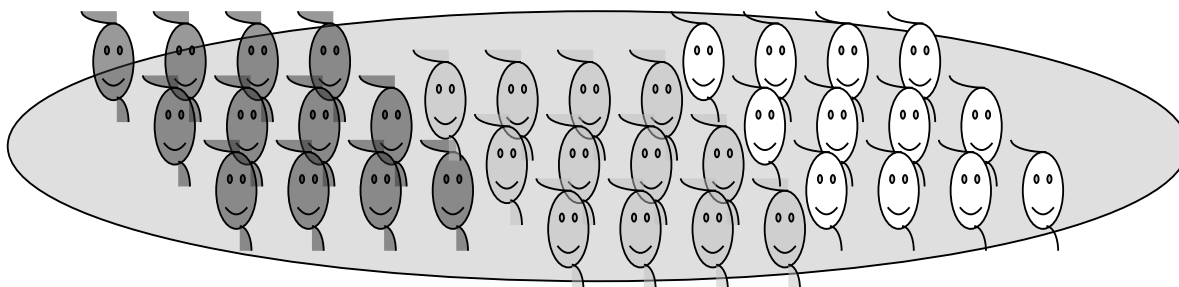


Межфакультетский курс лекций
Коммуникация у микроорганизмов: значение
для физического и психического здоровья
человека

Профессор А.В. Олескин
Кафедра общей экологии и гидробиологии,
Биологический факультет МГУ
e-mail aoleskin@Rambler.ru



ЛИТЕРАТУРА

Олескин А. В., Шендеров Б. А., Роговский В. С. СОЦИАЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ И ВЗАИМООТНОШЕНИЯ В СИСТЕМЕ МИКРОБИОТА-ХОЗЯИН: РОЛЬ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ. — Москва: Изд-во МГУ, 2020. — 286 с.

Дополнительные источники:

1. А. В. Олескин, Е. В. Сорокина, Г. А. Шиловский. Взаимодействие катехоламинов с микроорганизмами, нейронами и с клетками иммунной системы. Успехи современной биологии, 141(1):1, 2021.
2. А. В. Олескин, Б. А. Шендеров. Пробиотики, психобиотики и метабиотики: проблемы и перспективы. Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация, (2):18–28, 2020.

3. Oleskin, A. V., & Shenderov, B. A. (2020). Microbial Communication and Microbiota-Host Interactivity: Neurophysiological, Biotechnological, and Biopolitical Implications. New York: Nova Science Publishers.

4. Oleskin, A. V., & Shenderov, B. A. (2019). Probiotics and psychobiotics: the role of microbial neurochemicals. Probiotics & Antimicrobial Proteins, 11(4), 1071–1085.
5. Oleskin, A. V., Shenderov, B. A., & Rogovsky, V. S. (2017). Role of neurochemicals in the interaction between the microbiota and the immune and the nervous system of the host organism. Probiotics & Antimicrobial Proteins. 9(3). 215-234.

ЛЕКЦИЯ 2.

СОЦИАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ. БИОПЛЕНКИ

**Из книги (Олескин А. В., Шендеров Б. А., Роговский В. С.
СОЦИАЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ И ВЗАИМООТНОШЕНИЯ В
СИСТЕМЕ МИКРОБИОТА-ХОЗЯИН: РОЛЬ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ. —
Москва: Изд-во МГУ, 2020):
Вступление, Глава первая, раздел 1.1 и 1.3 (особенно 1.3.9)**

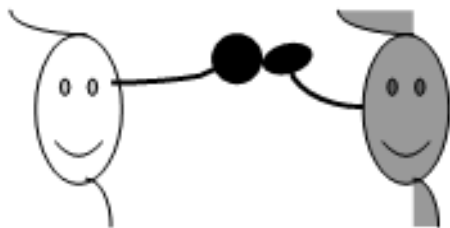
Основные направления исследований в рамках ПКИН

- Гетерогенность микробных популяций и полиморфизм микробных клеток в них
- Колонии и биопленки
- **Социальное поведение микроорганизмов**
- Химические факторы коммуникации
- Взаимоотношения между микробными популяциями и микроорганизмами в экосистемах

Социальное поведение часто классифицируется на следующие два типа (каждый тип подразделяется на ряд форм поведения):

а) Агонистическое поведение. Этот тип поведения связан с конфликтом между живыми организмами. Важно отметить, что как и любые другие существа, микробы сталкиваются с конфликтами;

(б) Лояльное поведение, включающее совокупность дружественных взаимодействий между живыми существами, которые объединяют их группы, семьи, колонии или другие биосоциальные системы



