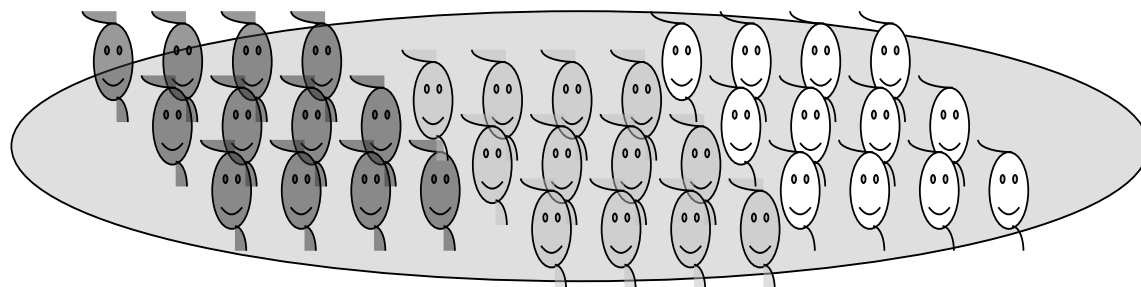


Межфакультетский курс лекций
Коммуникация у микроорганизмов: значение
для физического и психического здоровья
человека

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 6.

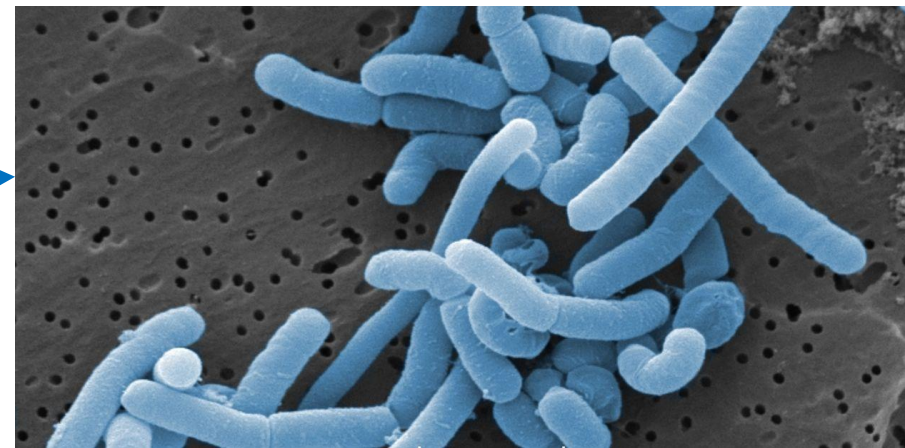
ПРОБИОТИКИ (ПРОДОЛЖЕНИЕ) И ПСИХОБИОТИКИ. НЕЙРОМЕДИАТОРЫ И МИКРОБИОТА.

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):
Глава вторая, разделы 2.6, глава 3, раздел 3.1

ПРОБИОТИКИ И ПРЕБИОТИКИ

Для восстановления и улучшения микробной экологии человека используются различные лекарственные препараты, биологически активные добавки к пище, продукты функционального питания. Наиболее популярны из них те, которые содержат специально подобранные штаммы лактобацилл, бифидобактерий и других живых микроорганизмов (пробиотики), а также растворимые пищевые волокна и другие органические продукты, стимулирующие их рост (пребиотики).

Типичными представителями пребиотиков являются «неперевариваемые олигосахариды, разлагаемые в кишечнике полезными микробами, образующими жирные кислоты с короткой цепью и другие органические кислоты» (Boddu, Divakar, 2018). Оптимизация диеты, например, обогащение ее такими пребиотиками как фруктаны, может способствовать распространению в организме полезных бактерий, в частности рода *Bifidobacterium* (Norris et al., 2013; Шендеров, 2014).



Термин **"пробиотик"** происходит от греческих слов, которые означает "для жизни". **Пробиотики** в настоящее время определяются как "живые микроорганизмы, которые при употреблении в достаточном количестве приносят пользу здоровью хозяина". Общие описания пробиотиков включают "дружественные", "полезные" или "здоровые" бактерии.

Пробиотические бактерии обычно, хотя и не исключительно, являются молочнокислыми бактериями и включают *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. infantis* и *S. thermophilus*.

Пробиотические бактерии используются в производстве йогуртов, различных кисломолочных продуктов и пищевых добавок.

