

35. Vaughan T.E., Pratt C.B., Sealey K. et al. Plasticity of fimbrial genotype and serotype within populations of *Bordetella pertussis*: analysis by paired flow cytometry and genome sequencing. *Microbiology*. 2014 Sep, 160(Pt 9): 2030-2044.
36. Wagner B., Melzer H., Freymüller G. et al. Genetic Variation of *Bordetella pertussis* in Austria. *PLoS One*. 2015 Jul 16, 10(7): e0132623.
37. Weber C., Boursaux-Eude C., Coralie G. et al. Polymorphism of *Bordetella pertussis* isolates circulating for the last 10 years in France, where a single effective whole-cell vaccine has been used for more than 30 years. *J. Clin. Microbiol.* 2001 Dec, 39(12): 4396-4440.
38. Xu Y., Liu B. et al. Whole-genome sequencing reveals the effect of vaccination on the evolution of *Bordetella pertussis*. *Sci. Rep.* 2015 Aug 18, 5: 12888.

Поступила 21.01.19

Контактная информация: Бажанова Ирина Глебовна, к.б.н.,
105064, Москва, М. Казенный пер., 5а, р.т. (495)916-22-63

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

Б.А.Шендеров¹, С.М.Юдин¹, А.В.Загайнова¹, М.П.Шевырева^{1,2}

AKKERMANSIA MUCINIPHILA — НОВЫЙ УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ПРОБИОТИК НА ОСНОВЕ ЖИВЫХ КОММЕНСАЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА: ДЕЙСТВИТЕЛЬНОСТЬ ИЛИ ЛЕГЕНДА?

¹Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью, ²Первый московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, Москва

В обзоре представлены современные сведения о биологии *Akkermansia muciniphila*, комменсального представителя анаэробной кишечной микробиоты, обладающего выраженной муколитической активностью и способного модулировать различные функции, метаболические и сигнальные реакции у здоровых и больных людей. Установленные зарубежными исследователями благоприятные и негативные эффекты связывают с наличием у этих грамотрицательных бактерий специфических поверхностных мембранных белков, продукцией определенных короткоцепочечных жирных кислот, деградацией муцина, изменением барьерной функции кишечника, продукцией эндотоксина, а также синтезом некоторых нейромедиаторов. Рассматриваются перспективы и сложности создания новых микробных нутрицевтиков и лекарственных препаратов на основе живых клеток *A. muciniphila* или их специфических низкомолекулярных компонентов и метаболитов.

Журн. микробиол., 2019, № 4, С. 105—115

Ключевые слова: муколитические бактерии, эндотоксин, мембранные белки, барьерная функция, короткоцепочечные жирные кислоты, пробиотики, нутрицевтики, метабиотики, здоровые и больные люди

B.A.Shenderov¹, S.M.Yudin¹, A.V.Zagaynova¹, M.P.Shevyreva^{1,2}

AKKERMANSIA MUCINIPHILA IS A NEW UNIVERSAL PROBIOTIC ON THE BASIS OF LIVE HUMAN COMMENSAL GUT BACTERIA: THE REALITY OR LEGEND?

¹Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, ²Sechenov First Moscow State Medical University, Russia

Contemporary information on biology of *Akkermansia muciniphila* and the role of these gut mucolytic anaerobic bacteria in physiological functions, metabolic and signaling reactions in human health and diseases are presented in the review. Established by foreign researchers, favorable and negative effects

are associated with the presence in these gram-negative bacteria specific surface membrane proteins, the production of certain short-chain fatty acids and endotoxin, as well as with the ability degrading mucin, changing intestinal barrier function and synthesizing some neurotransmitters. Prospects and difficulties of creation of new microbial nutraceuticals and drugs on the basis of living cells of *A. muciniphila* or their specific low-molecular components and metabolites are considered.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 4, P. 105—115

Key words: mucolytic bacteria, endotoxin, membrane proteins, barrier function, short chain fatty acids, probiotics, nutraceuticals, metabiotics, healthy and sick people

Микробиота желудочно-кишечного тракта представляет собой сложную экосистему, участвующую в многочисленных нутритивных, физиологических, иммунологических функциях, метаболических и сигнальных реакциях организма здорового и больного человека [39]. В пищеварительном тракте человека присутствует до 2500 видов микроорганизмов [35]. В настоящее время представители первых 1057 видов комменсальных кишечных бактерий, грибов и археев уже культивированы на различных питательных средах. До 150-200 новых видов микроорганизмов, населяющих пищеварительный тракт, ежегодно подвергаются дополнительной таксономической идентификации [33]. В последнее время помимо лактобацилл и бифидобактерий в качестве основы пробиотических продуктов функционального питания и живых медицинских (лекарственных) препаратов пытаются использовать новые кишечные комменсальные микроорганизмы [5, 36]. Среди перспективных кандидатов в живые пробиотические штаммы называют *Akkermansia muciniphila* (*A. muciniphila*), анаэробные бактерии с муколитической активностью, населяющие нижние отделы желудочно-кишечного тракта здорового человека. Как известно, у всех живых организмов поверхность эпителиальных клеток, взаимодействующих с окружающей средой, покрыта мукозным (слизистым) слоем, в состав которого входят вода, электролиты, липиды и различные белки. Толщина этого слоя в желудочно-кишечном тракте находится в пределах 200-800 μm . Плотные и рыхлые слои мукозного слоя на поверхности кишечника предотвращают проникновение кишечных микроорганизмов через кишечную стенку и обеспечивают проникновение низкомолекулярных пищевых и иных соединений в муколитические и другие бактерии, а также в ниже лежащие слои стенок пищеварительного тракта. Главными функциональными компонентами мукозного слоя являются муцины, представленные в нем в концентрации 1-5%; в толстой кишке муцины составляют до половины всех источников углерода. У человека идентифицировано более 20 различных муцинов, которые классифицируют на секреторные (MUC2, 5AC, 5B, 6, 7, 8, 9, 19) и муцины (MUC1, 3A, 3B, 4, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 20, 21), связанные с мембранами. MUC2 является наиболее распространенным гель-формирующим муцином кишечника. Синтез гликопептидов муцина кишечника кодируется 22 муциновыми генами, локализованными в специализированных гоблет и мукозных эпителиальных клетках. В полости кишечника также присутствуют некоторые микроорганизмы (например, *Methanobrevibacter smithii*), способные продуцировать схожие по составу и функциям бактериальные муциноподобные гликаны. Аминокислотный состав муцинов представляет собой tandemные повторы пептидов, богатые пролином, серином и треонином. Как мембранные, так и секреторные муцины высоко гликозилированы; на углеводы падает до 80% всей их массы. Муциновый гликан преимущественно состоит из GalNAc (acetyl galactosamin), GlcNAc (acetyl glucosamin), фукозы, галактозы и сиаловых кислот или NANA / NeuNAc (N-acetyl neuraminic acid) и относительно малого количества манозы. В состав гликана входят также фрагменты сульфатов. Полимеризация муцинов ведет к формированию слизи; мембранные муцины преимущественно участвуют в сигнальных связях внутри и между клетками. Деградация муцинового слоя кишечными микроорганизмами является важнейшим фактором формирования микробных

