

9. Трифоненко А.Е., Гульнева М.Ю. Условно-патогенные микроорганизмы в этиологии гнойно-некротических форм синдрома диабетической стопы. Вестник СПбГУ. 2013, 11 (2): 115-120.
10. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М., ГЭОТАР-Медиа, 2013.
11. Уткина Т.М., Попова Л.П., Карташова О.Л. Фенотипическая характеристика и генетические детерминанты патогенности *Staphylococcus aureus*, выделенных у бактерионосителей, проживающих на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения воздушной среды. Журн. микробиол. 2015, 4: 35-40.
12. Шаркова В.А. Лайман Е.Ф., Мазур М.Е. Генетически обусловленная патогенность и антибиотикорезистентность штаммов *Staphylococcus*. Тихоокеанский медицинский журнал. 2014, 3: 46-49.
13. Burchacka E., Skoreński M., Sieńczyk M. et al. Phosphonic analogues of glutamic acid as irreversible inhibitors of *Staphylococcus aureus* endoproteinase GluC: an efficient synthesis and inhibition of the human IgG degradation. Bioorganic Medicinal Chemistry Letters. 2013, 23 (5): 1412-1415.
14. Eibach D., Nagel M., Hogan B. et al. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* among Children in the Ashanti Region of Ghana. PLoS One. 2017, 12 (1): e0170320.
15. Jiang B., Yin S., You B. et al. Antimicrobial resistance and virulence genes profiling of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in a burn center: A 5-year study. Microb Pathog. 2018, 114: 176-179.
16. Kane T.L., Carothers K.E., Lee S.W. Virulence Factor Targeting of the Bacterial Pathogen *Staphylococcus aureus* for Vaccine and Therapeutics. Current Drug Targets. 2018, 19 (2): 111-127.
17. Novick R.P., Geisinger E. Quorum sensing in staphylococci. Annu. Rev. Genet. 2008, 42: 541-564.
18. Shaw L., Golonka E., Potempa J. et al. The role and regulation of the extracellular proteases of *Staphylococcus aureus*. Microbiology. 2004, 150: 217-228.
19. Zanger P., Nurjadi D., Schleucher R. et al. Import and Spread of Panton-Valentine Leukocidin—Positive *Staphylococcus aureus* Through Nasal Carriage and Skin Infections in Travelers Returning From the Tropics and Subtropics. Clinical Infectious Diseases. 2011, 54 (4): 483-492.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

А.Л.Бурмистрова, Ю.Ю. Филиппова, А.В.Тимофеева

МИКРОБНЫЙ КОНСОРЦИУМ И ОКСИТОЦИН В СОЦИАЛЬНОМ ПОВЕДЕНИИ ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

Челябинский государственный университет

Цель. Оценить структуру микробного консорциума кишечника и уровень окситоцина в плазме крови в контексте выраженной социальной недостаточности у детей с расстройствами аутистического спектра. *Материалы и методы.* Обследованы 44 ребенка с расстройствами аутистического спектра, которые были поделены на две группы: 23 ребенка с отсутствием признаков социального контакта и 21 человек с сохраненным социальным контактом. Группу сравнения составили 39 типично развивающихся детей соответствующего пола и возраста. Структуру и количество микроорганизмов тонкого кишечника определяли с помощью специфических липидных маркеров в периферической крови методом газовой хромато-масс спектрометрии микробных маркеров. Концентрацию окситоцина оценивали в плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. *Результаты.* Биохимические сигналы экологической системы — хозяин-ассоциированного микробного консорциума (липидом) и хозяина (нейропептид-окситоцин), при балансе отношений между ними — здоровье, работают в общем контексте — социализации метаорганизма, однако контекст может меняться при дисбалансе системы — болезнь (расстройства аутистического спектра), что способно привести к социальной недостаточности. *Заключение.* Исследования в данном направлении

помогут, как мы полагаем, приблизиться к пониманию механизмов, лежащих в основе социальных дефицитов при аутизме, что позволит определить пути их коррекции.