ПРИМЕРЫ ПРОБИОТИКОВ



Перечень пробиотических средств, изготавливаемых на основе живых микроорганизмов, используемых для восстановления микробной экологии человека включает в себя и другие термины (Шендеров, 2001; 2014; Шендеров и др., 2017):

1) **симбиотики** – пробиотики из двух или более штаммов пробиотических микроорганизмов с взаимодополняющих (синергидным) действием; например коммерческий препарат бификол, содержащий штаммы *Bifidobacterium bifidum* + *Escherichia coli*;

2) **синбиотики** – комплексные продукты, содержащие пробиотические штаммы бактерий и стимулирующие их рост и развитие пребиотические субстанции; например, препарат биоаминолакт, содержащий бифидобактерии, *Enterococcus faecii* L-3 и растительный экстракт

3) **комбиотики** – синбиотики, дополнительно обогащённые функциональными пищевыми добавками; например, витаминно-минеральными смесями, фенолсодержащими соединениями;

4) **метабиотики** – «биологически активные соединения..., связанные с метаболической активностью симбиотических (пробиотических) микроорганизмов, потенциально способные... участвовать практически в любых физиологических процессах» (Шендеров и др., 2017. С.27).

В литературе описаны следующие оздоровительные функции пробиотиков:

1. Они помогают организму человека стабилизировать микробиоту желудочно-кишечного тракта и оптимизировать ее качественный и количественный состав. Они также подавляют вредные микроорганизмы, потому что содержат антимикробные факторы.
2. Низкомолекулярные соединения, содержащиеся в пробиотиках, нейтрализуют токсины и другие метаболиты, вредные для организма хозяина.
3. Пробиотики снабжают организм хозяина питательными веществами, антиоксидантами, факторами роста, ферментами, органическими кислотами, полифенолами, витаминами, желчными кислотами, газообразными веществами и другими биологически активными веществами.
4. Пробиотики проявляют антиканцерогенную активность, о чем свидетельствует сильное противоопухолевое действие штамма *Lactobacillus acidophilus* 36YL на четыре тестируемые линии раковых клеток (AGS, HeLa, MCF-7 и HT-29), в которых штамм индуцирует гибель клеток.
5. Пробиотики оказывают противоаллергическое, противодиабетическое и противовоспалительное действие. Пробиотический штамм *Lactobacillus plantarum* 06CC2 облегчал аллергические симптомы у мышей, получавших аллерген овальбумин.
6. Пробиотики благотворно влияют на обмен веществ, и их можно использовать для лечения ожирения (метаболического синдрома).
7. Полезные микробные агенты потенциально могут быть использованы для остановки старения; об этом уже говорил Илья Мечников в своей знаменитой работе "Этюды человеческой природы: эссе по философии оптимизма".
8. Эти агенты способствуют росту кровеносных сосудов (ангиогенезу) в кишечной ткани, продуцируя эндотелиальный фактор роста сосудов.

Пробиотики также:

- регулируют активность автономной лимфоидной ткани кишечника (gut autonomous lymphoid tissue (GALT),
- помогают регулировать баланс между про- и противовоспалительными цитокинами,
- расщепляют пищевые макромолекулы,
- уменьшают проницаемость кишечной стенки (укрепляют защитный барьер),
- ингибируют секрецию иммуноглобулинов IgA и поэтому снижают воспалительные реакции,
- активируют Т-регуляторные лимфоциты (Трег), которые подавляют воспаление

Однако пробиотики вызывают свои собственные проблемы...

Есть критические замечания в адрес многих пробиотиков:

- Как могут пробиотики, вводимые в организм с пищей в количестве нескольких грамм, влиять на состояние кишечной микробиоты, суммарный вес которой, как уже указывалось, достигает 1-2 кг?
- Не будут ли введенные в организм бактерии (или иные микроорганизмы) вызывать иммунный ответ и аллергическую реакцию?
- Продукты пробиотических микроорганизмов (в том числе токсического действия, например, токсичные биогенные амины или радикальные формы кислорода) и сами их клетки из ЖКТ часто транслоцируются в различные органы и системы организма-хозяина. Такая транслокация может рассматриваться как положительный фактор, способствующий системному эффекту пробиотиков, но в то же время создается риск неожиданной трансформации пробиотических штаммов в патогенные бактерии.
- Описаны случаи эндокардита, пневмонии, кишечных абсцессов, менингита, урологических инфекций и сепсиса, вызванных пробиотическими лактобактериями и бифидобактериями у людей с дефектами иммунной системы или на фоне применения антибиотиков (Shenderov, 2011; Шендеров и др., 2017).

ПСИХОБИОТИКИ

Пробиотики включают в себя подгруппу, которая обозначается как **психобиотики**, то есть живые микроорганизмы, которые при введении в достаточном количестве **приносят пользу здоровью пациентов с психическими проблемами**. Существует все больше доказательств того, что пробиотики могут значительно влиять на мозг и, следовательно, влиять на поведение, настроение и когнитивные способности как в экспериментальных, так и в клинических условиях.

Введение психобиотических штаммов, например вида *Lactobacillus casei*, пациентам с **синдромом хронической усталости** делало их менее тревожными и напряженными. Под влиянием штамма *Lact. casei* Shirota микробиота желудочно-кишечного тракта обогатилась лактобактериями и бифидобактериями.

