

М.В. Лахтин, В.М. Лахтин, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин

МУКОЗАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ ПРОТИВ ПАТОГЕНОВ И ОПУХОЛЕЙ С УЧАСТИЕМ СИСТЕМЫ «ЛЕКТИНЫ ПРОБИОТИКОВ – ГЛИКОПОЛИМЕРЫ»

ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Рассмотрена роль лектиновых систем пробиотических бактерий, распознающих гликополимеры, в антителонезависимом мукозальном иммунитете. Предложена концепция об участии направленной синергистической сети «лектины пробиотиков – гликополимеры» в структуризации, адаптации и тропизме слизистой. Такая сеть – важный вкладчик в поддержание и усиление здорового статуса слизистой. Предложены стратегии иммунитета слизистой, вовлекающие указанную сеть против патогенов и ранних опухолеподобных клеток. Представлены данные о биологических активностях синтетических гликополимеров.

Ключевые слова: слизистая, врожденный иммунитет, пробиотические лектины, лектиновые системы, синтетические гликополимеры, муцины, микробиоценоз, биотопы, патогены, опухолеподобные клетки

MUCOSAL IMMUNITY TO THE PATHOGENS AND TUMORS INVOLVING SYSTEM “LECTINS OF PROBIOTICS – GLYCOPOLYMERS”

M.V. Lakhtin, V.M. Lakhtin, S.S. Afanasjev, V.A. Aleshkin

G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

The overview of own works is devoted to the new insights to mucosal innate immunity functioning. We described multifunctional lectin systems of probiotic bacteria (LSPB) and their complexes which recognize a wide spectrum of selected glycoconjugates. LSPB (separately or in combinations with other antimicrobials and antipathogen factors) are important contributors to biotope distant protection against pathogens. Being metabolomebiotics, LSPB form reversible complexes to natural and artificial glycopolymers of mucin type that allows building on duty dynamic network of directed cascades of replies of mucosal innate immunity. Probiotic molecular-cellular network “LSPB – glycopolymers” serves as an important synergistic system participating in biotope microbiocenosis antipathogen resistance and in Cross-Talking communications with human protective cells and systems to support prolonged healthy status of mucosa. This network influences mucosa pores, affine texture, tropism and redistribution in biotope. Mucosal innate immunity strategies of LSPB and their complexes against microbial and viral pathogens, early tumor-like mucosal cells are proposed. Biological properties of artificial glycopolymers interacted in LS were compared.

Key words: mucosa, congenital immunity, probiotic lectins, lectin system, artificial glycolymers, mucins, microbiocenosis, biotope, pathogens, tumor-like cells

Стратегические аспекты медицинской био/ нанотехнологии настоящего и будущего – в центре внимания исследователей [2, 4]. Лектины широко распространены в природе [17, 19]. Они распознают такие гликоконъюгаты (ГК), как гликопротеины, протеогликаны, (липо)полисахариды, другие модифицированные полисахариды. При этом системы ГК кофункционируют с лектинами и лектиновыми системами (ЛС). ЛС, взаимодействуя с системами ГК, образуют сеть мультифункциональных комплексов, участвуют в регуляции сложных систем биоузнавания [9]. К наиболее известным взаимодействующим с лектинами ингредиентам систем узнавания относятся антитела (АТ) и их антигены, ферменты и их модуляторы, цитокины и их индукторы, дефензины и другие антимикробные олиго/полипептиды, набор рецепторных и секретированных гликопротеинов и (глико)пептидов каскадов систем комплемента и свертывания крови, рецепторные гликопротеины клеточной поверхности и мембран, белковые гормоны и их рецепторы и другие. ЛС реализуются как универсальные помощники межмолекулярного, межклеточного, надклеточного функционирования, являются вкладчиками в тканевый (ЛС хоминга) и

органный (результат сложения в единую векторную конфигурацию всех ЛС смешанных типов) тропизмы. Лектины распознают гликотопы антительной системы (Fc- и Fab-фрагментов), являются внешними модуляторами ферментов и внутримолекулярными узнающими модулями ряда ферментов углеводного обмена (наличие участка лектинового типа, ориентирующего мишень в направлении каталитического центра) [8, 18]. При взаимодействии лектинов с мишенями в местах контактов возможно появление новых лектиновых активностей и модулирование прежних. Будучи эволюционно древними факторами узнавания, лектины являются базисом дальнейшего развития надстроечного аппарата биоузнавания, создают комфорт реализации эволюционно продвинутых механизмов узнавания, служат адапторами саморегулируемых сборок, строителями мультифункциональных ансамблей и архитектур [8, 18].

ЛСПБ функционируют как синергистические саморегулирующиеся комбинации ЛС клеточной поверхности ПБ и секретлируемых ЛСПБ [16]. ЛСПБ участвуют в сетевом распознавании муциновых ГК (МГК) (возможно ранжирование МГК для ЛСПБ одного типа), а МГК – в распознавании ЛСПБ (возможно

ранжирование ЛСПБ разного типа для МГК одного типа). ЛСПБ проявляют свойства штамм-/вид-/род-зависимых систем. Они представлены мажорными и минорными наборами лектинов. ЛСПБ включают кислые (рI 4–4.5), слабокислые (рI 5–5.5) и щелочные (рI > 7) компоненты: в случаях лектинов лактобацилл (ЛЛ 62–80 кД) и лектинов бифидобактерий (ЛБ 52–64 кД). Препараты ЛСПБ содержат катионы Ca^{2+} (преимущественно) и Mg^{2+} . Кислые ЛСПБ (кЛСПБ) обладают повышенным сродством к катионам Ru^+ , в результате чего амплифицируется число дискретных ЛСПБ-носителей.

