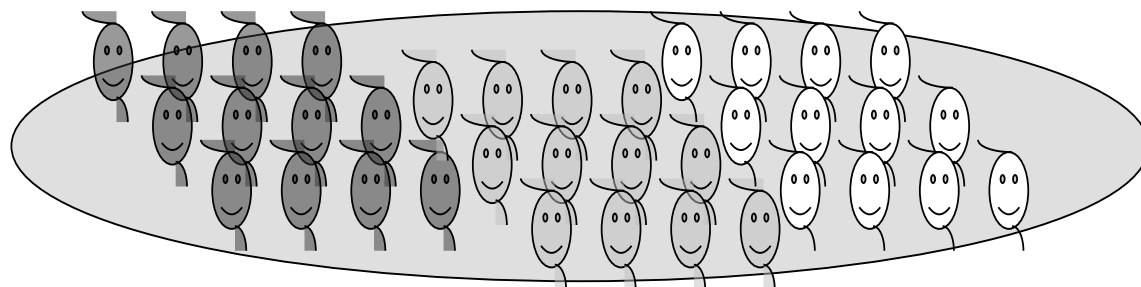


Межфакультетский курс лекций
**Коммуникация у микроорганизмов: значение
для физического и психического здоровья
человека**

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 7.

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 3, разделы 3.1-3.2

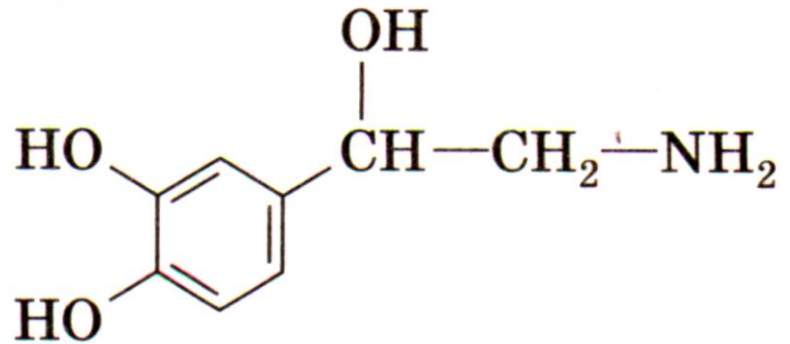
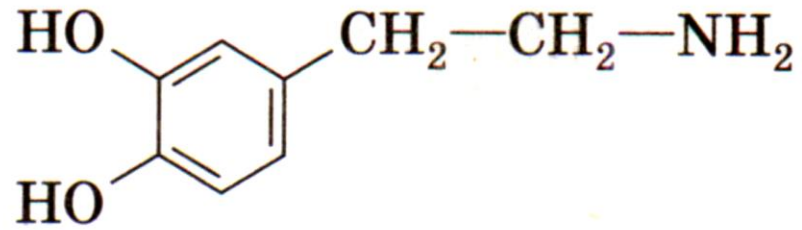
Нейрохимические вещества (нейротрансмиттеры, нейромедиаторы)

включают несколько групп веществ, таких как:

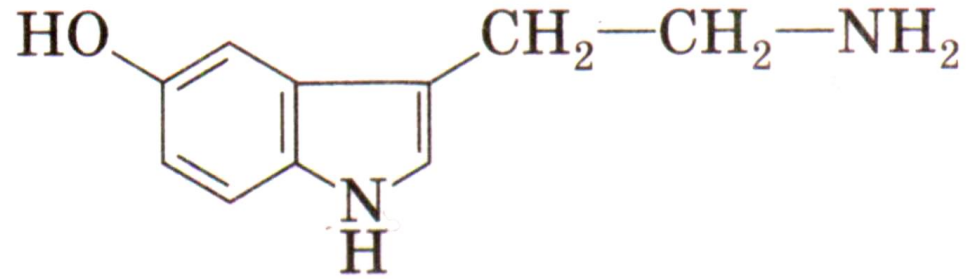
- i. биогенные амины, включающие катехоламины (дофамин, норадреналин и адреналин), серотонин, гистамин и т. д.;
- ii. аминокислоты, такие как аспарагиновая, глутаминовая и γ -аминомасляная кислоты, глицин и β -аланин.;
- iii. пептиды, включая эндорфины, энкефалины, динарфины и вещество P;
- iv. газообразные 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 поведению, то есть стремлению к удовольствию, 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;

