



## Современные представления о про-/эукариотических взаимодействиях организма человека — основа создания нового поколения пробиотических препаратов

Михайлова Н.А., Воеводин Д.А.<sup>✉</sup>, Лазарев С.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия

Многочлетные организмы в совокупности с сапрофитной флорой формируют сложные, глубоко интегрированные химерные системы (ассоциативные симбиозы, метаорганизмы) с выраженным взаимным влиянием про- и эукариотического компонентов. Способность микроорганизмов (МО) к симбиотическому взаимодействию формируется только в условиях целостного организма.

При длительном выращивании на искусственных средах симбиотические МО, адаптируясь к существованию в искусственных условиях, постепенно и обратимо утрачивают способность к ассоциативному взаимодействию с организмом человека, что приводит к снижению терапевтической эффективности пробиотических препаратов, приготовленных на их основе. Для повышения терапевтической активности пробиотических МО необходима их функциональная реабилитация.

При развитии патологического процесса складываются предпосылки формирования вторичного обменного дисбиоза, вследствие этого изменения регуляторных процессов самого индивида становятся препятствием для восстановления нормальной микрофлоры. Поэтому функциональная реабилитация пробиотических МО должна проводиться на этапе культивирования, а процесс культивирования должен в необходимой степени воспроизводить условия целостного организма.

**Ключевые слова:** пробиотики; регуляторные пептиды; белковый гидролизат; дисбиоз; коррекция.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Михайлова Н.А., Воеводин Д.А., Лазарев С.А. Современные представления о про-/эукариотических взаимодействиях организма человека — основа создания нового поколения пробиотических препаратов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(4): 346–355. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-4-7>

Поступила 12.02.2020

Принята в печать 11.05.2020

## A modern view of pro-/eukaryote interactions in the human body as the basis for development of next-generation probiotics

Natalia A. Mikhailova, Dmitry A. Voevodin<sup>✉</sup>, Sergey A. Lazarev

Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia

Multicellular organisms and the saprophytic flora form complex, highly integrated chimeric systems (associative symbioses, metaorganisms) characterized by interplay between pro- and eukaryotic components. To be able to interact symbiotically microorganisms (MO) need a whole body.

When grown on artificial media for a long time, symbiotic MO have to adapt to the artificial environment and gradually, though reversibly, lose their ability of associative interaction with the human body, thus causing a decrease in the therapeutic efficacy of MO-derived probiotic products. To increase the therapeutic activity of probiotic MO, they must be functionally rehabilitated.

A pathological process induces development of a secondary metabolic dysbiosis; as a result, changes in the regulatory processes of an individual interfere with the restoration of the normal microflora. Therefore, functional rehabilitation of probiotic MO must take place during cultivation, while the cultivation process must replicate the whole-body conditions.

**Keywords:** probiotics; regulatory peptides; protein hydrolysate; dysbiosis; correction.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Mikhailova N.A., Voevodin D.A., Lazarev S.A. [A modern view of pro-/eukaryote interactions in the human body as the basis for development of next-generation probiotics]. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, épidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(4): 346–355. (In Russ.).  
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-4-7>

Received 12 February 2020  
Accepted 11 May 2020

## Введение

Человек является многоклеточным эукариотом, который сформировался в мире бактерий, существовавших задолго до его появления. Филогенетически эволюционирующая иммунная система сталкивалась с бактериальными сигналами сотни миллионов лет, приспосабливалась реагировать на них, поэтому формирование и коррекция структуры симбиотической микробиоты в настоящее время активно изучается.

Несмотря на обилие и многообразие информации по формированию и коррекции структуры симбиотической микробиоты, работы, проводимые в этой области, носят разрозненный характер. С одной стороны, это свидетельствует о том, что для большинства авторов восприятие проблемы не вышло за рамки первоначального накопления информации с оценкой данных с позиций традиционно упрощенных («инфекционных», антагонистических) представлений. С другой — разнообразие обсуждаемых «дисбиозассоциированных» патологических состояний поднимает вопрос об общепатологическом значении симбиотической микробиоты в формировании заболеваемости у человека и роли коррекции дисбиоза в комплексной терапии.

Однако признание важной роли дисбиоза в развитии патологических состояний у человека само по себе еще не решает никаких проблем. По нашему мнению, первопричиной сложившейся противоречивой ситуации являются упрощенные (искаженные) представления о взаимодействии собственно организма хозяина и его микробиоты с разделением единой про-/эукариотической системы целостного организма на два персонафицированных, часто антагонистичных субъекта.

Формирование адекватных представлений о про-/эукариотических взаимодействиях является важной практической задачей настоящего момента, позволит выявить роль микробиоты среди причин и механизмов развития патологического состояния, наметить комплекс возможных терапевтических подходов с определением необходимых характеристик лекарственных средств, способов их производства и применения.

### Влияние регуляторных процессов хозяина на структурно-функциональное состояние симбиотической микрофлоры

Первый шаг к обобщающему взгляду на проблему про-/эукариотических взаимодействий ор-

ганизма человека сделан акад. О.В. Бухариным с соавт. [1], предложившими концепцию «ассоциативного симбиоза» (АС). «АС представляет собой многокомпонентную интегральную систему, включающую хозяина в качестве макропартнера, стабильный доминантный микросимбионт и ассоциированные микросимбионты с разнонаправленными воздействиями, определяющими формирование, стабильность существования и продуктивность симбиоза в целом» [1]. Концепция АС постулирует тесную взаимосвязь между микро- и макросимбионтами без достаточной детализации, что затрудняет ее полноценное практическое использование.