Лектины часто используются в комбинациях с АТ, поскольку распознают внутриантигенные гликоструктуры, дополняют картины связывания АТ, обладают повышенной проницаемостью в биогели [8]. По нашим данным? ЛСПБ кофункционируют с цитокинами, оксидоредуктазами, протеиназами и гликозил-гидролазами. ЛСПБ функционируют в синергистических (обусловленных использованием различных механизмов) комбинациях с ферментами и их модуляторами, другими узнающими молекулами, в том числе в области межмолекулярных стыковочных архитектурных сочетаний впадин и выступов. Кислые и щелочные ЛСПБ эффективны в анаэробных условиях (как в случае кишечного и урогенитального трактов организма), не требуют выраженных оксидоредуктазных систем [22]. Подобно фитолектинам муцинового типа (например, мукополисахаридной форме фитогемагглютинаина из семян фасоли (ФГА-М, содержит около 49 % углеводов)). ЛСПБ индуцируют продукцию фактора некроза опухолей лимфоцитами периферической крови человека, дополняющим МГК образом модулируют миграцию внутрибрюшинных макрофагов.

Ряд принципов организации полиакриламидного геля (ПААГ) в присутствии ЛСПБ и ГК-ПАА, а также взаимодействия ЛСПБ с МГК-ПАА в клеточных суспензиях, биопленках в микропанелях и на блоте адекватны структурно-функциональной организации МО и могут быть использованы в моделировании МО. ЛСПБ кофункционируют с биосурфактантами и другими экзополимерными соединениями (ЭПС: полисахаридами и другими). Находясь в пространственной области с ЭПС, ЛСПБ участвуют в дистанционной мультислойной сборке ЭПС в пористых гелях (например, в ПААГ), дистанционном антимикробном контроле (например, на поверхности агара). Деградация ЭПС деполимеразами ПБ позволяет высвободить в окружающую среду потенциальные пребиотики, антиоксиданты, антимикробные, противовирусные и противоопухолевые эффекторы (обнаружение активностей часто сопровождается друг друга).

В присутствии ферментов ограниченного гидролиза ЛСПБ становятся источниками дополнительных про/пребиотических эффекторов (белковых, гликопептидных, олигосахаридных, других гликоконъюгатных) с возрастающей проницаемостью. ЛСПБ – члены нового класса деструкторов биопленок таких патогенов, как дрожжеподобные грибы (ДПГ) и стафилококки [16]. ЛСПБ проявляют антимикробный синергизм с антибиотиками и фитолектинами му-

цинового фитокомплекса лапчатки и звездчатки [9]. Саморегулирующиеся системы ПБ – ЛСПБ сочетают пулы клеток и молекул пробиотического биотопного компартмента, противодействующего биотопному условно патогенному компартменту и способствующего поддержанию мультиуровневого здорового баланса в биотопе [3, 24]. ПБ, экспрессирующие и продуцирующие ЛС, характеризуются выраженной способностью угнетать рост патогенов, дегradировать и лизировать сформированные патогенные массивы ДПГ и грамположительных бактерий. Популяционные пулы ПБ нарушают распределение ниш патогенных видов ДПГ в биотопе (при этом ДПГ становятся более уязвимыми комбинированным антимикробным агентам). ЛСПБ имитируют поддерживающие организм человека функции ПБ [22]. В сравнении с ПБ, ЛСПБ проявляют преимущественные свойства: могут использоваться независимо от природы биотопа (например, в урогенитальном биотопе бифидобактерии отсутствуют или мало представлены, а в случае сегментов кишечника ситуация может быть обратной, когда мало представлены лактобациллы), не требуют поддержания в биотопе специальных жизненно необходимых ПБ условий, контроля присутствия или отсутствия широкого ряда антибиотиков и токсичных для ПБ факторов. ЛСПБ инициируют, направляют, защищают и консервируют сенсibilизированные частично дедифференцированные сборки клеток человека, атакованные системами гидролаз (протеиназ и гликозил-гидролаз) окружения, как в случаях биопленок с экспонированными антигенами, имитирующими мукозальный клеточный слой, а также некоторых опухолеподобных клеток (в том числе клеток с пониженными дифференцировкой и поверхностным декором). ЛСПБ участвуют в регуляторных механизмах «чувство кворума» (Quorum Sensing) и перераспределения ниш в микробиоценозе (функционирование биотопной саморегулируемой лактобациллярной ЛС, влияние пробиотикоподобных штаммовых пулов и лидерных штаммов на перераспределение видов ДПГ в биотопе), а также в коммуникациях «перекрестные переговоры» (Cross-Talking) с защитными системами хозяина (миграция перитонеальных макрофагов, продукция цитокинов лимфоцитами крови, адресное функционирование компонента С4 системы компонента в присутствии распознающих муцины и мукополисахариды лектинов (ФГА и WGA (Wheat Germ Agglutinin – лектин из зародышей пшеницы)) [1, 7]. Применение разработанного нами метода ранжирования макрофункций и макропараметров культур ПБ и их фракций и компонентов позволило установить биотопные штаммовые пулы ПБ и лидерные штаммы, вовлекающиеся в рассчитываемое/предсказуемое перераспределение видов и субпопуляций ДПГ из того же биотопного микробиоценоза [5, 10].

