

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-233-1-40-58>

Фармакоинформационное исследование синергизма воздействия на микробиоту кишечника пробиотиков *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 (LGG), *Bifidobacterium longum* CECT 7894 и цитрата цинка

Громова О.А., Торшин И.Ю., Сорокин А.И.

Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук,
(ул. Вавилова, д. 44, корп. 2, Москва, 119333, Россия)

Для цитирования: Громова О.А., Торшин И.Ю., Сорокин А.И. Фармакоинформационное исследование синергизма воздействия на микробиоту кишечника пробиотиков *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 (LGG), *Bifidobacterium longum* CECT 7894 и цитрата цинка. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2025;(1): 40–58 doi: 10.31146/1682-8658-ecg-233-1-40-58

✉ Для переписки:

Громова

Ольга Алексеевна

unesco.gromova

@gmail.com

Громова Ольга Алексеевна, д.м.н., проф., в.н.с.

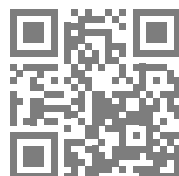
Торшин Иван Юрьевич, канд. физ.-мат. наук, канд. хим. наук, в.н.с.

Сорокин Александр Игоревич, кандидат физико-математических наук, с.н.с.; ведущий аналитик, к.ф.-м.н.

Резюме

Бактерии с пробиотическими свойствами используются для оздоровления микробиома, состояние которого оказывает разностороннее воздействие на здоровье человека. Эффекты бактерий-пробиотиков штамм-специфичны и могут быть усилены как посредством веществ-пребиотиков (фруктоолигосахариды, инулин и др.), так и посредством эссенциальных микронутриентов. В частности, микроэлемент цинк важен для поддержки нормофизиологической микробиоты кишечника (которая является источником микробиоты всех остальных органов) и для функционирования иммунной системы. В настоящей работе представлены результаты анализа двух перспективных пробиотических штаммов (лактобактерии *L. rhamnosus* GG (ATCC 53103), бифидобактерии *B. longum* CECT 7894) и цитрата цинка, являющегося высокоусвояемым источником микроэлемента цинка. Анализ фармакологии *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894, геномов и протеомов изученных пробиотиков и фармакологических свойств цитрата цинка позволил выявить системно-биологический синергизм между изученными штаммами пробиотиков и цинком. Установлено, что аннотированный сегмент протеома *L. rhamnosus* GG содержит 103 цинк-зависимых белка, а протеома *B. longum* CECT 7894 – 204 белка. Выделены функциональные группы белков, реализующих метаболические процессы (1) преимущественно в *L. rhamnosus* (обмен сахаров, аминокислот метионина и гистидина, протеолиз, витамин-PP-зависимые функции), (2) преимущественно в *B. longum* (окислительно-восстановительные процессы, нуклеотидный обмен, обмен фруктозы, биосинтетические процессы, детоксикационные процессы, в т.ч. защита от тяжёлых металлов) и (3) в одинаковой степени в *L. rhamnosus* и *B. longum* (ремонт ДНК, обработка информации, кодированной в бактериальной ДНК, метаболизм аминокислот серина и глицина, энергетический метаболизм, обмен фолатов, синтез короткоцепочечных жирных кислот – бутирата, пропионата, ацетата и др.). Из результатов протеомного анализа следует, что цитрат цинка, поддерживая метаболизм *L. rhamnosus* GG и *B. longum* CECT 7894, усиливает пробиотические свойства обеих бактерий. Этот вывод подтверждается результатами фундаментальных и клинических исследований.

EDN: XPNEDA



Ключевые слова: микробиом, пробиотики, *L. rhamnosus* GG (ATCC 53103), *B. longum* CECT 7894, цитрат цинка, фармакоинформатика, иммунитет, Аципол® Форте

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.



Pharmacoinformatic study of the synergistic effect of probiotics *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 (LGG), *Bifidobacterium longum* CECT 7894 and zinc citrate on the intestinal microbiota

O.A. Gromova, I.Yu. Torshin, A.I. Sorokin

Federal Research Center "Computer Science and Control" of the Russian Academy of Sciences; (44, Bldg. 2, Vavilov St., Moscow, 119333, Russia)

For citation: Gromova O.A., Torshin I.Yu., Sorokin A.I. Pharmacoinformatic study of the synergistic effect of probiotics *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 (LGG), *Bifidobacterium longum* CECT 7894 and zinc citrate on the intestinal microbiota. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2025;(1): 40–58. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-233-1-40-58

✉ **Corresponding author:**

Olga A. Gromova
unesco.gromova
@gmail.com

Olga A. Gromova, Doctor of Medical Sciences, Prof., Leading Researcher; ORCID: 0000-0002-7663-710X

Ivan Yu. Torshin, Ph.D., Leading Researcher; ORCID: 0000-0002-2659-7998

Alexandr I. Sorokin, Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Senior Researcher; Leading Analyst, PhD in Physics and Mathematics

Summary

Bacteria with probiotic properties are used to improve the health of the microbiome, the state of which has a multifaceted effect on human health. The effects of probiotic bacteria are strain-specific and can be enhanced by both prebiotic substances (fructooligosaccharides, inulin, etc.) and essential micronutrients. In particular, the trace element zinc is important for maintaining the normophysiological intestinal microbiota (which is the source of the microbiota of all other organs) and for the functioning of the immune system. This paper presents the results of the analysis of two promising probiotic strains (*Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), bifidobacteria *B. longum* CECT 7894) and zinc citrate, which is a highly absorbable source of the trace element zinc. The analysis of the pharmacology of *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894, the genomes and proteomes of the studied probiotics and the pharmacological properties of zinc citrate allowed us to identify systemic biological synergism between the studied probiotic strains and zinc. It was found that the annotated segment of the *L. rhamnosus* GG proteome contains 103 zinc-dependent proteins, and the proteome of *B. longum* CECT 7894 contains 204 proteins. Functional groups of proteins implementing metabolic processes were identified (1) mainly in *L. rhamnosus* (metabolism of sugars, amino acids methionine and histidine, proteolysis, vitamin PP-dependent functions), (2) mainly in *B. longum* (oxidation-reduction processes, nucleotide metabolism, fructose metabolism, biosynthetic processes, detoxification processes, including protection against heavy metals) and (3) to the same extent in *L. rhamnosus* and *B. longum* (DNA repair, processing of information encoded in bacterial DNA, metabolism of amino acids serine and glycine, energy metabolism, folate metabolism, synthesis of short-chain fatty acids – butyrate, propionate, acetate, etc.). The results of proteomic analysis show that zinc citrate, maintaining the metabolism of *L. rhamnosus* GG and *B. longum* CECT 7894, enhances the probiotic properties of both bacteria. This conclusion is supported by the results of fundamental and clinical studies.

Keywords: microbiome, probiotics, *L. rhamnosus* GG (ATCC 53103), *B. longum* CECT 7894, zinc citrate, pharmacoinformatics, immunity, Acipol Forte®

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Введение | Introduction

В организме человека микробиом (совокупность бактерий-симбионтов) выполняет широкий спектр локальных и системных функций: энергетических, трофических, детоксикационных и др. Здоровое (нормофизиологическое) состояние микробиома важно для стимуляции иммунной системы, ингибирования бактериальных и вирусных патогенов, регулирования перистальтики кишечника, снижения абnormally повышенной проницаемости кишечника, поддержки гомеостаза и снижения

потерь витаминов и микроэлементов, дифференцировки и регенерации тканей, биосинтеза сигнальных молекул (в т.ч. нейротрансмиттеров серотонина, ГАМК, гистамина, ацетилхолина, дофамина). Микробиом – неотъемлемая часть осей «кишечник – микробиом – печень», «кишечник – микробиом – легкие», «кишечник – микробиота – головной мозг» и др. [1].

В состав микробиома кишечника взрослых людей могут входить представители более чем 600

различных родов бактерий; 90% нормофизиологического микробиома человека составляют бактерии типов *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. Дисбиоз кишечника (изменение качественного и количественного состава бактериальной флоры кишечника в сторону патогенности) утяжеляет воспалительные заболевания кишечника, эндокринные (метаболические) заболевания, нарушения иммунитета, неврологические расстройства, сердечно-сосудистую и опухолевую патологию. Дисбиоз кишечника возникает вследствие острых инфекционных заболеваний ЖКТ, ятрогенных (антибиотики и другая фармакотерапия, лучевая терапия), диетарных (дефициты микронутриентов и пищевых волокон, ксенобиотики в пище), стрессовых, иммунных и других факторов [2].

Дисбиоз неразрывно связан с функциональными расстройствами ЖКТ (метеоризм, вздутием, урчание в животе, боль в животе, диарея, запоры или их чередование) [3], синдромом раздраженного кишечника (хроническая боль в животе и нарушения функции кишечника, резко снижающие качество жизни) и, в особенности, с антибиотик-ассоциированной диареей (ААД, жидкий стул не менее 3 раз в сутки после начала антибактериальной терапии) [4]. Общая частота развития ААД составляет 4%–80% у детей и 2,5–33% у взрослых, вне зависимости от пути введения антибиотика. Важным этиологическим фактором в развитии ААД является бактериальный патоген *Clostridium difficile* [5].

Дисбиоз кишечника отягощает нарушения противовирусного и антибактериального иммунитета. Дисбиоз ЖКТ со значительным снижением количеств бифидо- и лактобактерий, увеличение количества кишечной палочки на фоне резкого снижения многообразия представителей

микробиоты кишечника характерен для детей, часто и длительно болеющих заболеваниями верхних дыхательных путей (ринит, тонзиллит, фарингит, ларингит) и нижних отделов дыхательных путей (трахеит, бронхит, пневмония). Среди этиологических факторов острых респираторных инфекций «удельный вес» вирусов составляет 70–90%, а смешанной вирусно-бактериальной инфекции – 20–25% [4, 5].

Восстановление нормофизиологического профиля микробиома ЖКТ (из которого, напомним, формируются нормофизиологические микробиомы всех других органов) осуществляется посредством приёма пробиотиков (особых штаммов полезных бактерий, нормализующих профиль микробиоты), пребиотиков (веществ, специфически поддерживающих рост здоровой микробиоты – олигофруктосахаридов и др.) и микронутриентов (витаминов группы В, солей цинка и др.). Пробиотики (особенно те, которые способны формировать биоплёнку) способствуют (1) вытеснению патогенной микрофлоры, (2) метаболизации макро- и микронутриентов из кишечного транзита, (3) биосинтезу полезных для организма метаболитов (таких, как витамины группы В, масляная кислота и другие короткоцепочечные жирные кислоты, КЦЖК), (4) регуляции местного и адаптивного иммунитета [4]. Оздоровление микробиома посредством пробиотических штаммов бифидо/лактобактерий и веществ-пребиотиков является важным подходом в терапии и профилактике COVID-19 [6]. Перспективным направлением разработки эффективных пробиотиков является использование нескольких штаммов бактерий, метаболическая активность которых дополняет друг друга, в сочетании с пребиотиками и с микронутриентами.

Материалы и методы | Materials and methods

Материалом для исследования был особый цинк-содержащий пробиотический комплекс «Аципол® Форте» в состав которого входят штаммы двух бактерий *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103, *Bifidobacterium longum* CECT 7894 по 5 млрд и цитрат цинка.

Для *L. rhamnosus* ATCC 53103 (также известен как *L. rhamnosus* GG) была определена нуклеотидная последовательность генома (запись ASM335345v1 в базе данных NCBI – NLM), а в базе данных научных публикаций «PUBMED» по фармакологии и биологии данного штамма представлены 1589 публикаций. Для штамма *B. longum* CECT 7894 был определён геном (запись ASM1663443v1 в базе данных NCBI – NLM). По эффектам солей цинка (в т.ч. цитрата) на микробиом в «PUBMED» представлено около 950 публикаций, а по влиянию цинка на иммунитет – более 7000 публикаций. Таким образом, для формулировки механизма синергизма *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103, *Bifidobacterium longum* CECT 7894 и цитрата цинка было проведено биоинформационное протеомное исследование протеомного потенциала двух геномов, а также анализ текстов трёх массивов исследований

(по *L. rhamnosus* ATCC 53103, влиянию цинка на микробиоту и на иммунитет). Проведение протеомного анализа, основанного на выявлении и изучении взаимодействий белков из структуры бактериальных клеток LGG/ BBL и малых молекул (цинка цитрата) проводится с использованием специальной приборной базы.