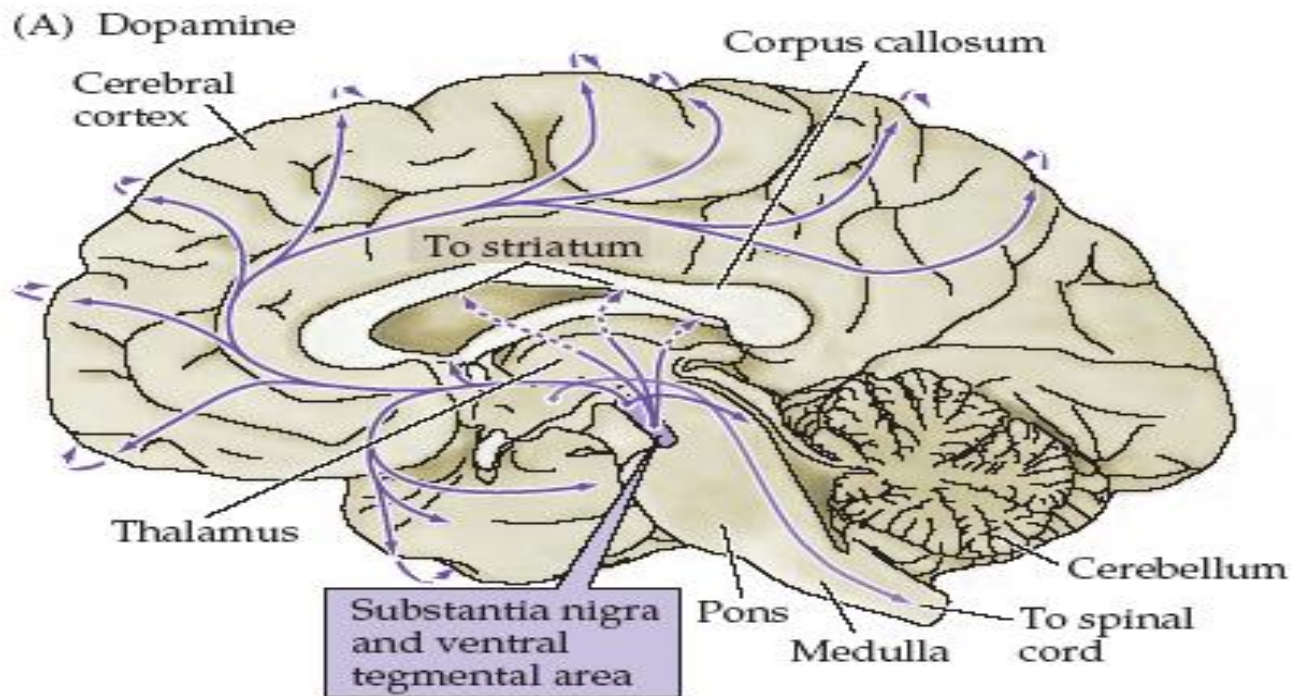
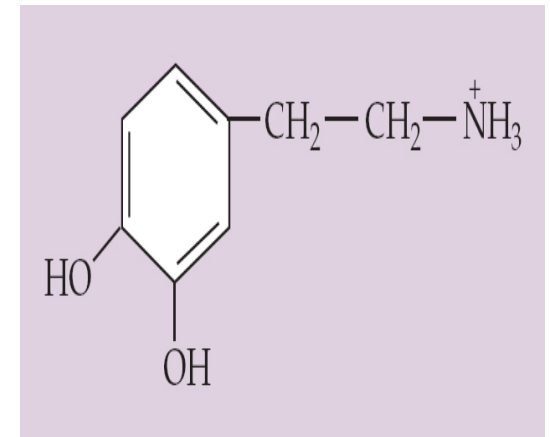
Нейроны черной субстанции мозга (*substantia nigra*), участвующие в регуляции произвольных движений

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 микромолярные 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 активизирует 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

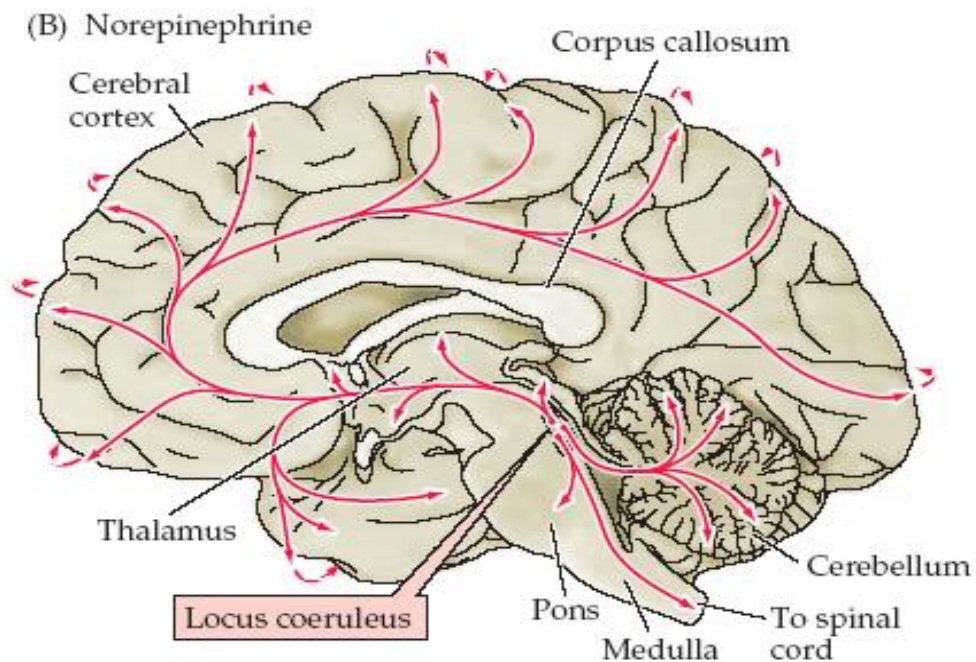
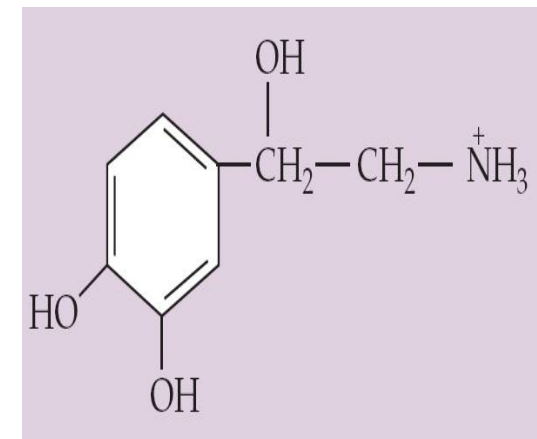
Основные источники:

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 КОМТ



Катехоламины

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

Норадреналин активизирует 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).