Гликаны муцинового типа (О-гликаны) играют важную роль в гомеостазе, а сами муцины с определенными типами О-гликанов обладают антипатогенным действием [11, 13, 15]. Микроорганизмы слизистой формируют ее, а состав микроорганизмов отражает функциональный статус слизистой (нормальный, патологический, в том числе измененный в

рак или в сторону неоплазии) [12, 14, 27, 28]. При этом пробиотические микроорганизмы (лактобациллы и другие) взаимодействуют с муцинами, определяющими клеточные паттерны слизистой, причем сеть этих взаимоотношений прерывается в условиях патологии (под воздействием патогенов и в случаях опухолевого перерождения клеток), когда ПБ не обнаруживаются на фоне присутствия системы характеризующих патологические процессы измененных муциновых антигенподобных структур [12, 25, 27, 28]. Хотя очевидно вовлечение ряда природных полимеров в антимикробную защиту в организме человека [26], ЛСПБ, ориентированные на системы МГК [20, 21], при этом не рассматривались.

Цель работы: предложить обоснованную концепцию ЛСПБ-зависимой слизистой как мукозального органа (МО), устойчивого к патогенам и вовлекающего участие системы «лектины пробиотических бактерий – гликополимеры»; МО, направленно функционирующего против патогенных микробов и вирусов, способного предотвращать/делать обратимыми ранние появления, развитие и распределение опухолеподобных клеток и ассоциатов, а также усиливающего мукозальный иммунитет организма.

МЕТОДЫ

Источниками ЛС служили культуральные жидкости штаммов видов *Lactobacillus* (*L. amylovorus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. plantarum*) и *Bifidobacterium* (*B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. bifidum*, *B. pseudocatenulatum*, *B. gallinarum*, *B. longum*) – все из коллекции микроорганизмов при Московском научно-исследовательском институте эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского. Использовали ЛСПБ, полученные мембранной ультрафильтрацией (высокомолекулярная фракция с молекулярной массой более 27 кД) и изоэлектрофокусированием в пластине ПААГ, затем экстрагированные из ПААГ или электроблотированные на гидрофобную мембрану [9, 22]. В качестве циткиновых ЛС (ЦЛС) использовали изоэлектрофоретически разделенные и блотированные на мембране наборы множественных форм рекомбинантного белкового гормона (эритропоэтина) человека [9]. МГК в комплексах с ЛС выявляли на пористых мембранах и клеточных поверхностях. Использовали следующие водорастворимые синтетические меченые биотином МГК – соединения с известной химической структурой, содержащей линейный протяженный кор ПАА, от которого отходят случайным образом распределенные кластеры коротких цепочек углеводных остатков (www.lectinity.com) (в скобках указаны природные источники сходных гликополимеров): 1) L-Fuc-альфа-1-ПАА, альфа-L-фукан-подобный (морские беспозвоночные, бурые водоросли); 2) Gal-бета-1-ПАА, бета-галактан-подобный (растения); 3) Gal(3-сульфат)-бета-1-ПАА, 3- HSO_3 Gal-бета-1-ПАА, бета-галактан-3-сульфат (красные водоросли); 4) GaNAc-альфа-1-ПАА, содержащий поли(Tn-подобный антиген) гликополимер (ассоциированный с раком человека антиген); 5) GalNAc-альфа-1,3-Gal-бета-1-ПАА, A_{ii}-ПАА, поли(AII-группа крови-подобный антиген)-содержащий гликополимер;

6) GalNAc-альфа-1,3-GalNAc-бета-1-ПАА, F_s-ПАА, поли(антиген Форссмана- подобный)-содержащий гликополимер (гликофинголипид из слизистой кишечника, сходный с A-подобным антигеном рака человека); 7) GalNAc α 1,3GalNAc α 1-ПАА; 8) GalNAc-бета-1-ПАА, асиалированный муцин-подобный гликополимер (слюна); 9) Gal-бета-1,4GlcNAc-бета-1-ПАА, поли(LacNAc)-содержащий муцин-подобный гликополимер; 10) GlcNAc-бета-1-ПАА, хитин-подобный растворимый неразветвленный; 11) Man-альфа-1-ПАА, альфа-маннан-подобный (дрожжи, ДПГ); 12) Man(6-фосфат)-альфа-1-ПАА, 6- H_2PO_3 Man-альфа-1-ПАА, альфа-фосфоманнан (дрожжи, ДПГ); 13) (MurNAc-L-Ala-D-isoGln) β 1-, MDP-ПАА, поли(мурамилдипептид)-содержащий гликополимер, (бактериальный пептидогликан)-подобный гликополимер; 14) L-Rha-альфа-1-ПАА, альфа-L-рамнан-подобный (стрептококки); 15) Neu5Ac-альфа-2-ПАА; 16) Neu5Ac-альфа-2,3Gal1,4Glc-бета-1-, 3'-SiaLac-ПАА; 17) Gal-альфа-1,3GalNAc-альфа-1-ПАА, поли(антиген T_{ac}-подобный)-содержащий гликополимер; 18) $\text{CH}_2(\text{HOCH})_4\text{CH}_2\text{NH}$ -ПАА – в качестве контроля.

Взаимодействие меченых биотином и немеченых МГК с ЛСПБ и ЦЛС исследовали: а) в микропанелях на клеточных системах в реакциях цитоагглютинации и ее ингибирования («рассасывания» образовавшихся биоленок после добавления МГК), образования биоленок и их диссоциации, дегградации и лизиса; б) на мембране после блотинга на нее белков из ПААГ. Использовали системы клеток: а) нативные и трипсин (или сиалидаза *Clostridium perfringens*)-сенсibilизированные эритроциты человека А(II)-группы крови; б) устойчивые во времени суспензии коммерческих пекарских дрожжей *S. cerevisiae* (лиофилизированных или свежеполученных) из местного источника; в) ДПГ, лактобациллы, бифидобактерии и стафилококки – все из коллекции микроорганизмов при Московском научно-исследовательском институте эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского. Комплексы (разделенные формы ЛСПБ – ГК-биотин) на блотах проявляли конъюгатами стрептавидин-пероксидаза в присутствии хемилюминесцентного субстрата пероксидазы в оптимизированных режимах реального времени (живого изображения с экспозициями от секунд до 20 мин) в темной камере системы BioChem System (UVP, Calif.). При обработках блотов реагентами вместо 1–3%-го БСА (бычьего сывороточного альбумина) применяли твин (0,01–0,1%-й твин-80 или твин-20) в 10 мМ фосфатно-солевом буфере рН 7.2–7.4 при комнатной температуре и выше (в специальных случаях). Использовали наборы белковых/гликопротеиновых (в том числе муцинового типа) маркеров с известными молекулярными массами и рI.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На примере селективного набора МГК (табл. 1) продемонстрирована их универсальность и системность во взаимодействии с ЛСПБ и ЦЛС, штамм-/вид-/род-зависимость образующихся сборочных мозаик,