В результате проведённого исследования были впервые выявлены и систематизированы молекулярные механизмы синергизма компонентов Аципол® Форте, в т.ч. детально описаны механизмы тройственного синергизма цинка, лакто- и бифидобактерий. Далее, последовательно рассмотрены результаты систематического анализа микробиологии и фармакологии *Lactobacillus rhamnosus* GG, фармакологии *Bifidobacterium longum* CECT 7894, цитрата цинка как успешного сочетания эссенциального микроэлемента цинка (важного для пробиотических бактерий) и плеiotропного лиганда (цитрат-аниона), воздействие цинка на системы организма (прежде всего, на иммунную систему), результаты анализа цитрат-аниона в составе цитрата цинка и, наконец, протеомного анализа синергизма *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894

и цитрата цинка. Приведены экспериментальные и клинические подтверждения синергизма цинка, *L. rhamnosus* GG, бифидобактерий *B. longum*.

Были применены методы фармакоинформационного и протеомного анализа данных, разрабатываемые в научной школе Ю.И. Журавлёва: методы геномной и протеомной аннотации [7], распознавания структуры белка [8], методы анализа разнородных признаков описаний [9] и методы вычислительного анализа текстов [10]. Поисковый

анализ массива данных о протеоме бактерий *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894 и по белкам связанных с цитратом цинка проводился на гибридном высокопроизводительном вычислительном комплексе архитектуры Intel, в состав которого входят 2 узла на платформе Huawei Fusion G5500 со следующими характеристиками: 2*CPU Intel Xeon Platinum 8160 (2.1 GHz, 24 Core), 1536 Gb RAM, 2*10G Ethernet, 2*40G Ethernet, 2*16G FibreChannel, 2*100G InfiniBand, 8*GPU Nvidia Tesla V100).

Фармакология LGG, поддержка физиологических процессов и влияние на патогенные микроорганизмы

Pharmacology of LGG, support of physiological processes and influence on pathogenic microorganisms

Поддержка физиологических процессов посредством *L. rhamnosus* GG включает поддержку иммунитета (в т.ч. лимфоцитарного), полезных представителей микробиома (другие лактобактерии, фирмикуты), позитивное воздействие на углеводный обмен и противовоспалительное действие (в частности, стабилизация тучных клеток). LGG анаэробно метаболизирует фукозу для производства молочной кислоты, 1,2-пропаната, ацетата, формиата [11].

В частности, в модели желудочно-кишечного воспаления и системной иммуносупрессии у мышей добавление LGG значительно усилило барьерную функцию кишечника, увеличило массу тела и выживаемость. Кроме того, добавление LGG модулировало микробиоту кишечника, увеличивая численность *Bacteroidetes* и уровни экспрессии генов, продуцирующих бутират, «But» и «Buk», что способствовало выработке бутирата. Бутират ингибировал сигнальный путь IRE1α/XBP1, что уменьшало вызванное воспалением повреждение кишечника [12].

LGG способствует стимуляции иммунитета (повышение продукции иммуноглобулинов IgA, IgG, IgM, стимулирование Th-1 иммунного ответа через продукцию Th-1 цитокинов и активации сигналов активации NK-лимфоцитов, интерферон-опосредованные ответы) [13]. Модулируя иммунные ответы, *L. rhamnosus* GG снижает опухолевую нагрузку в доклинических моделях [14].

Противовоспалительное действие LGG связано с ингибированием продукции липополисахаридов патогенами, провоспалительного фактора ФНОα, ингибирования каскада NF-kB [13]. *L. rhamnosus* GG регулирует провоспалительный ответ иммунной системы при радиационно-индуцированном энтерите у мышей. Защитные эффекты пробиотика при радиационном энтерите были потенциально связаны с ростом колоний противовоспалительной микробиоты (*Porphyromonadaceae*, *Bacteroides acidifaciens*, *Ruminococcus*) и изменениями профиля метаболитов, указывающих на поддержку биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов, пептидогликанов, триптофана, аденозилкобаламина и КЦЖК (пропионат, ацетат, бутират и др.) [15].

Анализ транскриптомного профиля цельных клеток крови у пожилых участников (n=11),

принимавших пробиотик *L. rhamnosus* GG (ATCC 53103), в течение 4 недель, указал на достоверные различия в паттернах экспрессии генов. Из 25990 изученных генов транскриптов статистически значимые различия были обнаружены для 95 транскриптов/генов. В частности, экспрессия гена FCER2 (специфический антиген В-клеток) и низкоаффинный рецептор для IgE, играет важную роль в росте и дифференцировке В-клеток) и гена LY86 (ожирение, резистентность к инсулину, воспаление) снижалась более чем в 1,5 раза, что соответствует противовоспалительному эффекту [16].

L. rhamnosus GG улучшает чувствительность к инсулину и снижает ожирение у мышей на диете с высоким содержанием жиров посредством усиления выработки адипонектина [17]. Например, посредством модуляции микробиоты кишечника *L. rhamnosus* GG улучшал чувствительность к инсулину и выживаемость потомства у свиноматок. *L. rhamnosus* GG достоверно улучшал чувствительность к инсулину на поздней стадии беременности и лактации, увеличивал потребление корма, выработку молока и уровень лактозы молозива на ранней лактации. Применение *L. rhamnosus* GG существенно изменял микробиоту кишечника свиноматок, увеличивая разнообразие микробиоты и численность колоний полезных бактерий, связанных с переработкой сахаров и с чувствительностью к инсулину (роды *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*). Прием *L. rhamnosus* GG свиноматками усиливал иммунитет у новорожденных поросят, уменьшая воспаление и нормализуя микробиоту кишечника у потомства [18].

L. rhamnosus GG ослаблял токсические эффекты наночастиц диоксида титана (TiO₂), вызывающих воспаление печени и толстой кишки, и метаболические нарушения, вызванные фруктозой у мышей с моделью метаболического синдрома. LGG устранял дисбактериоз кишечника и снижал численность бактерий, связанных с воспалением (*Desulfovibrionaceae*, *Clostridia*, *Proteobacteria*), тем самым защищая кишечник от воспаления слизистой, вызванного нанодисперсным TiO₂ [19].

Диоксид титана («титановые белила») широко используется как белый краситель для производства таблетированных форм лекарств

и биологически-активных добавок к пище, зубной пасты и, также, в пищевой промышленности (сахарафина, сгущенное молоко, куриные полуфабрикаты, майонеза, муки, кондитерских изделий и др.). Однако, широкое использование наночастиц диоксида титана и других представляет опасность как для окружающей среды, так и для здоровья человека, что требует соответствующих действий и мер для их полезного использования.

Лактобактерии *L. rhamnosus* штамма GG могут оказывать существенное противодействие самым разным агрессивным патогенам (сальмонеллы, стрептококки, клостридии, стафилококки, листерии, протеобактерии, шигеллы, грибы, кампилобактер, хеликобактер, лямблии, холерный вибрион).

L. rhamnosus GG способствовал повышению разнообразия полезной микробиоты и дифференцировке Т-лимфоцитов в кишечнике мышей. Даже достаточно малые дозы LGG улучшал индексы разнообразия микробиоты (OTU, Chao1, ACE, индекс Шеннона) на фоне снижения индекса Симпсона (патогенность микробиоты). Кроме того, применение LGG увеличивало обилие *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Actinomycetes* в ЖКТ, одновременно снижая обилие *Proteobacteria* [21].

Одновременно, *L. rhamnosus* GG регулирует иммунную систему организма-хозяина: увеличивает экспрессию цитокинов типа Th1 (IFN- γ) и цитокинов Th2 (IL-4) в CD4(+) Т-клетках. Это соответствует восстановлению баланса клеток Th1/Th2 по сравнению с контрольной группой [21].

В протеоме *L. rhamnosus* GG выявлены 90 белков, участвующих в сигнальных каскадах формирования лактобактериальных биоплёнок, что важно для восстановления защиты эпителия ЖКТ

от патогенных бактерий. Установлено, что прямое антибактериальное действие LGG против грамм-отрицательных и грамм-положительных патогенов обусловлено синтезом белков-бактериоцинов. Посредством выработки специальных адгезионных белков, в т.ч. составе «бактериальных щупалец» (т.н. пилей), *L. rhamnosus* GG конкурирует с патогенными бактериями за колонизацию поверхности ЖКТ и, тем самым, вытесняет патогены [13].

Эффекты *L. rhamnosus* GG могут быть усилены цинком и аутоиндуктором-2 (АИ-2) – молекулой-инициатором формирования биоплёнок, которая способствует колонизации ЖКТ. Следует отметить, что в геноме LGG содержится ген *LuxS*, играющий ключевую роль как в кворум-сенсинге бактериальных плёнок и в выработке АИ-2, которая, одновременно, является компонентом цикла биосинтеза субстратов метилирования и метаболизма метионина. Поэтому, LGG (особенно при поддержке цинком) может производить достаточные количества АИ-2, что улучшает барьерную функцию кишечника, вытесняет патогенную микрофлору и устраняет ААД.

В эксперименте на мышах, группа получавших LGG и АИ-2 показала повышение уровней родов бактерий *Firmicutes*, *Lactisacibacillus* и сниженную долю патогенных *Proteobacteria*. Добавление АИ-2 к LGG приводило к достоверному ускорению формирования биоплёнок LGG на слизистой толстой кишки. Иммуногистохимический анализ выявил достоверно более низкие уровни ФНО- α и достоверно более высокий уровень противовоспалительного ИЛ-10 в группах животных на *L. rhamnosus* GG и на смеси «*L. rhamnosus* GG + АИ-2», чем в контроле [22].

Потенциальные направления фармакотерапии для использования комплексного пробиотика LGG + *B. longum* CECT 7894 + Zn

Potential directions of pharmacotherapy for the use of the complex probiotic LGG + *B. longum* CECT 7894 + Zn

L. rhamnosus GG снижал фиброз легких, вызванный радиацией, посредством модуляции сигнальных путей SNHG17, PTBP1 и NICD [23]. Метаанализ 10 исследований подтвердил, что LGG способствует формированию оральной толерантности детей к аллергии на коровье молоко (ОШ 2,22; 95% ДИ 1,86–2,66) [24].

Приём LGG детьми в возрасте 3–7 лет ($n=571$) в осенне-зимне-весенний период достоверно снижал количество пропущенных дней по болезни (4,9 сут, контроль: 5,8 сут, $p=0,03$) и заболеваемость инфекциями дыхательных путей (на 17%, $p=0,05$), в т.ч. осложнений таких заболеваний [25]. Метаанализ 4 РКИ с участием 1805 детей подтвердил, что применение LGG ассоциировано со снижением риска острого среднего отита (ОР 0,76, 95% ДИ 0,64–0,91), риска инфекций верхних дыхательных путей (ОР 0,62, 95% ДИ 0,50–0,78), частоты назначения антибиотиков (ОР 0,8, 95%

ДИ 0,71–0,91) по сравнению с плацебо (2013; 50: 377–81) [26].

LGG модулирует микробиом кожи в области раневого повреждения, тем самым улучшая заживление ран. В эксперименте на крысах штамм LGG ежедневно наносился (топически) на раны, инфицированные *S. aureus*. Пробиотик достоверно ускорил заживление ран, на что указало усиление образования грануляционной ткани и увеличение отложений коллагена и противовоспалительное действие (ингибирование инфильтрации нейтрофилов, снижение экспрессии провоспалительных цитокинов ФНО- α и IL-6, поляризации макрофагов в направлении противовоспалительного фенотипа M2). Применение LGG также снизило обилие патогенов (*Staphylococcus*, *Proteus*) и увеличило долю полезных бактерий (в т.ч. *Corynebacterium*) в области раны. Аналогичным образом, *L. rhamnosus* GG может

быть полезен для заживления повреждений эпителия кишечника [27].

L. rhamnosus GG улучшал когнитивные нарушения у мышей с моделью сепсиса. Когнитивное состояние оценивалось по результатам тестов «открытое поле» и «распознавание объектов». Модель сепсиса, вызванная хирургическим вмешательством, формировала когнитивные нарушения в течение, как минимум, трёх недель после операции. По сравнению с контролем, применение LGG улучшало выживаемость и когнитивные функции, в т.ч. посредством поддержки экспрессии нейротрофического фактора мозга BDNF в гиппокампе и уровней фосфорилирования рецептора нейротрофинов p-TrkB (что соответствует нейротрофическому и нейротрофическому эффектам) [28].

L. rhamnosus GG снижал гиперурикемию в модели у гусей.

Протеомный и метаболомный анализы показали, что применение *L. rhamnosus* GG связано с изменениями в метаболизме пуринов. Полногеномный анализ делеций генов *L. rhamnosus* GG подтвердил, что антигиперурикемический эффект LGG связан с модуляцией деградации нуклеозидов с участием генов системы типа ABC для множественного транспорта лекарств (ген ABC1), инозин-уридин

нуклеозид N-рибогидролазы (ген iunH) и ксантинпермеазы (ген rhuX) [29].