Иммунocyтy 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 иммунocyтoв, 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.

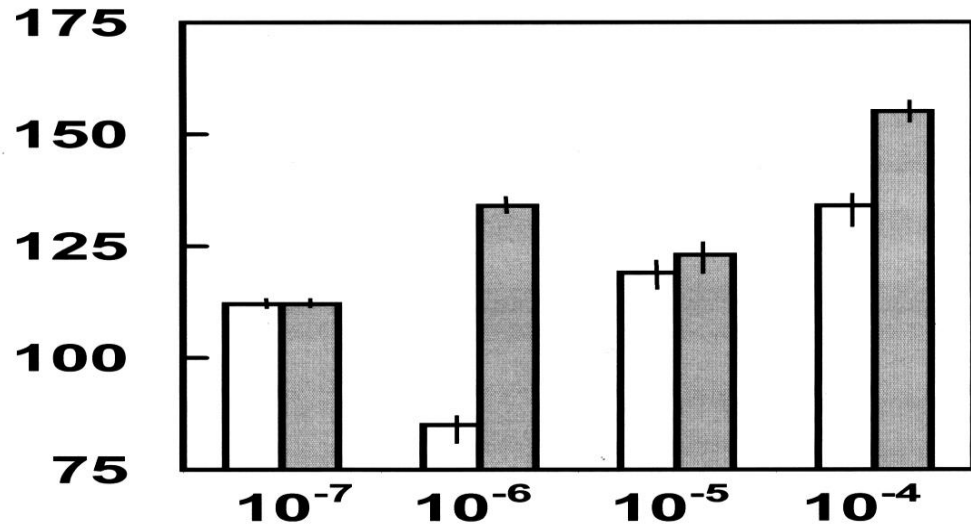
Катехоламины

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).

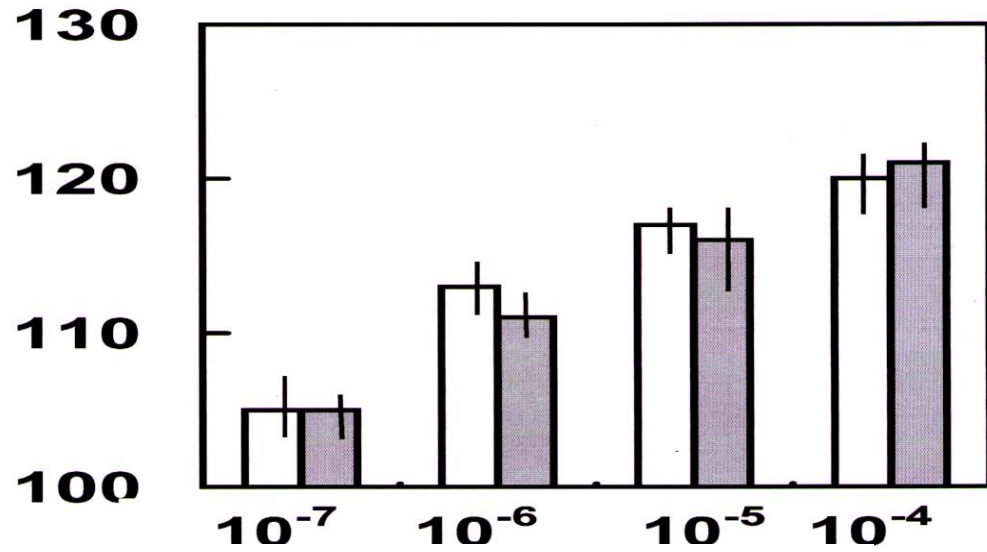
Биомасса (ОП_{540 нм}) или КОЕ, %



Допамин, М

Биомасса (светлые колонки) и колониобразующие 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.

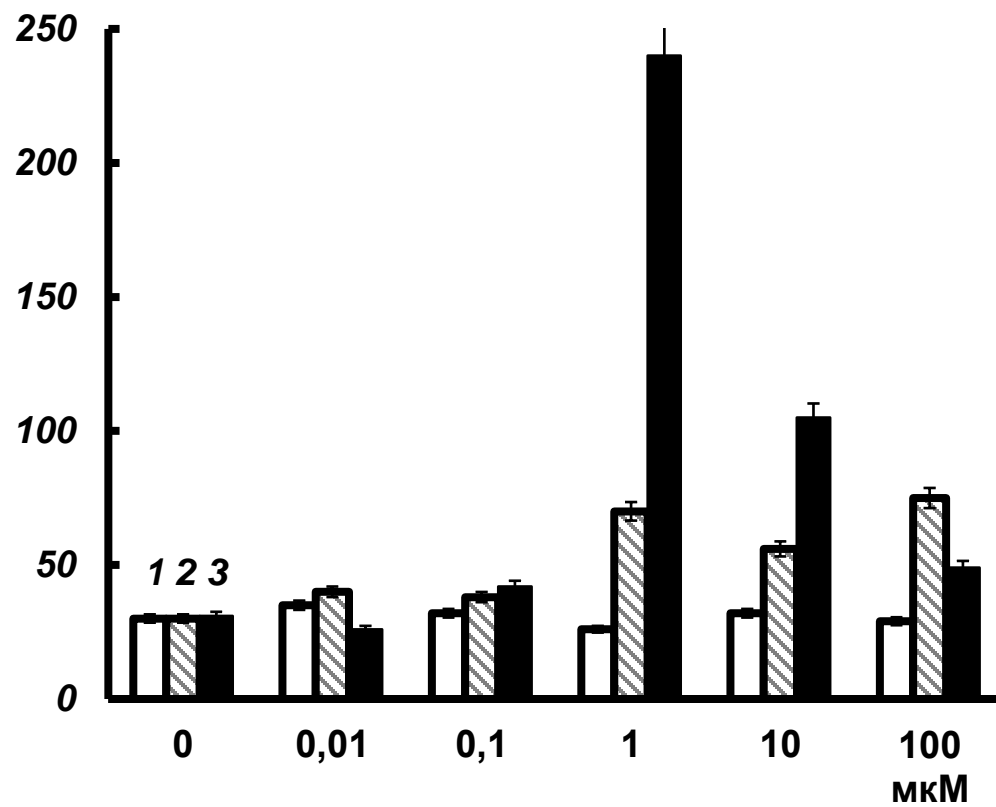
На основе наших данных мы пришли к выводу, что дофамин ингибирует агрегацию клеток, в то время как норадреналин стимулирует ее (Анучин и др., 2008).