Взаимодействие гликоконъюгатов с КЛСПБ* и ЦЛС человека

№	Гликоконъюгаты (типы без ПАА)	Особенности ГК при взаимодействии с ЛС
1	**L-Фус-альфа-1-	Сильная визуализация ЦЛС (в том числе в дополнение к моноклональным АТ [МАТ]) на блоте (сильный перекрест с № 9); более рI-протяженная картина на блоте, в сравнении с № 9; характерно для ЛС видов рода бифидобактерий; штамм-зависимое слабое связывание с ЛС лактобацилл.
2	Gal-бета-1-	Диффузные картины связывания с ЛС лактобацилл на блоте, отсутствие ингибирования ГА КЛСПБ (наблюдается ее стабилизация/активация, отсутствие рассасывающей агглютинаты активности); связывание ЦЛС на блоте слабее, чем № 9.
3	3-HSO ₃ Gal-бета-1-	Преимущественное связывание на блоте с мажорными формами КЛСПБ на блоте (более выраженное, чем в случае № 12).
4	GalNAc-альфа-1-	Максимальное ингибирование ГА КЛСПБ в сравнении с № 11 и № 12; слабое связывание с КЛСПБ на блоте.
5	A _{di} -	Сильная визуализация КЛСПБ на блоте; дополняет картины № 1, № 6 и № 8; преимущество в мониторинге ЛСПБ (высокая чувствительность, меньшее время экспозиции), в сравнении с № 8; штамм-/вид-типизируемое одновременное (в режиме живого изображения) связывание с лимитированным числом мажорных и минорных полос ЛСПБ на блоте; более компактная отличающаяся картина ЛСПБ на блоте, в сравнении с № 6 (распознавание GalNAc-содержащих простых антигенов посредством системных ЛЛ и ЛБ).
6	F _s -	Сильная визуализация КЛСПБ на блоте; дополняет картины № 5 и № 8; преимущество в мониторинге ЛСПБ, в сравнении с № 8; более дискретная и более рI-протяженная картина ЛСПБ на блоте, в сравнении с № 5 (распознавание GalNAc-содержащих простых антигенов посредством системных ЛЛ и ЛБ).
7	GalNAcα1,3GalNAcα1-	Слабое связывание с ЛС на блоте.
8	GalNAc-бета-1-	Слабое связывание (несколько меньше лаг-период до начала испускания твердофазным меченым комплексом хемилюминесценции, в сравнении с № 4); максимальное число форм ЦЛС на блоте (в сочетании с МАТ).
9	LacNAc-	Сильная визуализация ЦЛС (в том числе в дополнение к МАТ) на блоте (сильный перекрест с № 1); более компактная картина на блоте, в сравнении с № 1.
10	GlcNAc-бета-1-	Слабое сходство с № 11 в реакции ингибирования ГА.
11	Man-альфа-1-	Выраженное ингибирование ГА КЛСПБ (различия ЛС лактобацилл и бифидобактерий), усиливающееся при добавлении № 12; ингибирование агглютинации дрожжевых клеток; сходство с № 12 при связывании КЛСПБ на блоте.
12	6-H ₂ PO ₃ Man-альфа-1-	Сходство с № 11 при связывании КЛСПБ на блоте.
13	MDP-	Штамм-/вид-типизируемое одновременное (в режиме живого изображения) связывание с лимитированным числом мажорных и минорных полос ЛСПБ на блоте.
14	L-Rha-альфа-1-	Связывание с ЛС на блоте до его обработки уксуснокислым 10%-м метанолом рН 2.9.
15	Neu5Acα2-	Очень слабое связывание (требуются длительные инкубации для выявления начала хемилюминесценции меченых комплексов на блоте) с агрегированными формами ЦЛС; количественные различия, в сравнении с № 16.
16	3'-SiaLac-	Слабое связывание (требуются длительные инкубации для выявления начала хемилюминесценции меченых комплексов на блоте) с агрегированными формами ЦЛС; количественные различия, в сравнении с № 15.
17	T _{αα} -	Нет связывания с ЛС на блоте.
18	CH ₂ (НОСН) ₄ CH ₂ NH-	Нет дискретных картин связывания с ЛС в интервале рI 4–8.

Примечание. * – сокращения приведены в тексте; ** – L-конфигурация, остальные ГК – в D-конфигурации, если специально не указано.

разделенных электрофорезом в пластине геля и блотированных ЛСПБ – МГК [18, 21, 22, 26]. Ожидаемые направления действия сетевых комплексов ЛСПБ – ГК адаптируют окружение для дальнейшего развития сетевых каскадов ЛСПБ и/или ГК (возможна оценка результирующей направленности как суммарного вектора действия), поддерживающих здоровый статус биотопа. Такая сеть усиливает аффинную комплементарность межклеточного узнавания (лектин клетки-1 – ГК клетки-2; ГК клетки-1 – лектин клетки-2; между поверхностноклеточными площадками экспонированных реагентов в виде кластеров) и прочность межклеточных сборок, как в случае модельных систем «сниженно дифференцированные клетки человека – пролонгированный выживающий метаболизирующий клеточный массив». ЛСПБ обладают дистанционными антимикробными активностями против ДППГ- и грамположительных патогенов (в том числе в условиях пролонгированного мультифакторного стресса).