сообществ на слизистых пищеварительного тракта. В настоящее время известно более 50 мукозо-деградирующих штаммов бактерий, преимущественно принадлежащих *A. muciniphila*, *Bacteroides* spp., *Barnesiella intestinihominis*, *Bifidobacterium* spp., *Eubacterium* spp., *Lactobacillus mucosae*, *Ruminococcus* spp. [1, 2, 27, 42]. Наиболее известными муцин-деградирующими бактериями являются *A. muciniphila*. Эти бактерии впервые были выявлены из образца фекалий здоровой женщины (уроженки Кавказа) в университете г. Wageningen (Голландия); там же они получили и свое название в честь микробиолога Antoon Akkermans. В последующем эти бактерии были изолированы из фекалий различных здоровых людей (от новорожденных до лиц престарелого возраста). У ребенка *A. muciniphila* обнаруживаются уже на первом месяце жизни; их количество быстро возрастает к 6-12 месяцам и достигает уровня взрослого человека к 3 годам жизни. У грудных детей и лиц в возрасте 25-35 лет содержание этих бактерий достигало 5.0-8.8 log клеток на грамм фекалий; у 95,5% лиц старше 80 лет количество *A. muciniphila* в толстой кишке заметно снижается. Содержание этих бактерий (± 8 log клеток/мл) более высокое в дистальных отделах толстой кишки; в нижних отделах их количество уменьшается (± 4 log клеток/мл). У здоровых взрослых людей уровень *A. muciniphila* может достигать 0,5-4% всех микроорганизмов, присутствующих в толстой кишке [8, 10, 12, 28]. У жителей южной провинции Китая уровень *A. muciniphila* в толстой кишке выше, чем у европейцев [17]. Содержание этих бактерий в просвете, мукозном слое кишечника и в фекалиях здоровых людей и больных с воспалительными заболеваниями кишечника может значительно различаться. Последовательности бактериальной ДНК, соответствующие роду *Akkermansia*, выявляются не только в содержимом толстой кишки, но и в молоке матери, полости рта, поджелудочной железе, билиарной системе, тонком кишечнике и в аппендикулярном отростке [14]. Помимо человека, изоляты *A. muciniphila* были также выявлены из толстого кишечника у домашних и диких животных, птиц, рыб и рептилий [10, 44]. По современной систематике бактерии этого вида относятся к роду *Akkermansia*, который входит в семейство *Akkermansiaceae*, порядок *Verrucomicrobiales*, класс *Verrucomicrobiae*, тип (phylum) *Verrucomicrobia*. В настоящее время в *Verrucomicrobia* phylum кроме *A. muciniphila* входят еще бактерии, принадлежащие виду *Prostheco bacter uviatilis*, обнаруживаемые в микробиоте грудных детей и в материалах больных, страдающих дивертикулезом подвздошной кишки [8, 12, 33].

A. muciniphila представляют собой грамотрицательные, строго анаэробные, неподвижные, неспоро-образующие с овальными концами палочковидные микроорганизмы размером 0.5-1 μm , обнаруживаемые как отдельными клетками, так и парами или короткими цепочками [12]. На наружной мембране *A. muciniphila* идентифицированы пили-схожие белковые структуры [28]. Рост *A. muciniphila* на питательных средах происходит при диапазоне 20-40°C (оптимум 37°C), при pH 5,5-8,0 (оптимум pH 6,6) [6, 12, 23]. *A. muciniphila* являются облигатным хемоорганотрофом; оба компонента клеточных и микробных муцинов (гликан и аминокислоты муциновых пептидов) эти бактерии могут деградировать как самостоятельно, так и в ассоциации с другими микробными кишечными бактериями, утилизируя муцины как единственный источник углерода, азота и энергии [12, 14]. *A. muciniphila* также способны стимулировать продукцию муцина, увеличивать толщину мукозного слоя и барьерную функцию толстой кишки [13, 38]. Имеются сведения, что оральное введение *A. muciniphila* приводит к увеличению количества и активности муцинпродуцирующих goblet клеток [38]. С другой стороны, деградация муцина под влиянием *A. muciniphila* может снижать толщину муцинового слоя, что может повышать риск инфекционных осложнений в пищеварительном тракте [19]. Бактериальный геном *A. muciniphila* представляет собой нуклеоид с содержанием G+C порядка 47.6-55,8 mol%. В его состав входят 1408 генов (65%), контролирующие белки с из-

