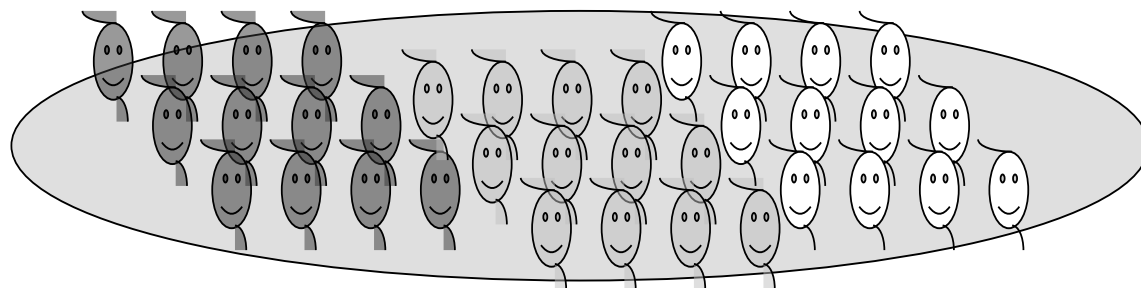


Межфакультетский курс лекций
Коммуникация у микроорганизмов: значение
для физического и психического здоровья
человека

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. **Oleskin, A. V., & Shenderov, B. A. (2020). Microbial Communication and Microbiota-Host Interactivity: Neurophysiological, Biotechnological, and Biopolitical Implications. New York: Nova Science Publishers.**
2. 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 9. ПЕПТИДЫ. КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ (КЦЖК). ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ.

**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 3.6-3.9

Пептиды

В нервной системе пептиды преимущественно функционируют как нейромодуляторы: они повышают/понижают эффективность передачи сигнала через синапсы, работа которых зависит от других нейро-медиаторов. Например, опиоиды (эндорфины, энкефалины и динарфины) связываются со специфическими рецепторами нейронов и блокируют передачу импульсов по аксонам нейронов, в том числе участвующих в восприятии боли.

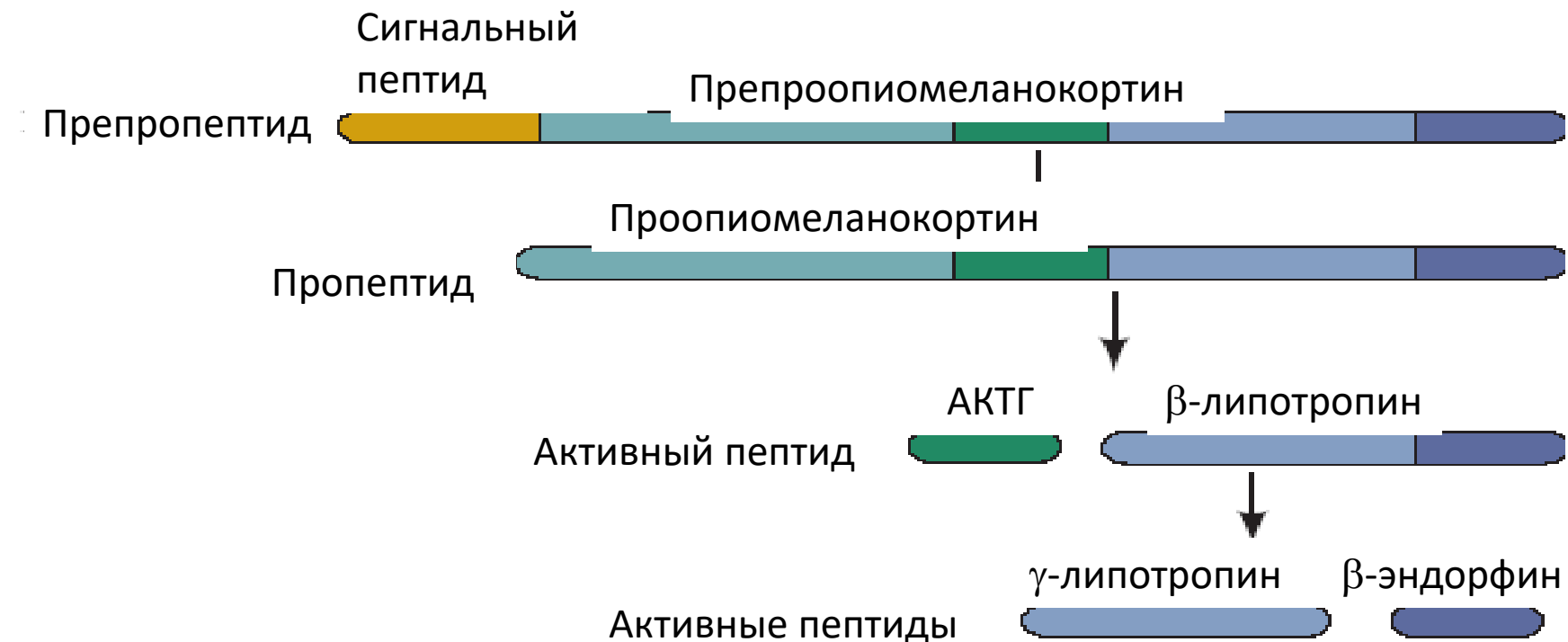
Опиоиды как болеутоляющие и вызывающие эйфорию препараты представляют собой внутреннюю награду для индивида, участвующего в поведении, приводящем к высвобождению опиоидов. Опиоиды, вырабатываемые мозгом, служат позитивным подкреплением альтруистических поступков; их производство поощряет законопослушных людей даже в ситуациях, когда подчинение закону приводит к негативным последствиям для вовлеченного индивида.