Журн. микробиол., 2018, № 4, С. 62—67

Ключевые слова: микробиота тонкого кишечника, окситоцин, расстройства аутистического спектра, социальный контакт

A.L.Burmistova, Yu.Yu.Filippova, A.V.Timofeeva

MICROBIAL CONSORTIUM AND OXYTOCINE IN THE SOCIAL BEHAVIOR OF CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS

Chelyabinsk State University, Russia

Aim. To assess the structure of the intestinal microbial consortium and the level of oxytocin in blood plasma in the context of severe social insufficiency in children with autism spectrum disorders. *Materials and methods.* 44 children with autism spectrum disorders were divided into two groups: 23 children with no signs of social contact and 21 people with preserved social contact. The comparison group was consisted of 39 typically developing children of the appropriate gender and age. The structure and quantity of microorganisms of the small intestine was determined with the help of specific lipid markers in peripheral blood by gas chromatography-mass spectrometry of microbial markers. The concentration of oxytocin was assessed in plasma by the method of ELISA. *Results.* Normally, the biochemical signals of the ecological system (the host-associated microbial consortium and the neuropeptide-oxytocin) work in the general context of the socialization of the meta-organism. However, an imbalance of the system (disease — autism spectrum disorders) can lead to change context and social insufficiency. *Conclusion.* Research in this direction will help, as we believe, to understand of the mechanisms underlying social deficits in autism, which will allow us to determine the ways of their correction.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 4, P. 62—67

Key words: small intestine microbiota, oxytocin, autistic spectrum disorders, social contact

ВВЕДЕНИЕ

Расстройства аутистического спектра (РАС) определяют как гетерогенную патологию нейроразвития, которая встречается с частотой примерно один случай на каждого из 68 детей, при соотношении мальчиков к девочкам 4:1. Чаще всего РАС диагностируется в первые три года, которые определяют как постнатальный критический период в развитии мозга, так как в это время происходит опыт-зависимая аранжировка нейронных окружностей. Общим свойством аутистических детей является атипичное поведение в ответ на сенсорные стимулы. Необходимо отметить, что нарушение сенсорного процессинга является наиболее распространенным симптомом у детей с РАС по отношению к другим нарушениям развития и тяжесть его коррелирует с тяжестью социальной недостаточности [8]. К сожалению, и на сегодня этиология данного заболевания не известна. Хотя во многих исследованиях подчеркивается его генетическая основа, но в равной степени в качестве факторов риска указываются условия окружения, инициирующие нарушения в программах развития мозга. РАС коморбиден со множеством других заболеваний, среди которых нарушения со стороны ЖКТ, практически всегда ассоциированные с дестабилизацией микробного сообщества кишечника, отмечаются наиболее часто. Как отмечают Dinan T.G. et al. [5], деструктурирование микробной

составляющей организма хозяина (человека) несет множество критических последствий для его физиологических процессов, включая социальное поведение и процессы познания, в различные периоды жизни и, особенно, в критические периоды — пренатальное и постнатальное развитие, подростковый возраст, старость. Таким образом, мы можем предполагать, что основные (возможно большинство) симптомы изменения социального поведения при РАС могут быть связаны с характером микробного консорциума больного ребенка и изменением процессинга сенсорной информации в различных отделах мозга. С позиций современной биологии организм человека является интегральной системой, включающей элементы хозяина — клетки и гены, являющиеся историческими продуктами ряда анцестральных симбиозов, и микросимбиозы из представителей различных доменов жизни (вирусы, археи, бактерии, грибы, простейшие, гельминты), которая носит название метаорганизм. Функции такой системы — анатомическая, физиологическая, генетическая, иммунная и развития вовлечены в формирование ассоциативного баланса отношений с множеством видов микромира на основе общих сигнальных систем, что свидетельствует о ее конгруэнтности [6, 9]. Более того, наблюдения, сделанные в последние годы, позволяют взглянуть на значимость оси метаорганизма микробиота-кишечник-мозг с новых позиций. Так, в стадии доказательств находится положение о том, что плацента человека является «гаванью» уникального низко-обогащенного микробиома, что, возможно, позволяет младенцам еще внутри матки приобретать колонистов из плаценты, и степень колонизации варьирует в течение всего периода беременности [3]. В итоге, первые критические события для нормального развития мозга — нейруляция, кортикальный нейрогенез, нейрогенез гиппокампа, формирование астроцитов и старт глиогенеза, проходят, как можно предположить, в «объятиях» плацентарного микробиома, что является еще одним подтверждением нашей конгруэнтности и нашего ко-развития [4, 6]. Итак, наш метаорганизм владеет человек-ассоциированным микробиомом, ограниченным по разнообразию таксонов, который для сохранения себя в эволюции должен обеспечить себе не только вертикальную трансмиссию, но и пролонгированную рециркуляцию среди социальных групп, что позволяет микробиому совместить свой генетический профиль с полиморфным геномом макроорганизма и, таким образом, найти нового хозяина. Такая цель достигается расширением своего разнообразия (по гено- и фенотипическим свойствам) и активацией программ специфического социального поведения среди членов человеческой популяции. В настоящее время к наиболее изученным микросимбионтам метаорганизма относится бактерiom, члены которого встали на путь социальной жизни около 3,5 млрд лет назад и успешно используют и сегодня феномен социального поведения: демонстрируют индивидуальный клеточный сенсинг и поведение также хорошо, как кооперативный информационный процессинг, включающий коллективное восприятие, анализ информации и подготовку и выпуск совместного решения, привлекая для его исполнения нейро-эндокринную систему хозяина (макроорганизма) и манипулируя его поведением [1, 2]. Рядом авторов высказана гипотеза, что трансмиссия мутуалистических микросимбионтов между макроорганизмами работает как селективная сила, иницирующая социальность и формирование социальных структур, которые определяют психобиологическую основу групповой жизни, социальное восприятие, выбор партнера и сексуальное