вестными функциями; другие 768 генов (35%) кодируют гипотетически белки, из которых 38 (1,7%) классифицируют как псевдогены. *A. muciniphila* могут синтезировать все канонические аминокислоты, а также многие ко-факторы и витамины. В геноме *A. muciniphila* присутствуют гены, ответственные за синтез пептидогликана. Генетический анализ показал способность этих микроорганизмов метаболизировать галактозу, целлобиозу, мелобиозу и фруктозу [8, 12, 45]; 78 из известных генов этих бактерий, как полагают, связаны с деградацией муцина и ответственны за синтез протеаз, гликозилгидролаз, сиалидаз, фукозидаз и сульфатаз [10, 27]. Несколько сотен белков у этих бактерий связаны с наружной мембраной; один из таких белков (33 kD) ответственен за многие позитивные эффекты этих бактерий на организм человека [8, 14, 44]. Более 600 генов *A. muciniphila* могут быть ответственны за синтез медиаторов, участвующих во взаимодействии этих бактерий с организмом человека [6, 27]. На модели безмикробных мышей, моноассоциированных *A. muciniphila*, установлена способность этих бактерий модулировать экспрессию генов в толстой (442 гена), подвздошной (253 гена) и слепой кишке (211 генов). Значительная часть этих генов связана с липидным метаболизмом, сигнальными клеточными путями, проницаемостью кишечного барьера и мембранными рецепторами иммунных клеток [13]. Молекулярные исследования генома *A. muciniphila* не выявили присутствия у них известных трансмиссивных плазмид, связанных с антибиотикорезистентностью [15]. У штамма *A. muciniphila* GP36 выявлены гены устойчивости к антибиотикам, схожие с таковыми плазмиды pRSF 1010, выявленной у *S. enterica* [17]. В геноме этих бактерий выявлено наличие двух различных CRISPR локусов, а также фрагменты фаговых нуклеиновых кислот. Эти наблюдения позволили предположить, что фаги играли определенную роль в эволюционной истории *A. muciniphila* [45].

В процессе деградации и метаболизации муцина *A. muciniphila* образуют различные низкомолекулярные соединения (например, КЦЖК), которые способны выступать в качестве источника энергии как для кишечных микроорганизмов, так и для клеток хозяина. Эти бактерии продуцируют ацетат, пропионат, небольшое количество 1,2 пропанедиола и сукцината. Добавление пребиотиков и различного количества муцина в модельных экспериментах увеличивало содержание в толстом кишечнике *A. muciniphila* и способствовало нарастанию в этих условиях пропионата и ацетата [12, 13, 44]. Эти КЦЖК, как известно, используются энтероцитами кишечника в качестве источника энергии, а также участвуют как сигнальные молекулы в работе иммунной системы и в метаболических процессах. Пропионат также участвует в повышении скорости прохождения пищевого комка вдоль кишечного тракта; напротив, ацетат тормозит транзитное время. Пропионат также у человека замедляет возникновение чувства насыщения [22]. Соотношение между ацетатом и пропионатом, образуемых *A. muciniphila*, находится под влиянием количества и разнообразия в среде сахаров, насыщения питательной среды молекулами кислорода и присутствием в ней витамина B12. *A. muciniphila* не только устойчивы к действию кислорода, но его присутствие в жидкой питательной среде в наномолярных концентрациях благоприятно воздействует на рост этих бактерий [29]. В присутствии кислорода продукция ацетата снижается, а пропионовой кислоты усиливается, что увеличивает синтез АТФ и НАДН и стимулирует рост *A. muciniphila* [14]. Уменьшение содержания в среде кислорода сопровождается снижением его токсического эффекта для *A. muciniphila* и способствует образованию бутирата. Анализ состава и содержания КЦЖК в сыворотке крови показал связь между повышенным содержанием *A. muciniphila* с сывороточным ацетатом и предотвращением избыточной массы тела за счет аноректического и противовоспалительного эффектов микробного ацетата [9]. *A. muciniphila* совместно с другими кишечными микроорганизмами способны вовлекаться и в другие метаболические реакции. Так, они могут участвовать совместно с *Anaerostipes caccae*, *Eubacterium hallii* и *Faecalibacterium prausnitzii* в продукцию

бутирата, микробного метаболита, используемого эпителиальными клетками кишечника для энергетического обеспечения пищеварительного тракта. *A. muciniphila* также принимают участие в эндогенном и микробном метаболизме сульфата и сероводорода [14]. Присутствие в кишечном тракте *A. muciniphila* модулировало метаболизм мочи и абсорбцию энергии в кишечнике животных. Исследование протеома наружной мембраны *A. muciniphila* выявило наличие у этих бактерий 79 белков, треть которых различалась при выращивании этих бактерий на различных питательных средах [6].