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

БАКТЕРИАЛЬНЫЙ АДРЕНЕРГИЧЕСКИЙ РЕЦЕПТОР

Эффекты аутоиндуктора-3 (AI-3) обусловлены его связыванием с двухкомпонентными системами quorum sensing, рецепторы которых называются QseC и QseE.

Связывание AI-3 вызывает фосфорилирование регуляторов ответа QseB и QseF.

При фосфорилировании они функционируют как киназы, которые фосфорилируют активаторы транскрипции генов, ответственных за жгутиковую подвижность (гены *flhDC*) и вирулентность (гены *LEE*) в энтерогеморрагическом штамме *E. coli* O157:H7 (Clarke and Sperandio, 2005).

Были представлены доказательства того, что QseC способен связывать катехоламины в дополнение к AI-3 (Clarke et al., 2006), и QseE, по-видимому, характеризуется аналогичной способностью.

Таким образом, эти рецепторы рассматриваются как бактериальные аналоги катехоламинсвязывающих рецепторов эукариотических клеток, включая нейроны, хотя QseC и QseE отличаются от эукариотических G-белков в структурном отношении.

Бактериальный кворум-чувствительный рецептор **QseC** в функциональном отношении аналогичен эукариотическим α -адренорецепторам.

Исследования с *E. coli* O157:H7, *Salmonella enterica* и *Yersinia enterocolitica* показали, что его взаимодействие с **норадреналином**, **адреналином** и АІ-3 специфически блокируется α -адренергическими антагонистами фентоламином, феноксibenзамином и празозином, но не β -адренергическими антагонистами пропранололом и лабеталолом.

Дофамин также теряет свой стимулирующий эффект при добавлении в комбинации с хлорпромазином, который избирательно блокирует D_2 рецепторы; однако эффект дофамина все еще наблюдается при добавлении наклоприда, специфического антагониста D_1 рецепторов, или галоперидола, неселективного антагониста обоих **дофаминовых** рецепторов в эукариотических системах (Freestone et al., 2007b).

Тот факт, что эффекты **дофамина** и **норадреналина** подавляются различными антагонистами, по-видимому, предполагает, что они связаны различными рецепторными участками бактериальных клеток.

AI-3- и катехоламин-воспринимающие системы микробиоты ЖКТ предположительно выполняют две различные функции:

- **они способствуют взаимодействию различных микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте**, поскольку AI-3 является межвидовой сигнальной молекулой; кроме того, бактерии синтезируют норадреналин и дофамин и выделяют их в культуральную жидкость (Шишов и др., 2009). В частности, патогенные штаммы кишечной палочки могут получать стимулирующие рост, вирулентность и образование биопленок сигналы от нормальной микробиоты, включая непатогенные штаммы кишечной палочки.
- **они участвуют в диалоге между микробиотой и организмом хозяина**, который вырабатывает норадреналин и адреналин и выделяет их в кровоток (из которого они проникают в просвет кишечника) в ответ на инфекцию. Следует еще раз подчеркнуть, что именно патогенные микроорганизмы более чувствительны к норадреналину, чем к дофамину. Напротив, непатогенная кишечная палочка предпочитает дофамин норадреналину. Она также реагирует на другие нейромедиаторы, которые характерны скорее для местного воспаления, чем для серьезной системной инфекции.

Голодание имеет две стадии.

- **Короткие эпизоды голода вызывают эфемерный всплеск политической активности.**
- **Более длительные периоды нехватки пищи означают, что тирозин (предшественник катехоламинов) и, что более важно, незаменимый фенилаланин, из которого организм синтезирует тирозин, не доставляются в организм человека.**

Это приводит к обездвиживанию тела (адинамия) и депрессии.