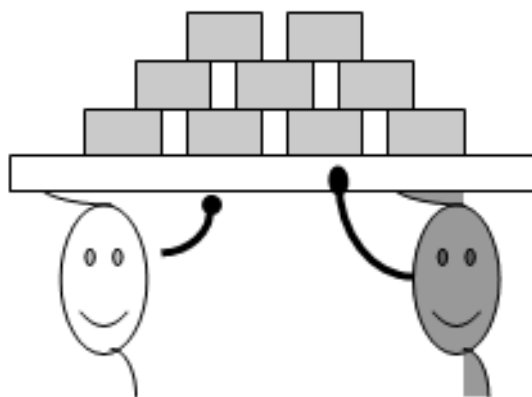
Агрессия



Изоляция



Аффилиация



Кооперация

Агрессия. Классическое определение, данное Нико Тинбергеном (1968) в отношении животных, - это “приближение к противнику и нанесение ему ущерба или, по крайней мере, создание стимулов, которые заставляют его подчиниться.” Аналогичное поведение в микробной сфере включает, например, производство антибиотиков (включая бактериоцины), токсинов или поверхностно-активных веществ для уничтожения или подавления конкурентов. Цианобактерии рода *Anacystis* подавляют рост зеленых водорослей *Scenedesmus*, *Chlamydomonas* и *Haematococcus* (Остроумов, 1986).

Несомненно, многие антибиотики являются не только “химическим оружием”, поскольку они также выполняют роль важных регуляторов развития в культуре продуцентов антибиотиков. Их участие в агрессивном поведении микробов, тем не менее, согласуется с данными о том, что антибиотики действительно высвобождаются в ответ на присутствие конкурента. Особый интерес в этом контексте представляет тот факт, что гриб *Trichotecium roseus* продуцирует в 1,7 раза больше трихотецина (антибиотика), если его культура дополняется культурой конкурента (*Penicillium chrysogenum*, Egorov & Landau, 1982).

Изоляция (избегание). В животном мире (и в человеческом обществе) избегающее поведение часто проявляется в обозначении границ собственной территории. Изоляция в микробном мире основана на специфическом для штамма или клона взаимодействии между микробными клетками. Как аналог поведения, направленного на избегание «чужаков» у различных видов животных (включая человека), изоляция способствует пространственному структурированию и сегрегации микробных биосоциальных систем.



Избегающее поведение проявляется у различных видов микробов, включая *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *Vibrio alginolyticus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida*, *Rhodospirillum rubrum* и *Rhodobacter sphaeroides*; оно проявляется, например, в феномене “разделения колоний”: колонии микробов, живущие на одной чашки Петри, обычно не сливаются. Более того, расширение одной микробной колонии на поверхности агара может привести к образованию выступов, которые отделяются от исходной колонии и далее не сливаются с ней.

Аффилиация определяется как форма социального поведения, включающая в себя стремление животного приблизиться и оставаться рядом с товарищами по виду (Dewsbury, 1978), особенно принадлежащими к одной семье или социальной группе. Животные участвуют в приветствии, игре и груминге.

Когезия (сцепление) клеток одного клона и одной ткани в многоклеточном организме является аналогом аффилиации животных. Если культивируемые клетки почек и печени смешать, они, как правило, образуют отдельные агрегаты, “подобное притягивает подобное”.

Колонии многих видов бактерий содержат клеточные агрегаты (микроколонии).

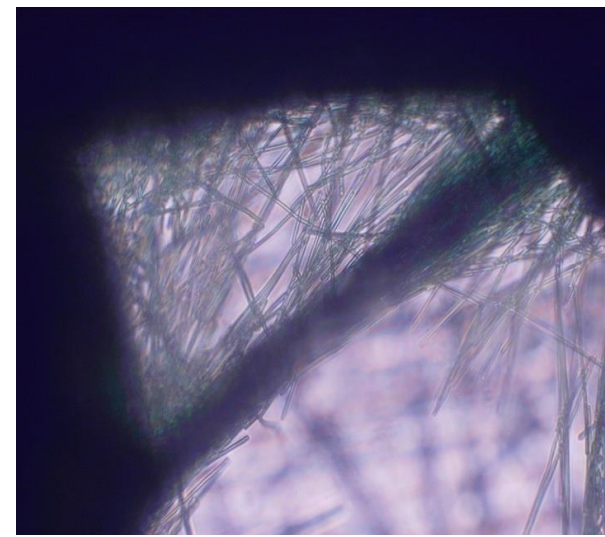
Амебоидные вегетативные клетки миксомицета (слизевика) *Dictyostelium discoideum* питаются бактериями. После того, как все доступные бактерии были съедены, голодающие клетки объединяются, образуя подвижный псевдоплазмодий (“слизень”), а затем плодовое тело со спорами. Агрегация клеток зависит от химических регуляторов, таких как циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) и хлорированные гексафеноны. Около 20% клеток подвергаются **программируемой клеточной смерти (апоптозу), и мертвые клетки составляют стебель грибовидного плодового тела; это считается примером альтруистического поведения микроорганизмов.**



Под влиянием сигнальной молекулы сAMP одиночные амебы *Dictyostelium discoideum* образуют многоклеточное тело (псевдоплазмодий), которое превращается в грибовидное плодовое тело с ножкой и шляпкой. Превращение многоклеточного тела в “гриб” регулируется, помимо сAMP, еще одной сигнальной молекулой, называемой ДМГ, или 1-(3,5-дихлор-2,6-гидрокси-4-метоксифенил)-1-гексафеноном. **Программируемая клеточная смерть (ПКС)** является предпосылкой для образования “грибной ножки», состоящей из мертвых клеток.

