

## S-БЕЛОК ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *LACTOBACILLUS CRISPATUS* 2029 ПРЕДОТВРАЩАЕТ РОСТ ПРОНИЦАЕМОСТИ МОНОСЛОЯ САСО-2 ЭНТЕРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА, ИНДУЦИРУЕМЫЙ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

И.В. Косарев<sup>1</sup>, Р.Н. Василенко<sup>1</sup>, В.М. Абрамов<sup>1</sup>, В.К. Сакулин<sup>1</sup>, В.С. Хлебников<sup>1</sup>,  
С.Ю. Пчелинцев<sup>1</sup>, А.В. Мачулин<sup>2\*</sup>, Т.Н. Абашина<sup>2</sup>, В.А. Самойленко<sup>2</sup>,  
В.Н. Уверский<sup>3</sup>, А.В. Карлышев<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ОАО «Институт инженерной иммунологии»  
142380, Российская Федерация, Московская обл., Чеховский р-н, п. Любучаны, ул. Научная, 1

<sup>2</sup> ФГБУН «Федеральный исследовательский центр  
«Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»  
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пушкино, просп. Науки, 3

<sup>3</sup> Университет Южной Флориды  
33620, США, Флорида, Тампа, Охотников Восточный просп., 4202

<sup>4</sup> Кингстонский университет в Лондоне  
KT1 1LQ, Великобритания, Лондон, Кингстон на Темзе, Главная ул., 53–57

Использование биомодели конфлюэнтного монослоя Сасо-2 энтероцитов позволило выявить у S-белка, выделенного из штамма LC2029, наличие способности предотвращать индуцированные возбудителями кишечных инфекций (*E. coli* O157:H7, *C. jejuni* ATCC 33291, *S. enteritidis* ATCC 25928) нарушения проницаемости — важной функции кишечного барьера.

**Ключевые слова:** биомодель, монослой Сасо-2 энтероцитов, проницаемость, S-белок, возбудители кишечных инфекций

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Косарев И.В., Василенко Р.Н., Абрамов В.М., Сакулин В.К., Хлебников В.С., Пчелинцев С.Ю., Мачулин А.В., Абашина Т.Н., Самойленко В.А., Уверский В.Н., Карлышев А.В. S-белок пробиотического штамма *Lactobacillus crispatus* 2029 предотвращает рост проницаемости монослоя Сасо-2 энтероцитов человека, индуцируемый возбудителями кишечных инфекций. *Биомедицина*. 2021;17(3): 79–83. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-79-83>

Поступила 08.04.2021

Принята после доработки 23.07.2021

Опубликована 10.09.2021

# S-PROTEIN OF THE PROBIOTIC STRAIN *LACTOBACILLUS CRISPATUS* 2029 PREVENTS THE GROWTH OF PERMEABILITY OF THE CACO-2 MONOLAYER OF HUMAN ENTEROCYTES INDUCED BY INTESTINAL INFECTIONS

Igor V. Kosarev<sup>1</sup>, Raisa N. Vasilenko<sup>1</sup>, Vyacheslav M. Abramov<sup>1</sup>,  
Vadim K. Sakulin<sup>1</sup>, Valentin S. Khlebnikov<sup>1</sup>, Sergey Yu. Pchelintsev<sup>1</sup>,  
Andrey V. Machulin<sup>2\*</sup>, Tatiana N. Abashina<sup>2</sup>, Vladimir A. Samoilenko<sup>2</sup>,  
Vladimir N. Uversky<sup>3</sup>, Andrey V. Karlyshev<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institute of Immunological Engineering  
142380, Russian Federation, Moscow Region, Chekhov District, Lyubuchany, Nauchnaya Str., 1

<sup>2</sup> Federal Research Center  
"Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences"  
142290, Russian Federation, Moscow region, Pushchino, Science Avenue, 3

<sup>3</sup> University of South Florida  
33620, USA, Florida, Tampa, E. Fowler Avenue, 4202

<sup>4</sup> Kingston University London  
KT1 1LQ, Great Britain, London, Surrey, Kingston upon Thames, High Str., River House, 53–57

The use of a biomodel of the confluent monolayer Caco-2 of enterocytes allowed us to reveal the ability of the S-protein isolated from strain LC2029 to prevent permeability disorders resulting from intestinal infections induced by pathogens (*E. coli* O157: H7, *C. jejuni* ATCC 33291, *S. enteritidis* ATCC 25928). This is important for maintaining the efficiency of the intestinal barrier.