A. muciniphila требуют специфических условий для выращивания на сложных питательных средах (прежде всего, наличие муцина животного происхождения) [12]. Эти бактерии достаточно чувствительны к воздействию кислорода, хотя эти микробы могут быть выращены и в микроаэрофильных условиях [29]. Разработаны несколько специальных питательных сред (муцин желудка свиньи с добавлением витаминов и микроэлементов), благодаря которым при культивировании *A. muciniphila* можно получить достаточное количество микробной биомассы [12, 31]. При создании минимальной питательной среды для культивирования *A. muciniphila* выяснилось, что присутствие в этой среде L-треонина является обязательным лимитирующим нутритивным фактором для роста этих бактерий. Напротив, добавление в эту среду простых сахаров являлось важным, но не обязательным фактором поддержания роста этих микроорганизмов. Ацетилглюкозамин (GlcNAc) и N-ацетилгалактозамин (GalNAc) не могут быть синтезированы *de novo* из глюкозы; поэтому они необходимы для роста *A. muciniphila* и должны присутствовать в питательной среде для этих бактерий. *A. muciniphila* могут деградировать многие сахара, включая глюкозу, фукозу, GlcNAc и GalNAc [27, 44]. Наличие в среде GlcNAc и GalNAc, синтезируемых клетками кишечника хозяина, способствует образованию UDP-GlcNAc, который в последующем после фосфорилирования, аминирования и ацетилирования глюкозы участвует в формировании бактериального пептидогликана (конечного продукта). В процессе синтеза пептидогликана требуется глутамин для процесса аминирования и одна молекула acetyl-CoA для ацетилирования. Для осуществления этих процессов требуется АТФ для синтеза глутамина и аминирования Fru6P. Рост и накопление биомассы *A. muciniphila* происходили, если в состав питательной среды вносили казеиновый триптон, муцин, Columbia бульон или бульон на основе мозговой-сердечной основы [12, 27]. Проведенные исследования позволили разработать минимальную по составу питательную среду для роста *A. muciniphila*, в которую обязательными нутритивными компонентами являются L-треонин и GlcNAc или GalNAc [44]. Минимальная среда готовится на основе минеральной основы, из которой исключали аммоний. Поскольку витамин B₁₂ является важным фактором метилмалонилового пути для превращения сукцината в пропионат, этот витамин также иногда вводят в состав синтетической питательной среды. Внесение в синтетическую среду 0.1%, 0.5% и 1% экстракта желчи увеличивало рост этих бактерий. Присутствие в питательной среде желудочного сока напротив негативно влияло на выживаемость *A. muciniphila*. Предложены также и другие синтетические среды для выращивания *A. muciniphila*, не содержащие животные компоненты: в качестве основы этой среды используется гидролизат соевого белка (соевой пептон 16 г/л) + N-ацетилглюкозамин (GlcNAc)-1.46 г или аминокислоты (треонин-6г и пролин-6г) + N-ацетилглюкозамин-1 г. Клетки этих бактерий, выращенные на соевой среде, были в 1,5 раза более длинными, чем в среде с муцином; кроме того, многие из них полностью не разделялись [44]. По своей биологической эффективности бактерии, выращенные на различных питательных средах, не отличаются по своему эффекту на организм экспериментальных животных, в частности, по своему воздействию на метаболизм глюкозы и инсулинорезистентность [31].

A. muciniphila активно участвуют в регуляции иммунитета и барьерной функции кишечника [10, 13, 27, 28]. В пищеварительном тракте различных млекопитающих, включая человека, эти бактерии усиливают продукцию антимикробного пептида Reg3 в отношении грамположительных бактерий в толстой кишке и индуцируют слабый провоспалительный эффект Treg клеток у мышей [11, 13, 26, 38]. Модуляция воспаления и иммунной системы, осуществляемая *A. muciniphila*, происходит за счет сигнальных путей, связанных с TNF- α , IFN-гамма, IL10 и IL4 [11]. Эти иммунные эффекты *A. muciniphila* связаны с наличием на поверхности этих бактерий большого комплекса (размером более 100 kDa) мембранных белков, прежде всего PilQ (95-kD), вовлеченному в продукцию длинных поверхностных образований (пилей-жгутиков), ответственных за подвижность, адгезию, секрецию, транспорт и взаимодействие с иммунными клетками. В последующем этот мембранный белок *A. muciniphila* (названный Amuc_1100 белок), взаимодействуя с Toll-схожим рецептором 2, как оказалось, мог индуцировать широкий спектр иммуномодулирующих ответов, включая продукцию цитокинов IL6, IL8 и IL10 у сегментоядерных лейкоцитов. Иммуномодулирующая роль этого белка подтверждена как в опытах *in vitro*, так в экспериментах на различных животных. Недавно продемонстрировано, что именно этот белок *A. muciniphila* ответственен за ингибирование диабета 1 типа у животных, склонных к развитию этого заболевания [14, 27, 28]. Обнаружение в крови небольшого уровня TNF- α , IFN- γ ассоциирует у животных с повышенным содержанием *A. muciniphila* в грудном молоке [18, 27]. Будучи грамотрицательными бактериями *A. muciniphila* в своей наружной мембране также содержат липополисахаридный эндотоксин, который отличается от такового у *Escherichia coli* [50]. Более того, с использованием модели на мышах показано, что присутствие этих бактерий в кишечнике не увеличивает, а даже снижает ЛПС-эндотоксинемию у животных, находящихся длительно на диете, обогащенной жировыми компонентами [13].