Кооперация подразумевает взаимодействие между двумя или более индивидами или группами с целью решения проблемы или выполнения задачи. Альтернативный, хотя и в принципе аналогичный, подход к определению кооперации предполагает рассмотрение его с точки зрения целой группы (сообщества). В этих терминах кооператоры противопоставляются обманщикам (free riders): кооператоры вносят вклад в коллективное благо, а обманщики эксплуатируют его. Аналогичные явления наблюдаются и на клеточном уровне. Важное значение имеет поведение иммунных клеток (макрофагов и лимфоцитов) внутри животного организма. Макрофаги связывают проникший в организм агент и представляют его Т-лимфоцитам. Активированные Т - лимфоциты взаимодействуют с В - лимфоцитами, которые вырабатывают антитела, нейтрализующие агент.

Кооперация широко распространена среди свободноживущих прокариотических и эукариотических организмов. Подобно многоклеточным организмам, микроорганизмы кооперируются, чтобы построить укрытие, добыть пищу, размножиться и распространиться на доступной территории. Кооперация характерна для миксобактерий, которые координированно перемещаются по поверхности питательной среды и преследуют добычу, то есть другие бактерии, которыми они питаются. Нитчатые цианобактерии образуют ассоциации и демонстрируют сложное поведение, направленное на обеспечение выживания и целостности всей ассоциации (Сумина, 2006). Если **биопленка цианобактерий повреждена (разорвана), она имеет тенденцию к регенерации: нити активно движутся к разрыву и закрывают его. Это показано на рисунке.**



Биопленки – “это покрытые матриксом микробные структуры, которые придерживаются биологических или небиологических поверхностях” (Hall-Stoodley et al., 2004, P. 95), которые в основном образуются на границах раздела фаз. Микробные биопленки структурно неоднородны, даже если они содержат клетки одного бактериального вида, потому что они включают клетки с различными фенотипами. Однако биопленки могут включать в себя представителей различных видов, родов и даже царств или империй жизни.

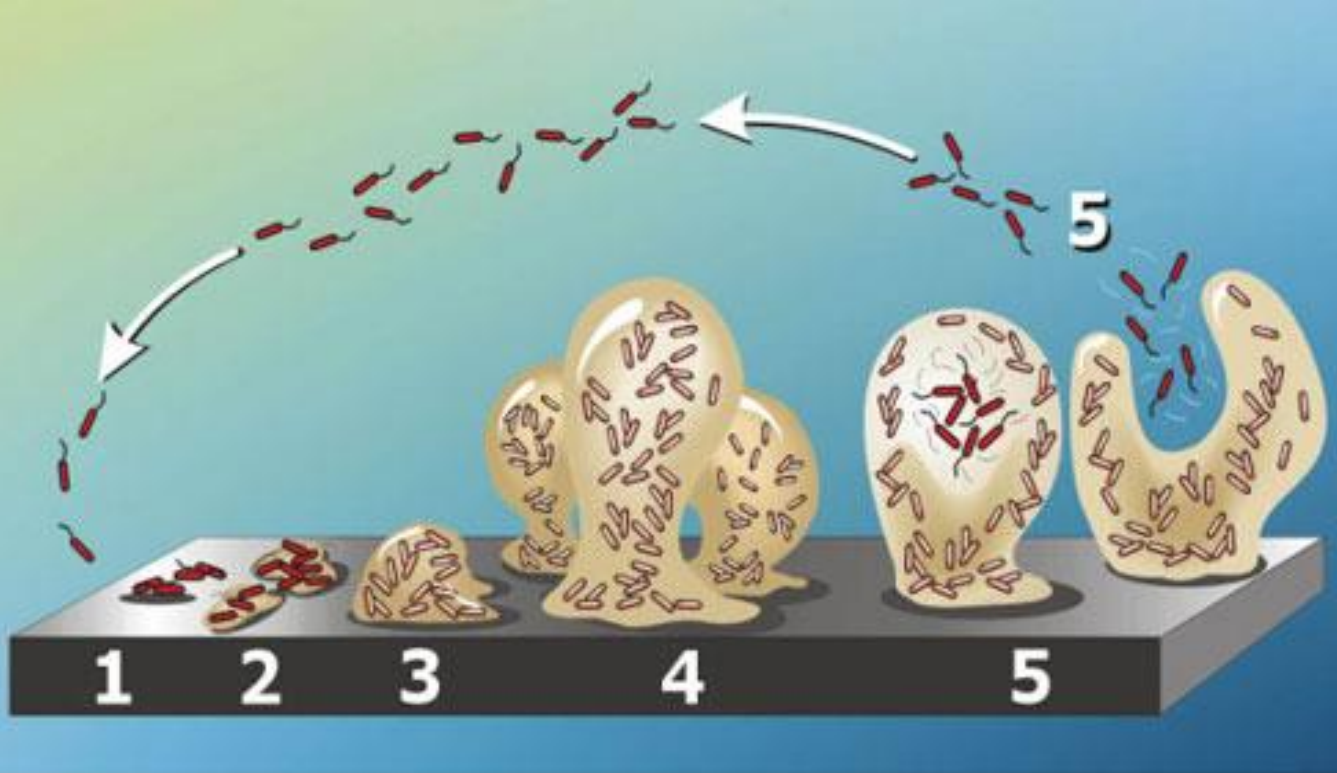
Например, пленка метаногенной ассоциации состоит из клеток эубактерий и архей. Помимо прокариот, биопленки могут состоять из грибов или простейших.