Помимо снятия депрессии и тревоги, психобиотики и содержащие их молочные продукты улучшают настроение и когнитивные способности. Например, психобиотический, снимающий депрессию штамм *Lact. rhamnosus* JB-1 способствовал запоминанию и обучению (Lyte, 2013b).

Коктейль из *Lact. acidophilus*, *Lact. fermentum* и *B. animalis* подвид *lactis* улучшал когнитивные способности и электроэнцефалографические данные пациентов, страдающих диабетом (Parashar & Udayabana, 2016).

У здоровых добровольцев введение комбинации *Lact. helveticus* B0052 и *B. longum* R0175 ослабляет стресс, вызванный психологическими факторами (Kerry et al., 2018).

У человека применение комбинаций пробиотиков уменьшает тревожность и облегчает депрессию (Foster et al., 2016). Прием препаратов пробиотиков/психобиотиков (например, вида *Lactobacillus casei*) больными с синдромом хронической усталости и с **синдромом раздражённой толстой кишки (IBS)** снижало у них тревожность, ослабляло симптомы стресса. У больных с синдромом хронической усталости, кроме ослабления тревожности, наблюдали обогащение микробиоты ЖКТ лактобациллами и бифидобактериями под влиянием пробиотического штамма *L. casei* Shirota (Rao et al., 2009).

Психобиотик вида *Bifidobacterium infantis* облегчал болевые ощущения у больных IBS, при этом у них нормализовались сывороточные концентрации провоспалительных цитокинов (Bercik et al., 2012). Психобиотическая комбинация штаммов *Lactobacillus helveticus* и *Bifidobacterium longum* смягчала симптомы депрессии в период после инфаркта миокарда (Parabashar, Udayabanu, 2016).

Потребление психобиотиков также **ослабляло чувство печали и агрессивность**, по опросам испытуемых.

Аналогичные результаты получены при четырехнедельном ежедневным употреблении комбинации пробиотических штаммов (*Bifidobacterium bifidum* W23, *B. lactis* W52, *Lactobacillus acidophilus* W37, *L. brevis* W63, *L. casei* W56, *L.salivarius* W24, *Lactococcus lactis* W19 и W58), после которого испытуемые, по данным анкетирования, в меньшей мере, по сравнению с контрольной группой (получавшей плацебо) проявляли **агрессивность, руминацию** (длительные тягостные размышления) и другие **негативные когнитивные реакции** в ответ на неприятные психологические стимулы.

Трехнедельное применение молочного продукта с пробиотиком *L. casei* Shirota улучшало настроение пациентов, ранее демонстрировавших симптомы **депрессии**.

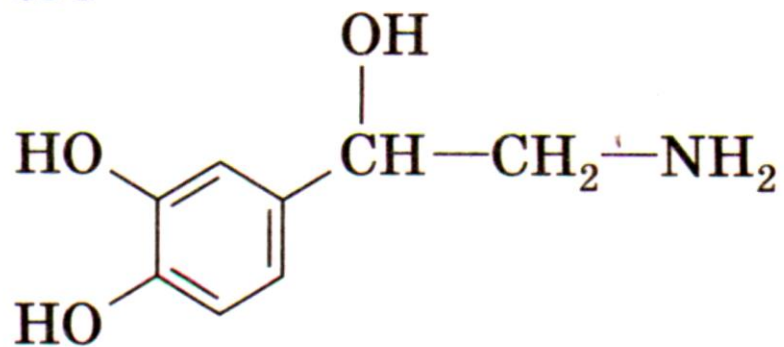
Нейрохимические вещества (нейротрансмиттеры, нейромедиаторы)

включают несколько групп веществ, таких как:

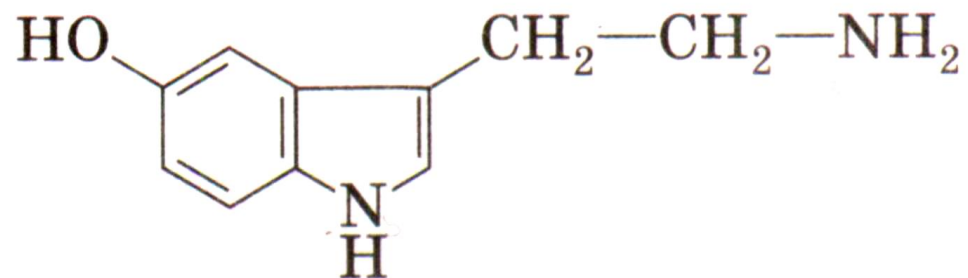
- i. биогенные амины, включающие катехоламины (дофамин, норадреналин и адреналин), серотонин, гистамин и т. д.;**
- ii. аминокислоты, такие как аспарагиновая, глутаминовая и γ-аминомасляная кислоты, глицин и β-аланин.;**
- iii. пептиды, включая эндорфины, энкефалины, динарфины и вещество Р;**
- iv. газообразные нейротрансмиттеры: оксид азота, монооксид углерода и сероводород;**
- v. пурины: АМФ, АТФ и др.**

Мы будем обсуждать только те нейрохимические вещества, которые были изучены в исследованиях с микробными системами (в частности, биопленками).