L. rhamnosus GG улучшал фекальную флору и снижал уровни маркеров повреждения почек в крови у мышей с моделью хронической болезни почек (ХБП). Биомаркеры ХБП (повышенные концентрации креатинина, цистатина С, мочевины, ИЛ-6, сниженный альбумин) подтвердили воспроизведение модели. При ХБП кишечная флора мышей отличалась низким разнообразием и высокой патогенностью. LGG достоверно снижал концентрацию креатинина, мочевины, ИЛ-6, стимулируя повышение альбумина в сыворотке крови. Оценка гистопатологии почек у мышей с ХБП, которые получали *L. rhamnosus* GG, улучшилась на фоне достоверного повышения разнообразия полезных бактерий в микробиоме ЖКТ и снижения патогенности микробиома [30].

L. rhamnosus GG защищает от атеросклероза, улучшая биосинтез кетонов в модели атеросклероза у мышей. LGG изменял состав микробиоты кишечника, получавших диету с высоким содержанием жиров: увеличивал количество полезных бактерий *Bifidobacterium* и *Alistipes*, уменьшал количество патогенных бактерий (*Deltaproteobacteria*). Кроме того, LGG ослаблял повреждение эндотелия и повышал содержание кетоновых тел в периферической крови [31].

Фармакология *Bifidobacterium longum* CECT 7894, поддержка физиологических процессов и влияние на патогенные микроорганизмы

Pharmacology of *Bifidobacterium longum* CECT 7894, support of physiological processes and influence on pathogenic microorganisms

Штамм *B. longum* CECT 7894 – штамм пробиотических грамположительных микроорганизмов-бифидобактерий микробиома человека, доминирующих в нормофизиологическом микробиоме у детей до 6 месяцев. Во все периоды жизни человека *B. longum* принимают активное участие в процессах пищеварения, нормального функционирования перистальтической и эвакуационной функции кишечника, необходимы для синтеза витаминов, аминокислот и для противодействия бактериальным патогенам. Снижение количества бифидобактерий в профиле микробиома приводит к хронической кишечной дисфункции, нарушениям всасывания, метаболизма минералов, белков, жиров и углеводов. Бифидобактерии также способствуют противоопухолевой защите организма [32].

Мета-анализ 15 РКИ (n=1189) подтвердил пробиотические свойства *B. longum*, в т.ч. уменьшение времени кишечного транзита (p=0,001), увеличение частоты дефекации на 1 раз в неделю (p=0,001), улучшение консистенции стула (p=0,02). Мета-анализ 9 РКИ (n=778) с пробиотическим штаммом *B. longum* CECT 7894 подтвердил снижение частоты запоров на 10–40% [33].

B. longum CECT 7894 характеризуется повышенным биосинтезом уксусной кислоты, казеина (гидролизат казеина при выращивании

на коровьем молоке) и жирных кислот, особенно из смесей лактулозы, лактозы, галактоолигосахаридов и инулина. Синтез этих метаболитов стимулируется при участии штамма *B. longum* CECT 7894 способствует улучшению симптомов колики у младенцев [34].

B. longum CECT 7894 улучшал эффективность инфликсимаба (моноклональные антитела к ФНОα) в модели колита у мышей. Применение *B. longum* CECT 7894 снижало потерю массы тела, индекс активности колита DAI, укорочение длины толстой кишки, гистологические повреждения ЖКТ. *B. longum* CECT 7894 улучшал выработку масляной кислоты и других КЦЖК, увеличивая относительное обилие родов полезных бактерий *Bifidobacterium*, *Blautia*, *Butyrivibrio*, *Coprococcus*, *Gemmiger*, *Parabacteroides* и снижая относительное обилие патогенов *Pseudomonas* [35].

Рандомизированное исследование показало, что *B. longum* CECT 7894 (109 КОЕ/сут) в сочетании с пробиотиком *Pediococcus pentosaceus* CECT 8330 можно использовать для лечения младенческих коликов (n=112). По сравнению с группой плацебо у младенцев, получавших пробиотики, было достоверно снижено время плача (p < 0,001) уже на 7-й день (что сохранялось на дни 14 и 21) и достоверно лучшая консистенция стула на 21-й день (p < 0,01) [36].

Цинка цитрат: эссенциальный микроэлемент и плейотропный органический лиганд

Zinc Citrate: An Essential Micronutrient and Pleiotropic Organic Ligand

Эссенциальный микроэлемент цинк является важным фактором разнообразия пейзажа полезной микробиоты кишечника, снижающей процессы системного воспаления организма хозяина. Физиологические дозы цинка в пище или в виде органических солей в составе витаминно-минеральных комплексов обеспечивают постоянную репарацию и целостность слизистой кишечника, препятствуя размножению патогенной флоры.

Помимо воздействия на микробиом, цинк важен для функционирования организма человека в целом. Недостаточная обеспеченность цинком вызывает нарушения иммунитета, приводит к снижению вкусовых ощущений и к нарушениям аппетита, усугубляет диарею и др. При продолжительной недостаточности формируется дефицит цинка, проявляющийся экзематозными высыпаниями на коже, нарушениями зрения и формированием инсулинрезистентности тканей.

И наоборот, адекватная обеспеченность цинком нормализует обмен жиров и углеводов, и, также положительно сказывается на функции ЖКТ (снижение продолжительности диареи, нормализация профиля микробиома ЖКТ). Ионы цинка участвуют в модуляции микробиоты кишечника и иммунного ответа при инвазии бактериальных патогенов. Показана эффективность органических солей цинка для терапии и профилактики ОРЗ [37, 38]. В преконцепции и во время беременности достаточная обеспеченность цинком необходима для профилактики врожденных пороков развития плода [39]. В протеоме человека найдены более 1800 Zn-зависимых белков, так что функции каждой из 12 систем органов зависят от десятков или сотен этих Zn-связывающих белков. Таким образом, восполнение дефицита цинка будет иметь благоприятное воздействие на все системы органов, в особенности при хроническом дефиците цинка [40].

Важно подчеркнуть, что цинк модулирует состояние микробиоты, снижая уровень патогенных

бактерий. Более того, цинк модулирует композиции генома патогенных бактерий: анализ 179 геномов *E. coli* показал, что патогенные штаммы, содержащие гены, связанные с вирулентностью, энтеротоксичностью и энтеропатогенностью были менее распространены в популяциях бактерий на фоне дотаций цинка [41].

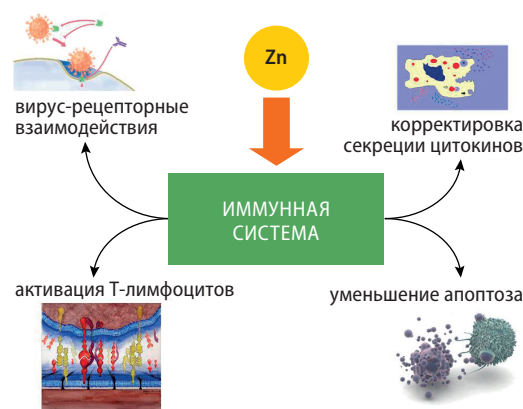
Не только при патологии ЖКТ, но и при других заболеваниях установлена связь между сниженной обеспеченностью цинком и специфическими изменениями микробиома кишечника. Например, для пациентов с шизофренией характерно наличие делеции Zn-транспортера ZIP8 и снижение численности родов *Anaerostipes*, *Coprococcus*, *Roseburia*, *Lachnospira*, *Eubacterium*, *Dorea*, *Bacteroides*, *Ruminococcaceae* [42].

При поступлении цинка в кишечник развивается конкуренция между полезной и патогенной флорой за всасывание цинка внутрь бактерий через специализированные белки-переносчики цинка (ABC-транспортеры, металлотионеины и др.). Поэтому, для восстановления позитивной микрофлоры подходят не все соли цинка, а только те, которые наиболее благоприятным образом взаимодействуют с белками-транспортёрами и характеризуются хорошей органолептикой [43]. Этим требованиям отвечают соли цинка с органическими анионами – такие, как цитрат цинка.

Влияние цинка на иммунную систему человека многогранно и включает вирус-рецепторные взаимодействия, активацию Т-лимфоцитов/других лимфоцитов, антиапоптотическое действие и коррекцию секреции цитокинов [44] (рис. 1). Цинк необходим для поддержания врождённого и приобретённого противовирусного иммунитета. В частности, системно-биологический анализ позволил выделить 118 цинксодержащих белков, имеющих отношение к противовирусной защите организма человека; продемонстрированы противовоспалительные и противоопухолевые свойства органических солей цинка [45].

Противовирусный иммунитет требует иммунокомпетентных активных Т-лимфоцитов, число и активность которых в значительной степени зависит от уровня цинка. Дефицит цинка сокращает количество периферийных и тимусных Т-клеток, ухудшает функционирование Т-клеток-помощников и цитотоксических Т-клеток [46]. Цинк ингибирует про-апоптотические каспазы-3, -6 и -9, так что это антиапоптотическое действие ионов цинка приводит к увеличению числа Т-клеток, укрепляя иммуностимулирующий эффект препаратов цинка [47]. Другим возможным путем активации Т-клеток цинком является воздействие гормона тимulina (цинк-связывающий нонапептидный гормон, регулирующий дифференцировку незрелых Т-клеток в вилочковой железе и улучшающий функционирование зрелых

Рисунок 1. Основные механизмы воздействия цинка на иммунную систему
Figure 1. The main mechanisms of zinc action on the immune system



Т-клеток) [48]. Среди иммуномодулирующих эффекты цинка, которые имеют прямое отношение к защите от вирусной инфекции, является стимуляция производства интерферона-альфа и интерферона-гамма [49].

Цитрат цинка – источник эссенциального микроэлемента цинка, характеризующийся высокой растворимостью, хорошей биодоступностью и биоусвояемостью. Цитрат цинка не раздражает

слизистую ЖКТ и не вызывает тошноту. Цитрат-анион является частью метаболома (эндогенной молекулой организма), которая формируется и используется в цикле трикарбоновых кислот (цикл Кребса). Благодаря высокой растворимости и биоусвояемости цитраты эссенциальных микроэлементов, в т.ч. цинка, являются одними из наилучших форм для компенсации микроэлементных дефицитов.

Протеомный анализ синергизма *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894 и цитрата цинка

Proteomic Analysis of Synergism between *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894 and Zinc Citrate

Сравнительный анализ геномов исследованных бактерий-пробиотиков показал наличие в протеомах *L. rhamnosus* GG и *B. longum* CECT 7894 сотен цинк-зависимых белков. Жизнедеятельность и функционирование микрофлоры напрямую связано с Zn-зависимыми белками. По данным поисков в базе данных UNIPROT (www.uniprot.org) в протеоме *Lactobacillus rhamnosus* GG найдено 586 таких белков, из них аннотировано (т.е. известен спектр функций белка) только 104 белка. В протеоме *Bifidobacterium longum* CECT найдено 2711 цинк-зависимых белков, из них аннотировано менее 10% (203 белка). Под аннотацией белка понимается присвоение ему списка меток определённых биологических функций (синтез АТФ, транспорт и т.д.). Под «цинк-зависимыми» понимались: (1) белки, непосредственно связывающие ионы цинка как кофакторы (более 80% белков) или (2) белки, участвующие в гомеостазе цинка (такие, как транспортные каналы, АТФазы и др.).

Дальнейший анализ проводился на основании указанных выше выборок белков.

Ключевым результатом настоящего фармакоинформационного исследования, полученным в результате сравнения выборок протеомов из 103 цинк-зависимых белков *L. rhamnosus* и 204 белков *B. longum*, было выделение функциональных категорий белков, реализующих метаболические процессы (а) преимущественно в *L. rhamnosus* (рис. 2А), (б) в одинаковой степени (судя по числам белков) в *L. rhamnosus* GG и *B. longum* CECT 7894 (рис. 2Б), (в) преимущественно в *B. longum* (рис. 2В). Важность данного результата заключается в том, что он описывает метаболический синергизм между эффектами цитрата цинка и двумя штаммами пробиотиков в составе Аципол® Форте. Так, метаболические функции, в равной степени реализуемые обоими пробиотиками (рис. 2Б) дополняются метаболическими функциями, специфическими для *L. rhamnosus* GG (рис. 2А) и специфическими для *B. longum* CECT 7894 (рис. 2В).

Рисунок 2.