Многие биопленки характеризуются функциональной дифференцировкой типов клеток, которые они содержат, и согласованным поведением, которое позволяет биопленке развиваться как единое когерентное целое со своим жизненным циклом (онтогенезом); подобно многоклеточному организму, биопленка может размножаться и регенерировать после травмы.

Матрикс – межклеточное вещество

Микробные биопленки проявляют следующие типичные особенности:

- **Пространственная организация**, то есть образование двух- и трехмерных структур в биопленке, примером которой являются локальные клеточные агрегаты (микроколонии), полости (поры и каналы), везикулы липидной мембраны, внешняя оболочка биопленки, включая липидный бислой, покрывающий биопленку, и функциональные “органы” биопленки, такие как плодовые тела с созревающими спорами (у миксобактерий) или их аналоги (у бацилл).
- **Метаболическая организация**, предполагающая существование направленного потока метаболитов в биопленке.
- **Межклеточный биополимерный матрикс**, отвечающий за поддержание структурной целостности биопленки, защиту микробных клеток от вредных факторов окружающей среды, маскировку поверхностных антигенов клеток для предотвращения их распознавания иммунными клетками хозяина и создание гидрофильной среды для содействия распространению метаболитов и сигнальных молекул внутри биопленки.
- **Прилипание (адгезия) к границе раздела фаз**, таких как твердое тело/жидкость, твердое тело/воздух, жидкость/воздух.



Развитие биопленки:

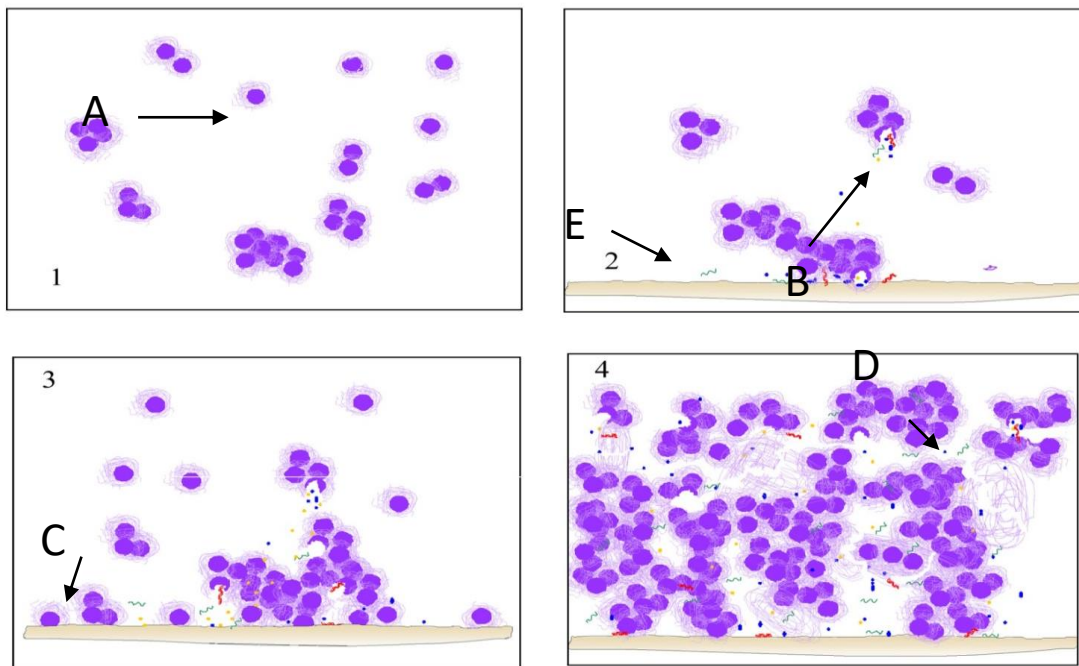
1, первичная колонизация;

2, вторичная колонизация и распространение;

3 и 4 , образование трехмерной структуры;

5, рассеивание.