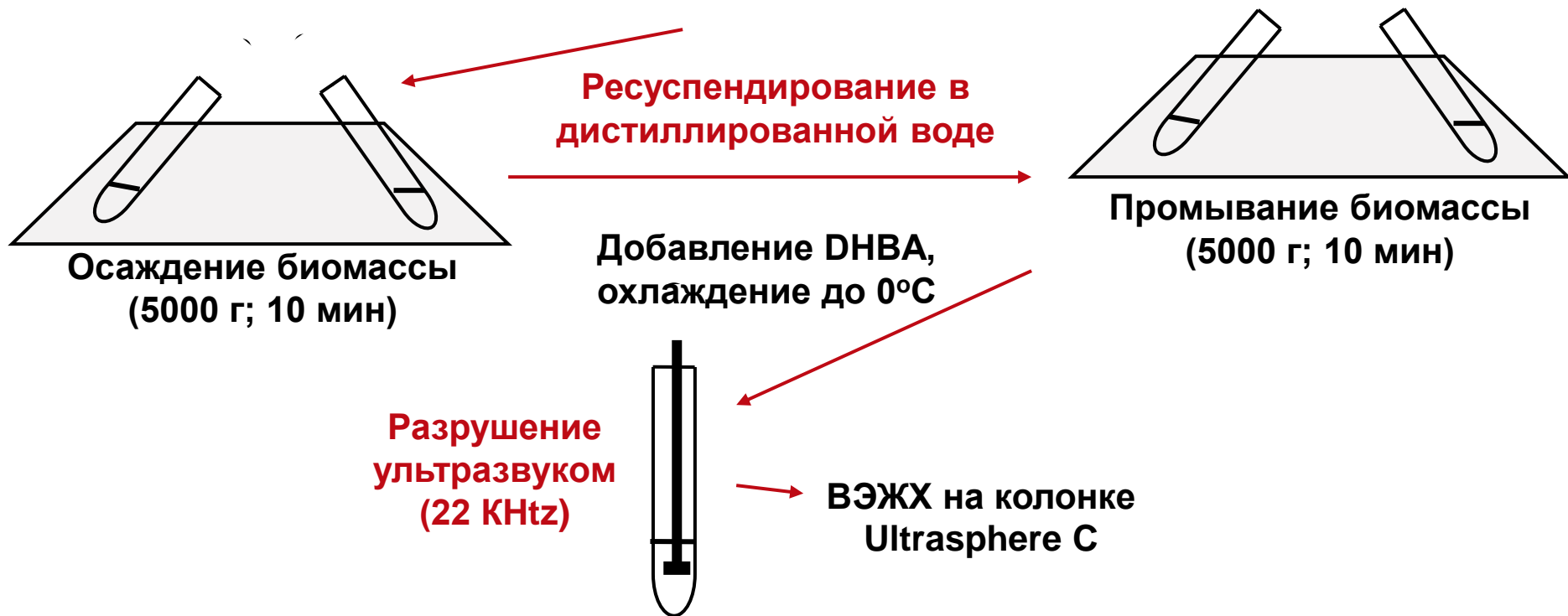
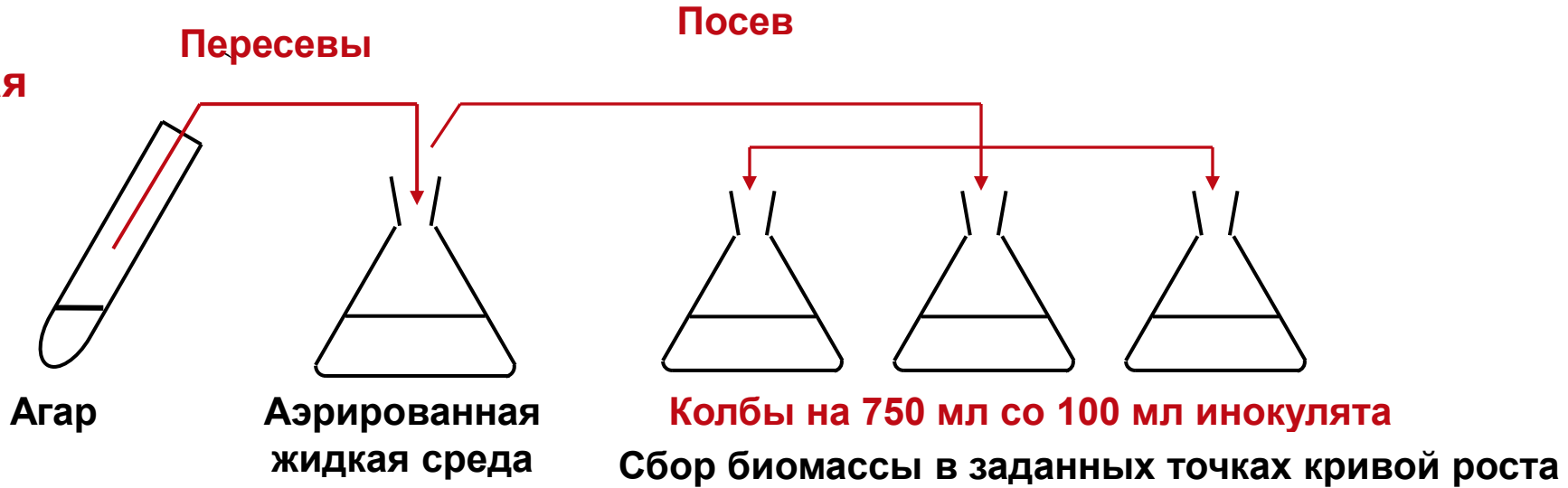
Аномия (социальная замкнутость) и апатия усиливаются, делая невозможной любую общественную (политическую) деятельность.

Революционная ситуация гораздо более вероятна, когда продовольственный кризис уже преодолен, но люди все еще помнят о некомпетентности или коррупции правительства во время кризиса.