поведение, а также обладает потенциалом воздействия на развитие, выживаемость и репродуктивный успех индивидуумов, особенно входящих в социальную группу родственников [9, 10]. Это не удивительно, так как регуляторные сети эукариотических хозяев структурированы для осуществления функций в контексте взаимодействий с резидентной микробиотой [1, 6]. Как показало изучение приматов, наиболее значимыми в трансмиссии живых микроорганизмов между членами группы являются прямые механизмы, зависящие от физических контактов: социального груминга, взаимодействий «рот-рот-поцелуй», при котором одновременно происходит взаимный обмен микробами между партнерами и визуализация выражения лица (что, вероятно, предназначено для передачи эмоциональных состояний) и сексуальных отношений [10]. В последние годы установлено, что при взаимных контактах тел метаорганизмов происходит стимуляция продукции окситоцина — «социального гормона», участвующего в процессе формирования социальных коммуникаций у различных видов [7]. Ассоциация условных (контакт «рот-рот») и безусловных стимулов (продукция окситоцина) усиливает социальное поведение через ассоциативное обучение и, таким образом, индуцирует соответствующий ответ (в т.ч. освобождение окситоцина) даже в отсутствии спаривания [10]. Внимание исследователей к окситоцину сформировалось недавно, в связи с результатами ряда исследований о способности его к модуляциям многих аспектов социальных отношений, включая связь «родители-дети» и групповые связи. Высказано предположение, что в эволюции он выполняет чрезвычайно значимую роль в социальных контактах, включая сексуальное поведение, выражение сочувствия, доверия и групповое покровительство [7]. Более того, на сегодня не вызывает сомнений, что связь микробное сообщество-окситоцин-социальное узнавание/социальное поведение подкреплена еще одной системой — обоняние, так как бактерии, похоже, были и являются соучастниками в продукции одорантов, способных обуславливать социальное поведение [7]. Эти данные являются еще одним подтверждением, что микробиом оказывает влияние на многие аспекты социального поведения человека.

Цель работы — оценить структуру микробного консорциума кишечника и уровень окситоцина в плазме крови детей с РАС в контексте выраженной социальной недостаточности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

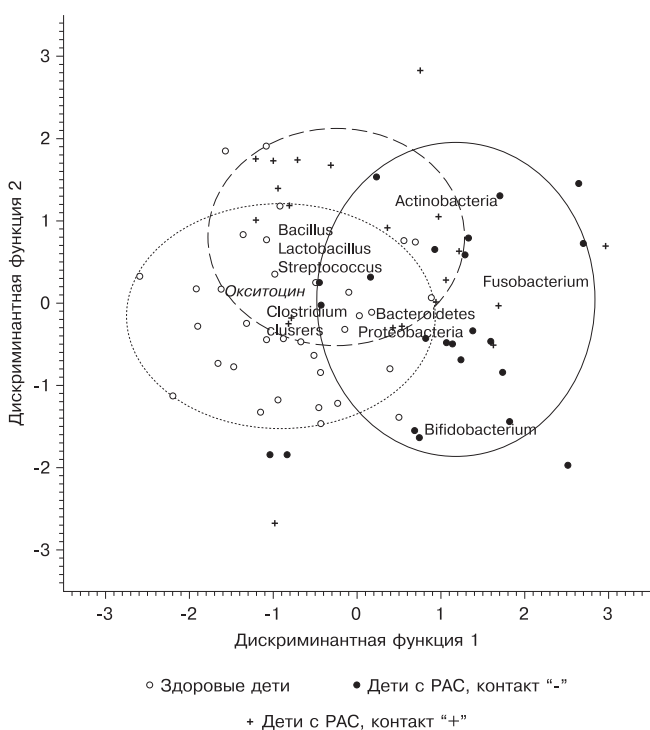
Были обследованы 44 ребенка с РАС: 37 мальчиков (84%) и 7 девочек (16%) в возрасте от 3 до 12 лет. Дети, включенные в исследование, имели диагнозы по МКБ-10: F84.0, F84.1 и F83.1. На основании клинического анамнеза, в зависимости от наличия/отсутствия социального контакта (учитывались такие признаки, как присутствие зрительного контакта, указательного жеста, узнавания матери, общение с другими детьми). Обследованные были поделены на две группы: 23 ребенка с отсутствием признаков социального контакта и 21 ребенок с сохраненным социальным контактом. Группу сравнения составили 39 типично развивающихся детей (ТРД) соответствующего пола и возраста. У всех родителей получено информированное согласие об участии. Работа одобрена этическим комитетом Челябинского государственного университета (протокол № 1 от 16.05.2016.).