Формируется типичная структура биопленки. Первоначально происходит **временное прикрепление** микробных клеток (первичных колонизаторов), что обусловлено их взаимодействием с субстратом с участием жгутиков, пилей, фимбрий и белков наружной мембраны (у грамотрицательных бактерий). За этой стадией следует **постоянное прикрепление** микробных клеток к поверхности. Например, подвижные бактериальные клетки сначала прикрепляются одним из своих полюсов посредством жгутиков к субстрату; после чего одна из их сторон контактирует с поверхностью и закрепляется там. Впоследствии микробные клетки **распространяются** по колонизированному ими субстрату. Это сопровождается образованием локальных клеточных агрегатов, мелких микроколоний и внутриклеточного матрикса с характерными полостями и покровом.



Этапы формирования биопленки *Staphylococcus epidermidis* 33 в полости рта человека (схема). На рисунке показаны последовательные этапы перехода от планктонного образа жизни (1) через прикрепление первичных колонизаторов (2) и внеклеточный матричный синтез (2, 3) к образованию трехмерных столбчатых и грибовидных структур (4).

A – клетки *Staph. epidermidis*;

B - матричные элементы;

C - внеклеточная ДНК; **D** - внеклеточная РНК;

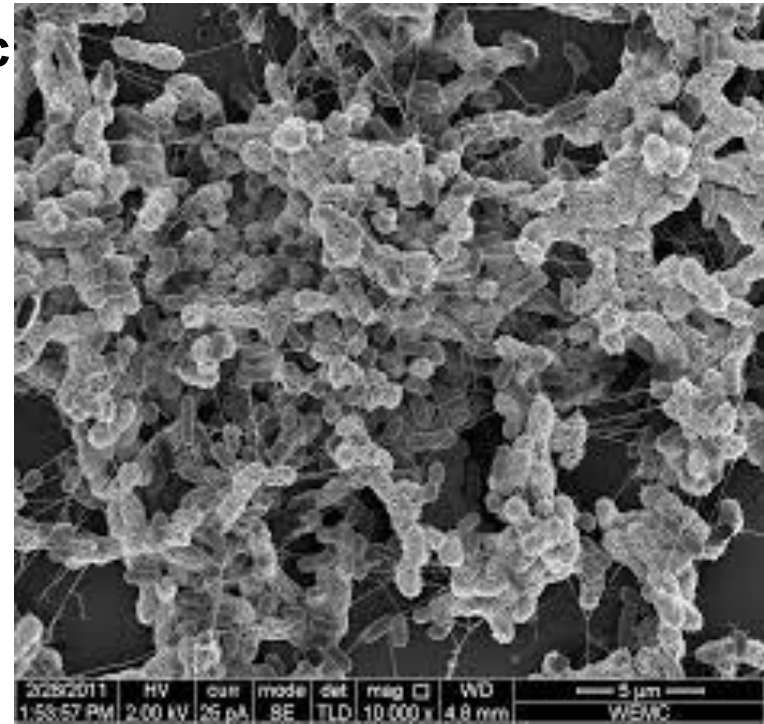
E - белки и пептиды, включая ферменты и ауто-индукторы.

Развитие большинства биопленок включает стадию, характеризующуюся **прикреплением новых микробных клеток (вторичных колонизаторов)** к закрепленным на субстрате клеткам, что приводит к образованию многослойных биопленок. В конце концов образуется одно - или многовидовая биопленка с развитой структурой, которая может иметь пластинчатую структуру или содержать грибовидные или столбовидные образования.

Заключительная стадия жизненного цикла биопленки включает ее **рассредоточение**; ее микробные клетки возвращаются к планктонному способу существования. Это связано с нарушением прикрепления клеток к субстрату, которое вызвано синтезом поверхностно-активных веществ и ферментов, разрушающих матрицу, включая ее компоненты (адгезины), непосредственно ответственные за прикрепление клеток к субстрату и друг к другу. Например, обитающая в полости рта потенциально патогенная бактерия *Actinobacillus actinomycetemcomitans* продуцирует фермент, который разрушает адгезин PNAG (Itoh et al., 2005).

На процесс формирования биопленки оказывает влияние комплекс факторов внешней среды, а также регуляторные агенты, формируемые микробными клетками как таковыми.

Условия культивирования (**pH, температура, концентрация питательного субстрата, pO_2 , осмолярность, степень гидрофильности/гидрофобности поверхности, сила сдвига и т.д.)** оказывают свое влияние на микробные биопленки.