Многие пищевые компоненты, поступающие в пищеварительный тракт, могут оказывать влияние на содержание в нем *A. muciniphila*. Различные низкомолекулярные олигосахариды, дисахариды, моносахариды и полиолы, используемые для диетической поддержки больных с синдромом раздраженного кишечника, могут при низких концентрациях (1,86-4,25 г/день) уменьшать общее содержание кишечной микробиоты. При назначении этих соединений в дозе 16,9-30,6 г/день в нижних отделах толстой кишки происходит увеличение содержания бутират продуцирующих кластридий (кластер XIV) и *A. muciniphila* и снижение количества *Ruminococcus torques*. При добавлении в пищу пектина содержание *A. muciniphila* у мышей заметно уменьшается по сравнению с контрольными животными. В питательных средах различного типа, содержащих повышенные количества жира и сахарозы, а также инулиновые фруктаны, *A. muciniphila* характеризовались увеличенной скоростью роста [10, 50]. Экстракты черного чая, винограда, клюквы, а также макромолекулярные процианиды яблок значительно усиливают рост *A. muciniphila* в опытах *in vitro* и в кишечнике. Эти бактерии также играют важную роль в деградации и других фенольных соединений (фенольные кислоты, флавоны, антоцианины) [26, 50]. Экстракты граната, зеленого чая и свежеприготовленный сок калифорнийского винограда различным образом влияли на численность *A. muciniphila* в кишечнике здоровых людей и мышей [20, 50]. Экстракт граната (0,18-0,28 мг/мл) в опытах *in vitro* значительно ингибировал рост этих бактерий. При исследовании влияния экстрактов граната на численность *A. muciniphila* у людей были установлены индивидуальные различия. Когда метаболизация феноловых соединений не наблюдалась, численность *A. muciniphila* падала; у лиц, которые могли превращать гранатовые эллагитаннины в уrolитинины и другие метаболиты, отмечалось повышение уровня этих бактерий [20]. Рост *A. muciniphila* в организме человека может стимулироваться и капсацином, поступающим в пищеварительный тракт с продуктами питания. Пищевые до-

бавки могут содержать также остатки GlcNA, которые способны комбинироваться с глутаматом для образования гамма-масляной кислоты (GABA) [37].

Исследование микробиоты пищеварительного тракта 60 индийских детей в возрасте 6-11 месяцев показало, что лишь у 20% из них в кишечнике присутствовали *A. muciniphila*. Назначение на протяжении 12 дней макролидного антибиотика азитромицина полностью элиминировало эти бактерии из детских фекалий. Авторы [30] этого исследования полагают, что состав кишечной микробиоты (включая содержание *A. muciniphila*) под влиянием азитромицина может специфически меняться в зависимости от возраста больных, их национальной принадлежности и места географического проживания. Назначение больным бета-лактамовых антибиотиков и ванкомицина увеличивало вдвое содержание *A. muciniphila* в толстом кишечнике [10]. Интрагастральное введение алкоголя мышам приводило к резкому уменьшению у них содержания кишечных *A. muciniphila*. Снижение численности этих бактерий может быть восстановлено оральным введением животным живых представителей этого вида бактерий; это сопровождалось снижением алкогольных повреждений печени, уменьшением стеатоза, нейтрофильной инфильтрации, а также увеличением толщины мукозного слоя кишечника мышей. Воздействие алкоголя также уменьшало количество *A. muciniphila* у больных с хроническим алкогольным стеатогепатитом. Поскольку оральное введение живых *A. muciniphila* восстанавливало целостность кишечного барьера и улучшало состояние больных, страдающих алкогольной болезнью печени, рекомендовано провести детальное клиническое наблюдение по оценке терапевтической эффективности использования *A. muciniphila* у больных с такими нарушениями [16].

В 2013 году было установлено, что большинство известных благоприятных эффектов *A. muciniphila* при введении в организм экспериментальных животных исчезает, если живые бактерии предварительно подвергаются автоклавированию [13]. В условиях медленного и слабого нагревания (30 мин при 70°C; пастеризация) бактерии этого вида не только сохраняют свою физиологическую и метаболическую активность; их благоприятный эффект на организм хозяина в этих условиях даже увеличивается [18, 28, 31].

Изучение чувствительности *A. muciniphila* к антибиотикам показало, что рост этих бактерий ингибировался пенициллинами, макролидами и тетрациклином; с другой стороны, эти бактерии оказались резистентными при воздействии аминокликозидов, гликопептидов и флюорохинолонов [29]. Исследования других штаммов *A. muciniphila* выявило, что они были устойчивы к действию флюорохинолонам и гликопептидным антибиотикам (ванкомицин и офлоксацин), но чувствительны к пенициллину, амоксициллину, цефтриаксону и имипенему. Тетрациклин и хлорамфеникол, использованные в 10 µg/мл и 25 µg/мл на плотной среде полностью ингибировали *A. muciniphila* [44].

С использованием безмикробных мышей установлено, что оральное назначение *A. muciniphila* ведет к изменениям морфологии клеток толстого кишечника, увеличивает его барьерную функцию, ведет к метаболическим и иммунным сигнальным изменениям как в пищеварительной системе, так и вне ее [8, 11, 31].

В настоящее время имеется достаточное количество публикаций, свидетельствующих, что уменьшение количества *A. muciniphila* в толстом кишечнике часто ассоциирует у людей с различными заболеваниями и патологическими синдромами: острым аппендицитом [41], аутизмом [47], атопическими заболеваниями [4], алкогольным стеатогепатитом [16], псориазом [43]. В модельных экспериментах было показано, что *A. muciniphila* участвует в регуляции жирового обмена, формировании метаболической эндотоксинемии, воспалении жировой ткани, развитии резистентности к инсулину [13; 14]. Отчетливо прослежена связь уменьшения *A. muciniphila* с ожирением, диабетом 2 типа, воспалительными поражениями пищеварительного