Для изучения структуры и количественного состава микробиоты тонкого кишечника определяли специфические химические маркеры микроор-

ганизмов (жирные кислоты, альдегиды, спирты и стерины) в периферической крови с помощью метода газовой хроматографии-масс спектрометрии микробных маркеров (ГХ-МСММ), предложенного Осиповым Г.А., 2009. Концентрацию окситоцина оценивали в плазме крови методом твердофазного иммуоферментного анализа наборами реагентов Peninsula Lab. International Inc. (Калифорния, США). Для оценки значимости межгрупповых различий использовали критерий Стьюдента. Для обнаружения взаимосвязи между микробным консорциумом тонкого кишечника, окситоцином и социальным поведением детей с РАС применяли дискриминантный анализ. Все расчеты и графические построения выполнены в пакете SPSS for Windows (v. 15.0., SPSS Inc.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе работы нами были определены липидные маркеры более 50 видов/родов микроорганизмов, принадлежащих к пяти основным типам тонкого кишечника: Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria, и системные уровни окситоцина в группах ТРД и детей с РАС с наличием/отсутствием социального контакта (рис.).



Взаимосвязь микробного консорциума тонкого кишечника и окситоцина с наличием/отсутствием социального контакта у детей с РАС.

На рисунке показано расположение исследуемых показателей (структура микробиоты и системный уровень окситоцина) и обследуемых лиц в пространстве двух дискриминантных функций. Белыми точками и эллипсом с мелким пунктиром показано расположение типично развивающихся детей; черными точками и эллипсом со сплошной линией — детей с РАС с отсутствием социального контакта; звездочками и эллипсом с крупным пунктиром — детей с РАС с наличием социального контакта.

с наличием/отсутствием социального контакта (рис.). Нами обнаружено, что в тонком кишечнике детей из группы ТРД присутствовали микроорганизмы всех пяти основных типов с преобладанием бактерий типа Firmicutes, а именно Clostridium clusters и группы Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus, что согласуется с данными Zoetendal et al. (2012). Однако Wang et al. (2005) продемонстрировали, что наряду с Firmicutes основу микробиома подвздошной кишки составляют бактерии типа Bacteroidetes. В нашем исследовании представители типа Bacteroidetes присутствовали (рис), но не были доминирующими микроорганизмами, что может быть связано с особенностями используемого в работе метода исследования: специфические липидные маркеры были определены только для родов Porphyromonas spp., Prevotella spp. и вида Bacteroides fragilis. Такая

структура микробного консорциума у типично развивающихся детей поддерживалась высоким уровнем окситоцина в плазме крови (рис.).

У детей с РАС с сохраненным социальным контактом структура микробного сообщества тонкого кишечника в целом не отличалась от таковой в группе ТРД, однако количество бактерий типа *Actinobacteria* было в 1,5 раз выше по сравнению с аналогичными показателями детей из группы ТРД (рис). Концентрация окситоцина в плазме крови детей с РАС с наличием социального контакта также поддерживалась на уровне типично развивающихся детей.

Отсутствие социального контакта у детей с РАС нашло отражение в изменении структуры основных типов микроорганизмов тонкого кишечника: для детей с РАС без социализации были характерны значимо высокое количество бактерий типов *Actinobacteria* (включая *Bifidobacterium*) и *Fusobacteria* в сравнении с показателями детей из группы ТРД. Кроме того, у детей с РАС без социализации наблюдался достоверно низкий уровень окситоцина в плазме крови.

Таким образом, анализ композиции микробного сообщества тонкого кишечника на основе его липидного профиля и определение уровня «социального гормона» окситоцина в плазме крови детей с РАС с наличием/отсутствием сигналов социальной недостаточности позволяет сделать следующее предположение: биохимические сигналы экологической системы — хозяин-ассоциированного микробного консорциума (липидом) и хозяина (нейропептид-окситоцин), при балансе отношений между ними — здоровье, работают в общем контексте — социализации метаорганизма [6]. Однако контекст может меняться при дисбалансе экологической системы — болезнь (РАС), что способно привести к социальной недостаточности. Исследования в данном направлении помогут, как мы полагаем, приблизиться к пониманию механизмов, лежащих в основе социальных дефицитов при РАС, что позволит определить пути их коррекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурмистрова А.Л. Иммуный гомеостаз и микросимбиоз. Метаморфозы и пути развития воспалительных заболеваний кишечника. Челябинск: Челябинский дом печати, 1997.
2. Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Микросимбиоз. Екатеринбург: УрО РАН, 2014.
3. Aagaard K., Ma J., Antony K.M. et al. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci. Transl. Med.* 2014, 6 (237): 237ra65.
4. Borre Y.E., O’Keeffe G.W., Clarke G. et al. Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends Mol. Med.* 2014, 20(9): 509-518.
5. Dinan T.G., Stilling R.M., Stanton C. et al. Collective unconscious: how gut microbes shape human behavior. *J. Psychiatr. Res.* 2015, 63:1-9.
6. Gilbert S.F., Sapp J., Tauber A.I. A symbiotic view of life: we have never been individuals. *Q Rev Biol.* 2012, 87 (4): 325-341.
7. Insel T.R. The challenge of translation in social neuroscience: a review of oxytocin, vasopressin, and affiliative behavior. *Neuron.* 2010, 65 (6): 768-779.
8. LeBlanc J.J., Fagiolini M. Autism: a «critical period» disorder? *Neural plasticity.* 2011; 2011, Article ID 921680.
9. Lombardo M.P. Access to mutualistic endosymbiotic microbes: an underappreciated benefit of group living. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 2008, 62: 479-497.
10. Montiel-Castro A.J., González-Cervantes R.M., Bravo-Ruiseco G. et al. The microbiota-gut-brain axis: neurobehavioral correlates, health and sociality. *Front. Integr. Neurosci.* 2013, 7: 70.

Ю.К.Кулаков

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПЕРСИСТЕНЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ БРУЦЕЛЛЕЗА

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва

Бруцеллез — инфекционное, особо опасное зоонозное заболевание сельскохозяйственных и диких животных, от которых передается человеку и характеризуется хроническим течением с инвалидизацией больных трудоспособного возраста. Бактерии рода *Brucella* — факультативные внутриклеточные патогены, способные размножаться и персистировать в иммунных клетках хозяина с развитием хронической инфекции. Хозяйско-специфичные эволюционные механизмы позволяют бруцеллам скрываться и манипулировать системами врожденного и приобретенного клеточного иммунитета для достижения внутриклеточной персистенции. В обзоре показаны молекулярные механизмы, обеспечивающие персистенцию возбудителя бруцеллеза. Эволюция бруцелл связана с адаптацией внутриклеточного сохранения и персистенции в сформированных гранулематозных структурах. Понимание молекулярных механизмов персистенции возбудителя бруцеллеза следует учитывать в программах по его контролю и элиминации и позволяет разрабатывать новые эффективные средства для профилактики и лечения бруцеллеза.

Журн. микробиол., 2018, № 4, С. 68—76

Ключевые слова: бруцеллез, *Brucella*, персистенция, врожденный и приобретенный иммунитет, эволюция

Yu.K.Kulakov

MOLECULAR MECHANISMS OF *BRUCELLA* PERSISTENCE

Gamaleya National Research Centre of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Brucellosis is an infectious, especially dangerous zoonotic disease of agricultural and wild animals, from which it is transmitted to humans and characterized by a chronic course with disability of working-age patients. Bacteria of the genus *Brucella* are facultative intracellular pathogens capable of multiplying and persisting in the host's immune cells with the development of chronic infection. The host-specific evolutionary mechanisms allow *Brucella* to hide and manipulate the systems of innate and acquired cellular immunity to achieve intracellular persistence. The review describes the molecular mechanisms that ensure the persistence of the causative agent of brucellosis. The evolution of *Brucella* species is associated with the adaptation of intracellular preservation and persistence in the formed granulomatous structures. Understanding the molecular mechanisms of *Brucella* persistence should be considered in programs for its control and elimination, and also allows the development of new effective tools for the prevention and treatment of brucellosis.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 4, P. 68—76

Key words: brucellosis, *Brucella*, persistence, innate and adaptive immunity, evolution

Бруцеллез — инфекционное, особо опасное зоонозное заболевание, вызываемое бактериями рода *Brucella*, которые являются грамотрицательными, факультативными бактериями со способностями к внутриклеточному паразитированию и трансмиссивной передачей от животных к человеку [9, 25, 40].