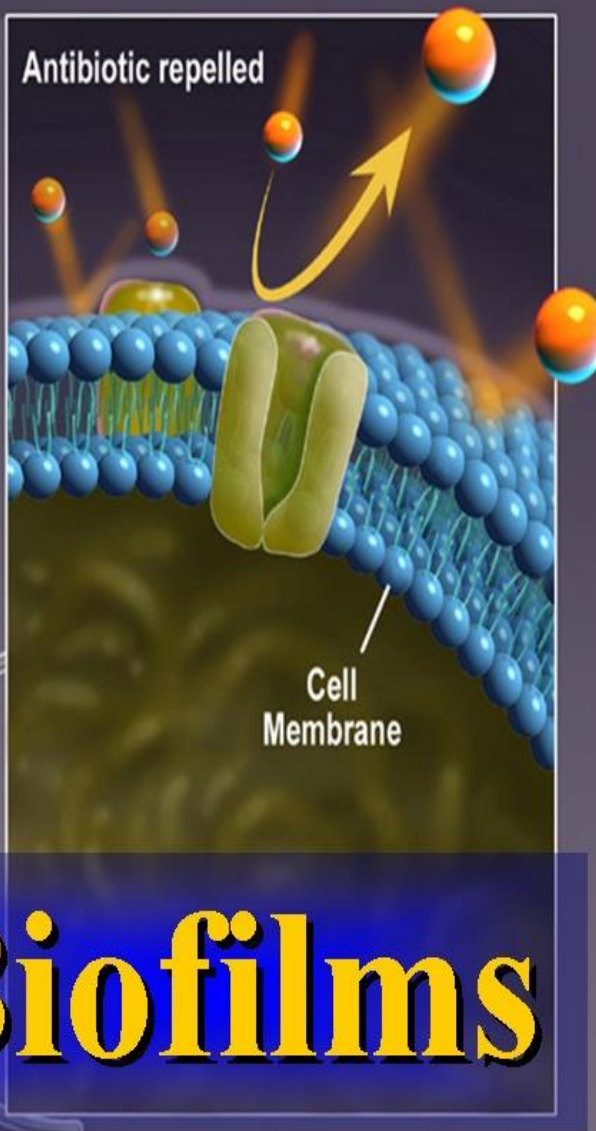


Например, ограничение питательных веществ приводит к усиленному образованию биопленки *Salmonella enterica* var. *Typhimurium*. Напротив, развитие биопленок *Vibrio cholerae* усиливается в богатой питательными веществами среде.

Образованию биопленки способствуют факторы, вызывающие стресс у микроорганизмов. Примером этого может служить тот факт, что добавление субингибирующих концентраций антибиотиков, таких как тобрамицин, индуцирует образование биопленки у патогенных штаммов *E. coli* (Hoffman et al., 2005).