тракта (язвенный колит, болезнь Крона), гипертонией, патологиями печени, нейродегенеративными заболеваниями, злокачественными новообразованиями и другими патологиями человека [5, 6, 7, 14, 16, 21, 31, 34]. С другой стороны, имеются публикации, свидетельствующие, что у иммунодефицитных мышей [49], а также у мышей с аллергической диареей [40], содержание *A. muciniphila* в кишечнике резко повышено. Заметное возрастание количества этих бактерий в толстом кишечнике наблюдается у людей с повышенной массой тела и жировой ткани, колоректальным раком [46, 48], сахарным диабетом 1 типа [18, 19]. Метагеномный анализ микробиоты 345 лиц китайской национальности (контрольной группы и страдающих сахарным диабетом 2 типа) показал наличие у больных умеренного кишечного дисбиоза с отчетливым уменьшением численности бутират-продуцирующих представителей *Eubacterium* spp., *Fecalibacterium* spp., *Roseburia* spp. и увеличением у них муцин-деградирующих *A. muciniphila* и сульфат-редуцирующих *Desulfovibrio* spp. [32]. Противоречивые данные о роли *A. muciniphila* в риске или лечебно-профилактическом эффекте объясняют тем, что пептиды, образуемые этими бактериями, могут различным образом интерферировать с метаболическими и/или иммунными патогенетическими механизмами при тех или иных заболеваниях [25].

Представленный анализ опубликованных данных, полученных зарубежными исследователями и клиницистами, свидетельствует, что муколитические *A. muciniphila*, населяющие мукозный слой пищеварительного тракта, способны оказывать выраженное модулирующее действие на иммунное, метаболическое, нейро-гормональное и психическое здоровье человека. Эти бактерии фиксируются к эпителиальным клеткам кишечника; при этом, в процессе этой адгезии они формируют плотный монослой на поверхности слизистой [42]. К сожалению, детали взаимодействия *A. muciniphila* с рецепторами клеток пищеварительного тракта на всем его протяжении, также как и взаимодействие низкомолекулярных соединений, образуемых этими кишечными бактериями с мишенями органов и тканей, локализованных вне кишечника, не полностью понятны до последнего времени. Несомненно, что многие благоприятные и негативные эффекты *A. muciniphila* связаны с наличием у них поверхностных мембранных белков, прежде всего, белка *Amuc_1100*, связанного с пилиями IV типа [27, 28, 31], выраженной продукцией определенных КЦЖК (прежде всего, ацетата и пропионата) [28], стимуляцией количества и активности муцин-продуцирующих гоблет клеток, изменением толщины мукозного слоя и барьерной функции толстой кишки [13, 26, 38], модуляцией состава и структуры и химических свойств различных муцинов [2, 42], продукцией липополисахаридного эндотоксина [13] и синтезом γ -аминомасляной кислоты, вмещающейся в микробно-нейро-гуморальный аксис в кишечнике [3]. Не только живые, но и пастеризованные бактерии и даже низкомолекулярные бактериальные компоненты и метаболиты способны на животных моделях и людях индуцировать иммунные, гормональные, биохимические, метаболические и сигнальные функции и биохимические реакции в организме хозяина. Кратковременное (двухнедельное) введение *A. muciniphila* добровольцам не вызывало у них каких-либо побочных эффектов [31]. Это позволяет согласиться с мнением ряда зарубежных исследователей [5, 6, 21, 31], предлагающих рассматривать *A. muciniphila* как представителя новой генерации кишечных бактерий, которые могут служить в качестве объективных микробных маркеров при оценке состояния здоровья и диагностике ряда воспалительных и метаболических заболеваний. Нельзя исключить, что в перспективе те или иные штаммы *A. muciniphila* или их низкомолекулярные компоненты и метаболиты найдут применение в качестве перспективных профилактических и лечебных средств при некоторых заболеваниях, ассоциированных с микрoэкологическим дисбалансом кишечника человека. Инкапсулирование в водно-жировую эмульсию позволяет живым бактериям этого вида проходить через желудок при оральном назначении [44]. С другой стороны, в условиях экспе-

риментах на животных, на культурах различных клеток и на больных показано, что повышенные количества живых *A. muciniphila* могут выступать и в качестве потенциальных негативных биологических агентов при воспалительных, аутоиммунных, аллергических и раковых заболеваниях; нельзя исключать и возникновение других побочных эффектов при назначении высоких доз живых бактерий этого вида.