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ КОНЦЕПЦИИ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ОРГАНИЗМА С УЧАСТИЕМ ЗАЩИТНОЙ СИСТЕМЫ ПРОБИОТИЧЕСКОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА

1. Имеют место универсальность принципов структурно-функциональной организации слизистой организма, индивидуальность и тропизм слизистой биотопа, присутствие локально меняющейся слизистой в биоритмическом и дежурном режимах.

2. Слизистая рассматривается как универсальный МО, характеризующийся совмещенными архитектурами клеток хозяина и его микробиоценозами с запрограммированными событиями (биоритмами, периодическим обновлением, другими).

3. Главные структуры МО ранжируются как иерархически соподчиненные (принципиально для каскадно-разветвленного сигналинга, независимости сигналов от «шумов») в прямом управлении с обратной связью: МО – слой слизистой (наружный, внутренний) – клеточный барьер – эпителиальная клеточная

поверхность – мембранные муцины эпителиальных клеток. Предполагают мультиуровневую регуляцию мукозального барьера [26].

4. Местные фенотипы МО отражают биотопный микробиоценоз, взаимоотношения между биотопными пробиотическим и условно патогенным компартаментами.

5. Чувствительность ДПГ (эукариотических коммуникативных патогенов и посредников взаимоотношений между бактериями и системами хозяина в биотопе) к ЛСПБ служит одним из индикаторов противоопухолевого (контролирующего появление нарушенных клеток хозяина) потенциала МО. Ранние дедифференцированные клетки могут служить индикаторами опухолевого процесса [12].

6. МО упорядочивает мукозальный слой и клеточный барьер для локализации, подчинения окружения, фиксации (в том числе с участием системы комплемента) и/или инактивации патогенов, исключения распределения патогена по всему организму, предотвращения трансформации эпителиальных клеток и ткани в опухолеподобные.

7. Имеет место сцепленное проявление антиоксидантной, антимикробной, антивирусной и противоопухолевой активностей МО.

8. Выбранная модельная система ЛСПБ является адекватной структурно-функциональной организацией МО.

9. Распознавание ингредиентов слизи в МО и локальное связывание с молекулярными и поверхностными клеточными мишенями протекают естественным путем в дежурном режиме с вовлечением ЛСПБ, ГК и их комплексов. Эти события влияют на структуризацию (пористая сеть, проходимость пор, типы и уровни суммарного и локального сродства) и регуляцию МО.

10. ЛСПБ (самостоятельно и в комплексах с ГК) адаптируют архитектуру МО для доставки ГК, их удержания и дальнейшего высвобождения (МО как адьювант). Высвобождение может направленно амплифицироваться и под воздействием местных и доставленных гидролаз (ограниченного/рестриктового расщепления) окружения. При этом пул антимикробных/антипатогенных молекул увеличивается, а его аллергенность снижается.

11. ЛСПБ контролируют патогены в МО.

12. ЛСПБ инициируют, стабилизируют, поддерживают и консервируют биотопный здоровый статус микробиоценоза (сорбированного на слизи и био пленочного).

13. Целесообразно использовать комбинации ЛС лактобацилл и ЛС бифидобактерий [10], так как метаболиты лактобацилл стабилизируют бифидобактерии в окружении (кроме того, имеет место обратная межродовая стимуляция/стабилизация).

14. Разнообразие ГК обеспечивает широту адаптивных ответов МО на стресс, терапевтический потенциал. Выбор ГК зависит от мукозального биотопа, персонафицированности биотопного статуса, диагноза пациента.

15. Разветвленная биотопная дежурная сеть ЛСПБ – ГК усиливает потенциал МО против вирусных

и других индукторов опухолей; поддерживает МО как источник терапевтических ГК и прочих ЛСПБ – МГК-зависимых эффекторов и их каскадных производных.

16. МО и его микробиоценоз функционируют как коммуникативные сообщества, обменивающиеся с биотопным окружением надклеточными сигналами с участием ЛСПБ.

17. МО служит обновляющейся библиотекой/каталогом/памятью разнообразия МГК и ЛС, диагностическим индикатором, сенсорным накопителем/амплификатором сигналов от патогенов, опухолеподобных структур.

18. ЛС-принципы организации МО важны для улучшения доставки, сохранения и дальнейшего высвобождения терапевтических агентов (АТ против раковых антигенов; супрессоров патогенов, компонентов декора нормальных клеток эпителия слизистой).

19. МО обладает адаптивной мультифункциональностью, проявляя сетевые свойства: ответы на стресс (предотвращение резких отклонений в окружающей среде), функционирование в качестве ловителя (например, радикалов и диагностических антигенов), местная доставка, выполнение адьювантных функций, конвертация окружения в стабильную/первоначальную среду, адаптивная дозированная пролонгированная «прививочная вакцинация» окружения, терапевтическое действие, открытость для кофункционирования (в том числе в коммуникациях «чувство кворума» и «перекрестные переговоры»), корректирование процессов узнавания/местной изоляции/местной консервации/пролонгации в дежурном режиме с обратной связью.

СТРАТЕГИИ ПРИМЕНЕНИЯ МУКОЗАЛЬНОГО ОРГАНА

1. Биотопный МО как естественный, стабильный и здоровый, обладающий резистентным для патогенов микробиоценозом, характеризуется экспрессией синбиотического микробного компартамента, включающего активные ЛСПБ. В результате доставленных в биотоп ЛСПБ конструкция ЛСПБ – МО усиливает структурно-функциональные консервирование и стабильность здорового статуса биотопа, его резистентность к изменениям в окружении (например, к появлению и амплификации патогенных микробов и вирусов, а также индуцированных патогенами опухолеподобных клеток и тканей).