Дофамин



Норадреналин



Серотонин

Биологическая активность дофамина обусловлена его связыванием с D-рецепторами. Они подразделяются на пять типов (D_{1-5}). Все D - рецепторы связаны с G-белками. Рецепторы активируют (рецепторы D_1 и D_5) или, наоборот, ингибируют (рецепторы D_{2-4}) фермент аденилатциклазу, тем самым повышая или понижая уровень внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Недавно обнаруженный следовый амин-ассоциированный рецептор 1 (TAAR1) также влияет на внутриклеточную активность аденилатциклазы.

Как нейромедиатор ЦНС, дофамин вырабатывается нейронами нескольких частей мозга, включая черную субстанцию, покрышку и некоторые ядра гипоталамуса (Дубынин и др., 2010). Высвобождение дофамина вентральной покрышкой мозга приводит к его распространению по аксонам к прилежащим ядрам гипоталамуса и префронтальной коре. **Дофаминергическая система мозга индуцирует активное бодрствование, способствует гедонистическому, то есть стремлению к удовольствию, поведению и усиливает положительные эмоции, вызванные наслаждением, например, вкусной едой или видеозаписью.** Предвкушение награды приводит к увеличению концентрации дофамина в мозге, и многие препараты стимулируют высвобождение дофамина или блокируют его повторное поглощение нейронами, продуцирующими дофамин.

Дофамин (DA)

Основные источники;

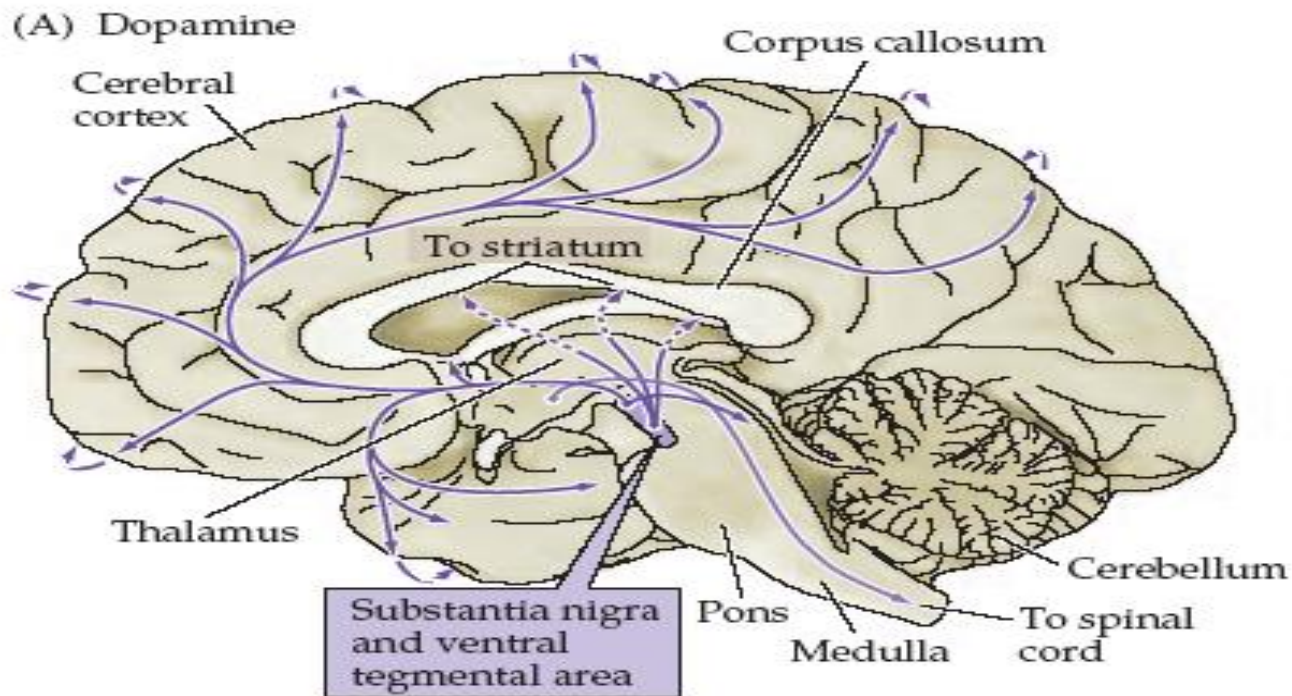
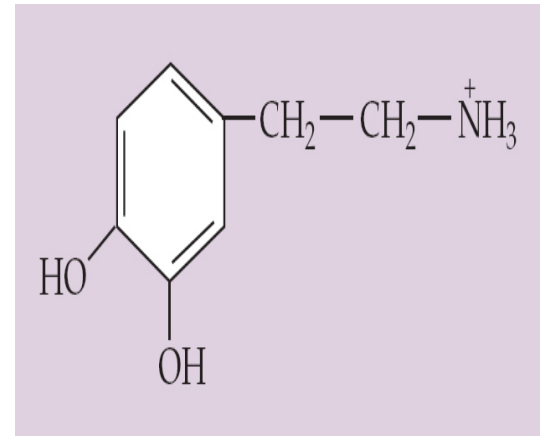
Нейроны черной субстанции мозга (*substantia nigra*), участвующие в регуляции произвольных движений