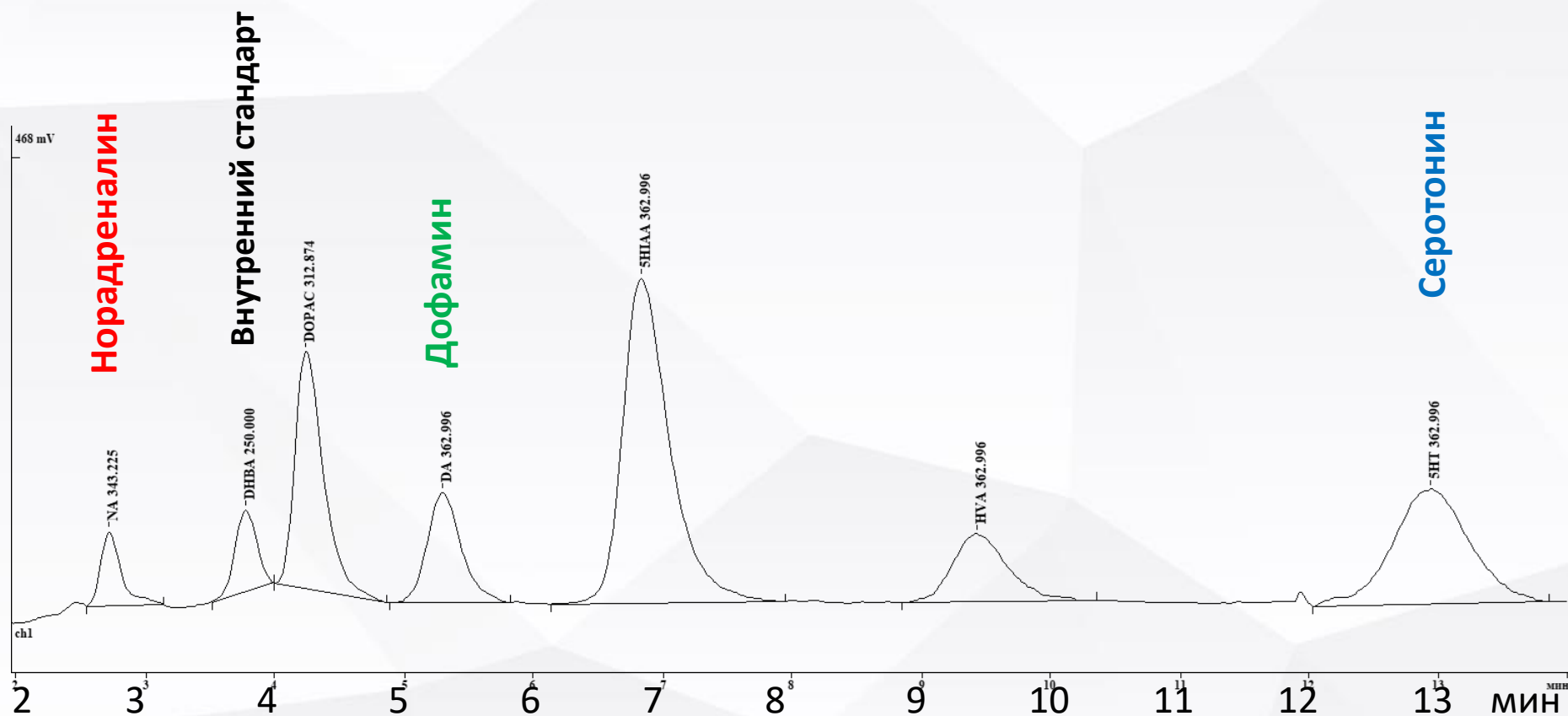
ЭНДОГЕННЫЕ НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА У МИКРООРГАНИЗМОВ

Помимо реакции на катехоламины, продуцируемые хозяином, микроорганизмы также способны их продуцировать сами. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с амперометрическим детектированием была использована для идентификации и количественного определения катехоламинов в культурах большого числа прокариотических и эукариотических микроорганизмов (Цавкелова и др., 2000).

Микробная культура



468
мВ



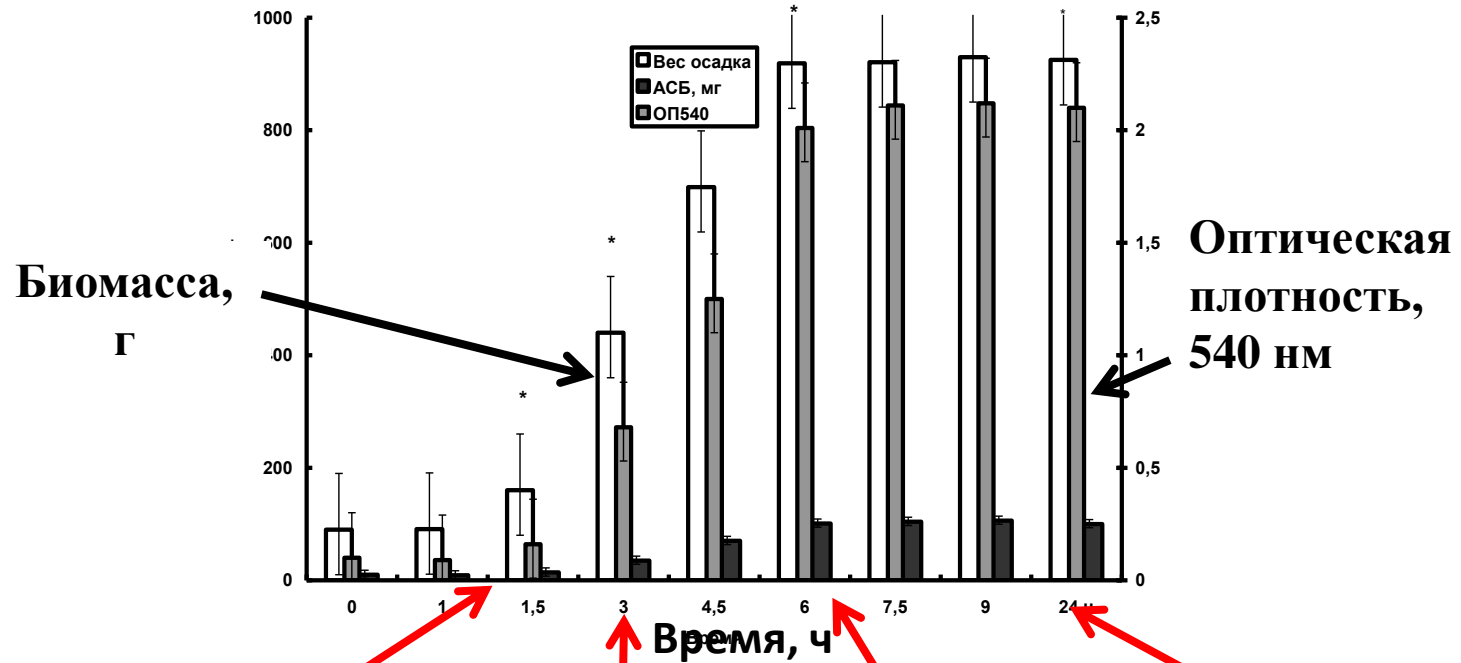
Хроматограф калибровали с использованием смеси исследуемых биогенных аминов, концентрация всех этих веществ составляла 0,5 μM . Горизонтальная ось, время удержания (минуты); вертикальная ось, напряжение (мВ)