Анализ кишечной микробиоты около 300 здоровых жителей Японии с использованием V3-V4 секвенирования 16S рРНК показал, что численность *Akkermansia* в толстом кишечнике взрослого населения этой страны достигает 5 и более процентов всей кишечной микробиоты; у 3,6% японских женщин уровень содержания этих бактерий был ниже среднего количества этих бактерий в популяции японского населения. Предлагается разработать специальные диетические приемы и/или физические упражнения, способные помочь таким женщинам увеличивать количественный состав этих бактерий в содержимом их толстого кишечника [26]. Мы убеждены, что расширенные микробиологические, токсикологические и клинические исследования *A. muciniphila* у жителей России и ее многочисленных этносов также позволят получить дополнительные доказательства позитивной и негативной роли *A. muciniphila* в поддержании здоровья граждан нашей стран.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aguirre M. Fermentation of indigestible carbohydrates by the gut microbiota. Dissertation Degree of Doctor, Maastricht University. The Netherlands, 2016.
2. Bansil R., Turner D.S. The biology of mucus: Composition, synthesis and organization. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2018, 124: 3-15.
3. Burokas A., Arboleya S., Moloney R.D. et al. Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis: Prebiotics Have Anxiolytic and Antidepressant-like Effects and Reverse the Impact of Chronic Stress in Mice. *Biol Psychiatry*. 2017. Doi:10.1016/j.biopsych. 2016.12.031.
4. Candela M., Rampelli S., Turroni S. et al. Unbalance of intestinal microbiota in atopic children. *BMC Microbiol*. 2012, 12: 95. doi: 10.1186/1471-2180-12-95.
5. Cani P.D. Human gut microbiome: hopes, threats and promises. *Gut*, 2018: 1-10. Doi:10.1136/gutjnl-2018-316723.
6. Cani P.D., de Vos W.M. Next-Generation Beneficial Microbes: The Case of *Akkermansia muciniphila*. *Frontiers in Microbiology*, 2017,8,1765. <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.01765/full>.
7. Cekanaviciute E., Yoo B.B., Runia T.F. et al. Gut bacteria from multiple sclerosis patients modulate human T cells and exacerbate symptoms in mouse models. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2017, 114: 10713-10718.
8. de Vos W.M. Microbe Profile: *Akkermansia muciniphila*: a conserved intestinal symbiont that acts as the gatekeeper of our mucosa. *Micobiology*. 2017, 163: 646-648.
9. De la Cuesta-Zuluaga J., Mueller N.T., Corrales-Agudelo V. et al. Metformin is associated with higher relative abundance of mucin-degrading *A. muciniphila* and short-chain fatty acid producing microbiota in the gut. *Diabetes Care*. 2017, 40: 54-62.
10. Derrien M., Belzer C., de Vos W.M. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions. *Microbial Pathogenesis*, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2016.02.005>.
11. Derrien M., Van Baarlen P., Hooiveld G. et al. Modulation of mucosal immune response, tolerance, and proliferation in mice colonized by the mucin-degrader *Akkermansia muciniphila*. *Front. Microbiol*. 2011, 2: 166. Doi: 10.3389/fmicb.2011.00166.
12. Derrien M., Vaughan E.E., Plugge C.M., de Vos W.M. *Akkermansia muciniphila* gen.nov., sp.nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*. 2004, 54(Pt 5): 1469-1476.
13. Everard A., Belzer C., Geurts L. et al. Crosstalk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013,110: 9066-9071.
14. Geerlings S.Y., Kostopoulos I., de Vos W.M., Belzer C. *Akkermansia muciniphila* in the Human Gastrointestinal Tract: When, Where, and How? *Microorganisms*. 2018, 6(3), 75. doi:10.3390/microorganisms6030075.

15. Gymez-Gallego C., Pohl S., Salminen S. et al. Akkermansia muciniphila: a novel functional microbe with probiotic properties. *Benef. Microbes*. 2016; 7: 571-584.
16. Grander C., Adolph T.E., Wieser V. et al. Recovery of ethanol-induced Akkermansia muciniphila depletion ameliorates alcoholic liver disease. *Gut*. 2018, 67(5): 891-901.
17. Guo X., Li S., Zhang J. et al. Genome sequencing of 39 Akkermansia muciniphila isolates reveals its population structure, genomic and functional diversity, and global distribution in mammalian gut microbiotas. *BMC Genomics*. 2017,18(1): 800. Doi: 10.1186/s12864-017-4195-3.
18. Hänninen A., Toivonen R., Pöysti S. et al. Akkermansia muciniphila induces gut microbiota remodelling and controls islet autoimmunity in NOD mice. *Gut*. 2017: gutjnl-2017-314508. Doi:10.1136/gutjnl-2017-314508.
19. Hansson G.C. Role of mucus layers in gut infection and inflammation. *Curr. Opin. Microbiol*. 2012; 15: 57-62.
20. Henning S.M., Summanen P.H., Lee R-R. et al. Pomegranate ellagitannins stimulate the growth of Akkermansia muciniphila in vivo. *Anaerobe*. 2017, 43: 56-60
21. Hur K.Y., Lee M.S. Gut Microbiota and Metabolic Disorders, Diabetes. *Metab. J*. 2015, 39: 198-203.
22. Kolmede C.A., de Vos W.M. Gut health and the personal microbiome. In: *Nutrigenomics and Proteomics in Health and Disease*. 2017, John Wiley & Sons, Ltd. 201-219.
23. Li S.S., Zhu A., Benes V. et al. Durable coexistence of donor and recipient strains after fecal microbiota transplantation. *Science*. 2016, 352: 586-589.
24. Li J., Zhao F., Wang Y. et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension. *Microbiome*. 2017, 5:14. Doi: 10.1186/s40168-016-0222-x.
25. Mithieux G. Does Akkermansia muciniphila play a role in type 1 diabetes? *Gut*. 2018: gutjnl-2017-315732.
26. Naito Y., Uchiyama K., Takagi T. A next-generation beneficial microbe: Akkermansia muciniphila. *J. Clin. Biochem. Nutr*. 2018, 63(1): 33-35.
27. Ottman N., Davids M., Suarez-Diez M. et al. Genome-Scale Model and Omics Analysis of Metabolic Capacities of Akkermansia muciniphila Reveal a Preferential Mucin-Degrading Lifestyle. *Appl. Environ. Microbiol*. 2017, 83(18). pii: e01014-17. doi: 10.1128/AEM.01014-17.
28. Ottman N., Geerlings S.Y., Aalvink S. et al. C. Action and function of Akkermansia muciniphila in microbiome ecology, health and disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2017, 31: 637-642.
29. Ouwerkerk J.P., van der Ark R.C., Davids M. et al. Adaptation of Akkermansia muciniphila to the oxic-anoxic interface of the mucus layer. *Appl. Environ. Microbiol*. 2016. doi:10.1128/AEM.01641-16k.
30. Parker E.P.K., Prahara J., John J. et al. Changes in the intestinal microbiota following the administration of azithromycin in a randomized placebo-controlled trial among infants in south India. *Scientific Reports*. 2017; 7: 9168. DOI: 10.1038/s41598-017-06862-0.
31. Plovier H., Everard A., Druart C. et al. A purified membrane protein from Akkermansia muciniphila or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nature Med*. 2017, 23: 107-113.
32. Qin J., Li Y., Cai Z. et al. Metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012, 490: 55-60.
33. Rajilic-Stojanovic M., de Vos W. M. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. *FEMS Microbiol. Rev*. 2014, 38: 996-1047.
34. Rajilic-Stojanovic M., Guarner F., Shanahan F., de Vos W.M. Phylogenetic analysis of dysbiosis in ulcerative colitis during remission. *Inflamm. Bowel. Dis*. 2013,19: 481-488.
35. Ritari J., Salojarvi J., Lahti L., de Vos W.M. Improved taxonomic assignment of human intestinal 16S rRNA sequences by a dedicated reference database. *BMC Genomics*. 2015, 16: 1056. Doi: 10.1186/s12864-015-2265-y.
36. Román-Pérez M., Agusti A., Sanz Y. Innovation in microbiome-based strategies for promoting metabolic health. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2017, 20: 1-91.
37. Roopchand D.E., Carmody R.N., Kuhn P. et al. Dietary Polyphenols Promote Growth of the Gut Bacterium Akkermansia muciniphila and Attenuate High-Fat Diet-Induced Metabolic Syndrome, Diabetes. 2015, 64: 2847-2858.
38. Shin N.R., Lee J.C., Lee H.Y. et al. An increase in the Akkermansia spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut*. 2014, 63:727-735.