Нейроны вентральной покрышки мозга участвуют в регуляции эмоций, активации внутренних механизмов вознаграждения и подкрепления

Инактивация:

Обратный захват транспортерами

Дегградация ферментами MAO и COMT



Предшественник дофамина ДОФА проходит через кишечно-кровяной и гематоэнцефалический барьер. Поэтому, ДОФА-образующие микроорганизмы, в том числе пробиотики, например, лактобациллы (Oleskin и соавт., 2014а, Б), и потенциальные патогены, такие как *Bacillus cereus* (Шишов, 2010; Oleskin и соавт., 2010), могут вызывать эйфорию за счет превращения микробной ДОФА в дофамин в головном мозге. Такая эйфория производит особое впечатление, когда она вызвана патогенами и развивается несмотря на тяжелую бактериальную инфекцию и ухудшение состояния здоровья.

Патогенный микроорганизм *Bacillus cereus* выделяет микромольные количества дофамина и норадреналина в культуральную жидкость. Кроме того, производство значительных концентраций ДОФА этим организмом поднимает вопрос о том, может ли он влиять на мозг и поведение людей, инфицированных *B. cereus*. Фактически, дофамин, который вырабатывается из ДОФА, **может улучшить настроение человека до состояния эйфории**. Хотя *B. cereus* выделяет рвотное средство и токсин, вызывающий диарею, что приводит к очень неприятным симптомам, следует предвидеть, что **инфекция также вызывает чувство счастья у пациента**.



Норадреналин активирует работу мозга и стимулирует двигательное поведение. Норадреналин увеличивает мозговое кровоснабжение и участвует в эмоциях, связанных с принятием риска и обучением. **Норадреналин называют гормоном ярости, потому что его выброс в кровь приводит к агрессивному поведению и значительному увеличению мышечной силы. Норадреналин способствует бдительному поведению, стимулирует запоминание и извлечение информации и участвует в поведении “дерись или беги”.**

Нейрохимическая и гормональная активность норадреналина обусловлена его связыванием с α - и β -адренорецепторами.

α -Рецепторы подразделяются на α_1 -подтип, повышающий внутриклеточную концентрацию инозитол-1,4,5-трифосфата и Ca^{2+} за счет активации фосфолипазы C, и α_2 -подтип, ингибирующий аденилатциклазу и, следовательно, снижающий внутриклеточную концентрацию цАМФ. Напротив, рецепторы β -типа (β_1 , β_2 и β_3) представляют собой G-белки; они активируют аденилатциклазу при связывании норадреналина.

В головном мозге норадреналин вырабатывается преимущественно нейронами голубого пятна, латеральной ретикулярной формации, продолговатого мозга и ядер одиночного тракта.