Основной результат фармакоинформационного исследования, описывающий отличия в функциональных категориях белков, поддерживаемых цинком в пробиотических бактериях *L. rhamnosus* GG и *B. longum* CECT 7894. Приведены числа белков для каждой из функциональных категорий. А) Цинк-зависимые метаболические процессы, преимущественно реализуемые *L. rhamnosus* GG. Б) Цинк-зависимые процессы, реализуемые в одинаковой степени обеими бактериями (числа белков приведены для *L. rhamnosus* GG). В) Цинк-зависимые метаболические процессы, преимущественно реализуемые *B. longum* CECT 7894.

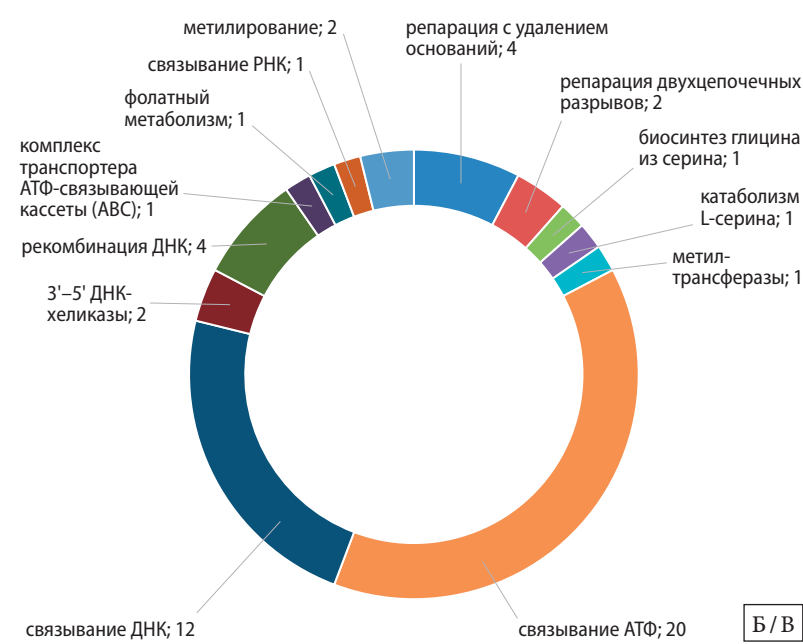
Figure 2.

The main result of the pharmacoinformatic study describing the differences in the functional categories of proteins supported by zinc in the probiotic bacteria *L. rhamnosus* GG and *B. longum* CECT 7894. The protein numbers for each of the functional categories are given. А) Zinc-dependent metabolic processes mainly implemented by *L. rhamnosus* GG. Б) Zinc-dependent processes implemented to the same extent by both bacteria (protein numbers are given for *L. rhamnosus* GG). В) Zinc-dependent metabolic processes mainly implemented by *B. longum* CECT 7894.



А

Количество белков, отвечающих за функцию	Функция белка	Физиологическое значение
8	Протеолиз	Биосинтез незаменимых аминокислот
5	Метаболизм углеводов	Выработка энергии для микробной клетки и производство метаболитов
3	Катаболизм пентозы	Рост и развитие микроорганизма
3	Биосинтез метионина	Биосинтез незаменимых аминокислот и витаминов
2	Металлоаминопептидаза	Защита от разрушения клетки
2	Биосинтез гистидина	Биосинтез метаболитов
2	НАД-зависимая гистондеацетилаза	Выработка энергии для микробной клетки
2	Фруктозо-бисфосфат-альдолаза	Выработка энергии для микробной клетки
2	Связывание НАД+	Выработка энергии для микробной клетки



Количество белков, отвечающих за функцию	Функция белка	Физиологическое значение
20	Связывание АТФ	Выработка энергии для микробной клетки
12	Связывание ДНК	Рост и развитие микроорганизма
4	Рекомбинация ДНК	Защита от разрушения микробной клетки
4	Репарация с удалением оснований	Восстановление поврежденных структур микробной клетки
2	Метилирование	Рост и развитие микроорганизма
2	3-5 ДНК-хеликазы	Рост и развитие микроорганизма
1	Связывание РНК	Рост и развитие микроорганизма
1	Фолатный метаболизм	Синтез фолатов (В9, фолиевая кислота)
1	Комплекс транспортера ФТФ	Выработка энергии для микробной клетки
1	Биосинтез глицина из серина	Биосинтез бактериоцинов
1	Катаболизм серина	Выработка энергии для микробной клетки



Количество белков, отвечающих за функцию	Функция белка	Физиологическое значение
17	Оксидоредуктазы	Антиоксидантное действие
6	Ответ на глюкозу	Выработка энергии для микробной клетки
6	Связывание ионов меди	Защита от повреждений микробной клетки
6	Сульфотрансферазы	Синтез метаболитов
6	Аденозиндезаминазы	Защита от повреждений микробной клетки
5	Биосинтез пиримидина	Рост и развитие
5	Аспартаткарбамоилтрансфераза	Рост и развитие
4	Биосинтез рибофлавина	Биосинтез B2
3	Железосерные кластеры	Антиоксидантное действие
3	Транспортные ионы кадмия	Защита от повреждений микробной клетки
3	Углерод-углеводные лиазы	Метаболизм углеводов
3	Биосинтез аминокислот	Биосинтез аминокислот (в том числе и КЦЖК)
3	Противовирусная защита	Противовирусная защита
3	Биосинтез тиамина	Биосинтез B1

При этом, 27 одинаковых цинк-зависимых белков были найдены и в протеоме *L. rhamnosus* GG, и в протеоме *B. longum* CECT 7894 (табл. 1). В основном, эти белки относятся к процессам рибосомального синтеза белков и к репарации (ремонту) ДНК. Соответственно, обеспеченность цинком штаммов *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894 обязательно повысит адаптогенность этих пробиотиков: ведь сохранение целостности ДНК и синтез белков – фундаментальные цинк-зависимые процессы жизнедеятельности бактерий-пробиотиков.

Таблица 1. Цинк-зависимые белки, которые встречаются и в протеоме *L. rhamnosus* GG, и в протеоме *B. longum* CECT 7894. Table 1. Zinc-dependent proteins that are found in both the *L. rhamnosus* GG and *B. longum* CECT 7894 proteomes.

Ген	Белок	Функция белка	Физиологическое значение
ybeY	Эндорибонуклеаза YbeY	Контроль качества субъединицы 70S рибосомы и вызревания 3'-конца 16S рибосомальной РНК	Рост и развитие микробной клетки
uvrA	Эксинуклеаза ABC	Система UvrABC распознавания и обработки повреждений ДНК	Защита от разрушения
thrS	Треонин – тРНК-лигаза	Биосинтез белка на рибосоме	Рост и развитие микробной клетки
tgt	Квеин-тРНК-рибозилтрансфераза	Регулирует взаимодействие антикодона при синтезе белков, содержащих Asp, Asn, His и Tyr	Рост и развитие микробной клетки
tadA	тРНК-специфическая аденозиндезаминаза	Катализирует дезаминирование аденозина в инозин, стабилизируя структуру РНК	Рост и развитие микробной клетки

Таблица 1.
Продолжение
Table 1.
Continuation

Ген	Белок	Функция белка	Физиологическое значение
gpsZ	Малый рибосомальный субъединичный белок uS14	Связывает 16S рРНК, необходимую для сборки 30S рибосомальных частиц	Рост и развитие микробной клетки
rpoC	ДНК-направленная РНК-полимераза бета'	ДНК-зависимая РНК-полимераза катализирует транскрипцию ДНК в РНК	Рост и развитие микробной клетки
rpe	Рибулозофосфат 3-эпимераза	Превращение D-рибулозо-5-фосфата в D-ксилоулозо-5-фосфат	Рост и развитие микробной клетки
rnj	Рибонуклеаза J	Созревание рибосомальной РНК, утилизация отработанной мРНК	Защита от разрушения
recR	Рекомбинационный белок RecR	Репарация ДНК совместно с белками RecF и RecO	Защита от разрушения
recO	Белок репарации ДНК RecO	Участвует в восстановлении ДНК и рекомбинации пути RecF	Защита от разрушения
priA	АТФ-зависимая геликаза PriA	Восстановление процесса репликации ДНК при делении клетки	Защита от разрушения
nrdR	Транскрипционный репрессор NrdR	Ингибирование транскрипции оперона рибонуклеотидредуктазы nrd	Защита от разрушения
nfo	Эндонуклеаза IV	Репарация ДНК в апуриновых или апиримидиновых участках	Рост и развитие микробной клетки
metE	Кобаламин-независимая метионинсинтаза	Перенос метильной группы от 5-метилтетрагидрофолата к гомоцистеину, синтез метионина	Рост и развитие микробной клетки
map	Метионинаминопептидаза	Удаляет N-концевой метионин вновь синтезированных белков	Рост и развитие микробной клетки
ligA	ДНК-лигаза	Образование фосфодиэфирных связей между 5'-фосфорильной и 3'-гидроксильной группами при репарации и репликации ДНК	Рост и развитие микробной клетки
ileS	Изолейцин – тРНК-лигаза	Присоединение изолейцина к транспортной тРНК(Ile) при синтезе белка	Рост и развитие микробной клетки
hisI	Фосфорибозил-АМФ-циклогидролаза	Гидролиз аденинового кольца, биосинтез нуклеотидов	Рост и развитие микробной клетки
hisD	Гистидинолдегидрогеназа	Окисление L-гистидинола в L-гистидинальдегид, затем в L-гистидин	Синтез аминокислот
glyA	Серингидрокси-метилтрансфераза SHMT	Взаимопревращение серина и глицина с тетрагидрофолатом, источник метильных групп для биосинтеза пуринов, тимидилата, метионина, метилирования ДНК и др.	Синтез аминокислот
gltX	Глутамат – тРНК-лигаза	Присоединение глутамата к тРНК(Glu) при синтезе белка	Рост и развитие микробной клетки
ftsH	АТФ-зависимая металлопротеаза	АТФ-зависимая цинковая металлопротеаза цитоплазматических и мембранных белков, контроль качества интегральных мембранных белков	Выработка энергии для микробной клетки
dnaJ	Шаперонный белок DnaJ	Свёртывание белка в функциональную структуру после синтеза на рибосоме	Рост и развитие микробной клетки
dnaG	ДНК-праймаза	Синтез коротких молекул РНК, используемых в качестве праймеров для ДНК-полимеразы во время репликации ДНК	Рост и развитие микробной клетки
cysS	Цистеин – тРНК-лигаза	Присоединение цистеина к тРНК(Cys), синтез антиоксидантных цистеинперсульфидов	Защита от разрушения
clpX	АТФ-зависимая протеаза ClpX	Направляет протеазу Clp к отработанным белкам, которые необходимо переработать	Выработка энергии для микробной клетки

Очевидно, что ядро *тройственного синергизма* обеспечивают не только 27 цинк-зависимых белков кодируемые 27 генами (*ybeY, uvrA, thrS, tgt, tadA, rpsZ, rpoC, rpe, rnj, recR, recO, priA, nrdR, nfo, metE, map, ligA, ileS, hisI, hisD, glyA, gltX, ftsH, dnaJ, dnaG, cysS, clpX*). Следует подчеркнуть, что и двойственный синергизм между 103 белками *L. rhamnosus* GG и цинком, равно как и двойственный синергизм между 204 белками *B. Longum* CECT 7894 и цинком, а также синергизм между двумя нормофлорными пробиотиками (*L. rhamnosus* GG+ *B. Longum* CECT

7894) исключительно важны в оздоровлении микробиома кишечника (рис. 3).

С использованием данных фармакоинформационного анализа, представленных на рис. 3, синергизм между компонентами Аципол® Форте можно представить в форме следующей схемы (рис. 4), на которой суммированы метаболические процессы, специфические для каждого из пробиотиков (по краям рисунка) и для обоих пробиотиков (центр рисунка 3). Дотации цитрата цинка поддерживают все эти метаболические процессы.

Рисунок 3.