Расширяя и конкретизируя положения АС, но уже с учетом динамических превращений, которым подвержены как прокариотические, так и эукариотические элементы системы, было предложено положение о про-/эукариотическом химеризме организма человека. «Взаимное функциональное проникновение систем цитокинов и QS-медиаторов позволяет рассматривать микробиоценоз как экстракорпоральную, цитокиноподобную, негенетически наследуемую регуляторную систему организма носителя, а целостный организм человека как про-/эукариотическую химеру, приближая, по сути, методы бактериотерапии к методам цитокиновой и клеточной терапии» [2].

Данное положение сформулировано на основе опыта клинического использования препаратов пробиотиков и цитокинов, подтвердившего схожий, взаимопотенцирующий результат при терапевтическом применении этих препаратов [3]. В последующем приведенное положение получило прямое подтверждение. В серии работ [4–7] была продемонстрирована способность микроорганизмов (МО) продуцировать широкий спектр цитокиноподобных медиаторов в количествах, сопоставимых с продукцией цитокинов клетками крови человека. Добавление в культуральную среду бактерий синтетического аналога гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора стимулировало продукцию цитокиноподобных агентов МО [7]. Авторы используют термин «цитокиноподобные агенты», поскольку их структурная идентичность цитокинам не установлена, однако определение возможно с помощью стандартных тест-систем, предназначенных для определения цитокинов.

Выявленные обстоятельства не только расширяют наши представления о про-/эукариотических

взаимоотношениях в целостном организме и объясняют многообразие терапевтических эффектов пробиотиков, но и имеют, как нам кажется, большое практическое значение при разработке пробиотических препаратов, обуславливая возможность и необходимость модулирования функциональной активности пробиотических свойств.

С обобщенных позиций целостный организм человека можно рассматривать как функциональную химеру (по принятой в западной литературе терминологии — «метаорганизм»), состоящую из двух по сути равноценных подсистем, организованных по схожему принципу (ауто-/паракринная сетевая регуляция на уровне межклеточных и межбактериальных взаимодействий) и обладающих схожим «языком» коммуникаций, с неизбежным и закономерным за счет структурно-функционального (филогенетического) родства перекрестным взаимодействием. Изменения в одной из подсистем неизбежно порождают изменения в другой, что дает право говорить о наличии в организме человека единой двунаправленной регуляторной системы микробиоценоз–цитокины–гормоны (МЦГ).

Например, дисбаланс микробиоты рассматривается как причина или предрасполагающий фактор сахарного диабета 1-го типа (СД1) и метаболического синдрома (ожирение, атеросклероз, гипертония, сахарный диабет 2-го типа) [8], а недостаточно контролируемая гормонотерапия — как патогенетический фактор вторичного гормонообусловленного дисбиоза [9].

Участие регуляторной системы МЦГ широко проявляется в клинической практике, в переломные моменты онтогенеза, при гормональной перестройке, связанной с беременностью: стресс с развитием постстрессорного дисбиоза и постстрессорного синдрома, дисбиоз беременных с развитием осложненной беременности, дисбиоз пожилого возраста с развитием возрастной патологии, негативные или позитивные изменения при половом созревании в подростковом возрасте. Процесс запускается естественными изменениями гормонального фона макропартнера, но клинические изменения обусловлены перестройками в системе микросимбионтов. «Изменения состава нормальной микрофлоры, нарушения системы иммунитета и симптомы заболевания должны рассматриваться в их сочетании..., так как ведущую роль играет состояние иммунологической реактивности макроорганизма, а не вирулентность возбудителя» [10].

Однако подобная реакция развивается не у всех, а негативный или позитивный сценарий предопределяется задолго до клинической манифестации и связан с формированием микробиоценоза в перинатальном возрасте (перинатальное программирование), происходящим под влиянием материнской микрофлоры [11]. По нашему мнению, акти-

вация роста условно-патогенной флоры, сопряженная с манифестацией заболевания и определяющая его развитие, является результатом нейро-цитокино-гормональных изменений, происходящих в условиях стресса (в том числе инфекционного) или естественного изменения гормонального статуса (беременность, старение, половое созревание), с активацией условно патогенной флоры как депрессивного (до поры скрытого) компонента микробиоценоза, сформировавшегося, однако, в перинатальном возрасте. Отсюда негенетическая наследуемость (т.е. контактная передача от матери) предрасположенности к патологическому процессу, «программируемые» в младенчестве предпосылки патологии зрелого возраста.

Тесная зависимость микробиоты от обменных процессов носителя позволяет использовать неожиданные, на первый взгляд, подходы в терапии и профилактике инфекционно-воспалительных заболеваний. Например, применение тестостерона в терапии простатита позволяет восстановить микрофлору мочеполовой сферы и купировать воспалительные проявления без использования антибиотиков [12], или применение синтетического аналога природного иммуномодулятора и адаптогена тафцина («Селланк») для профилактики постстрессорных, в том числе дисбиотических [13], нарушений.

Модели обменных (гормонообусловленных) дисбиозов особенно подчеркивают значимую роль регуляторных процессов хозяина в формировании и поддержании дисбиотических сдвигов, именно регуляторные процессы хозяина запускают и поддерживают их с формированием порочного круга: обменно-регуляторные сдвиги — дисбиоз — усугубление обменно-регуляторных нарушений с развитием дисбиозассоциированных патологических состояний.

Таким образом, сам организм хозяина (его регуляторные процессы), формируя порочный круг, становится активным препятствием для восстановления нормальной микрофлоры. Применение на этом фоне пробиотических препаратов с низкой метаболической активностью (лиофилизированные бактериальные препараты) заведомо малоэффективно. Это наводит на мысль, что для успешного использования пробиотических средств, вырабатываемых на основе музейных (фармакологических) штаммов, необходима предшествующая функциональная реабилитация, повышающая их метаболическую активность и адаптацию к условиям существования в целостном организме (см. ниже).