Биогенные амины и продукты их окислительного дезаминирования в микробной биомассе (μM), измеренные методом ВЭЖХ с электрическим детектором

| Виды | Норадреналин | Дофамин | ДНРАА | Серотонин | 5-НИАА |
|---|--------------|---------|-------|-----------|--------|
| <i>Bacillus cereus</i> | - | 2.13 | 0.69 | 0.85 | 0.95 |
| <i>B. mycooides</i> | 0.32 | 0.25 | 0.81 | - | 0.33 |
| <i>B.subtilis</i> : тотальная фракция | 0.25 | 0.36 | - | - | 0.42 |
| | - | - | - | - | - |
| | 0.26 | 0.34 | - | - | 0.52 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | - | 1.35 | 1.54 | 2.2 | - |
| <i>Escherichia coli</i> | - | 1.61 | 2.64 | - | 0.81 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 0.6 | 0.73 | 0.46 | - | 0.4 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , variant R | - | - | 1.62 | - | 2.7 |
| <i>P. aeruginosa</i> , variant S | - | - | 3.74 | - | 2.1 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 1.87 | 0.6 | 1.47 | - | 0.51 |
| <i>Zoogloea ramigera</i> | - | - | 14.2 | - | 0.34 |
| Baker's Yeast | 0.21 | - | - | - | 0.26 |
| <i>Penicillium chrysogenum</i> | 21.1 | - | 88.9 | - | 10.8 |

Норадреналин присутствовал в концентрации 0,2-2 μM в биомассе *Bacillus mycooides*, *B. subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*; **дофамин** в концентрации 0,5-2 μM был обнаружен в биомассе большинства исследуемых прокариот. В богатой матриксом бактерии *B. subtilis* (M-вариант) нейротрансмиттеры в основном содержатся во фракции матрикса.