Протеомная карта тройственного синергизма 27 цинк-зависимых белков, найденных среди 103 Zn-зависимых белков *L. rhamnosus* GG и 204 Zn-зависимых белков *B. Longum*

Figure 3. Proteomic map of the triple synergism of 27 zinc-dependent proteins found among 103 Zn-dependent proteins of *L. rhamnosus* GG and 204 Zn-dependent proteins of *B. Longum*

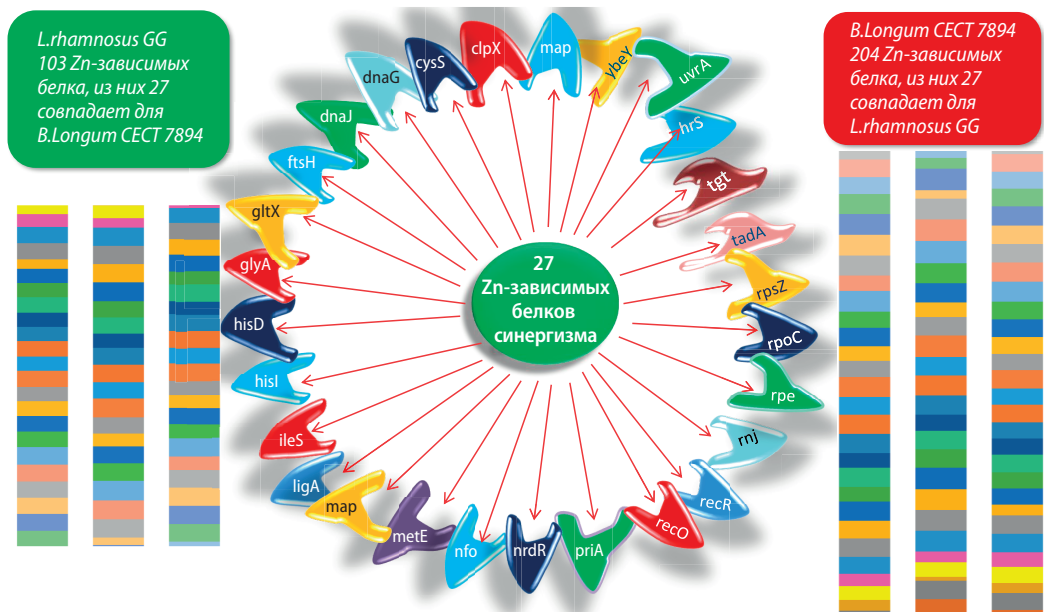
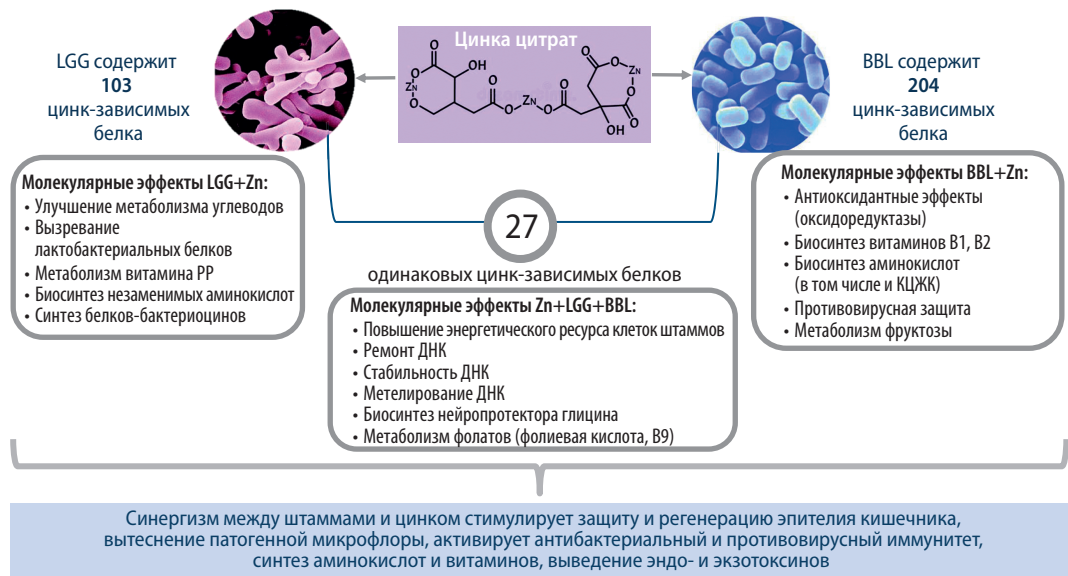


Рисунок 4.

Метаболический синергизм между компонентами Аципол® Форте

Figure 4. Metabolic synergism between the components of Acipol Forte®



Очевидно, что детальное представление результатов фармакоинформационного анализа в форме таблиц или рисунков не представляется возможным – ведь для *Lactobacillus rhamnosus* GG найдено 104 аннотированных цинк-зависимых белка, а для *B. longum* CECT 7894–203 белка. Поэтому, ограничимся рассмотрением отдельных примеров функциональных категорий белков этих пробиотиков.

Рассмотрим, например, белки в функциональной категории «GO:0006508 протеолиз». В протеоме *B. longum* CECT 7894 среди аннотированных белков всего 3 цинк-зависимых протеазы: АТФ-зависимая металлопротеаза FtsH, метионинаминопептидаза MetAP и протеаза Htp X.

В то же время, в аннотированном сегменте протеома *L. rhamnosus* было найдено 8 цинк-зависимых протеаз (табл. 2), вовлеченных в матурацию

цитоплазматических, мембранных и внеклеточных белков.

Из приведённых в таблице цинк-зависимых протеаз наибольший интерес, на наш взгляд, представляет протеаза FtsH, являющаяся одной из ключевых энергозависимых протеаз, которые участвуют в управлении деградацией отработанных или aberrантных белков (что является универсальным механизмом для быстрой адаптации пробиотика к условиям кишечника). Поэтому, активность цинк-зависимой FtsH необходима для выживания *L. rhamnosus* и, также, *B. longum* в условиях гипертермии и/или осмотического стресса. Кроме того, FtsH необходима для биосинтеза липополисахаридов *L. rhamnosus* для формирования барьера защиты от поступающих в кишечник антибиотиков [50]. Ион цинка стабилизирует структуру протеазы FtsH (рис. 5).

Рисунок 5.
Пространственная структура протеазы FtsH *L. rhamnosus* и *B. longum* (модель на основе файла PDB 2ce7). В активном центре протеазы расположены ион магния и молекула АТФ; ион цинка участвует как в формировании активного сайта, так и в стабилизации всей пространственной структуры протеазы Fts H.

Figure 5.
Spatial structure of the FtsH protease from *L. rhamnosus* and *B. longum* (model based on the PDB file 2ce7). The active center of the protease contains a magnesium ion and an ATP molecule; the zinc ion participates both in the formation of the active site and in stabilizing the entire spatial structure of the FtsH protease.

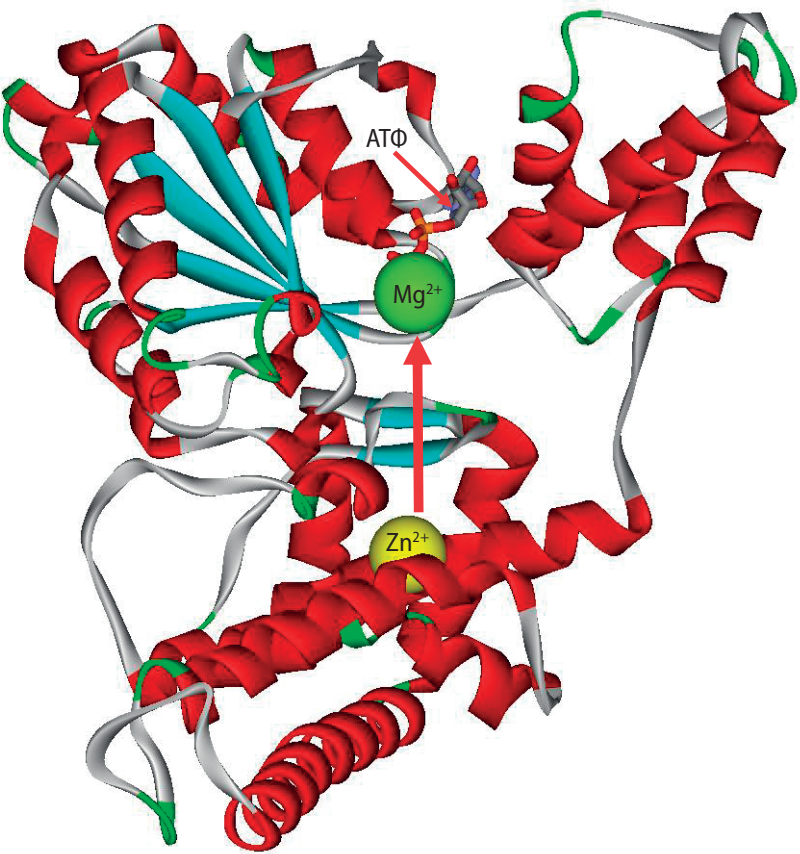


Таблица 2.
Цинк-зависимые протеазы в протеоме *L. rhamnosus*
Table 2.
Zinc-dependent proteases in the *L. rhamnosus* proteome

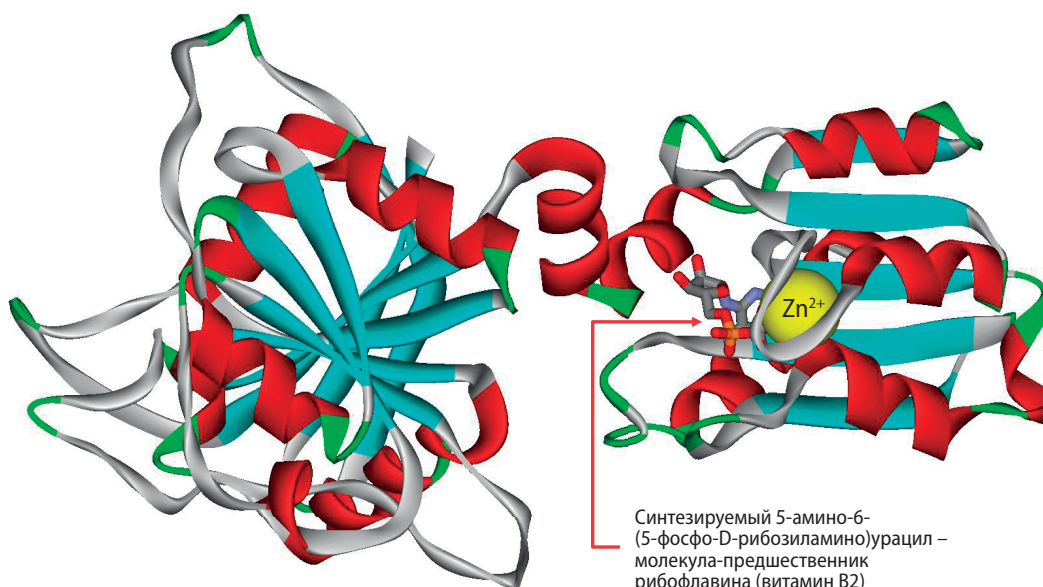
Ген	Белок	Функция белка	Физиологическое значение/ функция
ftsH	АТФ-зависимая цинковая металлопротеаза FtsH (EC 3.4.24.1)	Металлопептидаза цитоплазматических и мембранных белков	Участвует в синтезе белков-бактерицинов
H0N82_06315	Аминопептидаза (EC 3.4.11.1)	Отщепление аминокислот с N-термина пептидов	Образование метаболитов, в том числе незаменимых аминокислот и витаминов
H0N82_06910	Zn-протеаза H0N82	Пептидаза общего назначения	Образование метаболитов, в том числе незаменимых аминокислот и витаминов
BWR10	Металлопротеаза семейства матриксинов (пептидаза M10)	Пептидаза общего назначения	Образование метаболитов, в том числе незаменимых аминокислот и витаминов
LRHM_0941	Олигоэндопептидаза F	Пептидаза общего назначения	Образование метаболитов, в том числе незаменимых аминокислот и витаминов
perT	Пептидаза T (EC 3.4.11.4)	Отщепляет N-концевую аминокислоту трипептидов	Рост и развитие микробной клетки
Map	Метионинаминопептидаза (MAP) (MetAP) (EC 3.4.11.18) (Пептидаза M)	Удаляет N-концевой метионин после рибосомы	Защита от разрушения
LRHMDP2_2337	Zn-зависимая протеаза	Пептидаза общего назначения	Образование метаболитов, в том числе незаменимых аминокислот и витаминов

Для функциональной категории «GO:0009231 биосинтез рибофлавина» в протеоме LGG имеется несколько ферментов, связанных с биосинтезом рибофлавина (белки биосинтеза рибофлавина ribF и RibT), но ни для одного из них не известна зависимость их активности от цинка. Напомним, что рибофлавин или витамин B2 является предшественником

основных коферментов биосинтеза АТФ – флавин-моноклеотида и флавинадениндинуклеотида. В то же время, в протеоме *B. longum* представлены 4 цинк-зависимых рибофлавин-синтезирующих белка: амидазоподобный белок, креатинамидогидролаза, белок биосинтеза рибофлавина RibBA (катализирует превращение D-рибулозо-5-фосфата

Рисунок 6.
Пространственная структура RibD – фермента биосинтеза рибофлавина в *B. longum* (модель на основе файла PDB 4g3m). Ион цинка расположен в активном центре фермента.