Поэтому образование биопленки можно рассматривать как **реакцию на стресс.**

Cellular Resistance



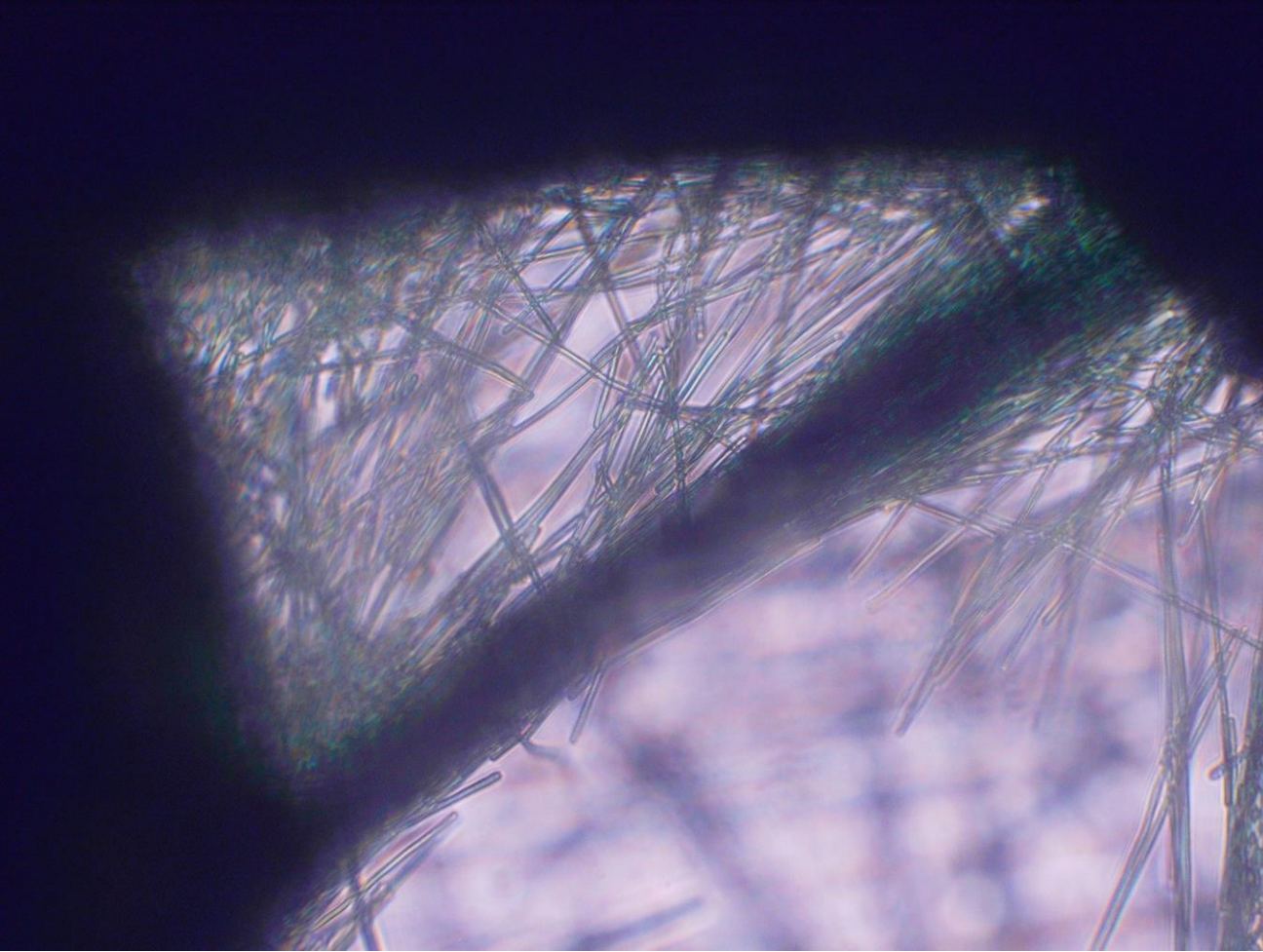
Biofilms

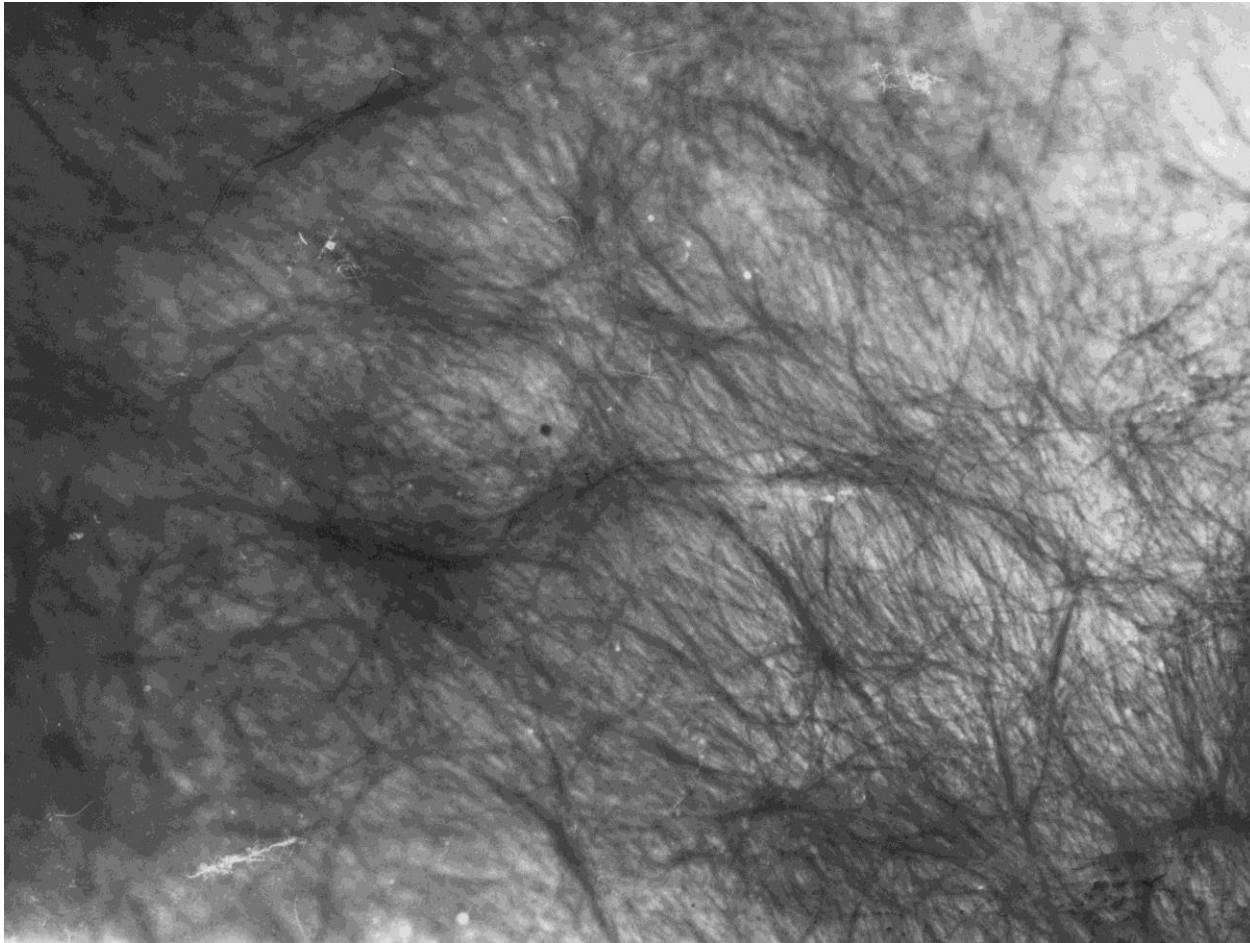
ЗАЧЕМ МИКРООРГАНИЗМЫ ОБРАЗУЮТ БИОПЛЕНКИ

(Аналогичный вопрос: зачем люди живут в городах):

- **Освоение богатой питательными веществами среду**, колонизация благоприятной экологической ниши. Примером этого является образование биопленки в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ).
- **Использование преимуществ социального образа жизни**, включая “распределение труда” в отношении метаболической деятельности. Преимущества биопленок как социальных систем включают защиту от хищничества простейших и повышенную способность передавать генетическую информацию.
- **Биопленки как стандартный способ существования**, как нормальный образ жизни большинства микроорганизмов. Существование микробных клеток в суспензиях (планктонный образ жизни) представляет собой, в этих терминах, временную адаптацию, направленную на поиск новой подходящей среды обитания для образования биопленки.

Независимо от стимула, развитие и разрушение биопленки контролируется комплексом внутриклеточных и межклеточных регуляторов.





Биопленка цианобактерии *Oscillatoria terebriformis* регенерируется после разрыва ее иглой и нанесения порошка CaCO_3 на ее поверхность. Нити *O. terebriformis* растут поперек “раны” на поверхности биопленки и постепенно обрастают слоем CaCO_3 .

Фотографии - подарок от доктора Евгении Львовны Суминой.

Биопленки имеют первостепенное практическое значение. Большое количество биотехнологических процессов осуществляется с помощью микробных биопленок, примером чего может служить традиционная французская технология производства уксуса с биопленками *Acetomonas*, выращенными на древесной щепе. Густая многовидовая биопленка, содержащая бактериальные и дрожжевые клетки, является производителем полезного напитка с лечебными свойствами. Это и есть чайный гриб (комбуча).