2. Доставка извне сконструированного на основе ЛСПБ МО в проблемный биотоп должна способствовать обмену с нарушенной слизью (например, в случае слизи, насыщенной связанными из окружения МГК) и позволит перераспределить события с целью поддержания здорового статуса биотопа (например, ректального и вагинального).

3. Доставка конструкции (ЛСПБ – выбранный набор ГК) в МО могла бы не только усилить состояние биотопа, но также позволила бы использовать конструкцию в качестве источника адресных антимикробных и антивирусных препаратов и вакцинных ингредиентов, базирующихся на участии МГК. Например, некоторые сульфатированные ГК проявляют

активность против вирусов иммунодефицита человека, а хитозаны (растворимые имитаторы хитина) обнаруживают антимикробные свойства.

Конструкция (ЛСПБ – выбранный набор МГК) в качестве поддерживающей биотоп будет усиливать синбиотическое действие МО и повышать зависимость от мишеней эффективность доставленных в биотоп терапевтических АТ, антигенов, ферментов, антибиотиков и бактериофагов.

4. Прочие стратегии использования МО базируются на безклеточных ЛСПБ. Антимикробные стратегии МО, использующие ЛСПБ, включают следующие доминирующие синергистические комбинации ЛЛ и БЛ: а) против патогенных ДПГ (*S. albicans*, БЛ > ЛЛ) и патогенных грамположительных бактерий (*S. aureus*, ЛЛ > БЛ); б) анти-*S. albicans*-каскад «кислые БЛ – щелочные ЛЛ»; в) анти-*S. albicans*-комбинации ЛСПБ и фитолектинов, БЛ и азолов. Преимущество таких системных комбинаций заключается в независимости от присутствия ПБ, требующих специальных условий поддержания их выживаемости. Недостатки – в неспособности создать ПБ-содержащий дополнительный барьер в пределах МО и в отсутствии в биотопе локальной доставки ЛСПБ, продуцируемых ПБ.

5. В случае появления опухолеподобных частично дедифференцированных клеток базирующийся на ЛСПБ МО будет функционировать в соответствии со стратегией «обратимого достраивания нарушенных клеток или их обратимой декорации», когда измененная локальная слизистая будет достраиваться и станет близкой по структуре с главным/доминирующим мукозальным массивом, что предотвратит амплификацию опухолеподобных клеток и дальнейшее развитие опухоли. Одновременно возможно достигнуть усиления тропизма нарушенных клеток к противоопухолевым агентам.

6. Взаимодополняющее кофункционирование антителонезависимой сети ЛСПБ – МГК с системой комплемента (в норме и при системных болезнях), в том числе антителонезависимой системой С4 [1, 6, 7]. Действительно, взаимодействующие с мукополисахаридами и муцинами лектины (ФГА и WGA) конкурируют с изотипом С4В в реакции связывания С4В с липополисахаридами грамотрицательных бактерий [1]. Кроме того, по данным изоэлектрофокусирования в ПААГ сывороток пациентов с инфекционными болезнями, в области расположения С4В обнаруживаются комплексы IgА (одного из показателей мукозального иммунитета) и белка-А стафилококков *S. aureus*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты указывают на важность ЛСПБ и МГК в поддержании антипатогенной и противоопухолевой способности любого типа биотопной слизистой (кишечной, урогенитальной, ротоглоточной, легочной, почечной, другой), что усиливает мукозальный иммунитет организма в целом. Концепция и основные на ней стратегии подчеркивают главные принципы сбалансированного использования ЛСПБ в конструировании МО, резистентного к сигналам стресса (МО как направленной регулируемой мультипотентной аффинной архитектуры, обладающей

дистанционным контролем с участием выбранных комплексов ЛСПБ – МГК). Предложенные стратегии указывают на перспективы развития МО для терапии системных и других категорий болезней. Концепция и стратегии важны для моделирования и тестирования элементов и ингредиентов МО. Результаты полезны для дальнейшего развития экспериментальных подходов к биомедицинской инженерии. ЛСПБ – МГК являются универсальной антителонезависимой защитной системой в организме, дополняющей систему комплемента, кофункционирующей и синергически действующей с ней.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Лахтин М.В. Варианты изотипирования компонента С4 комплемента человека: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2008. – 22 с.

Lakhtin MV (2008). Variants of isotyping C4 component of human complement: Abstract of Dissertation of Candidate of Biological Sciences [Varianty izotipirovaniya komponenta S4 komplekenta cheloveka: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk], 22.

2. Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Несвижский Ю.В., Поспелова В.В., Лахтин М.В., Воропаева Е.А., Черепанова Ю.В., Агапова Ю.В. Стратегические аспекты конструирования пробиотиков будущего // Вестник РАМН. – 2008. – № 2. – С. 33–44.

Lakhtin VM, Afanasjev SS, Aleshkin VA, Nesvizhsky YV, Pospelova VV, Lakhtin MV, Voropaeva EA, Cherepanova YV, Agapova YV (2008). Strategical aspects of construction of future probiotics [Strategicheskie aspekty konstruirovaniya probiotikov buduschego]. *Vestnik RAMN*, 2, 33–44.

3. Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Караулов А.В., Алешкин А.В., Несвижский Ю.В., Байракова А.Л., Афанасьев М.С., Воропаева Е.А. Влияние лектинов пробиотических бактерий на условно-патогенный и пробиотический компартменты микробиоценоза биотопа человека // Астраханский медицинский журнал. – 2014. – Т. 9, № 2. – С. 51–58.