Норадреналин (НА), или норэпинефрин

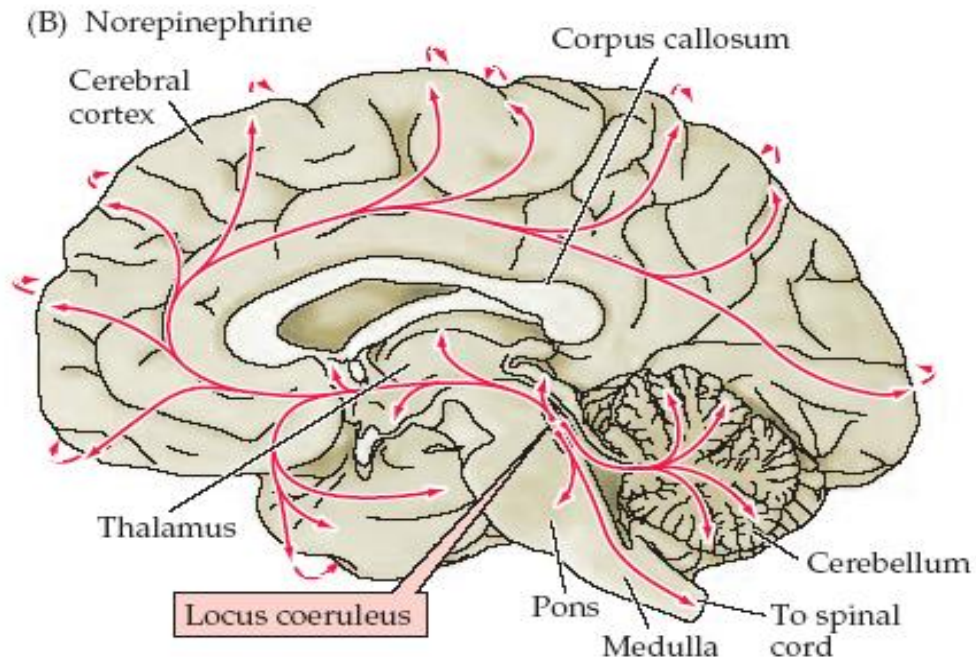
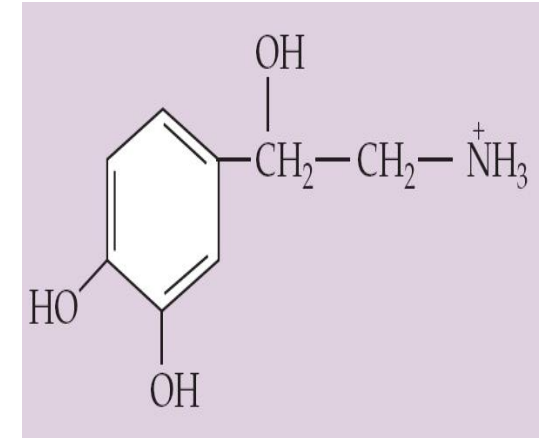
Основные источники:

Нейроны *Locus coeruleus* (голубое пятно) диффузно иннервируют большие части ЦНС (спинной мозг, мозжечок, таламус и кору головного мозга). НА участвует в контроле состояния сна/бодрствования

Инактивация:

Обратный захват транспортерами

Дегградация ферментами MAO (моноаминооксидазами) и KOMT



Катехоламины

Дофамин (ДА) и **норадреналин (НА)** являются важными нейромедиаторами.

Норадреналин активирует мозг, повышает двигательную активность, снижает уровень тревожности и способствует агрессивному поведению человека/животного (Дубынин и др., 2003).

Дофамин также участвует в поддержании достаточно высокого уровня двигательной активности; кроме того, его нейромедиаторная “работа” помогает человеку точно выполнять сложные произвольные движения, подавляя непроизвольные и поддерживая активное бодрствование.

Дофамин способствует поведению, направленному на получение удовольствия (гедоническое поведение, Berridge and Robinson, 1998).

Иммуноциты реагируют на биогенные амины, синтезируют и высвобождают их, в том числе катехоламины. Среди катехоламиновых рецепторов β_2 -адренорецепторы (β_2 -АР) преимущественно экспрессируются иммунными клетками. Стимуляция β_2 -АР в основном приводит к противовоспалительному ответу иммуноцитов, включая макрофаги и моноциты.

Дендритные клетки иммунной системы экспрессируют как α -, так и β -адренорецепторы. Связывание катехоламинов с α -АР в основном вызывает стимуляцию иммунного ответа, тогда как их взаимодействие с β -АР, скорее всего, ингибирует иммунную систему и смягчает воспаление.



Были также представлены доказательства того, что дофамин может стимулировать работу иммунной системы при определенных условиях. Например, он активирует наивные Т-клетки. Стимуляция дофамином D_1 -рецепторов на T_{reg} человека ($CD_{4+}CD_{25high}$) вызывает угнетение их иммуносупрессивной активности и снижение продукции IL-10 и TGF- β (трансформирующего фактора роста β). “Подавляя иммуносупрессоры”, дофамин, как ожидается, активирует иммунные реакции.

Таким образом, катехоламины производят сложные и отчасти противоречивые эффекты с участием множества рецепторов. В подавляющем большинстве случаев катехоламины проявляют противовоспалительную и иммуносупрессивную активность.

Норадреналин может способствовать развитию Th2-ассоциированных заболеваний, таких как аллергические процессы.

ВЛИЯНИЕ
КАТЕХОЛАМИНОВ
НА
МИКРООРГАНИЗМЫ

С неба льётся большая золотая берда

Катехоламины

(**адреналин, норадреналин** и, в меньшей степени, дофамин)

высвобождаются в кровь при стрессе.

Высвобождение **норадреналина** в кровоток, вызванное повреждением норадренергических нервных клеток нейротоксином, резко увеличило количество бактериальных клеток в слепой кишке с преобладанием кишечной палочки (Lyte, Bailey, 1997).

Норадреналин и другие **катехоламины** оказывают косвенное влияние на микрофлору путем

- Подавление синтеза и/или высвобождения иммуноглобулина А
- Стимулирование моторики кишечника
- Способствует оттоку желчи и росту таких бактерий, как *Bacteroides* .

Этим, по-видимому, и объясняются данные о повышенном содержании *Bacteroides* в фекалиях рассерженных или испуганных индивидов.