Биопленки находят применение в проектах биоремедиации, включая удаление разливов нефти в океане и деградацию загрязнителей почвы. Биопленки обрастают корни растений и покрывают слизистую оболочку кишечника человека/животного; этот “экстракорпоральный орган” выполняет ряд важных функций.

К сожалению, **биопленки патогенных микроорганизмов представляют серьезную угрозу**. Если бактерии успешно образуют биопленки внутри нашего организма, они могут стать неуязвимыми для антибиотиков и вызвать хроническую инфекцию, например, в хирургической ране, в легких или в мочевыводящих путях.

“Образование биопленки является важным аспектом многих, если не большинства, бактериальных заболеваний, включая нативный клапанный эндокардит, остеомиелит, кариес зубов, инфекции среднего уха... и хронические инфекции легких у пациентов с муковисцидозом” (Jefferson, 2004, p.63). Биопленки обрастают катетеры, контактные линзы, суставные и внутриглазные имплантаты. Они вызывают гингивит, бактериальный вагиноз и другие урогенитальные инфекции.

В настоящее время практически используются следующие стратегии борьбы с биопленками:

- **Предотвращение прикрепления биопленки к поверхностям** путем покрытия их отталкивающими материалами на примере ионсодержащих веществ серебра.
- **Разрушение биополимерсодержащей основы (матрикса) биопленки**, в том числе ДНК, которая может быть разрушена с помощью ДНКаз.
- **Введение антимикробных препаратов или бактериофагов, содержащих везикулы липидной мембраны (липосомы), в матрикс биопленки.**
- **Использование антител против патогенных микроорганизмов или их токсинов.**
- **Использование сигнальных молекул**, таких как оксид азота, которые стимулируют рассеивание биопленки.
- **Применение поверхностно-активных веществ**,
 - на примере сурфактина, который разрушает биопленки потенциальных патогенов (*E. coli*, *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis* и др.), растущих, например, на виниловых катетерах, введенных в мочевой пузырь.