Figure 6.
Spatial structure of RibD, the enzyme of riboflavin biosynthesis in *B. longum* (model based on PDB file 4g3m). The zinc ion is located in the active center of the enzyme.



в формиат и 3,4-дигидрокси-2-бутанон-4-фосфат), белок биосинтеза рибофлавина RibD (преобразует 2,5-диамино-6-(рибозиламино)-4(3h)-пиримидинон 5'-фосфат в 5-амино-6-(рибозиламино)-2,4(1h,3h)-пиримидиндион 5'-фосфат). Все эти ферменты необходимы, таким образом, для цинк-зависимого биосинтеза рибофлавина (витамина B2) бифидобактерией *B. longum*. Микробиологический анализ указал штамм *B. longum* CECT 7894 и другие штаммы *B. longum* бактерии которого являются «сверхпродуцентами» рибофлавина, т.е. могут производить значительные количества рибофлавина [51]. В экспериментах у мышей, рибофлавин облегчает повреждение печени, опосредованное окислительным стрессом, снижает воспаление кишечника и способствует устранению дисбиоза микробиоты кишечника, вызванного дефицитом витамина B2 [52].

Бактериальный биосинтез рибофлавина требует одной молекулы гуанозинтрифосфата (ГТФ) и двух молекул рибулозо-5-фосфата. Начальный этап биосинтеза рибофлавина катализируется ГТФ-циклогидролазой II, а следующие два этапа – двухфункциональной цинк-зависимой дезаминазой/редуктазой Rib D. В пространственной структуре фермента RibD ион цинка расположен в активном

центре фермента и принципиально необходим для биосинтеза молекул-предшественников витамина B2 (рис. 6) [53].

Следующие два фермента фолатного метаболизма представлены в протеомах и лактобактериального пробиотика *L. rhamnosus* и бифидобактериального *B. longum*. Серингидроксиметилтрансфераза (серин-метилаза, ген *glyA*) катализирует обратимое взаимопревращение серина и глицина с тетрагидрофолатом (ТГФ). Хотя структура данного фермента и не содержит ион цинка, экспрессия этого фермента в обоих пробиотиках категорически зависит от уровней обеспеченности цинком. Эта реакция служит основным источником фолат-зависимых метильных групп, необходимых для биосинтеза пуринов, тимидилата, метионина и других важных биомолекул.

Фермент 5-метилтетрагидроптероилтриглутамат-гомоцистеинметилтрансфераза (кобаламин-независимая метионинсинтаза, ген *metE*) катализирует перенос метильной группы с 5-метилтетрагидрофолата на гомоцистеин, что приводит к образованию метионина. В пространственной структуре фермента представлены два иона цинка: один стабилизирует структуру фермента, другой расположен в активном центре фермента (рис. 7)

Рисунок 7.
Пространственная структура 5-метилтетрагидроптероилтриглутамат-гомоцистеинметилтрансферазы *metE*, функционирующей и в *L. rhamnosus* и в *B. longum* (модель на основе PDB файла 1u1j)

Figure 7.
Spatial structure of 5-methyltetrahydropteroyltri-glutamate-homocysteine methyltransferase *metE*, functioning in both *L. rhamnosus* and *B. longum* (model based on PDB file 1u1j)

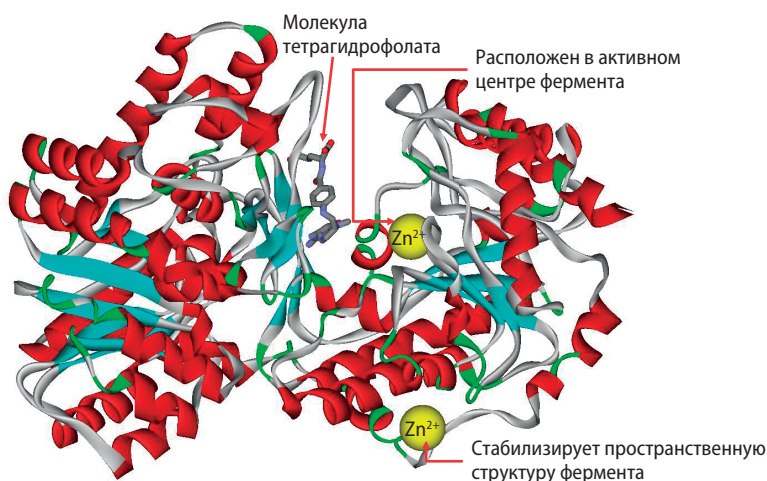
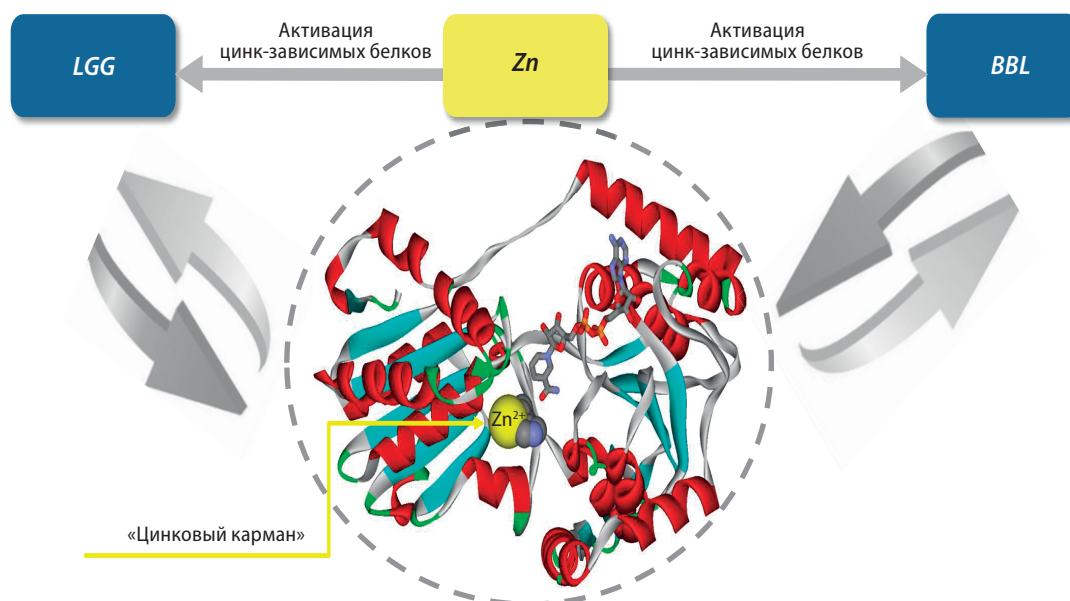


Рисунок 8.
Пространственная структура цинк-зависимого белка, представленной в протеомах *L. rhamnosus* и *B. longum*

Figure 8.
Spatial structure of zinc-dependent protein, represented in the proteomes of *L. rhamnosus* and *B. longum*



Гистидинолдегидрогеназа (ген *hisD*) найдена и в протеоме *L. rhamnosus* и в протеоме *B. longum*. Данный цинк-зависимый фермент катализирует последовательное НАД-зависимое окисление L-гистидинола до L-гистидинальдегида, и, затем,

до L-гистидина. Показано, что активность гистидинолдегидрогеназы принципиально необходима для выживания бактерий [54], в т.ч. *L. rhamnosus* и *B. longum*. Цинк в пространственной структуре фермента расположен в активном центре (рис. 8)

Клинические подтверждения синергизма цинка, *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894 в поддержке иммунитета и нормофизиологического микробиома кишечника

Clinical evidence of synergism of zinc, *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894 in supporting immunity and normal physiological intestinal microbiome

Приводимые выше результаты фундаментальных и клинических исследований указывают, на то, что комплекс штаммов *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894, усиленный цитратом цинка, может способствовать поддержке иммунитета организма человека, повышению адаптивности бактерий-пробиотиков, вытеснению патогенной микрофлоры и колонизации ЖКТ нормофизиологической микрофлорой.

Выводы из системно-биологического анализа, указывающие на синергизм между цинком и пробиотиками, подтверждаются результатами фундаментальных и клинических исследований. Во-первых, интересно отметить, что сочетание бифидобактерий с цинком способствует повышению биоусвояемости цинка. *Bifidobacterium longum* снижает потерю химических элементов из диеты с дефицитом минералов. В эксперименте на крысах дотации пробиотика, по сравнению с контролем, способствовали повышению содержания кальция в тканях организма на 3,9%, фосфора – на 17,6%, меди – на 28,5% и цинка – на 15,2% [55].

Во-вторых, ионы цинка, в синергии с LGG, вызывают нарушение системы кворум-сенсинга патогена *Pseudomonas aeruginosa*. Данная система

является центральным координирующим каскадом для формирования биопленок, способствующих повышению выживаемости патогена. Пробиотик *L. rhamnosus* GG и сам по себе проявляет антикворум-сенсинговую активность против *P.aeruginosa*, а оптимальное ингибирование достигалось при концентрации цинка в среде 2,5 мМ (увеличение ингибирования кворум-сенсинга патогена *P.aeruginosa* на 30%) [56].

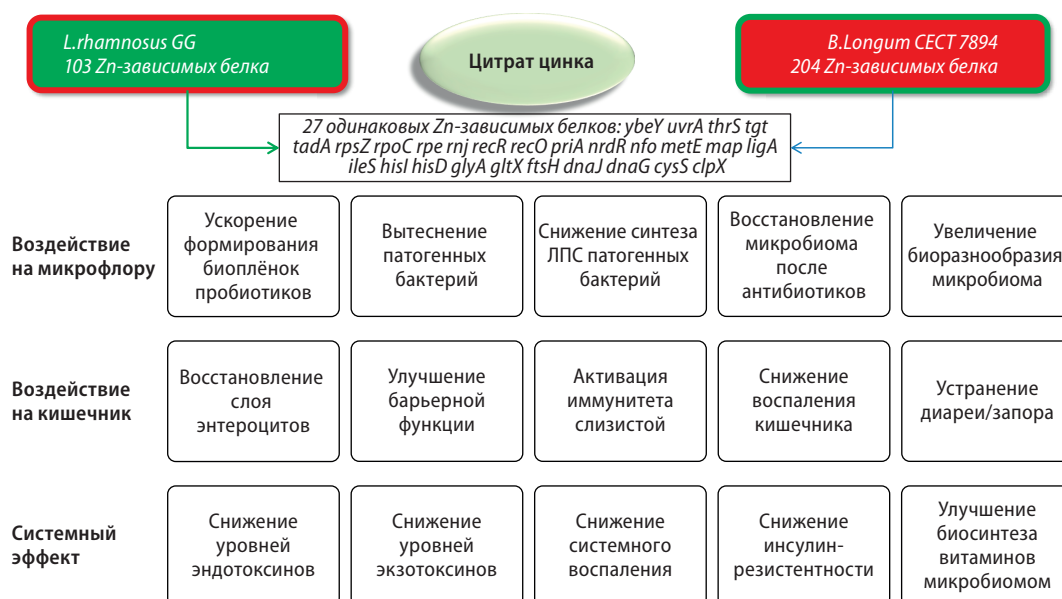
В-третьих, совместный приём пробиотика, включающего штаммы *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894 и цитрат цинка стимулирует изменения T- и B-клеток в тонком кишечнике, что подтверждено в эксперименте (повышение количеств клеток CD4+, CD8+, IgA+ и IgM+ на фоне дотаций цинка) [57].

В-четвёртых, применение пробиотика, включающего *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894 и в сочетании цитратом цинка улучшает результаты лечения пациентов с различными заболеваниями – например, снижает риск пищевой аллергии у детей [58].

В исследовании детей с лёгким или средне-тяжёлым или тяжёлым острым гастроэнтеритом основная группа пациентов (n=50) получала

Рисунок 9.
Молекулярно-физиологические механизмы синергизма действующих начал пробиотика Аципол® Форте /

Figure 9.
Molecular-physiological mechanisms of synergism of the active principles of the probiotic Acipol Forte®



пробиотик (*Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei* по 107 КОЕ/сут, 7 сут) и цинк (15 мг элементного цинка), тогда как контрольная группа (n=51) получала только пробиотики. При совместном приёме пробиотиков и цинка пациенты более быстро восстанавливались (1,34 сут, контроль – 2 сут, P<0,001) [59]. Применение бифидобактериального пробиотика, включающего *Bifidobacterium Longum* и соединение цинка, более эффективно улучшало состояние детей с острым гастроэнтеритом [60]. Совместное применение пробиотика *Lactobacillus rhamnosus* GG и цинка было эффективно для снижения внутрибольничных инфекций у госпитализированных детей 0,5–5 лет (n=90) [61].

Восстановление баланса микробиома кишечника способствует восстановлению иммунитета организма-хозяина. Создание условий, оптимальных для полезной микробиоты ЖКТ, предполагает дотации специальных пробиотических штаммов бактерий, которые не только способны выживать и размножаться в агрессивной среде ЖКТ, но и оздоравливать состояние микробиома в целом. Эффекты таких пробиотических штаммов, их адаптогенность и жизнеспособность могут быть усилены эссенциальным микронутриентом цинком (рис. 9). Цинк в составе Аципол® Форте увеличивает скорость роста штаммов и их метаболическую активность, усиливают адгезию к энтероцитам.

Выводы | Conclusions

Аципол® Форте – комплексный пробиотик, включающий штаммы *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium longum* CECT 7894 и синергидный им эссенциальный микроэлемент цинк (в форме высокоусвояемого и низкотоксичного цитрата цинка). Проведённый анализ (системно-биологическое моделирование) указал на молекулярные механизмы синергизма этих компонентов препарата Аципол® Форте. Фундаментальные и клинические исследования показали, что штаммы *L. rhamnosus* GG, *B. longum* CECT 7894 и цитрат цинка могут существенно дополнять эффекты друг друга. Так, цитрат цинка способствует поддержке иммунитета организма человека и, одновременно, повышает адаптивности входящих в комплекс лакто- и бифидобактерий (поддержка рибосомального синтеза белков и ремонта ДНК, прежде всего). Быстрее активируется энергетический метаболизм полезных бактерий, увеличивая скорость роста и степень колонизации штаммов пробиотика. Увеличивается

метаболическая активность пробиотических штаммов и выработка полезных метаболитов – витаминов, масляной кислоты и других КЦЖК и т.д. Происходит более быстрое ингибирование провоспалительных факторов (в т.ч. ФНОα), повышение уровня противовоспалительного ИЛ-10, ингибирование провоспалительного каскада NF-kB. Увеличивается скорость и объем продукции иммуноглобулинов IgA, IgG, IgM и активация сигналов NK-лимфоцитов. При участии цинка метаболические процессы, поддерживаемые бифидобактериями, дополняют метаболические процессы лактобактерий. Формируется более выраженное противовоспалительное действие и иммунный ответ. Активнее восстанавливается баланс микробиома кишечника. В синергизме с цинком лакто- и бифидобактерии способствуют (1) поддержке противовирусного и антибактериального иммунитета, (2) вытеснению патогенной микрофлоры и (3) колонизации ЖКТ нормофизиологической микрофлорой.

Литература | References

1. Ардатская М.Д., Логинов В.А., Минушкин О.Н. Новые возможности диагностики и коррекции микробиологических нарушений кишечника. *Consilium Medicum. Гастроэнтерология (Прил.)*. 2013; 2: 51–58. [Ardatskaya M.D., Loginov V.A., Minushkin O.N. New possibilities of diagnostics and correction of microecological disorders of the intestine. *Consilium Medicum. Gastroenterology (Suppl.)*. 2013; 2: 51–58.]
2. Weiss GA, Hennet T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cell Mol Life Sci*. 2017 Aug;74(16):2959–2977. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2509-x>
3. Feng Q, Chen WD, Wang YD. Gut Microbiota: An Integral Moderator in Health and Disease. *Front Microbiol*. 2018 Feb 21;9:151. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00151>
4. Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G, Gibson GR, Rastall RA. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019 Oct;16(10):605–616. doi: 10.1038/s41575-019-0173-3. Epub 2019 Jul 11. Erratum in: *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019 Oct;16(10):642. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0199-6>
5. Szajewska H, Kołodziej M. Systematic review with meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015 Oct;42(7):793–801. <https://doi.org/10.1111/apt.13344>
6. Громова О.А., Торшин И.Ю., Чучалин А.Г., Максимов В.А. Микробиом, пробиотики и COVID-19: перспективные подходы к поддержке систем врожденного и приобретённого иммунитета. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2021;188(4): 66–73. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-188-4-66-73>
7. Torshin, I.Y. On solvability, regularity, and locality of the problem of genome annotation. *Pattern Recognit. Image Anal*. 20, 386–395 (2010). <https://doi.org/10.1134/S1054661810030156>
8. Рудаков К.В., Торшин И.Ю. Вопросы разрешимости задачи распознавания вторичной структуры белка. *Информатика и ее применения*. 2010. Т. 4. № 2. С. 25–35. [Rudakov K.V., Torshin I. Yu. Questions of solvability of the problem of protein secondary structure recognition. *Informatics and its applications*. 2010. Vol. 4. No. 2. P. 25–35.]
9. Громова О.А., Торшин И.Ю., Кобалава Ж.Д., Сорокина М.А., Виллеальде С.В., Галочкин С.А., Гоголева И.В., Грачева О.Н., Гришина Т.Р., Громов А.Н., Егорова Е.Ю., Калачева А.Г., Малявская С.И., Мерай И.А., Семенов В.А. Дефицит магния и гиперкоагуляционные состояния: метрический анализ данных выборки пациентов 18–50 лет лечебно-профилактических учреждений России. *Кардиология*. 2018;58(4):22–35. <https://doi.org/10.18087/cardio.2018.4.10106> [Gromova O.A., Torshin I. Yu., Kobalava Zh.D., Sorokina M.A., Villevalde S.V., Galochkin S.A., Gogoleva I.V., Gracheva O.N., Grishina T.R., Gromov A.N., Egorova E. Yu., Kalacheva A.G., Malyavskaya S.I., Merai I.A., Semenov V.A. Deficit of Magnesium and States of Hypercoagulation: Intellectual Analysis of Data Obtained From a Sample of Patients Aged 18–50 years From Medical and Preventive Facilities in Russia. *Kardiologiya*. 2018;58(4):22–35. (In Russ.) <https://doi.org/10.18087/cardio.2018.4.10106>
10. Торшин И.Ю., Громова О.А., Стаховская Л.В., Ванчакова Н.П., Галустян А.Н., Кобалава Ж.Д., Гришина Т.Р., Громов А.Н., Иловайская И.А., Коденцова В.М., Калачева А.Г., Лиманова О.А., Максимов В.А., Малявская С.И., Мозговая Е.В., Тапильская Н.И., Рудаков К.В., Семенов В.А. Анализ 19,9 млн публикаций базы данных PubMed/MEDLINE методами искусственного интеллекта: подходы к обобщению накопленных данных и феномен “fake news”. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2020;13(2):146–163. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.021> [Torshin I. Yu., Gromova O.A., Stakhovskaya L.V., Vanchakova N.P., Galustyan A.N., Kobalava Zh.D., Grishina T.R., Gromov A.N., Ilovaiskaya I.A., Kodentsova V.M., Kalacheva A.G., Limanova O.A., Maksimov V.A., Malyavskaya S.I., Mozgovaya E.V., Tapilskaya N.I., Rudakov K.V., Semenov V.A. Analysis of 19.9 million publications from the PubMed/MEDLINE database using artificial intelligence methods: approaches to the generalizations of accumulated data and the phenomenon of “fake news”. *FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoeconomics*. 2020;13(2):146–163. (In Russ.)]
11. Cheong YE, Kim J, Jin YS, Kim KH. Elucidation of the fucose metabolism of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG by metabolomic and flux balance analyses. *J Biotechnol*. 2022 Dec 10;360:110–116. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2022.11.002>
12. Lin R, Sun Y, Mu P, Zheng T, Mu H, Deng F, Deng Y, Wen J. *Lactobacillus rhamnosus* GG supplementation modulates the gut microbiota to promote butyrate production, protecting against deoxynivalenol exposure in nude mice. *Biochem Pharmacol*. 2020 May;175:113868. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.113868>
13. Capurso L. Thirty Years of *Lactobacillus rhamnosus* GG: A Review. *J Clin Gastroenterol*. 2019 Mar;53 Suppl 1: S1–S41. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001170>
14. Bhatnagar K, Jha K, Dalal N, Patki N, Gupta G, Kumar A, Kumar A, Chaudhary S. Exploring micronutrients and microbiome synergy: pioneering new paths in cancer therapy. *Front Immunol*. 2024 Nov 29;15:1442788. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1442788>
15. Lee SU, Jang BS, Na YR, Lee SH, Han S, Chang JH, Kim HJ. Effect of *Lactobacillus Rhamnosus* GG for Regulation of Inflammatory Response in Radiation-Induced Enteritis. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2024 Apr;16(2):636–648. <https://doi.org/10.1007/s12602-023-10071-9>
16. Solano-Aguilar G, Molokin A, Botelho C, Fiorino AM, Vinyard B, Li R, Chen C, Urban J Jr, Dawson H, Andreyeva I, Haverkamp M, Hibberd PL. Transcriptomic Profile of Whole Blood Cells from Elderly Subjects Fed Probiotic Bacteria *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 (LGG) in a Phase I Open Label Study. *PLoS One*. 2016 Feb 9;11(2): e0147426. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147426>
17. Kim SW, Park KY, Kim B, Kim E, Hyun CK. *Lactobacillus rhamnosus* GG improves insulin sensitivity and reduces adiposity in high-fat diet-fed mice through enhancement of adiponectin production. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Feb 8;431(2):258–63. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.12.121>
18. Gao T, Li R, Hu L, Hu Q, Wen H, Zhou R, Yuan P, Zhang X, Huang L, Zhuo Y, Xu S, Lin Y, Feng B, Che L, Wu D, Fang Z. Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG improves insulin sensitivity and offspring survival via modulation of gut microbiota and serum metabolite in a sow model. *J Anim Sci Biotechnol*. 2024 Jul 2;15(1):89. <https://doi.org/10.1186/s40104-024-01046-z>