**Keywords:** biomodel, monolayer of Caco-2 enterocytes, permeability, S-protein, causative agents of intestinal infections

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Kosarev I.V., Vasilenko R.N., Abramov V.M., Sakulin V.K., Khlebnikov V.S., Pchelintsev S. Yu., Machulin A.V., Abashina T.N., Samoilenko V.A., Uversky V.N., Karlyshev A.V. S-Protein of the Probiotic Strain *Lactobacillus crispatus* 2029 Prevents the Growth of Permeability of the Caco-2 Monolayer of Human Enterocytes Induced by Intestinal Infections. *Journal Biomed.* 2021;17(3):79–83. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-79-83>

Submitted 08.04.2021

Revised 23.07.2021

Published 10.09.2021

## Введение

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) с уникальным свойством слизистой оболочки поглощать питательные вещества из содержимого кишечника и колонизирующее его сообщество микроорганизмов в настоящее время представляется как высокоорганизованная система, от которой зависит не только здоровье, но и сама жизнь человека. У взрослого человека микробиота ЖКТ представлена примерно  $10^{14}$  микробных клеток, что составляет до 40% общего

числа микроорганизмов всего микробиома, причем примерная общая поверхность ЖКТ составляет 250–400 м<sup>2</sup>. В кишечнике микробиота подразделяется на пристеночную и просветную. Пристеночная микробиота тесно связана с эпителиальными клетками стенки кишечника. Однако ряд вредных воздействий приводит к замещению нормальной микробиоты кишечника патогенными микроорганизмами.

Адгезия патогенной микрофлоры на энтероцитах кишечника является ключевым

этапом в развитии многих инфекционных заболеваний. Возбудители таких инфекций повреждают энтероциты и повышают проницаемость кишечного барьера, что приводит к развитию многих патологических процессов в организме, связанных с неконтролируемой транслокацией патогенов и их продуктов через слизистую оболочку кишечника. Нормальная микрофлора и, в частности, пробиотические лактобациллы, защищают макроорганизм от патогенных микробов, блокируя их адгезию к рецепторам эпителиальных клеток. В результате этого сохраняется кишечный барьер, не повышается его проницаемость и деструкция, предотвращается колонизация слизистых оболочек патогенами.

Известно, что некоторые штаммы лактобацилл экспрессируют S-белки на своей поверхности. Способность S-белков пробиотических лактобацилл препятствовать повышению кишечной проницаемости, индуцируемой возбудителями кишечных инфекций, не изучена.

**Целью данной работы** явилось исследование *in vitro* способности S-белка штамма *Lactobacillus crispatus* 2029 (LC2029) ингибировать рост проницаемости слизистой оболочки кишечника, вызываемый возбудителями кишечных инфекций: *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni* ATCC 33291, *Salmonella Enteritidis* ATCC 25928.

### Материалы и методы

В опытах использовали S-белок штамма LC2029. Адгезивная активность штамма LC2029 связана с его способностью экспрессировать на своей поверхности S-белок, являющийся высокоэффективным адгезином [1]. Удаление S-белка с поверхности клеток LC2029 с помощью 5M LiCl приводило к утрате способности модифицированных клеток этого штамма к адгезии на энтероцитах человека.

Протективные свойства S-белка, выделенного из штамма LC2029, оценивали по методу, предложенному в работе [2]. В опытах использовали *in vitro* биомодель монослоя Сасо-2 энтероцитов. Сасо-2 энтероциты культивировали на специальных фильтрах системы Transwell (Corning Costar). После достижения клетками 100% конфлюэнтного монослоя меняли среду, содержащую 10% сыворотки, на среду с 0,2% сыворотки. Монослой культивировали дополнительно 18 ч для синхронизации клеточного цикла. Далее исследовали проницаемость монослоя Сасо-2 энтероцитов для ТРИТЦ-декстрана (65–85 кДа) под действием S-белка (контроль 1), *E. coli* O157:H7 (контроль 2), *C. jejuni* ATCC 33291 (контроль 3), *S. enteritidis* ATCC 25928 (контроль 4), S-белок+*E. coli* O157:H7 (опыт 1), S-белок+*C. jejuni* ATCC 33291 (опыт 2), S-белок+*S. enteritidis* ATCC 25928 (опыт 3). В культуральную среду верхней камеры вносили ТРИТЦ-декстран (1 мг/мл, 65–85 кДа). Количество ТРИТЦ-декстрана в нижней камере, прошедшего через монослой Сасо-2 клеток, определяли флуориметрически при длине волны 485/590нм.

### Результаты и заключение

Было установлено, что предварительно внесённый S-белок штамма LC2029 в культуральную среду верхней камеры системы Transwell экранирует монослой Сасо-2 энтероцитов и предотвращает индуцированный возбудителями кишечных инфекций (*E. coli* O157:H7, *C. jejuni* ATCC 33291, *S. enteritidis* ATCC 25928) рост проницаемости монослоя. При отсутствии в культуральной среде S-белка, экранирующего поляризованный монослой Сасо-2 энтероцитов, внесение в верхнюю камеру системы Transwell возбудителей кишечных инфекций вызывало достоверное ( $p < 0,001$ ) повышение проницаемости монослоя Сасо-2 энтероцитов для ТРИТЦ-декстрана.