Lakhtin MV, Afanasjev SS, Lakhtin VM, Aleshkin VA, Karaulov AV, Aleshkin AV, Nesvizhsky YV, Bayrakova AL, Afanasjev MS, Voropaeva EA (2014). Influence of the probiotic bacterial lectins on potentially pathogenic and probiotic compartments of the human biotope microbiocenosis [Vliyanie lektinov probioticheskikh bakterij na uslovno-patogennyj i probioticheskij kompartmenty mikrobiocenoza biotopa cheloveka]. *Astrahanskij medicinskij zhurnal*, 9 (2), 51–58.

4. Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Лахтин М.В., Алешкин В.А., Несвижский Ю.В., Поспелова В.В. Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии // Вестник РАМН. – 2008. – № 4. – С. 50–55.

Lakhtin VM, Afanasjev SS, Lakhtin MV, Aleshkin VA, Nesvizhsky YV, Pospelova VV (2008). Nanotechnologies and prospects of their using in medicine and biotechnology [Nanotehnologii i perspektivy ih ispol'zovaniya v medicine i biotehnologii]. *Vestnik RAMN*, 4, 50–55.

5. Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Лахтин М.В., Байракова А.Л., Алешкин В.А. Диагностика дестабилизирующих упорядоченность биотопа условно патогенных

штаммов пациента в присутствии пробиотикоподобного пула бактерий из того же популяционного биотопа // Инфекционные болезни. – 2014. – Т. 12; Прил. № 1. – С. 171–172.

Lakhtin VM, Afanasjev SS, Lakhtin MV, Bayrakova AL, Aleshkin VA (2014). Diagnostics of relatively pathogenic patient strains destabilizing biotope ordering in the presence of probiotic like bacterial pool from the same population biotope. *Infekcionnye bolezni*, 12 (1), 171-172.

6. Лахтин М.В., Караулов А.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Несвижский Ю.В., Афанасьев М.С., Воропаева Е.А., Алешкин А.В. Лектин-гликоконъюгатные системы в организме человека // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. – № 1. – С. 27–36.

Lakhtin MV, Karaulov AV, Lakhtin VM, Aleshkin VA, Afanasjev SS, Nesvizhsky YV, Afanasjev MS, Voropaeva MA, Aleshkin AV (2012). Lectin-glycoconjugate systems in human organism [Lektin-glikokonjugatnie sistemy v organisme tcheloveka]. *Immunopatologija, allergologija, infektologija*, 1, 27-36.

7. Лахтин М.В., Козлов Л.В., Лахтин В.М., Дьяков В.Л. Выявление дефицитов изоформ C4A и C4B компонентов комплемента человека изоэлектрофокусированием и по различию в химической реакционной способности активированных форм // Биоорганическая химия. – 2007. – Т. 33. – С. 464–469.

Lakhtin MV, Kozlov LV, Lakhtin VM, Djakov VL (2007). Determining deficits of isotypes of C4A and C4B components of human complement by isoelectric focusing and by the differences in chemical reaction capability of activated forms [Vyjavlenie deficitov izotipov C4A i C4B komponentov komplekta cheloveka izojelektrofokusirovaniem i po razlichiju v himicheskoj reakcionnoj sposobnosti aktivirovannyh form]. *Bioorganicheskaja himija*, 33, 464-469.

8. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Алешкин А.В. Лектины и ферменты в биологии и медицине. – М.: Династия, 2010. – 496 с.

Lakhtin MV, Lakhtin VM, Aleshkin VA, Afanasjev SS, Aleshkin AV (2010). Lectins and enzymes in biology and medicine [Lektiny i fermenty v biologii i meditsine], 496.

9. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Корсун В.Ф., Афанасьев М.С. Лектины: в растворах и сорбированные, активные и латентные, системные и сетевые, флуоресцентные и хемилуминесцентные, в регуляции сборок и деградации, синергистические и синбиотические // Здоровье и образование в XXI веке. – 2014. – Т. 16, № 3. – С. 64–68.

Lakhtin MV, Lakhtin VM, Afanasjev SS, Alyoshkin VA, Korsun VF, Afanasjev MD (2014). Lectins: in solutions and occluded, active and latent, system and network, fluorescent and chemiluminescent, regulating assemblies and in degradation, synergistic and symbiotic [Lektiny: v rastvorah i sorbirovannyye, aktivnyye i latentnyye, sistemnyye i setevyye, fljuorescentnyye i hemiljuminescentnyye, v reguljacii sborok i degradacii, sinergisticheskie i sinbioticheskie]. *Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke*, 16 (3), 64-68.

10. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Черепанова Ю.В., Поспелова В.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Ранжирование качеств производственных ингредиентных пробиотических штаммов бифидобактерий и лактобацилл человека для прогнозирования новых про-

биотических формул // Сб. материалов междунар. науч.-техн. конф. «Современные достижения биотехнологии» и международного научно-практического семинара «Феномен молочной сыворотки: синтез науки, теории и практики» (г. Ставрополь, 21–23 июня, 2011). – М.: НОУ «Образовательный научно-технический центр молочной промышленности», 2011. – Ч. 2. – С. 49–51.

Lakhtin MV, Lakhtin VM, Cherepanova YV, Pospelova VV, Afanasjev SS, Aleshkin VA (2011). Ranging qualities of industrial ingredient probiotic strains of human bifidobacteria and lactobacilli to prognose new probiotic formulas [Ranzhirovanie kachestv proizvodstvennyh ingredientnyh probioticheskikh shtammov bifidobakterij i laktobacill cheloveka dlja prognozirovaniya novyh probioticheskikh formul]. *Sb. materialov mezhdunar. nauch.-tehn. konf. «Sovremennyye dostizhenija biotehnologii» i mezhdunarodnogo nauchno-prakticheskogo seminar «Fenomen molochnoj syvorotki: sintez nauki, teorii i praktiki» (g. Stavropol', 21–23 ijunja, 2011)*, 2, 49-51.