«Изменения в составе микрофлоры слизистых происходят значительно раньше, чем проявляются клинические симптомы, поэтому их можно считать предвестниками обусловленных условно-патогенной микрофлорой патологических процессов» [10]. В чем причина паузы между формированием ки-

печного дисбиоза и манифестацией его клинических проявлений?

Наиболее ярко процессы про-/эукариотического химеризма проявляются на модели эндогенного микробиоценоза, в которой в наибольшей мере выражена степень сродства про- и эукариотического элементов единой системы целостного организма, взаимные влияния симбиотической микрофлоры и организма хозяина.

Обсуждение проблемы дисбиоза у человека, как правило, сводится к оценке качественного и количественного состава микрофлоры в естественных полостях организма. Многие авторы продолжают придерживаться положения о стерильности внутренней среды организма человека. В то же время у растений общепринято деление сапрофитной микрофлоры на экзо- и эндофитную (экзо- и эндогенную). А у человека это не так? Тогда откуда признанные проблемы образования биопленок на эндопротезах, выявления МО в атерогенных бляшках, внутриклеточной персистенции инфекционных агентов и пр.? При этом перечень МО, способных к внутриклеточной персистенции, расширяется с каждым годом. Роль эндогенной флоры обсуждается при наличии явного инфекционного и инфекционно-воспалительного процессов. А если формируется иммунологическая толерантность или иммунологическая гипореактивность, а воспалительная реакция в силу этого слабо выражена или отсутствует — значит, эндогенной флоры нет? Маловероятно.

Основной успех в изучении эндогенной микрофлоры и связанных с этим явлений достигнут в растениеводстве. Способность растений к вегетативному размножению порождает соблазн многократного тиражирования экономически наиболее продуктивных особей, при этом размножение возможно не только отдельными органами, но и небольшими фрагментами тканей (экспланты). Однако оказалось, что негативная роль эндогенной (эндофитной) микрофлоры может являться серьезным препятствием для широкого использования метода клонирования.

Относительно низкая требовательность растительных клеток к условиям культивирования, их высокий регенеративный потенциал, способность к многократному пассированию эксплантов позволили создать достаточно информативную модель для выявления и изучения эндогенной микробиоты, ее функциональных особенностей, роли в формировании фенотипа хозяина. Подобные модели на основе клеток животных и человека пока не созданы. Однако в литературе подчеркивается лишь относительная правомерность исторического деления на микрофлору человека, животных и растений [14, 15], поскольку показана способность одних и тех же патогенных бактерий персистировать как в орга-

низме человека, так и в растениях [14] и, напротив, способность одних и тех же пробиотических МО оказывать защитный эффект на организмы человека, животных и растений в отношении патогенных воздействий (многочисленные препараты на основе *Bacillus subtilis*). Столь же условно с позиций общей биологии деление моделей на растительные и животные, поэтому фитомодель эндогенного микробиоценоза привлекает внимание не только фитобиологов, но и представителей других биологических и медико-биологических специальностей.

Препятствием для выявления и изучения эндогенных МО методами классической микробиологии является их существование во внутренней среде хозяина в виде некультивируемых форм. Долгое время было принято считать, что образование некультивируемых форм бактерий связано с воздействием травмирующих факторов. Последние данные демонстрируют односторонность этого мнения. Становясь элементом единой про-/эукариотической системы, МО естественным образом подчиняются ее законам, по которым автономный, неконтролируемый рост недопустим. Обратимо утрачивая способность к пролиферации (автоному росту), эндогенные МО приобретают способность эффективно функционировать в рамках гетерогенной про-/эукариотической системы, влияя на обменные процессы хозяина, участвуя в формировании его фенотипических характеристик, в значительной мере определяя устойчивость макроорганизма к инфекционным воздействиям [16]. В последнем случае защитный эффект реализуется не только через реакции прямого антагонизма, но и через активацию защитных механизмов самого хозяина [17]. В этом контексте пробиотическую функцию МО следует рассматривать как функциональное, неконститутивное состояние, формирующееся только в условиях целостного организма и под воздействием регуляторных сигналов хозяина. Вне регуляторных воздействий хозяина (музейное содержание вне системы) пробиотическая функция за ненадобностью, видимо, снижается. Эти обстоятельства необходимо учитывать при разработке пробиотических средств.

Предположим, что внутрисредовая и внутриклеточная персистенция МО, являясь общебиологическим состоянием для многоклеточных эукариот, — это нормальная, естественная составляющая про-/эукариотических систем (метаорганизмов). Она имеет большое практическое значение в медицине не только для формирования фенотипических характеристик хозяина (физическое благополучие/неблагополучие), но и для определения сроков корригирующих мероприятий и, пусть это покажется неожиданным, для формирования методологических, в перспективе и методических, основ разработки пробиотических средств. Эндогенный ми-

кробиоценоз в контексте настоящей статьи — это модель для выявления механизмов регуляции функциональной активности МО, изучаемая с целью использования выявленных механизмов для модуляции функциональной активности пробиотических бактерий и создания природоподобных технологий разработки пробиотических лечебных средств.

Возникает вопрос: имеет ли значение, какие МО представлены в эндогенном пуле? Понятно, что конечные эффекты эндогенной микрофлоры обусловлены видовой принадлежностью МО — например, зависимость повышения или снижения жизнеспособности растительных эксплантов в культуре от видового состава эндогенной микрофлоры [15].

В случае изменения регуляторных процессов хозяина, при доминировании условно-патогенной флоры в микробиоценозе и у человека [10], и у растений [15] происходит функциональная активация патогенного начала условно-патогенных МО, восстанавливается способность бактерий к культивированию (автономному существованию) [18].

Естественным источником эндогенного пула у человека служат, прежде всего, МО естественных полостей. Например, считается, что причиной эндогенных бактериальных инфекций является гематогенный занос микрофлоры слизистых в органы внутренней среды [19].

Эти рассуждения указывают на необходимость, во-первых, деления дисбиоза на экзо- и эндогенную составляющие и, во-вторых, проведения корректирующей дисбиоз терапии с учетом не только микрофлоры полостей, но и эндогенной компоненты. Необходимо учитывать, что кишечная (экзогенная) микрофлора более доступна для корректирующих мероприятий по сравнению с эндогенной, отсюда отсроченность эффектов дисбиозкорректирующей терапии [9] — обратная параллель с формированием кишечного дисбиоза и отмеченной выше отсроченностью его клинических проявлений.

Учет эндогенной компоненты проявляется, прежде всего, в определении сроков проводимых мероприятий, позволяющих добиться «физиологической» санации, т.е. естественной смены клеточной популяции — резервуара внутриклеточных микробиологических агентов. Более эффективных методов внутриклеточной санации на настоящий момент не разработано.

В различных областях медицины можно столкнуться с любопытными параллелями: пробиотикотерапия, проводимая свыше 6 мес, приводит к обратному развитию поздних осложнений у детей с СД1 [9]; через 6 мес после трансплантации почки резко снижается вероятность отторжения органа [20]; критическим возрастом у детей с тяжелыми врожденными уродствами считается возраст 6 мес, если ребенок преодолевает этот порог — положительный прогноз выживания повышается [21]. В

приведенных случаях эффект обусловлен сменой клеточной популяции с «физиологической» санацией, как при СД1, или с формированием трансплантационного химеризма, т.е. с постепенной заменой в трансплантате клеток донора на клетки реципиента со снижением иммуногенности и вероятности отторжения трансплантата. Сама повторяемость срока указывает на его функциональное значение, зависимость клинической эффективности пробиотикотерапии от физиологических процессов носителя. По нашему мнению, при проведении пробиотикотерапии срок 6 мес следует рассматривать как минимально необходимый, но в каждом случае этот вопрос должен решаться, исходя из индивидуальных и нозологических особенностей пациента и особенностей используемых пробиотических средств.

В необходимости длительной пробиотикотерапии, разновидности антибактериальной терапии, нет ничего необычного или неожиданного. Длительные курсы антибиотиков с достаточной эффективностью показали себя при тяжелых инфекционных и инфекционно-воспалительных заболеваниях: туберкулезе, лепре, ревматизме и др. В основе длительной антибиотикотерапии лежат те же принципы, что и при длительной пробиотикотерапии, но пробиотики имеют ряд преимуществ: возможность длительного неосложненного применения, занятие экологических ниш с профилактикой эндогенного реинфицирования, системный общетерапевтический эффект.

Отсутствие (несформированность) целостной идеологии и методологии проблемы нормоценоза/дисбиоза и про-/эукариотических взаимодействий является первопричиной, формирующей комплекс проблем, затрудняя не только разработку эффективных лечебных средств, но и клиническое использование этого направления в целом. В конце концов, пробиотики — это инструмент, который необходимо не только уметь «настраивать», но которым надо уметь пользоваться.

Под дисбиозом понимают нарушения микробиологического пейзажа естественных полостей организма человека и кожи, т.е. в основу положен микробиологический подход, не учитывающий роли носителя. При клиническом рассмотрении этого вопроса и в соответствии с доминирующим принципом организации здравоохранения (нозологический принцип) общемедицинская проблема (микробиоценоз/дисбиоз) оказалась разделена на «сферы влияния» между гастроэнтерологами, стоматологами, дерматологами и пр. Узкие специалисты пытаются решать общепатологическую и даже общебиологическую проблему (общую для всех многоклеточных эукариот) с позиций своего узкоспециального подхода, ограничивая представления о клинических проявлениях дисбиоза только областью своих про-

фессиональных интересов. Для таких специалистов, как гематологи, эндокринологи и пр., которым «не досталось естественных полостей», если только они не проявляют личной инициативы, клиническая проблема дисбиоза отсутствует.

На настоящем этапе произошло невольное разделение понятия «дисбиоз» на микробиологическое состояние и клиническое. Диагностикой и выработкой рекомендаций по коррекции дисбиоза как микробиологического состояния занимаются микробиологи, а как клинического — врачи узких специальностей. При этом первые не видят результатов воздействия микробиоценоза на носителя, не знают специфики конкретного заболевания, не учитывают роли носителя в формировании дисбиоза, а вторые, в силу узконаправленной подготовки, не способны в полной мере оценить системность причинно-следственных процессов, приведших к развитию конкретного клинического состояния. В результате и у тех, и у других возникает недопонимание важности проблематики. Для успешного решения проблемы дисбиоза нужны специалисты, способные преодолеть этот разрыв.

Состояние АС, в клиническом контексте этого явления, — является переменным и складывается не только из текущих микробиологических характеристик, из позитивных и негативных влияний микробиоценоза на носителя, но и из текущей способности носителя реагировать на негативные и позитивные влияния микросимбионтов. Без восстановления обменных процессов, их энергообеспеченности рассчитывать на эффективность реабилитационных мероприятий нельзя. Использование средств нормализации обменно-регуляторных процессов носителя — составной элемент купирования дисбиоза как клинического состояния. Поэтому в клинической практике для достижения лучшего результата необходимо рассматривать организм человека как целостную про-/эукариотическую систему и корригировать не только микробиоценоз, но всю систему АС в целом. В реальной практике, при использовании комплексного подхода, так и происходит, но опора на адекватную методологию позволяет более осознанно и эффективно применять комплексный инструментарий, существенно расширить его перечень.

Клиническое (не путать с микробиологическим) состояние дисбиоза в самом общем виде, с позиций общей патологии — это, прежде всего, нарушение обменно-регуляторных процессов носителя (дисфункция цитокиноподобной регуляторной системы), инициация состояния тканевой гипоксии. Нозологические формы процесс приобретает под действием дополнительных условий: исходный микробиологический спектр в сочетании с внешним микробиологическим воздействием («микросимбиоценоз» по О.В. Бухарину [22]), индивидуальная

иммунореактивность (толерантность), генетические особенности, бытовые привычки и пр. Конкретные клинические проявления — это, по сути, отражение сиюминутного состояния АС (состояния про-/эукариотического химеризма) конкретного индивида, т.е. клинические проявления дисбиоза обусловлены множеством переменных, микробиологическая переменная — лишь одна из них. Отсюда сложность диагностики (прогнозирования) клинических проявлений только по микробиологическим показателям, невозможность моделирования процесса, т.е. невозможность использования современного понятийного микробиологического инструментария для моделирования и коррекции процессов, формирующих АС.

Положение о регуляторной системе МЦГ позволяет рассматривать текущее состояние индивида как интегральное отражение функционального состояния системы АС, использовать двунаправленный, взаимопотенцирующий подход (т.е. одновременное воздействие как на прокариотический, так и на эукариотический элементы) в коррекции состояния системы.

Приведенные рассуждения приобретают смысл только при наличии в арсенале врача эффективных средств коррекции микробиоценоза.

Постулированная равноценность подсистем в АС повышает биологическое значение микрофлоры в обеспечении процессов жизнедеятельности носителя, позволяет предположить ведущую роль дисбиоза в развитии как приобретенной, так и врожденной патологии человека, обоснованно расширяет спектр терапевтических подходов, закономерно актуализирует проблему разработки эффективных пробиотических средств и формирует методологическую основу для разрешения этой проблемы.

### **Использование природоподобных технологий для создания лечебных пробиотических средств**

Модель эндогенного микробиоценоза указывает на возможность существования симбионтных микроорганизмов в двух формах: в форме свободноживущих (независимых от хозяина) бактерий и бактериальных ассоциаций и в форме тесной ассоциации с организмом хозяина. Оба способа существования формируются под влиянием текущих внешних условий, могут переходить друг в друга, сопровождаются функциональными, физиологическими, генетическими, иногда морфологическими изменениями МО [23]. МО, обитающие в кишечнике человека, играя роль камбиальной популяции для восполнения эндогенной микробиоты, находятся, вероятно, в промежуточном состоянии, т.е. не утратили в полной мере связи с регуляторными процессами хозяина, но обладают способностью к свободному росту.

Изначально многие пробиотические МО были выделены из кишечника человека, однако длительное культивирование МО в лабораторных условиях приводит к переходу бактерий в состояние, характерное для свободноживущих форм, с возможным снижением пробиотической активности. При разработке пробиотических препаратов необходимо учитывать, что свободноживущие формы не имеют возможности для функциональной реверсии в организме больного из-за блокирующих регуляторных воздействий самого человека, отсюда недостаточная клиническая эффективность существующих пробиотиков. Поэтому функциональную реабилитацию (реверсию) необходимо проводить на этапе культивирования производственных штаммов.

На ту же зависимость функциональных проявлений симбиотических МО от условий обитания, но на примере условно-патогенной микрофлоры, указывают и другие авторы: «Экспрессия генов, определяющих вирулентность, не является конститутивной. ... Гены вирулентности «выключаются» при переходе микроорганизма во внешнюю среду и «включаются» в организме хозяина» [10].

Формирование единой про-/эукариотической системы возможно только при условии единого языка коммуникаций, т.е. наличии языка взаимодействия, понятного обеим сторонам. В качестве такого языка может выступать система регуляторных пептидов. Способность влиять на ростовые и функциональные свойства МО показана для фактора некроза опухоли, интерлейкинов-2, -6, эмбриональной сыворотки, антибактериальных пептидов [24, 25]. В последнем случае подчеркивается, что антибактериальный эффект проявляется только при повышенных концентрациях агента, а при физиологических концентрациях эффект «антибактериальных» пептидов ограничивается регуляторными воздействиями [26].

Пептидная регуляция является по меньшей мере одним из механизмов, посредством которых организм хозяина воздействует на функцию микробиоты. Познание и использование данного механизма, варьируя комплекс регуляторных пептидов, позволит, по нашему мнению, получать пробиотические препараты с заданной функциональной активностью. В этом положении заключены возможные методические нюансы, которые необходимо учитывать при разработке и производстве пробиотических препаратов.

Филогенетическое родство в организации про- и эукариотических систем проявляется на различных моделях. Предполагают, что прокариоты для амплификации генома, дифференцировки и роста клеток используют ту же стратегию, что и эукариоты [23]. Показана способность МО продуцировать регуляторные агенты, схожие с таковыми у эукариот [2, 27]. Средство процессов, протекающих в

про- и эукариотических элементах системы, заставляет предположить, по аналогии с эукариотами, зависимость функциональной активности бактерий от возраста культуры: суммарный пробиотический (терапевтический) эффект культуры МО (пробиотического препарата), спектр продуцируемых МО агентов и, соответственно, характер терапевтического воздействия будут зависеть от функциональной «зрелости» культуры МО. У эукариот подобная зависимость регуляторного спектра от «зрелости» процесса показана неоднократно и на различных моделях [28], вероятно, являясь общей закономерностью для доклеточных и клеточных сообществ.

В естественных условиях регуляторные агенты пептидной природы образуются при гидролизе крупных молекул-предшественников, т.е. являются естественными (природными) гидролизатами. Эта закономерность позволяет надеяться, что использование контролируемого гидролиза с подбором протеолитических агентов, исходного субстрата, необходимых условий реакции, с контролем и стандартизацией регуляторной активности образующихся агентов позволит получить материал с необходимыми характеристиками для применения в качестве основы культуральных сред при выращивании пробиотических культур.

Возможно возражение: белковые гидролизаты давно и активно используются в микробиологии. Да, это так. Однако, замыкаясь в рамках традиционных представлений, микробиологи не учитывали возможную регуляторную роль пептидных молекул гидролизата, рассматривая его только как источник азотистого питания, с оценкой результатов с позиций нутрициологии. Кроме того, при подготовке культуральных сред традиционно широко используется высокотемпературная стерилизация, приводящая к возможной инаktivации регуляторных пептидов. Этот факт требует дальнейшего осмысления и изучения, как и ситуация, предполагающая учет способности МО реализовывать свои функции не в прямых, а в опосредованных через организм хозяина процессах.

## Заключение

Положение об АС (метаорганизме) изменяет методологию разработки пробиотических препаратов: для инициации пробиотической функции условия культивирования пробиотических МО должны воспроизводить условия целостной про-/эукариотической системы, а оценку терапевтической эффективности необходимо проводить не только по антагонистической активности *in vitro* и способности влиять на микробиологический пейзаж *in vivo*, но и по суммарной клинической эффективности в соответствии с критериями тяжести основного заболевания. Клинико-экспериментальные модели очень трудоемки и продолжительны, а потому плохо

подходят для оперативного решения задач. В этой связи чрезвычайно важной задачей становится выявление критерия, определяемого *in vitro*, но позволяющего прогнозировать терапевтическую эффективность пробиотического препарата в условиях целостного организма. Таким критерием может послужить способность МО синтезировать системобразующие медиаторы (цитокины и лектины), чья важная роль отмечена для функционирования как прокариотических, так и эукариотических систем [5, 27]. Кроме того, нельзя не учитывать зависимость уровня продукции этих медиаторов от условий обитания с заметным снижением у музейных штаммов [5, 29].

Обобщение представленных данных позволяет заключить, что пробиотическая функция МО не является конститутивной, формируется только в условиях целостного организма и находится под контролем регуляторных процессов хозяина. Это ключевое обстоятельство необходимо учитывать при разработке пробиотических средств.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., ред. *Ассоциативный симбиоз*. Екатеринбург; 2007.
2. Розанова Г.Н., Воеводин Д.А. Случай эффективного использования пробиотиков в комплексной терапии тяжелой формы сахарного диабета 1-го типа при кишечном дисбактериозе. *Клиническая медицина*. 2008; 86(1): 67-8.
3. Воеводин Д.А., Розанова Г.Н., Стенина М.А., Скрипник А.Ю., Чередеев А.Н. Роль иммунологических реакций в адаптивном процессе у детей с сахарным диабетом типа 1, филогенетическая концепция антистрессорной адаптации. *Иммунология*. 2003; 24(2): 103-7.
4. Фомина Л.О., Зурочка В.А., Симбирцев А.С., Гриценко В.А. Влияние времени культивирования *Staphylococcus aureus* на продукцию ими цитокино-подобных веществ, детектируемых методом иммуноферментного анализа. *Российский иммунологический журнал*. 2018; 12(3): 454-9. DOI: <http://doi.org/10.31857/S102872210002427-4>
5. Зурочка А.В., Дукардт В.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Тяпаева Я.В. и др. Стафилококки как продуценты цитокиноподобных веществ. *Российский иммунологический журнал*. 2017; 11(2): 134-6.
6. Зурочка А.В., Дукардт В.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Тяпаева Я.В. и др. Бактерии как продуценты цитокино-подобных веществ. *Российский иммунологический журнал*. 2017; 11(3): 374-6.
7. Зурочка А.В., Дукардт В.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Белозерцева Ю.П. и др. *Staphylococcus aureus*: спонтанная продукция цитокино-подобных веществ и ее регуляция синтетическим аналогом активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2017; (1): 3.
8. Бондаренко В.М., Малеев В.В., Лиходед В.Г. Кишечная микрофлора, ожирение и диабет 2 типа. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 91(3): 42-9.
9. Розанова Г.Н., Воеводин Д.А., Стенина М.А., Кушнарeva М.В. Патогенетическая роль дисбактериоза в развитии осложнений сахарного диабета 1 типа у детей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2002; 133(2): 196-8. DOI: <http://doi.org/10.1023/A:1015503006854>
10. Караулов С.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Бондаренко Л.Н., Воропаева Е.А., Афанасьев М.С. и др. Механизмы приобретения вирулентности условно-патогенными микроорганизмами и формирования пула нозокомальных штаммов в микробиоценозах слизистых открытых полостей организма. *Астраханский медицинский журнал*. 2018; 13(2): 17-31. DOI: <http://doi.org/10.17021/2018.13.2.17.31>
11. Воеводин Д.А., Розанова Г.Н., Поддубиков А.В., Михайлова Н.А. Микробиоценоз, иммунная система и наследственность. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2017; 94(2): 116-26. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-2-116-126>
12. Тюзико И.А., Калинин С.Ю., Ворслов Л.О., Греков Е.А. Коррекция андрогенного дефицита при хроническом инфекционном простатите как патогенетический метод преодоления неэффективности стандартной антибактериальной терапии на фоне растущей антибиотикорезистентности. *Андрология и генитальная хирургия*. 2013; 14(1): 55-63.
13. Мухина А.Ю., Свищева М.В., Медведева О.А., Калущкий П.В., Шевченко А.В., Бобынцев И.И. и др. Применение пептида THR-LYS-PRO-ARG-PRO-GLY-PRO («Селанка») для коррекции дисбиоза при хроническом иммобилизационном стрессе. Патент РФ № 2681217; 2019.
14. Маркова Ю.А., Алексеев А.Л., Крамарский А.В., Савилов Е.Д. Растения как одно из звеньев цепи циркуляции патогенных для человека бактерий в окружающей среде. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2012; 114(7): 11-4.
15. Дунаева С.Е., Оследкин Ю.С. Бактериальные микроорганизмы, ассоциированные с тканями растений в культуре *in vitro*: идентификация и возможная роль (обзор). *Сельскохозяйственная микробиология*. 2015; 50(1): 3-15. DOI: <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2015.1.3rus>
16. Rio R.V.M., Attardo G.M., Weiss B.L. Grandeur alliances: symbiont metabolic integration and obligate arthropod hematophagy. *Trends Parasitol.* 2016; 32(9): 739-49. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.pt.2016.05.002>
17. Khaosaad T., Garcia-Garrido J.M., Steinkellner S., Vierheilig H. Take all disease is systemically reduced in roots of mycorrhizal barley plants. *Soil Biol. Biochem.* 2007; 39(3): 727-34. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.09.014>
18. Thomas P., Swarna G.K., Roy P.K., Prakash P. Identification of culturable and originally non-culturable endophytic bacteria isolated from shoot tip cultures of banana cv. Grand Naine. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2008; 93(1): 55-63. DOI: <http://doi.org/10.1007/s11240-008-9341-9>
19. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств микроорганизмов в патогенезе эндогенных бактериальных инфекций. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2009; (2): 35-9.
20. van Rood J.J., Persijn G.G., van Leeuwen A., Goulmy E., Gabb B.W. A new strategy to improve kidney graft survival: the induction of CML nonresponsiveness. *Transplant. Proc.* 1979; 11(1): 736-42.
21. Учайкин В.Ф. Решенные и нерешенные проблемы инфекционной патологии у детей. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2004; 83(4): 7-11.
22. Бухарин О.В. Симбиотические взаимоотношения микроорганизмов при инфекции. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 90(1): 93-7.
23. Mergaert P., Uchiomi T., Alunni B., Evanno G., Cheron A., Catrice O., et al. Eukaryotic control on bacterial cell cycle and differentiation in the rhizobium-legume symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103(13): 5230-5. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.0600912103>
24. Томова А.С., Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Роль фактора некроза опухли во взаимодействии макро- и микроорганизмов. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2005; (1): 24-9.



25. Соколенко А.В. Некультивируемые формы бактерий: распространение в природе, индукторы некультивируемого состояния и реверсии. *Современные наукоемкие технологии*. 2006; (2): 11-5.
  26. Teixeira V., Feio M.J., Bastos M. Role of lipids in the interaction of antimicrobial peptides with membranes. *Prog. Lipid Res.* 2012; 51(2): 149-77.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.plipres.2011.12.005>
  27. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Аleshкин В.А., Афанасьев С.С. Фундаментальные аспекты и прикладные принципы лектиновых систем на примере микробиоценозных симбиотических штаммов и консорциумов. *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(2): 80-4.
  28. Крыжановский Г.Н., ред. *Дисрегуляторная патология*. М.: Медицина; 2002: 366-85.
  29. Подгорский В.С., Коваленко Э.А., Карпова И.С., Сащук Е.В., Гетьман Е.И. Внеклеточные лектины сапрофитных штаммов бактерий рода *Bacillus* (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология*. 2014; 50(3): 256-63.  
DOI: <http://doi.org/10.7868/S0555109914030283>
- REFERENCES
1. Bukharin O.V., ed. *Associative Symbiosis [Assotsiativnyy simbioz]*. Ekaterinburg; 2007. (in Russian)
  2. Rozanova G.N., Voevodin D.A. A case of an effective application of probiotics in the complex therapy of severe type 1 diabetes mellitus and intestinal disbiosis. *Klinicheskaya meditsina*. 2008; 86(1): 67-8. (in Russian)
  3. Voevodin D.A., Rozanova G.N., Stenina M.A., Skripnik A.Yu., Cheredeev A.N. The role of immunological responses in the adaptive process in children with diabetes mellitus type 1, phylogenetic concept of anti-stress adaptation. *Immunologiya*. 2003; 24(2): 103-7. (in Russian)
  4. Fomina L.O., Zurochka V.A., Simbirtsev A.S., Gritsenko V.A. Influence of time of cultivation of *Staphylococcus aureus* on the production of cytokine-like substances that detected by ELISA. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal*. 2018; 12(3): 454-9. DOI: <http://doi.org/10.31857/S102872210002427-4> (in Russian)
  5. Zurochka A.V., Dukardt V.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Tyapaeva Ya.V., et al. Staphylococcus as producers of cytokine-like substances. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal*. 2017; 11(2): 134-6. (in Russian)
  6. Zurochka A.V., Dukardt V.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Tyapaeva Ya.V., et al. Bacteria as producers of cytokine-like substances. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal*. 2017; 11(3): 374-6. (in Russian)
  7. Zurochka A.V., Dukardt V.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Belozertseva Yu.P., et al. Staphylococcus aureus: spontaneous production of cytokine-like substances and regulation by synthetic analogue of the active centre of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN*. 2017; (1): 3. (in Russian)
  8. Bondarenko V.M., Maleev V.V., Likhoded V.G. Intestinal microflora, obesity and type 2 diabetes. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2014; 91(3): 42-9. (in Russian)
  9. Rozanova G.N., Voevodin D.A., Stenina M.A., Kushnareva M.V. Pathogenetic role of dysbiosis in the development of complications of type 1 diabetes mellitus in children. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2002; 133(2): 196-8. DOI: <http://doi.org/10.1023/A:1015503006854> (in Russian)
  10. Karaulov S.V., Afanas'ev S.S., Aleshkin V.A., Bondarenko L.N., Voropaeva E.A., Afanas'ev M.S., et al. Mechanisms of virulence acquisition of opportunistic microorganisms and nosocomial strains pool formation in mucosal microbiocenoses of open cavities of the body. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 13(2): 17-31. DOI: <http://doi.org/10.17021/2018.13.2.17.31> (in Russian)
  11. Voevodin D.A., Rozanova G.N., Poddubikov A.V., Mikhaylova N.A. Microbiocenosis, immune system and heredity. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2017; 94(2): 116-26. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-2-116-126> (in Russian)
  12. Tyuziko I.A., Kalinchenko S.Yu., Vorslov L.O., Grekov E.A. Correction of androgen deficiency in chronic infectious prostatitis as pathogenetic method of overcoming inefficiencies standard antibiotics against the growing antibiotic resistance. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya*. 2013; 14(1): 55-63. (in Russian)
  13. Mukhina A.Yu., Svishcheva M.V., Medvedeva O.A., Kalutskiy P.V., Shevchenko A.V., Bobyntsev I.I., et al. Application of peptide Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Selang) for dysbiosis correction under chronic immobilization stress. Patent RF № 2681217; 2019. (in Russian)
  14. Markova Yu.A., Alekseenko A.L., Kramarskiy A.V., Savilov E.D. Plants as an element of environmental chain circulation of pathogenic for human bacteria. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2012; 114(7): 11-4. (in Russian)
  15. Dunaeva S.E., Osledkin Yu.S. Bacterial microorganisms associated with the plant tissue culture: identification and possible role (review). *Sel'skokhozyaystvennaya mikrobiologiya*. 2015; 50(1): 3-15. DOI: <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2015.1.3eng>
  16. Rio R.V.M., Attardo G.M., Weiss B.L. Grandeur alliances: symbiont metabolic integration and obligate arthropod hematophagy. *Trends Parasitol.* 2016; 32(9): 739-49.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.pt.2016.05.002>
  17. Khaosaad T., Garcia-Garrido J.M., Steinkellner S., Vierheilig H. Take all disease is systemically reduced in roots of mycorrhizal barley plants. *Soil Biol. Biochem.* 2007; 39(3): 727-34.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.09.014>
  18. Thomas P., Swarna G.K., Roy P.K., Prakash P. Identification of culturable and originally non-culturable endophytic bacteria isolated from shoot tip cultures of banana cv. Grand Naine. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2008; 93(1): 55-63.  
DOI: <http://doi.org/10.1007/s11240-008-9341-9>
  19. Gritsenko V.A., Ivanov Yu.B. The role of persistent features of microorganisms in pathogenesis of endogenous infections. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2009; (2): 35-9. (in Russian)
  20. van Rood J.J., Persijn G.G., van Leeuwen A., Goulmy E., Gabb B.W. A new strategy to improve kidney graft survival: the induction of CML nonresponsiveness. *Transplant. Proc.* 1979; 11(1): 736-42.
  21. Uchaykin V.F. Solved and unresolved problems of infections pathology in children. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2004; 83(4): 7-11. (in Russian)
  22. Bukharin O.V. Symbiotic interactions of microorganisms during infection. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013; 90(1): 93-7. (in Russian)
  23. Mergaert P., Uchiumi T., Alunni B., Evanno G., Cheron A., Catrice O., et al. Eukaryotic control on bacterial cell cycle and differentiation in the rhizobium-legume symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103(13): 5230-5.  
DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.0600912103>
  24. Tomova A.S., Romanova Yu.M., Gintsburg A.L. The role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in the interaction between the macro- and microorganism. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2005; (1): 24-9. (in Russian)
  25. Sokolenko A.V. Uncultivated forms of bacteria: spread in nature, inductors of uncultivated condition and backward mutation. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2006; (2): 11-5. (in Russian)
  26. Teixeira V., Feio M.J., Bastos M. Role of lipids in the interaction of antimicrobial peptides with membranes. *Prog. Lipid Res.* 2012; 51(2): 149-77.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.plipres.2011.12.005>
  27. Lakhtin M.V., Lakhtin V.M., Aleshkin V.A., Afanas'ev S.S. Fundamental aspects and practical principles of lectin systems on