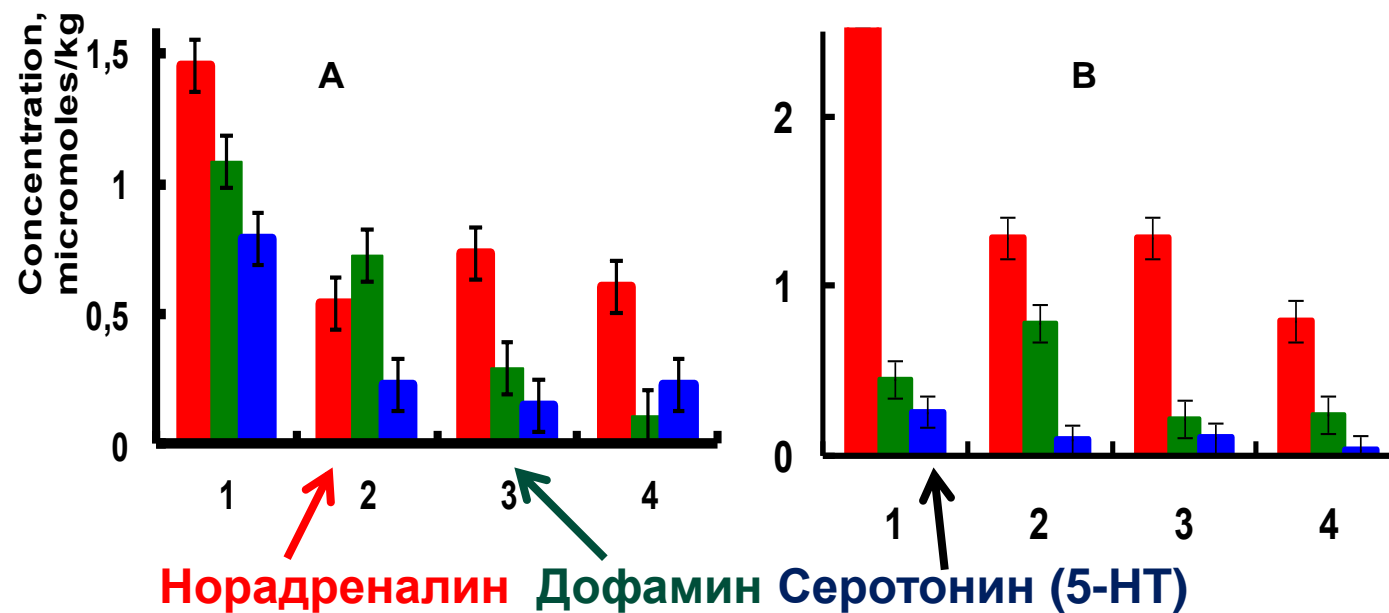
Рост кишечной палочки на среде LB



Лег-фаза Ранняя экспоненциальная Поздняя экспоненциальная Стационарная

С помощью модели *E. coli* было установлено (Шишов и др., 2009), что максимальные (микромольные) концентрации катехоламинов накапливаются в лаг-фазе роста культуры. В свете этих данных следует предположить, что нейромедиаторные амины ведут себя как триггеры, активирующие процессы роста и деления клеток в начальной фазе онтогенеза микробной культуры. Это сопоставимо с эффектами других известных ауторегуляторных соединений. Биомасса *E. coli*, *S. cerevisiae*, *B. cereus* и лактобацилл также содержала ДОФА, предшественник катехоламинов в клетках животных и продукты окислительного дезаминирования катехоламинов.

Вопрос к студентам: Чем бы вы предложили объяснить преимущественное накопление катехоламинов на начальной стадии роста (лаг-фаза)?



Концентрации биогенных аминов в биомассе кишечной палочки K-12 на средах M9 (A) и LB (Б).

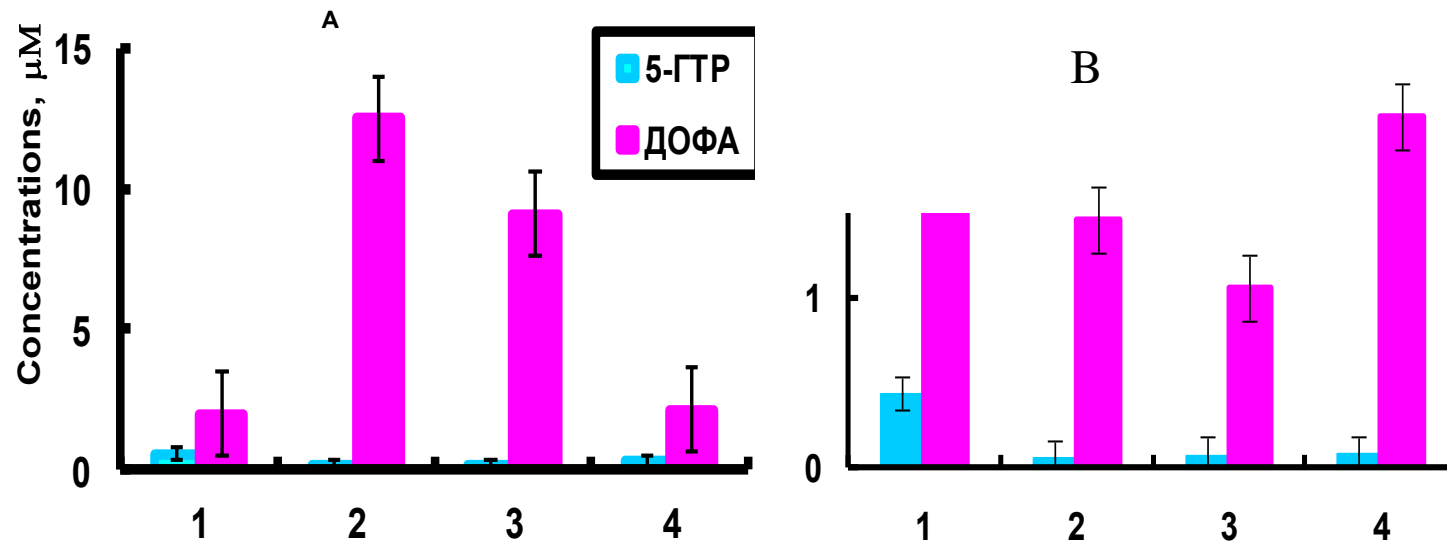
Числа на горизонтальной оси здесь и ниже:

1 – лаг фаза;

2 – ранняя экспоненциальная фаза;

3 – поздняя экспоненциальная фаза;

4 – стационарная фаза роста.



Концентрации ДОФА (фиолетовый) и 5-гидрокситриптофана (светло-голубой) в биомассе кишечной палочки K-12 на среде M9 (A) и LB (Б).

Предшественник дофамина ДОФА проходит через барьер между кишкой и кровотоком и гематоэнцефалический барьер. Таким образом, продуцирующие ДОФА микроорганизмы, включая как пробиотики, например лактобациллы (Oleskin et al., 2014a, b), так и потенциальные патогены, такие как *Bacillus cereus* (Shishov, 2010; Oleskin et al., 2010), могут вызывать эйфорию из-за превращения микробного ДОФА в дофамин в мозге. Такая эйфория должна быть особенно впечатляющей и причудливой, когда она вызвана патогенами и развивается, несмотря на тяжелую бактериальную инфекцию и ухудшение состояния здоровья.

**ВЛИЯНИЕ СЕРОТОНИНА НА
КЛЕТОЧНЫЕ СИСТЕМЫ,
ВКЛЮЧАЯ МИКРООРГАНИЗМЫ**

СЕРОТОНИН

Синтезируется из триптофана через гидрокситриптофан

**Альтернативный
путь через
триптамин (в
растениях и
микроорганизмах)**