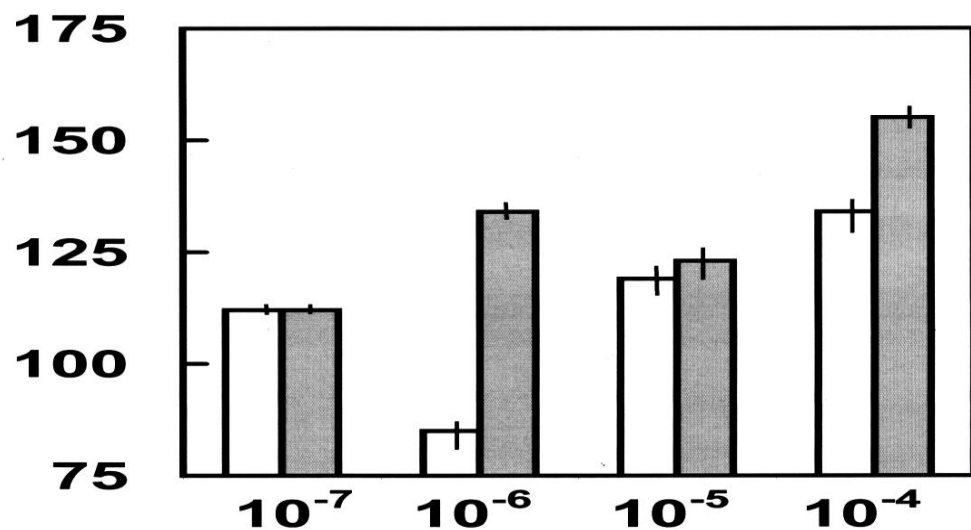
Катехоламины

оказывают прямое стимулирующее действие на рост микроорганизмов, населяющих организм человека, в том числе таких патогенов, как

- *Yersinia enterocolitica* вызывает воспалительные заболевания кишечника;
- Вирулентные штаммы *E.coli*, которые ответственны за кишечные инфекции и другие серьезные проблемы, включая заражение крови;
- Шигелла, вызывающая дизентерию;
- Сальмонеллы, ответственные за пищевые инфекции;
- Синегнойная палочка, вовлеченная в гнойно-воспалительные процессы в различных органах;
- *Bordetella pertussis* и *B. bronchiseptica* ответственны за коклюш;
- *Aeromonas hydrophila* и *Staphylococcus epidermidis* (Lyte et al., 2003).

На основании данных, полученных в нашей лаборатории (Анучин и др., 2008), катехоламины стимулируют накопление биомассы и рост числа клеток у симбиотической *E. coli* K-12 (штамм MC4100).

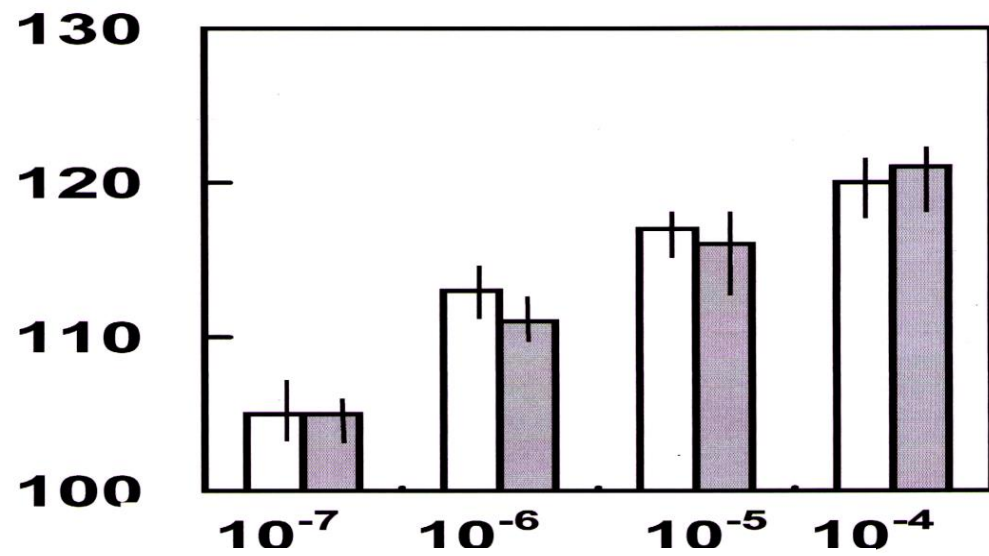
Биомасса (ОП_{540 нм}) или КОЕ, %



Допамин, М

Биомасса (светлые колонки) и колониеобразующие единицы (темные колонки), % от контроля, в 1,5-часовой культуре *Escherichia coli* K12 при различных концентрациях дофамина (верхняя диаграмма) и норадреналина (нижняя диаграмма).