Некоторые нейропептиды сами служат нейромедиаторами:

они передают импульсы от нейрона к нейрону.

Например, вещество Р отвечает за передачу болевых импульсов.

Нейропептиды образуются из крупных предшественников (пре-пропептидов) внутри клетки в эндоплазматическом ретикулуме. Напоминает старт космического корабля, когда отделяется первая ступень.



(A) Пептиды мозг-кишечник



(B) Опиоиды



Amino acid properties

- Hydrophobic
- Polar, uncharged
- Acidic
- Basic

(C) Пептиды гипофиза



(D) Пептиды гипоталамуса



(E) Прочие пептиды



Существует три типа опиоидов, которые связываются с μ -, δ - и κ -опиоидными рецепторами. Предварительные исследования показали, что цвет колоний *Ps. aeruginosa* стал **интенсивно зеленым** (что указывает на выработку пиоцианина) после воздействия на *Ps. aeruginosa* отфильтрованным кишечным содержимым стрессированных мышей, содержащем опиоиды.



**Стрессированная
мышь**

Только агонисты κ -опиоидных рецепторов динорфин и его синтетический аналог U50,488 вызывают значительную стимуляцию продукции пиоцианина. Эффект усиливается с увеличением концентрации κ -агониста и приводит к примерно 4-кратной стимуляции продукции пиоцианина при концентрации U50,488 1 μ M. Концентрационная зависимость стимулирующего действия агониста μ -опиоидных рецепторов морфина имела колоколообразную форму, а максимальный уровень стимуляции, достигаемый 50 μ M морфина, был относительно низким (40% от контроля). BW373U86, синтетический агонист δ -опиоидных рецепторов, оказывал ингибирующее действие на образование пиоцианинов у *Ps. aeruginosa* (Zaborina et al., 2007).

Стимулирующее действие динорфина и его аналога U50,488 на вирулентность *Ps. aeruginosa* также привело к усилению вызванного *Ps. aeruginosa* подавления роста полезных микросимбионтов ЖКТ, таких как пробиотики *Lactobacillus plantarum* и *L. rhamnosum*, а также размножения плоского червя *Caenorhabditis elegans*.

В то время как **катехоламины** ведут себя как аналоги АІ-3, динорфин и его синтетический аналог аналогичным образом выполняют функции чувствительного к кворуму аутоиндуктора **хинолона**. **Хинолон**-зависимая кворум-чувствительная система у *P. aeruginosa* активируется системой *lasI-lasR* этой бактерии. Обе кворум-зависимые системы участвуют в синтезе фактора вирулентности и формировании биопленки. Было показано, что эффекты динорфина и U50, 488 требуют работы этих кворум-зависимых систем. Мутации, выводящие из строя эти системы, предотвращают их действие.

Опиоиды накапливаются во время стресса в организме человека/животного, включая желудочно-кишечный тракт. Поэтому их активирующее влияние на **хинолон**-зависимую кворум-чувствительную систему повышает вирулентность *P. aeruginosa*, что приводит к подавлению роста непатогенных энтеробактерий и колонизации желудочно-кишечного тракта *P. aeruginosa* .

Граница между гормонами и нейрохимическими веществами произвольна и изменчива.

МИКРОБНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ изучает функционирование и функциональную роль обоих классов соединений в микробных системах (Lyte, 1993, 2010, 2011). Многие химические вещества сочетают в себе обе функции.

Как гормон **инсулин** повышает проницаемость плазматических мембран для глюкозы, стимулирует образование гликогена из глюкозы в печени и подавляет активность гликоген- и липидразлагающих ферментов. Как нейрохимическое вещество, инсулин участвует в передаче информации о чувстве голода и сытости в мозг. В этом качестве инсулин функционирует в сочетании с другими нейропептидами (грелин, лептин и пептид YY). Было установлено, что инсулин вырабатывается *E. coli* (кишечной палочкой) и грибом ***Neurospora crassa***, который содержит ген, гомологичный гену инсулина млекопитающих. У *N. crassa* инсулин участвует в регуляции углеводного обмена (Leonard, 1992).



Photo: Namboori Raju, Stanford University

Микроорганизмы способны продуцировать кортикотропин (*Tetrahymena pyriformis*), соматостатин (*B. subtilis* и *Plasmodium falciparum*), прогестерон (*Trichophyton mentagrophytes*) и α -фактор (*S. cerevisiae*), гомолог гонадотропин-высвобождающего гормона высших животных (Lenard, 1992), который, помимо своей гормональной функции, регулирует деятельность мозга (Дубынин и др., 2010).

Микроорганизмы также синтезируют гомологи регуляторных пептидов животных и человека, которые широко распространены среди симбиотических и патогенных бактерий и грибов. Симбиотические штаммы *E. coli* синтезируют гомологи лептина, инсулина, грелина, пептида YY, нейропептида Y, орексина, α -меланоцитстимулирующего гормона (α -МСГ), адренокортикотропного гормона (АКТГ), окситоцина и вазопрессина (Фетисов и др., 2008).

Опиоидный фактор **[Met]⁵-энкефалин**, который замедляет пролиферацию клеток в тканях позвоночных, может ингибировать рост *Ps. aeruginosa*, *Staph. aureus* и *Serratia marcescens* (Zagon & McLaughlin, 1992). *Staph. aureus* обладает рецепторами к **[Met]⁵-энкефалину**, который присутствует в его культуральной жидкости в концентрации до 1,6 нг/мл.

Было высказано предположение, что **опиоиды выполняли свою функцию, модифицирующую рост, за миллионы лет до того, как появились высшие животные со сложной нервной системой** (Zagon & McLaughlin, 1992).

На микробиоту также оказывают влияние α - и β -дефензины, α -меланоцитстимулирующий гормон (α -МСГ) и другие пептиды с нейрорхимическими функциями.

Например, α -МСГ подавляет рост *Staph. aureus* (Shireen et al., 2015).
Продуцируемый макрофагами и полинуклеарными лейкоцитами пептид LL-37 (кателицидин) стимулирует хинолон-зависимую систему QS, которая участвует в синтезе фактора вирулентности *Ps. aeruginosa* и одновременно повышает устойчивость *Ps. aeruginosa* к антибиотикам ципрофлоксацину и гентамицину (Strempel et al., 2013)



В совокупности данные о различных нейромедиаторах и их аналогах свидетельствуют о важном механизме, связывающем стресс и развитие бактериальной инфекции, часто сопровождающейся образованием биопленки в организме человека/животного. Таким образом, нейромедиаторы позвоночных, синтез и высвобождение которых стимулируются стрессовыми факторами, могут вести себя подобно бактериальным сигналам, если они контактируют с бактериальными клетками.

Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК)

синтезируются клетками хозяина и различными микроорганизмами, преимущественно обитающими в кишечнике (*Archaea, Bacteroides, Bifidobacterium, Butyrivibrio, Clostridium, Collinsella, Coprococcus, Desulfovibrio, Eubacterium, Lactobacillus, Prevotella, Propionibacterium, Roseburia*, и др.).

Представители этих групп микроорганизмов оснащены большим арсеналом гидролаз.

Это позволяет им расщеплять сложные полисахаридные и белковые молекулы животного, растительного и микробного происхождения.

Полученные более мелкие молекулы анаэробно преобразуются с образованием конечных продуктов, включая КЦЖК

и ряд газов (H_2 , CH_4 , CO_2 , H_2S и NH_3).

Основные короткоцепочечные жирные кислоты

Муравьиная кислота HCOOH

Уксусная кислота CH_3COOH

Пропионовая кислота $\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}$

Масляная кислота $\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}$

КЦЖК оказывают разнообразное воздействие на физиологические, метаболические, регуляторные и поведенческие процессы в организме млекопитающего-хозяина, которые происходят как в желудочно-кишечном тракте, так и за его пределами.

Одной из причин нейрофизиологических расстройств и психических проблем является нарушение образования и метаболизма КЦЖК, прежде всего потому, что КЦЖК активно участвуют в обеспечении организма (в том числе и его нервных клеток) энергией.

В желудочно-кишечном тракте КЦЖК участвуют в регулировании таких процессов как:

- колониальная резистентность;**
- клеточная дифференцировка, пролиферация и апоптоз;**
- синтез муцина и гликопептидов;**
- поддержание электролитного и энергетического баланса;**
- выработка антимикробных пептидов, нейромедиаторов и гормонов;**
- моторика кишечника;**
- работа иммунной системы.**

КЦЖК используются в качестве важного источника энергии многими представителями микробиоты желудочно-кишечного тракта. Ацетат заметно стимулирует рост кишечных бактерий, таких как *Roseburia spp.* и *Faecalibacterium prausnitzii*, которые синтезируют другую КЦЖК, бутират.

КЦЖК в высоких концентрациях проявляют антимикробную активность, особенно в отношении грамотрицательных бактерий. Бутират и пропионат подавляют рост *Salmonella*, но стимулируют пролиферацию лактобацилл.

Антимикробная активность физиологических концентраций КЦЖК была обнаружена в желудочно-кишечном тракте и женской половой системе. Пропионат широко используется в Европе в качестве пищевой добавки (E280–E282), поскольку он проявляет противогрибковую активность.

Люди с избыточным весом и ожирением характеризуются заметно повышенным уровнем КЦЖК, особенно пропионата, что коррелирует со сдвигом соотношения *Firmicutes:Bacteroidetes* в пользу *Bacteroidetes*.

Рисперидон, который используется для лечения психических расстройств у детей и подростков и вызывает увеличение веса (как побочный эффект), увеличивает выработку КЦЖК микробиотой их желудочно-кишечного тракта.

Индивиды с потерей аппетита (анорексия) и сниженным весом характеризуются пониженным уровнем ацетата и пропионата; их уровень остается низким, даже если их вес становится нормальным.

Активность симпатической нервной системы регулируется КЦЖК (например, пропионатом) **через их взаимодействие с G-белковыми рецепторами (GPRs)**, такими как рецепторы GPR41 и GPR43 ганглиев кишечной нервной системы. Активация этих рецепторов в нейронах включает сигнальные пути, например, путь $G\beta\gamma$ -PLC β -MAPK, который контролирует энергетический бюджет клетки и поддерживает метаболический гомеостаз.

Изменение количества КЦЖК и образующихся из них кетоновых тел в печени, а также их соотношения вызывает изменения энергетического обмена и активности симпатической нервной системы.

Примерно 60% заболеваний желудочно-кишечного тракта сопровождаются нервно-психическими расстройствами. Они могут быть результатом изменений энергетического уровня нервных клеток, которые зависят от наличия КЦЖК. Некоторые КЦЖК могут оказывать свои специфические эффекты на нервные клетки в ЦНС и периферической нервной системе.

КЦЖК, в том числе микробного происхождения, могут пересекать кишечно-кровяной барьер и ГЭБ и, следовательно, непосредственно влиять на биохимию мозга.

КЦЖК способствуют созреванию и активной работе микроглиальных клеток, представляющих собой иммунocyты ЦНС.

КЦЖК также укрепляют ГЭБ; они предотвращают разрушение ГЭБ микробными липополисахаридами, активируя иммунную систему организма.

КЦЖК

- **регулируют экспрессию гена, кодирующего триптофангидроксилазу, ключевой фермент пути биосинтеза серотонина;**
- **снижают активность хромосомных гистондеацетилаз (HDACs).** Это способствует улучшению состояния здоровья больных с избыточной активностью этих ферментов, что характерно для болезни Паркинсона, депрессии и шизофрении.
- **индуцируют синтез нейроактивных соединений, включая гистамин, серотонин, 5-аминовалериановую кислоту, γ -аминомасляную кислоту, β -аланин, лептин, пептид YY, глюкагоноподобный пептидный гормон-1 (GLP-1), катехоламины и другие гормоны и нейромедиаторы.**
- **ведут себя как нейротоксины при применении в высоких концентрациях. Например, введение пропионата в желудочки мозга вызывает аутистические изменения в поведении крыс.**

Дети с **расстройствами аутистического спектра (РАС)** характеризуются повышенной концентрацией КЦЖК, особенно **пропионата**, в кишечнике.

Это, по-видимому, связано с аномально высокой активностью клостридий и присутствием **необычного микробного вида, *Sutterella wadworthensis***, который, возможно, типичен для **аутизма**. Поведенческие проблемы аутистичных людей могут быть результатом способности пропионата модулировать экспрессию многих генов, связанных с аутизмом, преимущественно тех, которые связаны с митохондриальными процессами.

Исследования на мышах с аутизмоподобными расстройствами показали, что введение пробиотика на основе специального штамма *Bacteroides fragilis* улучшает микробную экологию кишечника, снижает его проницаемость и смягчает стереотипное поведение, связанное с тревогой.

Аутизм: отсутствие социального взаимодействия и повторяющееся поведение



ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ

В последнее время большое внимание уделяется простым газообразным веществам, таким как оксид азота, оксид углерода, сероводород, водород, метан и аммиак. Такие вещества могут иметь микробное происхождение. Показано, что они ведут себя как медиаторы и регуляторы внутри- и межклеточной коммуникации в организме млекопитающих. Качественный и количественный состав газообразных трансмиттеров варьирует в зависимости от органа, ткани и даже участка ЖКТ, а также индивидуальных особенностей испытуемых.

NO, CO и H₂S являются одними из самых древних молекул газа, которые могут выполнять нейромедиаторные функции.

Предположительно, некоторые другие газы (H₂, CH₄, NH₃, CO₂ и другие) также проявляют нейромедиаторную активность. Как тканезависимый, так и микробный синтез газов с доказанными нейромедиаторными функциями осуществляется специфическими ферментами.

Например, синтез NO из аргинина катализируется NO-синтазами (NOSs), а синтез CO - гем-оксигеназами (HOs), которые вызывают деградацию гема. H₂S преимущественно синтезируется из L-цистеина, и эта реакция катализируется по меньшей мере тремя различными ферментами

Желудочно-кишечный тракт взрослого человека содержит около 20 мл различных газообразных продуктов. Объем выделяемых в сутки кишечных газов колеблется от 400 до 1200 мл. Азот, кислород, водород, метан, углекислый газ и сероводород составляют 20-90%, 3,9-10%, 20,9-50%, 7,2-10%, 9-30%, и 0,00028% от общего объема кишечных газов соответственно. Кроме того, в желудочно-кишечном тракте накапливаются аммиак, окись углерода, закись азота, ацетальдегид и диоксид серы.

Эти газообразные вещества поступают в желудочно-кишечный тракт с воздухом и пищей; кроме того, они образуются различными эукариотическими и прокариотическими клетками посредством ферментативных или неферментативных процессов.

Большинство молекул газа выводится из кишечника; они также могут быть поглощены и доставлены в кровоток; впоследствии они высвобождаются через дыхательную систему.

Газотрансммиттеры

- производят свое воздействие на клетки, которые их синтезируют (аутокринный эффект), соседние клетки (паракринный эффект) и даже удаленные ткани/органы (эндокринный эффект);
- не связываются со специфическими рецепторами на клеточных мембранах и не накапливаются в синаптических везикулах; при их синтезе они обычно высвобождаются из синтезирующих клеток;
- легко проникают в клетки нервной, сосудистой и иммунной систем, а также в клетки других систем;
- взаимодействуют с внутриклеточными ферментами и ионными каналами.

Многие газы, продуцируемые хозяином или микробиотой, способны к модификации различных белков, что приводит к функциональным изменениям. Некоторые из этих изменений вызывают повреждение биологических макромолекул и даже гибель клеток.

ОКСИД АЗОТА В КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМАХ

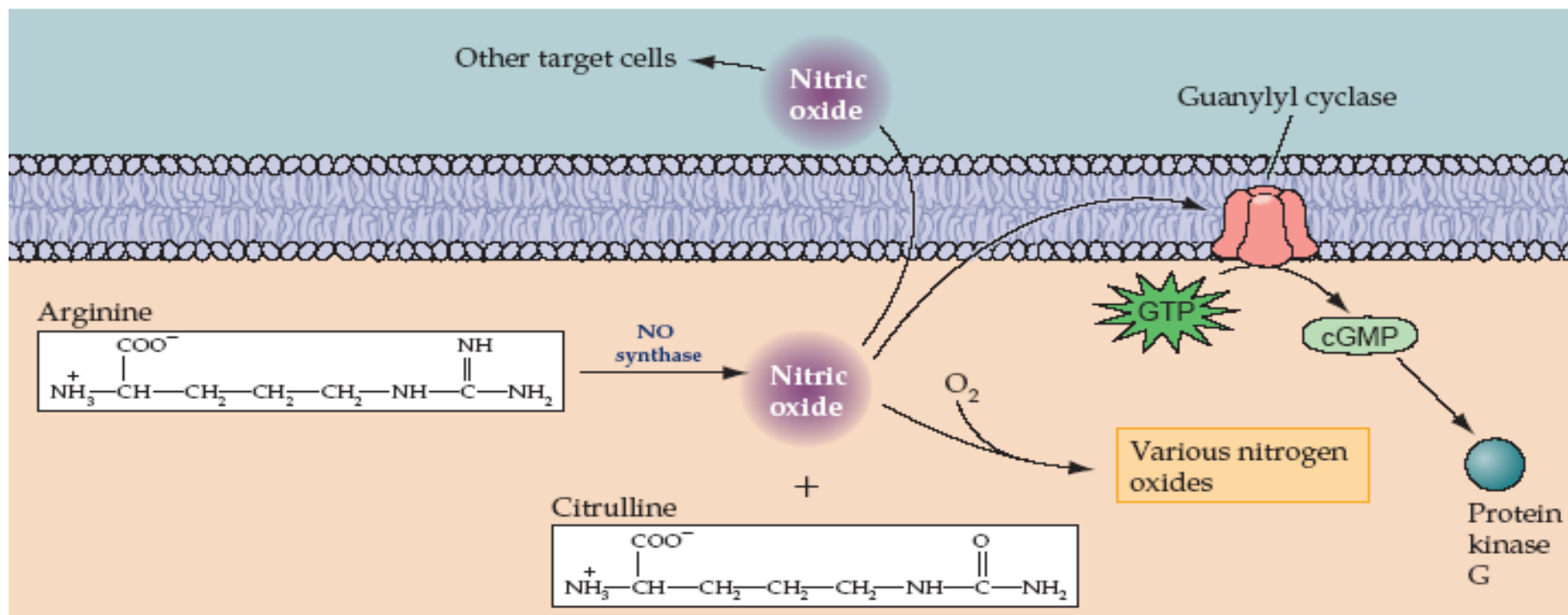
Оксид азота (NO), высокореактивное газообразное свободно-радикальное вещество, относится к «газотрансмиттерам», то есть газам, которые функционируют как нейромедиаторы и/или гормоны (CO и H₂S, по-видимому, также относятся к газотрансмиттерам).

NO играет следующие основные роли:

- Расширение кровеносных сосудов.
- Активация зон мозга, отвечающих за груминг-поведение у животных и ласки у людей.
- Дифференцировка клеток, апоптоз (запрограммированная гибель клеток) и пролиферация клеток.
- Цитотоксическое действие с точки зрения иммунного ответа на чужеродные или опухолевые клетки.

NO синтезируется NO-синтазой, которая подвергается регуляции Ca^{2+} /кальмодулином в нейронах.

NO непосредственно активирует мембраносвязанную гуанилатциклазу.



В отличие от типичных посредников, газ NO:

- Не накапливается в везикулах.
- Не связывается со специфическими мембранными рецепторами.
- Не использует никакого специфического механизма деградации; вместо этого он быстро превращается в NO_2 .

КОНЦЕПЦИЯ ФЕНОПТОЗА

(Владимир Петрович Скулачев)



Серьезная инфекция приводит к продукции газа NO организмом человека/животного. NO оказывает токсическое действие на весь организм, вызывая опасный для жизни септический шок. Организм может убить себя прежде, чем он будет уничтожен патогеном. По мнению В. П. Скулачева (1999), это препятствует распространению возбудителя в популяции за счет жизни в ней отдельных особей. **Гипотеза «альтруистической смерти» Скулачева: Подобно одной клетке, подвергающейся апоптозу, животный организм решает совершить самоубийство: убивая себя с помощью NO, организм предотвращает распространение вирулентной бактерии в популяции.**

Микроорганизмы реагируют на **высокие (микромольные) концентрации NO** с использованием механизма стрессовой реакции. Это может объяснить стимулирующее влияние высоких концентраций NO на образование биопленки у *P. aeruginosa*.

Однако **низкие (от пико- до наномольных) концентрации NO** обычно генерируются различными видами микробов. Образование NO является одной из стадий процесса денитрификации:



Как и эукариоты, прокариоты используют NO (в низких концентрациях) в качестве регуляторного агента.

В отличие от **высоких концентраций NO, **низкие концентрации NO** ингибируют образование биопленки и вызывают ее рассеивание.**

В одновидовых биопленках исследуемых микроорганизмов и в многовидовых биопленках систем распределения и очистки воды оксид азота вызывал в среднем уменьшение размера биопленки на 63%.

Низкие концентрации NO повышают способность антимикробных соединений, например антибиотика тобрамицина, перекиси водорода и детергента додецилсульфата натрия, удалять микробные биопленки из систем распределения и очистки воды, поскольку:

1. Доступ антимикробных агентов к микробным клеткам внутри биопленок облегчается диспергированием биопленки в присутствии NO.
2. Биопленки рассматриваются в литературе как аналоги стареющих культур, а оксид азота активировывает генетические системы, индуцирующие переход к активной стадии роста, что омолаживает бактериальные клетки и повышает их чувствительность к токсическим агентам.



Биопленка **дефицитного** по **NO-синтазе** мутанта $\Delta nirS$ *P. aeruginosa* не распадалась после 6 дней культивирования, в отличие от штамма дикого типа.

Биопленка мутанта $\Delta norCB$, лишенная **NO-редуктазы** распадается быстрее, чем биопленка дикого типа, так что образуются многочисленные пустоты и наблюдается гибель многих бактериальных клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

NO обуславливает распад биопленки у симбиотических и/или паразитических микроорганизмов и, по-видимому, участвует во взаимодействии между ними и организмом-хозяином, содержащим различные типы клеток, продуцирующих NO.

Тот факт, что NO продуцируется широким разнообразием видов микроорганизмов, позволяет ему функционировать в качестве межвидовой сигнальной молекулы в микробной ассоциации, населяющей желудочно-кишечный тракт и другие ниши в организме человека/животного.

ОКСИД УГЛЕРОДА

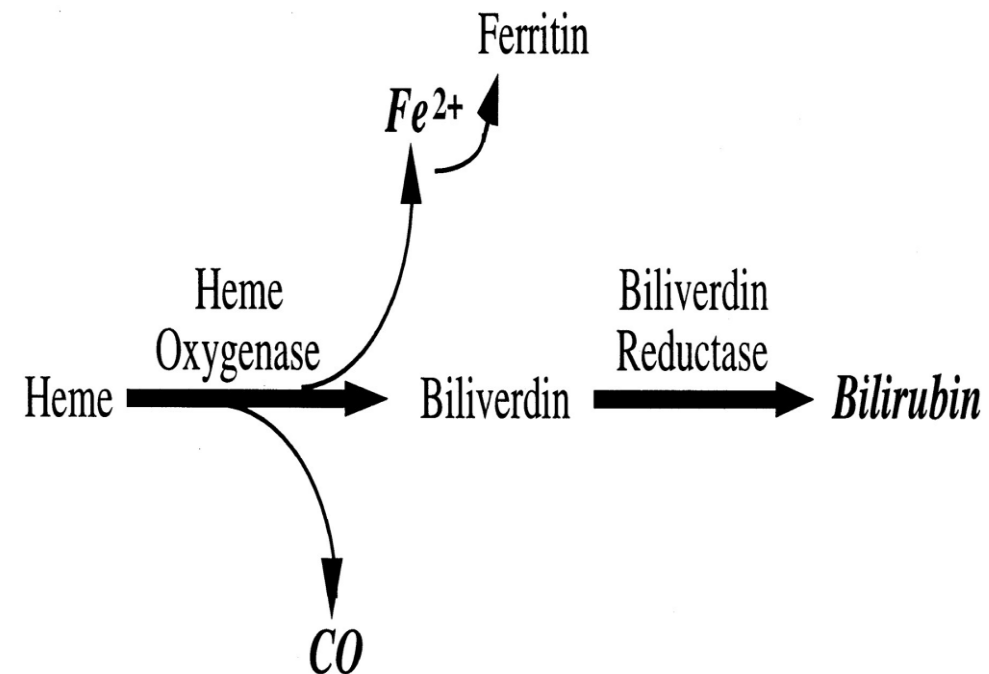
долгое время считался наиболее распространенным загрязнителем воздуха и “молчаливым убийцей” из-за его высокого сродства к восстановленному железу в гемоглобине, который транспортирует кислород к тканям животного/человеческого организма.

Эндогенный СО был обнаружен в организме человека в 1950 году. Было обнаружено, что различные растения и животные, включая человека, синтезируют СО в качестве промежуточного продукта, образующегося при деградации гема гем-оксигеназами.

Индукцибельные (НО-1) и конститутивные (НО-2) ферменты имеют первостепенное значение с точки зрения эндогенного синтеза СО.

Активность НО-1 индуцируется различными стрессорами и широко распространена в клетках печени, почек и селезенки, а также в старых эритроцитах.

НО-2 находится в нейронах, других клетках мозга и эндотелиальном слое кровеносных сосудов; фермент активируется Ca^{2+} -кальмодулином, глюкокортикоидами и опиатами



СИМПТОМЫ ОТРАВЛЕНИЯ ОКСИДОМ УГЛЕРОДА (УГАРНЫМ ГАЗОМ)