- the example of symbiotic microbiocenosis strains and consortia. *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(2): 80-4. (in Russian)
28. Kryzhanovskiy G.N., ed. *Dysregulation Pathology [Disregulyatsionnaya patologiya]*. Moscow: Meditsina; 2002: 366-85. (in Russian)
29. Podgorskiy V.S., Kovalenko E.A., Karpova I.S., Sashchuk E.V., Get'man E.I. Extracellular lectin from saprophytic strains of bacteria of the genus *Bacillus* (Review). *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2014; 50(3): 256-63. DOI: <http://doi.org/10.7868/S0555109914030283> (in Russian)

**Информация об авторах:**

*Михайлова Наталья Александровна* — д.м.н., проф., зав. лаб. протективных антигенов, зам. директора НИИВС им. И.И. Мечникова по научной работе, 105064, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6652-2093>.

*Воеводин Дмитрий Анатольевич* — к.м.н., в.н.с. лаб. протективных антигенов НИИВС им. И.И. Мечникова, 105064, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2595-9168>.

E-mail: [voevodin@instmech.ru](mailto:voevodin@instmech.ru)

*Лазарев Сергей Александрович* — м.н.с. лаб. протективных антигенов НИИВС им. И.И. Мечникова, 105064, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3206-6015>.

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Information about authors:**

*Natalia A. Mikhailova* — D. Sci. (Med.), Prof., Head, Laboratory of protective antigens, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6652-2093>.

*Dmitry A. Voevodin* — PhD (Med.), leading researcher, Laboratory of protective antigens, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2595-9168>.

E-mail: [voevodin@instmech.ru](mailto:voevodin@instmech.ru)

*Sergey A. Lazarev* — junior researcher, Laboratory of protective antigens, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3206-6015>.

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.