Таким образом, использование биомодели конглоэнтного монослоя Saco-2 энтероцитов позволило выявить у S-белка, выделенного из штамма LC2029, наличие способности предотвращать индуцирован-

ные возбудителями кишечных инфекций (*E. coli* O157:H7, *C. jejuni* ATCC 33291, *S. enteritidis* ATCC 25928) нарушения проницаемости — важной функции кишечного барьера.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Abramov V.M., Kosarev I.V., Pripitnevich T.V., et al. S-layer protein of *Lactobacillus crispatus* 2029, its structural and immunomodulatory characteristics and roles in protective potential of the whole bacteria against foodborne pathogens. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020;150:400–412.
2. Chen C., Jamaluddin M., Yan S., et al. Human stanniocalcin-1 blocks TNF-induced monolayer permeability in human coronary artery endothelial cells. *Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biol.* 2008. DOI: 10.1161/ATVBAHA.108.163667.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Косарев Игорь Васильевич**, к.б.н., ОАО «Институт инженерной иммунологии»;  
e-mail: [kosarev-52@mail.ru](mailto:kosarev-52@mail.ru)

**Igor V. Kosarev**, Cand. Sci. (Biol.), Institute of Immunological Engineering;  
e-mail: [kosarev-52@mail.ru](mailto:kosarev-52@mail.ru)

**Василенко Раиса Николаевна**, к.б.н., ОАО «Институт инженерной иммунологии»;

**Raisa N. Vasilenko**, Cand. Sci. (Biol.), Institute of Immunological Engineering;

**Абрамов Вячеслав Михайлович**, д.б.н., проф., ОАО «Институт инженерной иммунологии»;  
e-mail: [slavab2017@mail.ru](mailto:slavab2017@mail.ru)

**Vyacheslav M. Abramov**, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Institute of Immunological Engineering;  
e-mail: [slavab2017@mail.ru](mailto:slavab2017@mail.ru)

**Сакулин Вадим Константинович**, ОАО «Институт инженерной иммунологии»;

**Vadim K. Sakulin**, Institute of Immunological Engineering;

**Хлебников Валентин Сергеевич**, д.б.н., проф., ОАО «Институт инженерной иммунологии»;  
e-mail: [vkhleb@mail.ru](mailto:vkhleb@mail.ru)

**Valentin S. Khlebnikov**, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Institute of Immunological Engineering;  
e-mail: [vkhleb@mail.ru](mailto:vkhleb@mail.ru)

**Пчелинцев Сергей Юрьевич**, д.м.н., проф., ОАО «Институт инженерной иммунологии»;  
e-mail: [serg.pch@yandex.ru](mailto:serg.pch@yandex.ru)

**Sergey Yu. Pchelintsev**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Institute of Immunological Engineering;  
e-mail: [serg.pch@yandex.ru](mailto:serg.pch@yandex.ru)

**Мачулин Андрей Валериевич\***, к.б.н., ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»;  
e-mail: [and.machul@gmail.com](mailto:and.machul@gmail.com)

**Andrey V. Machulin\***, Cand. Sci. (Biol.), Federal Research Center “Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences”;  
e-mail: [and.machul@gmail.com](mailto:and.machul@gmail.com)

**Абашина Татьяна Николаевна**, к.б.н., ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»;  
e-mail: [tnabashina@gmail.com](mailto:tnabashina@gmail.com)

**Tatiana N. Abashina**, Cand. Sci. (Biol.), Federal Research Center “Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences”;  
e-mail: [tnabashina@gmail.com](mailto:tnabashina@gmail.com)

**Самойленко Владимир Александрович**, к.б.н., ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»;  
**e-mail:** [samva@rambler.ru](mailto:samva@rambler.ru)

**Уверский Владимир Николаевич**, д.ф.-м.н., проф., Университет Южной Флориды;  
**e-mail:** [vuversky@usf.edu](mailto:vuversky@usf.edu)

**Карлышев Андрей Владимирович**, к.б.н., проф., Кингстонский университет в Лондоне;  
**e-mail:** [a.karlyshev@kingston.ac.uk](mailto:a.karlyshev@kingston.ac.uk)

**Vladimir A. Samoilenko**, Cand. Sci. (Biol.), Federal Research Center “Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences”;  
**e-mail:** [samva@rambler.ru](mailto:samva@rambler.ru)

**Vladimir N. Uversky**, Dr. Sci. (Phys.-Math.), Prof., University of South Florida;  
**e-mail:** [vuversky@usf.edu](mailto:vuversky@usf.edu)

**Andrey V. Karlyshev**, Cand. Sci. (Biol.), Prof., Kingston University London;  
**e-mail:** [a.karlyshev@kingston.ac.uk](mailto:a.karlyshev@kingston.ac.uk)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author