19. Zhao Y, Liu S, Tang Y, You T, Xu H. Lactobacillus rhamnosus GG Ameliorated Long-Term Exposure to TiO(2) Nanoparticles Induced Microbiota-Mediated Liver and Colon Inflammation and Fructose-Caused Metabolic Abnormality in Metabolism Syndrome Mice. *J Agric Food Chem*. 2021 Sep 1;69(34):9788–9799. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c03301>
20. Shi CW, Cheng MY, Yang X, Lu YY, Yin HD, Zeng Y, Wang RY, Jiang YL, Yang WT, Wang JZ, Zhao DD, Huang HB, Ye LP, Cao X, Yang GL, Wang CF. Probiotic Lactobacillus rhamnosus GG Promotes Mouse Gut Microbiota Diversity and T Cell Differentiation. *Front Microbiol*. 2020 Dec 17;11:607735. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.607735>
21. Hu R, Yang T, Ai Q, Shi Y, Ji Y, Sun Q, Tong B, Chen J, Wang Z. Autoinducer-2 promotes the colonization of Lactobacillus rhamnosus GG to improve the intestinal barrier function in a neonatal mouse model of antibiotic-induced intestinal dysbiosis. *J Transl Med*. 2024 Feb 18;22(1):177. <https://doi.org/10.1186/s12967-024-04991-5>
22. Ju Z, Pan H, Qu C, Xiao L, Zhou M, Wang Y, Luo J, Shen L, Zhou P, Huang R. Lactobacillus rhamnosus GG ameliorates radiation-induced lung fibrosis via lncRNASNHG17/PTBP1/NICD axis modulation. *Biol Direct*. 2023 Jan 12;18(1):2. <https://doi.org/10.1186/s13062-023-00357-x>
23. Tan W, Zhou Z, Li W, Lu H, Qiu Z. Lactobacillus rhamnosus GG for Cow's Milk Allergy in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Pediatr*. 2021 Oct 22;9:727127. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.727127>
24. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä A, Poussa T, Korpela R, Meurman JH. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, Lactobacillus rhamnosus GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res*. 2001 Nov-Dec;35(6):412–20. <https://doi.org/10.1159/000047484>
25. Hao Q, Dong BR, Wu T. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Feb 3;(2): CD006895. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006895.pub3>
26. Yin Z, Wang Y, Feng X, Liu C, Guan X, Liu S, Long Z, Miao Z, He F, Cheng R, Han Y, Li K. Lactobacillus rhamnosus GG and Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 promote infected wound healing via regulation of the wound microenvironment. *Microb Biotechnol*. 2024 Oct;17(10): e70031. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.70031>
27. Wang L, Zhao R, Li X, Shao P, Xie J, Su X, Xu S, Huang Y, Hu S. Lactobacillus rhamnosus GG improves cognitive impairments in mice with sepsis. *PeerJ*. 2024 May 28;12: e17427. <https://doi.org/10.7717/peerj.17427>
28. Fu Y, Chen YS, Xia DY, Luo XD, Luo HT, Pan J, Ma WQ, Li JZ, Mo QY, Tu Q, Li MM, Zhao Y, Li Y, Huang YT, Chen ZX, Li ZJ, Bernard L, Dione M, Zhang YM, Miao K, Chen JY, Zhu SS, Ren J, Zhou LJ, Jiang XZ, Chen J, Lin ZP, Chen JP, Ye H, Cao QY, Zhu YW, Yang L, Wang X, Wang WC. Lactobacillus rhamnosus GG ameliorates hyperuricemia in a novel model. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2024 Mar 20;10(1):25. <https://doi.org/10.1038/s41522-024-00486-9>
29. Zhu L, Niu J, Tang XC, Shan LH, Xiao L, Wang YQ, Yin LY, Yu YY, Li XR, Zhou P. The Effects of Probiotic Lactobacillus rhamnosus GG on Fecal Flora and Serum Markers of Renal Injury in Mice with Chronic Kidney Disease. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2023 Sep 26;28(9):226. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2809226>
30. Zhai T, Ren W, Wang P, Zheng L. Lactobacillus rhamnosus GG protects against atherosclerosis by improving ketone body synthesis. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2022 Dec;106(24):8233–8243. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12265-7>
31. Picard C, Fioramonti J, Francois A, Robinson T, Neant F, Matuchansky C. Review article: bifidobacteria as probiotic agents – physiological effects and clinical benefits. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005 Sep 15;22(6):495–512. doi: 10.1111/j.1365-2036.2005.02615.x. PMID: 16167966. 33. Martínez-Martínez MI, Calabuig-Tolsá R, Cauli O. The effect of probiotics as a treatment for constipation in elderly people: A systematic review. *Arch Gerontol Geriatr*. 2017 Jul;71:142–149. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2017.04.004>
32. Li J, Xu L, Liao J, Li X, Wang X, Wu Q, Zhu L. In vitro intestinal simulation system on the carbon source utilization characteristics and mechanism of interspecific syntrophic effects of Bifidobacterium longum CECT7894 and Pediococcus pentosaceus CECT8330. *Front Pediatr*. 2023 Dec 14;11:1276846. <https://doi.org/10.3389/fped.2023.1276846>
33. Xiao F, Dong F, Li X, Li Y, Yu G, Liu Z, Wang Y, Zhang T. Bifidobacterium longum CECT 7894 Improves the Efficacy of Infliximab for DSS-Induced Colitis via Regulating the Gut Microbiota and Bile Acid Metabolism. *Front Pharmacol*. 2022 Aug 1;13:902337. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.902337>
34. Chen K, Liu C, Li H, Lei Y, Zeng C, Xu S, Li J, Savino F. Infantile Colic Treated With Bifidobacterium longum CECT7894 and Pediococcus pentosaceus CECT8330: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Front Pediatr*. 2021 Sep 10;9:635176. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.635176>
35. Громова О.А., Торшин И.Ю. Об использовании цинка и витамина С для профилактики и адъювантной терапии острых респираторных заболеваний. *Терапия*. 2017. № 1. С. 36–46. [Gromova O.A., Torshin I. Yu. On the use of zinc and vitamin C for the prevention and adjuvant therapy of acute respiratory diseases. *Therapy*. 2017. No. 1. P. 36–46.]
36. Громова О.А., Шиляев Р.Р., Торшин И.Ю., Калачева А.Г., Галицкая С.А., Лиманова О.А., Волков А.Ю., Гришина Т.Р., Федотова Л.Э., Жевнеров А.В. Использование различных способов приема биоусвояемых органических солей цинка с экстрактом молозива у часто и длительно болеющих детей. *Пед. фармакол*. 2009; 6 (1): 37–42. [Gromova O.A., Shilyaev R.R., Torshin I. Yu., Kalacheva A.G., Galitskaya S.A., Limanova O.A., Volkov A. Yu., Grishina T.R., Fedotova L.E., Zhevnerov A.V. Use of different methods of administration of bioavailable organic zinc salts with colostrum extract in frequently and long-term ill children. *Ped. pharmacol*. 2009; 6 (1): 37–42.]
37. Громова О.А., Торшин И.Ю. Цинк как необходимый элемент профилактики врожденных пороков развития плода. *Медицинский алфавит*. 2016. Т. 1. № 7. С. 19–25. [Gromova O.A., Torshin I. Yu. Zinc as a necessary element for the prevention of congenital malformations of the fetus. *Medical alphabet*. 2016. Vol. 1. No. 7. P. 19–25.]
38. Громова О.А., Торшин И.Ю. Микронутриенты и репродуктивное здоровье. *Руководство. 2-е издание переработанное и дополненное. ГЭОТАР-Медиа*, 2022, 832 с., ISBN 978–5–9704–6786–2. [Gromova O.A., Torshin I. Yu. Micronutrients and reproductive health. *Manual. 2nd edition revised and supplemented. GEOTAR-Media*, 2022, 832 p., ISBN 978–5–9704–6786–2.]

39. Johanns VC, Epping L, Semmler T, Ghazisaeedi F, Lübke-Becker A, Pfeifer Y, Eichhorn I, Merle R, Bethe A, Walther B, Wieler LH. High-Zinc Supplementation of Weaned Piglets Affects Frequencies of Virulence and Bacteriocin Associated Genes Among Intestinal *Escherichia coli* Populations. *Front Vet Sci*. 2020 Dec 16;7:614513. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.614513>
40. Li D, Achkar JP, Haritunians T, Jacobs JP, Hui KY, D'Amato M, Brand S, Radford-Smith G, Halfvarson J, Niess JH, Kugathasan S, Büning C, Schumm LP, Klei L, Ananthakrishnan A, Aumais G, Baidoo L, Dubinsky M, Fiocchi C, Glas J, Milgrom R, Proctor DD, Regueiro M, Simms LA, Stempak JM, Targan SR, Törkvist L, Sharma Y, Devlin B, Borneman J, Hakonarson H, Xavier RJ, Daly M, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Cho JH, Braun J, McGovern DP, Duerr RH. A Pleiotropic Missense Variant in *SLC39A8* Is Associated With Crohn's Disease and Human Gut Microbiome Composition. *Gastroenterology*. 2016 Oct;151(4):724–32. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.06.051>
41. Ammendola S, Pasquali P, Pistoia C, Petrucci P, Petrarca P, Rotilio G, Battistoni A. High-affinity Zn²⁺ uptake system ZnuABC is required for bacterial zinc homeostasis in intracellular environments and contributes to the virulence of *Salmonella enterica*. *Infect Immun*. 2007 Dec;75(12):5867–76. <https://doi.org/10.1128/IAI.00559-07>
42. Overbeck S, Rink L, Haase H. Modulating the immune response by oral zinc supplementation: a single approach for multiple diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2008 Jan-Feb;56(1):15–30. <https://doi.org/10.1007/s00005-008-0003-8>
43. Громова О.А., Торшин И.Ю. Важность цинка для поддержания активности белков врожденного противовирусного иммунитета: анализ публикаций, посвященных COVID-19. *Профилактическая медицина*. 2020;23(3):131–139. [https://doi.org/10.17116](https://doi.org/10.17116[Gromova O.A., Torshin I. Yu. The importance of zinc for maintaining the activity of proteins of innate antiviral immunity: analysis of publications devoted to COVID-19. Preventive Medicine. 2020;23(3):131–139. https://doi.org/10.17116])
44. Pernelle JJ, Creuzet C, Loeb J, Gacon G. Phosphorylation of the lymphoid cell kinase p56lck is stimulated by micromolar concentrations of Zn²⁺. *FEBS Lett*. 1991 Apr 9;281(1–2):278–82. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(91\)80411-u](https://doi.org/10.1016/0014-5793(91)80411-u)
45. Bao S, Knoell DL. Zinc modulates cytokine-induced lung epithelial cell barrier permeability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006 Dec;291(6):L1132–41. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00207.2006>
46. Coto JA, Hadden EM, Sauro M, Zorn N, Hadden JW. Interleukin 1 regulates secretion of zinc-thymulin by human thymic epithelial cells and its action on T-lymphocyte proliferation and nuclear protein kinase C. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Aug 15;89(16):7752–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.16.7752>
47. Berg K, Bolt G, Andersen H, Owen TC. Zinc potentiates the antiviral action of human IFN- α tenfold. *J Interferon Cytokine Res*. 2001 Jul;21(7):471–4. <https://doi.org/10.1089/10799900152434330>
48. Langklotz S, Baumann U, Narberhaus F. Structure and function of the bacterial AAA protease Fts H. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Jan;1823(1):40–8. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.08.015>
49. Solopova A, Bottacini F, Venturi Degli Esposti E, Amaretti A, Raimondi S, Rossi M, van Sinderen D. Riboflavin Biosynthesis and Overproduction by a Derivative of the Human Gut Commensal *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* ATCC 15697. *Front Microbiol*. 2020 Sep 15;11:573335. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.573335>
50. Zhu YY, Thakur K, Feng JY, Zhang JG, Hu F, Cespedes-Acuña CL, Liao C, Wei ZJ. Riboflavin Bioenriched Soymilk Alleviates Oxidative Stress Mediated Liver Injury, Intestinal Inflammation, and Gut Microbiota Modification in B2 Depletion-Repletion Mice. *J Agric Food Chem*. 2022 Mar 30;70(12):3818–3831. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c00117>
51. Stenmark P, Moche M, Gurm D, Nordlund P. The crystal structure of the bifunctional deaminase/reductase RibD of the riboflavin biosynthetic pathway in *Escherichia coli*: implications for the reductive mechanism. *J Mol Biol*. 2007 Oct 12;373(1):48–64. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.12.009>
52. Monti SM, De Simone G, D'Ambrosio K. L-Histidinol Dehydrogenase as a New Target for Old Diseases. *Curr Top Med Chem*. 2016;16(21):2369–78. <https://doi.org/10.2174/1568026616666160413140000>
53. Kvan OV, Gavrish IA, Lebedev SV, Korotkova AM, Miroshnikova EP, Serdaeva VA, Bykov AV, Davydova NO. Effect of probiotics on the basis of *Bacillus subtilis* and *Bifidobacterium longum* on the biochemical parameters of the animal organism. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018 Jan;25(3):2175–2183. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0534-9>
54. Devi S, Chhibber S, Harjai K. Optimization of cultural conditions for enhancement of anti-quorum sensing potential in the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG against *Pseudomonas aeruginosa*. *Biotech*. 2022 Jun;12(6):133. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03187-2>
55. Kalita A, Talukdar M, Sarma K, Kalita PC, Barman NN, Roychoudhury P, Kalita G, Choudhary OP, Doley PJ, Debroy S, Keneisenuo K, Sarkar R. Lymphocyte subsets in the small intestine of piglets fed with probiotic and zinc: a qualitative and quantitative micro-anatomical study. *Folia Morphol (Warsz)*. 2022;81(1):82–90. <https://doi.org/10.5603/FM.a2020.0148>
56. Laitinen K, Kalliomäki M, Poussa T, Lagström H, Isolauri E. Evaluation of diet and growth in children with and without atopic eczema: follow-up study from birth to 4 years. *Br J Nutr*. 2005 Oct;94(4):565–74. <https://doi.org/10.1079/bjn20051503>
57. Abdulah DM, Sulaiman SJ, Ahmed ZW. Effect of probiotics plus zinc supplementation on clinical outcomes of infants and children with acute infectious diarrhea: a randomized controlled trial. *Clin Exp Pediatr*. 2024 Apr;67(4):203–212. <https://doi.org/10.3345/cep.2023.01340>
58. Yalcin G, Demirbas F, Bacalan F, Toy EB. Evaluation of treatment in acute gastroenteritis: A comparative study. *J Pak Med Assoc*. 2022 Oct;72(10):2019–2024. <https://doi.org/10.47391/JPMA.4438>
59. Bruzzese E, Fedele MC, Bruzzese D, Viscovo S, Giannattasio A, Mandato C, Siani P, Guarino A. Randomised clinical trial: a *Lactobacillus* GG and micronutrient-containing mixture is effective in reducing nosocomial infections in children, vs. placebo. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016 Sep;44(6):568–75. <https://doi.org/10.1111/apt.13740>