Биомасса (ОП_{540 нм}) или КОЕ, %



Норадреналин, М

М

Рост патогенных энтеробактерий максимально стимулируется **норадреналином**, выброс которого в кровь характерен для реакции макроорганизма на серьезную инфекцию. **Дофамин**, второстепенный компонент реакции, активен в сравнительно высоких концентрациях.

Например, **норадреналин** и **дофамин** в концентрациях 3 и 100 μM , соответственно, стимулировали рост патогенного штамма *E. coli* JPN10 (O44:H18) на жидкой среде SAPI с сывороткой крови (Burton et al., 2002).

Однако у непатогенного штамма *E. coli* K-12 MC 4100, **дофамин**, второстепенный компонент ответа на инфекцию, стимулировал пролиферативную активность и накопление биомассы в большей степени, чем основной компонент, **норадреналин** (Анучин и др., 2008).

Образование локальных клеточных агрегатов, переходящих в микроколонии, является начальной стадией жизненного цикла биопленки (см. выше).

В наших исследованиях дофамин и норадреналин по-разному влияли на этот процесс в популяциях *E. coli* K-12, растущих на LB агаре. Катехоламины добавляли после посева культуры. Мы подсчитали одиночные клетки и компактные группы клеток и вычислили соотношение между ними.

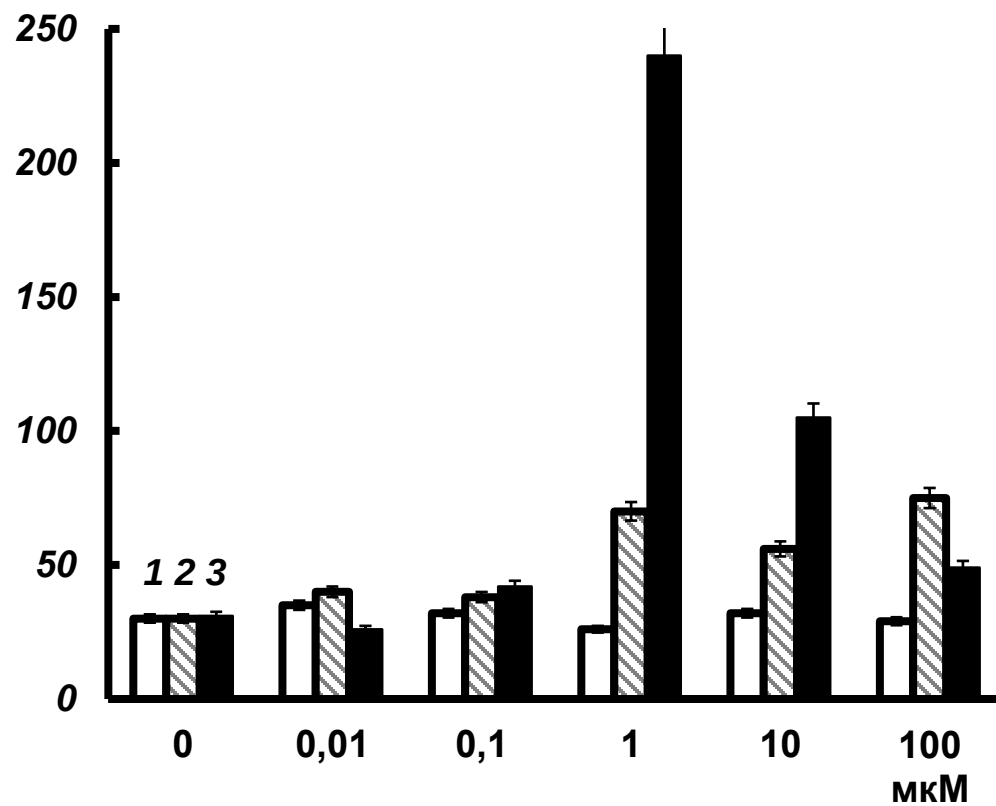
На основе наших данных мы пришли к выводу, что дофамин ингибирует агрегацию клеток, в то время как норадреналин стимулирует ее (Анучин и др., 2008).

Дофамин (ДА) и **норадреналин (НА)** стимулировали рост популяции дрожжей. Максимальный эффект был обнаружен с ДА. Кривая концентрационной зависимости его действия достигла максимума при 1 μM , что привело к примерно 8-кратной стимуляции роста клеток.

НА, который, в отличие от **ДА** содержал ОН-группу в боковой цепи, почти не вызывал стимуляции роста.

Также был проверен эффект апоморфина, который специфически связывается с рецепторами типа D1 и D2, такими как ДА. Апоморфин характеризовался колоколообразной кривой, подобной **ДА**; по аналогии с **ДА** максимальная стимуляция роста апоморфином достигалась при 1 μM . Амплитуда апоморфинового эффекта была ниже, чем у **ДА**.

Клетки



1, Норадреналин

2, Апоморфин

3, Дофамин