39. Sommer F., Backhed F. The gut microbiota—masters of host development and physiology. *Nat. Rev. Microbiol.* 2013, 11(4): 227-238.
40. Sonoyama K., Ogasawara T., Goto H. et al. Comparison of gut microbiota and allergic reactions in BALB/c mice fed different cultivars of rice. *Br. J. Nutr.* 2010, 103: 218-226.
41. Swidsinski A., Dorffel Y., Loening-Baucke V. et al. Acute appendicitis is characterised by local invasion with *Fusobacterium nucleatum/necrophorum*. *Gut.* 2011, 60: 34-40.
42. Tailford L.E., Crost E.H., Kavanaugh D., Juge N. Mucin glycan foraging in the human gut microbiome. *Front. Genet.* 2015, 6: 81. Doi: 10.3389/fgene.2015.00081.
43. Tan L., Zhao S., Zhu W. et al. The *Akkermansia muciniphila* is a gut microbiota signature in psoriasis. *Exp. Dermatol.* 2018, 27(2): 144-114.
44. Van der Ark K.C.H. Metabolic characterization and viable delivery of *Akkermansia muciniphila* for its future application. PhD thesis, Wageningen University, Wageningen, the Netherlands. 2018. DOI: 10.18174/427507.
45. Van Passel M.W.J., Kant R., Zoetendal E. The Genome of *Akkermansia muciniphila*, a Dedicated Intestinal Mucin Degradator, and Its Use in Exploring Intestinal Metagenomes. *PLoS ONE.* 2011, 6(3): e16876. Doi: 10.1371/journal.pone.0016876.
46. Wang X., Wang J., Rao B., Deng L. Gut flora profiling and fecal metabolite composition of colorectal cancer patients and healthy individuals, *Exp. Ther. Med.* 2017, 3: 2848-2854.
47. Wang L., Christophersen C.T., Soric M.J. et al. Low relative abundances of the mucolytic bacterium *Akkermansia muciniphila* and *Bifidobacterium* spp. in feces of children with autism. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011, 77: 6718-6721.
48. Weir T.L., Manter D.K., Sheflin A.M. et al. Stool Microbiome and Metabolome Differences between Colorectal Cancer Patients and Healthy Adults. *PLoS One.* 2013, 8: e70803. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070803>.
49. Zhang Y.J., Li S., Gan R.Y. et al. Impacts of gut bacteria on human health and diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16: 7493-7519.
50. Zhou K. Strategies to promote abundance of *Akkermansia muciniphila*, an emerging probiotics in the gut, evidence from dietary intervention studies. *J. Functionl. Foods.* 2017, 33: 194-201.

Поступила 22.01.19

Контактная информация; Шендеров Борис Аркадьевич, д.м.н., проф.,
119121, Москва, Погодинская ул., 10. стр 1, р.т. (499)248-43-93

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Б.Г.Андрюков, Л.М.Сомова, М.П.Бынина, И.Н.Ляпун

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СОХРАНЕНИЯ ПАТОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ САПРОНОЗОВ

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, Владивосток

Для межэпидемических периодов природно-очаговых сапронозов характерны различные способы сохранения жизнеспособности возбудителей в наземных паразитарных системах, связанные с различными адаптационными стратегиями, необходимыми для сохранения популяции. В отличие от спорообразующих бактерий, возбудители сапронозов используют устойчивые клеточные формы — жизнеспособное, но некультивируемое состояние (VBNC) и персистенцию. Реализация этих стратегий обусловлена влиянием различных стрессорных факторов среды обитания и характеризуется снижением метаболизма, изменением морфологии и физиологии бактериальной клетки, прекращением ее репликации. Важно, что устойчивые формы клеток сохраняют вирулентность и при наступлении благоприятных условий вновь трансформируются в активные вегетативные формы. Открытие в последние годы генетических модулей бактериальных токсин-антитоксиновых систем позволило раскрыть сложные регуляторные молекулярные меха-