11. Bergstrom KSB, Xia L (2013). Mucin-type O-glycans and their roles in intestinal homeostasis. *Glycobiology*, 23 (9), 1026-1037.

12. Crouzier T, Jang H, Ahn J, Stocker R, Ribbeck K (2013). Cell patterning with mucin biopolymers. *Biomacromolecules*, 14 (9), 3010-3016.

13. Domino SE, Hurd EA, Thomsson KA, Karnak DM, Larsson JMH, Thomsson E, Bäckström M, Hansson GC (2009). Cervical mucins carry $\alpha(1,2)$ fucosylated glycans that partly protect from experimental vaginal candidiasis. *Glycoconjugate J.*, 26 (9), 1125-1134.

14. Jakobsson HE, Rodríguez-Piñeiro AM, Schütte A, Ermund A, Boysen P, Bemark M, Sommer F, Bäckhed F, Hansson GC, Johansson MEV (2015). The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier. *EMBO Reports*, 16 (2), 164-177.

15. Kavanaugh NL, Zhang AQ, Nobile CJ, Johnson AD, Ribbeck K (2014). Mucins suppress virulence traits of *Candida albicans*. *mBio*, 5 (6), e01911-14.

16. Lakhtin M, Aleshkin V, Lakhtin V, Afanasiev S, Pozhalostina L, Pospelova V (2010). Probiotic lactobacillus and bifidobacterial lectins against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* clinical strains: New class of pathogen biofilm destructors. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2, 186-196.

17. Lakhtin V, Lakhtin M, Aleshkin V (2011). Lectins of living organisms. *Anaerobe*, 17, 452-455.

18. Lakhtin MV, Lakhtin VM, Aleshkin VA (2011). Lectin and enzyme relationships in microbiology. *International Journal of Molecular and Clinical Microbiology*, 1, 9-14.

19. Lakhtin M, Lakhtin V, Aleshkin V, Afanasiev S (2011). Lectins of beneficial microbes: system organization, functioning and functional superfamily. *Beneficial Microbes*, 2, 155-165.

20. Lakhtin MV, Lakhtin VM, Aleshkin AV, Afanasiev SS, Aleshkin VA (2013). Differences and similarities between new probiotic bifidobacterial and lactobacillus lectin systems interacting to glycoconjugates. *Glycoconjugate J.*, 30, 375-376.

21. Lakhtin MV, Lakhtin VM, Aleshkin AV, Afanasiev SS, Aleshkin VA (2013). Functional similarities and differences between new lectin systems in human

organism: protein hormone and probiotic bacterial. *Glycoconjugate J.*, 30, 370.

22. Lakhtin M, Lakhtin V, Aleshkin A, Bajrakova A, Afanasiev S, Aleshkin V (2012). Lectin systems imitating probiotics: Potential for biotechnology and medical microbiology. *Probiotics*, 417-432.

23. Lakhtin VM, Lakhtin MV, Bajrakova AL, Afanasiev SS, Aleshkin VA (2013). *Candida albicans*: new aspects of pathogenicity, interaction to antifungals, biofilms and preventive anti-candida strategies. *Candida albicans: Symptoms, causes and treatment options*, 145-152.

24. Lakhtin MV, Lakhtin VM, Afanasiev SS, Bajrakova AL, Aleshkin VA, Afanasiev MS, Karaulov AV, Korsun VF (2014). Human healthy status supported by probiotic systems recognizing glycoconjugates: one more strategy of supporting healthy biotope. *European Science and*

Technology: materials of the IX international research and practice conference (Munich, December 24–25, 2014), 414-422.

25. Lazaris AC, Chatzigianni EB, Paraskevakiou H, Tseleni-Balafouta S, Davaris PS (2000). Lectin histochemistry as a predictor of dysplasia grade in colorectal adenomas. *Pathol. Oncol. Res.*, 6 (4), 265-271.

26. Mukherjee S, Vaishnav S, Hooper LV (2008). Multi-layered regulation of intestinal antimicrobial defense. *Cell Mol. Life Sci.*, 65 (19), 3019-3027.

27. Van Tassell ML, Miller MJ (2011). Lactobacillus adhesion to mucus. *Nutrients*, 3, 613-636.

28. Zeller G, Tap J, Voigt AY, Sunagawa S, Kultima JR, Costea PI et al. (2014). Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. *Molecular Systems Biology*, 10, 766.

Сведения об авторах

Information about the authors

Лактин Михаил Владимирович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Московского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, 10; тел.: 8 (495) 708-02-62; e-mail: info@gabrich.com)

Lakhtin Mikhail Vladimirovich – Cand of Biological Sciences, Senior Research Officer of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology (125212, Moscow, ul. Admiral Makarova, 10; tel.: +7 (495) 708-02-62; e-mail: info@gabrich.com)

Лактин Владимир Михайлович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник Московского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского

Lakhtin Vladimir Mikhaylovich – Doctor of Biological Sciences, Chief Research Officer of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology

Афанасьев Станислав Степанович – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора Московского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского (e-mail: afanasievss409.4@bk.ru)

Afanasjev Stanislav Stepanovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Deputy Director of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology (e-mail: afanasievss409.4@bk.ru)

Алешкин Владимир Андрианович – доктор биологических наук, профессор, заместитель директора Московского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского

Aleshkin Vladimir Andrianovich – Doctor of Biological Sciences, Professor, Director of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology