

Иммуномодулирующие свойства пробиотического препарата «ВедаБиотик» при старении

Маркова Е.В.¹, Сорокин О.В.², Гольдина И.А.¹, Савкин И.В.¹, Княжева М.А.¹, Серенко Е.В.¹, Бакулин К.А.³, Молокеев А.В.⁴

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (Новосибирск)

²ООО «ВедаГенетика» (Новосибирск)

³ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

⁴АО «Вектор-БиАльгам» (р.п. Кольцово, Новосибирская обл.)

Immunomodulating properties of the probiotic preparation, VedaBiotic in aging

Markova E.V.¹, Sorokin O.V.², Goldina I.A.¹, Savkin I.V.¹, Knyazheva M.A.¹, Serenko E.V.¹, Bakulin K.A.³, Molokeev A.V.⁴

¹Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk)

²VedaGenetika LLC (Novosibirsk)

³Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

⁴Vector-BiAlgam JSC (Koltsovo settlement, Novosibirsk Region)

АННОТАЦИЯ

Гомеостатический иммунологический «диалог» между хозяином и его микробиотой является критически важным для поддержания здоровья. Происходящее с возрастом ослабление организма, большая его зависимость от внешних условий жизни делают старость периодом наибольшей заболеваемости. В условиях прогрессирующего увеличения продолжительности жизни все большее внимание привлекает возможность влияния на здоровье человека с помощью персонифицированных пищевых и терапевтических стратегий, направленных на модифицирование кишечной микробиоты, к которым относят использование про- и пребиотиков.

Цель настоящей работы — исследование влияния препарата «ВедаБиотик», представляющего собой оригинальный комплекс пробиотиков (лиофилизированная биомасса живых активных бифидобактерий, лактобактерий, термофильного стрептококка), пребиотиков (микрористаллическая целлюлоза, лактулоза) и витамина С, на клеточный иммунный ответ и функциональную активность иммунокомпетентных клеток у возрастных млекопитающих (мышей-самцов в возрасте 10 мес). Установлено, что у возрастных млекопитающих курсовое введение препарата приводит к стимуляции пролиферативной активности иммунокомпетентных клеток и клеточного иммунного ответа, в том числе и при индуцированной иммуносупрессии (реакция гиперчувствительности замедленного типа повышалась до уровня, наблюдаемого у интактных животных аналогичного возраста). «ВедаБиотик» оказывает также модулирующее влияние на продукцию цитокинов, вызывая снижение провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИФН- γ и повышение противовоспалительного цитокина ИЛ-10.

Таким образом, препарат «ВедаБиотик» оказывает позитивный иммуномодулирующий эффект и может быть использован в качестве биологически активной добавки к пище — в качестве источника пробиотических микроорганизмов — для снижения негативных побочных эффектов цитостатической терапии, а также лицами пожилого возраста для улучшения качества жизни и профилактики развития возраст-ассоциированной патологии.

Ключевые слова: старение, пробиотики, иммунный ответ, иммунокомпетентные клетки, цитокины.

Поступила 15.10.2020
Принята 28.11.2020

Автор, ответственный за переписку
Маркова Евгения Валерьевна: ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии». 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
E-mail: evgenya_markova@mail.ru

Received 15.10.2020
Accepted 28.11.2020

Corresponding author
Markova Evgeniya Valeryevna: Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, 14, Yadrintsevskaya str., Novosibirsk, 630099, Russia.
E-mail: evgenya_markova@mail.ru

ABSTRACT

The homeostatic immunological dialogue between the host and its microbiota is critical to maintaining health. The weakening of the organism occurring with age, its greater dependence on the external life conditions, make old age the period of the greatest morbidity. In the context of a progressive increase in life expectancy, more and more attention is being paid to the possibility of influencing human health through personalized nutritional and therapeutic strategies aimed at modifying the intestinal microbiota, which include the use of pro- and prebiotics.

The aim of this work is to study the effect of the VedaBiotic preparation, which is an original complex of probiotics (freeze-dried biomass of live active bifidobacteria, lactobacilli, *Streptococcus thermophilus*), prebiotics (microcrystalline cellulose, lactulose) and vitamin C, on the cellular immune response and functional activity of immunocytes in age-dependent mammals (male mice at the age of 10 months). It was found that in age-dependent mammals, a course administration of the drug leads to the stimulation of the proliferative activity of immunocytes and the cellular immune response, also including the case of the induced immunosuppression (when the delayed-type hypersensitivity reaction increased to the level observed in intact animals of similar age). The VedaBiotic also has a modulating effect on the cytokines production, causing a decrease in the pro-inflammatory cytokines IL-1 β and IFN- γ , and an increase in the anti-inflammatory cytokine IL-10.

Thus, the VedaBiotic preparation has a favorable immunomodulatory effect and can be used as a nutritional supplement — as a source of probiotic microorganisms — to reduce the negative side effects of cytostatic treatment, as well as by elderly persons to improve the quality of life and to prevent the development of age-associated pathology.

Keywords: aging, probiotics, immune response, immunocytes, cytokines.

ВВЕДЕНИЕ

Микробиота кишечника человека является эволюционно сложившейся совокупностью микроорганизмов, существующей как сбалансированная микроэкологическая система, в которой симбиотная микрофлора находится в динамическом равновесии, формирует микробные ассоциации, занимающие в ней определенную экологическую нишу. Кишечная микробиота относится к существенным факторам, влияющим на многие аспекты физиологии организма и выполняющим важнейшие функции в сохранении здоровья человека, включая метаболизм нутриентов, поддержание физиологического гомеостаза, резистентности к инфекционному воздействию посредством тесной взаимосвязи с клетками организма хозяина [1–3]. Поддержание этого равновесия позволяет индуцировать защитные реакции на патогены и использовать регуляторные пути, участвующие в устойчивой толерантности к безвредным антигенам.

Микробиота и иммунная система организма хозяина тесно связаны между собой. Микробиота играет фундаментальную роль в индукции, образовании и функционировании иммунной системы хозяина. В свою очередь, иммунная система хозяина вырабатывает множество средств, позволяющих поддерживать свои симбиотические отношения с микробиотой [4]. Функции кишечной микрофлоры по отношению к макроорганизму реализуются как локально, так и на системном уровне, при этом различные виды бактерий вносят свой вклад в это влияние, модулируют иммунную систему кишечника хозяина, оказывая противовоспалительные и провоспалительные эф-

INTRODUCTION

The human intestinal microbiota is an evolutionarily formed set of microorganisms that exists as a balanced microecological system, in which the symbiotic microflora stays in dynamic equilibrium, forms microbial associations that occupy a certain ecological niche in it. The gut microbiota is one of the essential factors that affect many aspects of human physiology and perform essential functions in human health protection, including nutrient metabolism, maintaining physiological homeostasis, and resistance to infections through close interconnection with the cells of the host organism [1–3]. Maintaining this balance makes it possible to induce protective responses to pathogens and to use regulatory pathways involved in sustained tolerance to harmless antigens.

The microbiota and the host's body immune system are closely related. The microbiota plays a fundamental role in the induction, formation and functioning of the host's immune system. In turn, the host's immune system produces a variety of agents that allow it to maintain its symbiotic relationship with the microbiota [4]. The functions of the intestinal microflora in relation to the macroorganism are realized both locally and at the systemic level, while various types of bacteria contribute to this effect, modulate the immune system of the host's intestine, providing anti-inflammatory and pro-inflammatory effects. Such an effect, on the one hand, prevents the development of a strong immune response to the antigens of the symbiotic microflora, and on the other hand, provides a rapid immune response when pathogenic bacteria appear.

фекты. Такое воздействие, с одной стороны, препятствует развитию сильной иммунной реакции на антигены симбиотической микрофлоры, а с другой — обеспечивает быстрый иммунный ответ при появлении патогенных бактерий.

В настоящее время кишечную микрофлору рассматривают как один из «органов метаболизма», обеспечивающего многие физиологические функции, а девиации в ее составе сопровождают различные патологические процессы [3]. Гомеостатический иммунологический «диалог» между хозяином и его микрофлорой является критически важным для поддержания здоровья. Нарушение реципрокного равновесия между микрофлорой и организмом хозяина в настоящее время является важным предметом исследования в различных областях медицины при изучении патогенеза многих заболеваний, включая аутоиммунные, аллергические, онкологические заболевания, болезни обмена веществ, а также возраст-ассоциированную патологию [5–7]. При старении в организме равномерно развиваются изменения во всех физиологических системах с приспособлением к его уменьшенным возможностям. Ослабление организма в период старости, большая зависимость его от внешних условий жизни — все это, даже при наилучшем соблюдении правил гигиены, делает старость периодом наибольшей заболеваемости. В течение последних десятилетий одновременно с ростом знаний о роли и значении кишечной микрофлоры значительно возрос интерес к пробиотикам. В условиях прогрессирующего увеличения продолжительности жизни все большее внимание привлекает возможность влияния на здоровье человека с помощью персонифицированных пищевых и терапевтических стратегий, направленных на модифицирование кишечной микрофлоры, к которым относят использование пробиотиков и пребиотиков [3]. Оригинальный препарат на основе пробиотиков «ВедаБиотик» (ВБ), в соответствии с инструкцией производителя, после курсового приема подавляет рост и развитие патогенных микроорганизмов в кишечнике, восстанавливает микрофлору других органов и систем, углеводный и жировой обмен, способствует снижению сахара и холестерина в крови, избыточной массы тела, повышает неспецифическую резистентность организма. Указанные свойства ВБ предполагают перспективность использования препарата для улучшения качества жизни и профилактики развития возраст-ассоциированной патологии, в связи с чем определенный интерес представляет исследование

At present, the intestinal microbiota is considered as one of the “metabolic organs” providing many physiological functions, and deviations in its composition accompany various pathological processes [3]. The homeostatic immunological dialogue between the host and its microbiota is critical to maintenance of health. Disturbance of reciprocal balance between the microbiota and the host organism is currently an important subject of research in various fields of medicine in the study of the pathogenesis of many diseases, including autoimmune, allergic, oncological, metabolic diseases, as well as age-associated pathology [5–7]. With aging, changes develop uniformly in all physiological systems of the human body with adaptation to its reduced capabilities. The weakening of the body during old age, its great dependence on the external conditions of life — all this, even with the best observance of the rules of hygiene, makes old age the period of greatest morbidity. During the last decades, along with the growth of knowledge about the role and significance of the gut microbiota, interest in probiotics has increased significantly. In the context of a progressive increase in life expectancy, more and more attention is being paid to the possibility of influencing human health through personalized nutritional and therapeutic strategies aimed at modifying the intestinal microbiota, which include the use of probiotics and prebiotics [3]. The original drug based on probiotics, VedaBiotic (VB), in accordance with the manufacturer’s instructions, after a course of supplementation suppresses the growth and spread of pathogenic microorganisms in the intestine, restores the microflora of other organs and systems, carbohydrate and fat metabolism, contributes to the decrease in blood sugar and cholesterol, overweight, and boosts the nonspecific resistance of the body. The indicated properties of VB suggest that the preparation is promising to be useful for the enhancement of the quality of life and prevention of the age-associated pathology, therefore, it is of certain interest to study the effect of VB on the functional activity of the immune system and its cellular elements during aging.

AIM OF THE RESEARCH

To study the effect of VB on the cell-mediated immune response and the functional activity of immunocompetent cells in aged mammals.

MATERIALS AND METHODS

The research used the original complex preparation of a new generation VedaBiotic based on probiotics and developed by Vector-BiAlgam JSC (Koltsovo

влияния ВБ на функциональную активность иммунной системы и ее клеточных элементов при старении организма.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние ВБ на клеточный иммунный ответ и функциональную активность иммунокомпетентных клеток у возрастных млекопитающих.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследованиях был использован оригинальный комплексный препарат нового поколения на основе пробиотиков «ВедаБиотик», разработанный АО «Вектор-БиАльгам» (р.п. Кольцово, Новосибирская обл.) и ООО «ВедаГенетика» (г. Новосибирск). В состав препарата входят 11 пробиотиков (бифидобактерии и лактобактерии, молочнокислый стрептококк) в титре 4.6×10^9 КОЕ/г, а также 3 пребиотика: аскорбиновая кислота, лактулоза и микрокристаллическая целлюлоза (свидетельство о госрегистрации RU.77.99.88.003.R.000658.03.20 от 06.03.2020).

Исследования проводили на здоровых мышах (СВАxC57Bl/6)F1, самцах 10-месячного возраста, массой 45–50 г, полученных из питомника НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра РАН (г. Томск). Животные содержались в условиях вивария ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» в клетках по 5–10 особей в каждой, на стандартном рационе питания, при естественном световом режиме, свободном доступе к воде и пище. Экспериментальные исследования проводились в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986), «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» согласно приказу Министерства здравоохранения РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики» и «Руководству по экспериментальному (доклиническому) исследованию новых фармакологических веществ» (Москва, 2005).

Учитывая наличие в популяции мышей (СВАxC57Bl/6)F1 самцов с активным и пассивным типами поведения, представители которых характеризуются определенными структурно-функциональными особенностями иммунокомпетентных клеток и различным изменением функциональной активности клеточного звена иммун-

settlement, Novosibirsk Region) and VedaGenetika LLC (Novosibirsk). The preparation contains 11 probiotics (bifidobacteria and lactobacilli, lactic acid streptococcus) in a titer of 4.6×10^9 CFU/g, as well as 3 prebiotics: ascorbic acid, lactulose and microcrystalline cellulose (certificate of state registration RU.77.99.88.003.R.000658.03.20 dated 06.03.2020).

The studies were carried out on healthy male mice (СВАxC57Bl/6) F1, 10 months of age, weighing 45–50 g, obtained from the nursery of the Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine (Tomsk). The animals were kept in the vivarium of the Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology in cages of 5–10 individuals each, on a standard diet, under natural light conditions, and free access to water and food. Experimental studies were carried out in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986), Rules for Conducting Work with the Use of Experimental Animals in accordance with the order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 267 of June 19, 2003, On Approval of the Rules of Laboratory Practice and Guidelines for Experimental (Preclinical) Study of New Pharmacological Substances (Moscow, 2005).

Considering the presence of males with active and passive types of behavior in the population of mice (СВАxC57Bl/6)F1, whose representatives are notable for certain structural and functional characteristics of immunocytes and various changes in the functional activity of the cellular link of the immune system after antigenic exposure [8, 9], with the aim of forming homogeneous experimental groups of animals, the type of behavior of all mice was determined in the Open Field test. According to the test results, only individuals with an average type of behavior were included in the study.

The VB suspension was forcibly injected to the animals at a basis of 80 mg/kg/day intragastrically, for 14 days (experimental group). The control group of animals in the same volume and regimen was injected with the solvent — drinking water (negative control). A group of whole mice of the same age was also used as a positive control. As a comparison group, mice with induced immunosuppression were used, which were injected with cyclophosphan (CP) (N-bis- (b-chloroethyl)-N-O-trimethylene phosphoric acid diamide ester) (Baxter Oncology GmbH, Germany), once intraperitoneally, in 0.5 ml

ной системы после антигенного воздействия [8, 9], с целью формирования однородных экспериментальных групп животных тип поведения всех мышей был определен в тесте «Открытое поле». По результатам тестирования в исследование были включены только особи со средним типом поведения.

Суспензию ВБ принудительно вводили животным из расчета 80 мг/кг интрагастрально, ежедневно, в течение 14 сут (экспериментальная группа). Контрольной группе животных в аналогичном объеме и режиме вводили растворитель — питьевую воду (негативный контроль). В качестве позитивного контроля использовали также группу интактных мышей аналогичного возраста. В качестве группы сравнения использовали мышей с индуцированной иммуносупрессией, которым вводили циклофосфана (ЦФ) (N-бис-(b-хлорэтил)-N-O-триметиленовый эфир диамида фосфорной кислоты) (Baxter Oncology, GmbH, Germany), внутривенно однократно, в 0.5 мл 0.9% NaCl на 14-е сутки после начала введения ВБ, в дозе 250 мг/кг, определенной в серии предварительных экспериментов.

На 15-е сутки часть животных выводили из эксперимента декапитированием, в стерильных условиях забирали селезенку для получения суспензии спленоцитов с последующим исследованием *in vitro* пролиферативной активности клеток селезенки и продукции основных про- и противовоспалительных цитокинов. Оставшиеся животные были подвержены иммунизации Т-зависимым антигеном для оценки интенсивности клеточного иммунного ответа *in vivo*.

Для исследования пролиферативной активности спленоциты выделяли центрифугированием суспензии клеток селезенки в градиенте плотности фикола 1.078 г/см³ (Lymphocyte Separation Medium, MP Biomedicals GmbH, Germany) при 1500 об./мин в течение 40 мин. Спленоциты, собранные из интерфазы, трехкратно отмывали в среде RPMI-1640 («Вектор-БиАльгам», р.п. Кольцово) и осаждали центрифугированием. Затем клетки в полной культуральной среде, состоящей из RPMI-1640, 5% инаktivированной эмбриональной телячьей сыворотки, 2 mM L-глутамина, 10 mM HEPES-буфера, 5×10^{-5} M 2-меркаптоэтанола (Sigma, USA) и 80 мкг/мл гентамицина, вносили в объеме 50 мкл в 96-луночные круглодонные планшеты (Linbro, USA) в концентрации 10^5 спленоцитов на лунку. В качестве митогенов для индукции поликлональной активации клеток использовались конкавалин А (Кона) (Pharmacia Fine Chemicals, Sweden) и липополисахарид

of 0.9% NaCl on the 14th day after the start of injection of VB, at a dose of 250 mg/kg, determined in a series of preliminary experiments.

On the 15th day, some of the animals were removed from the experiment by decapitation, the spleen was taken under sterile conditions to obtain a suspension of splenocytes, with subsequent *in vitro* study of the proliferative activity of spleen cells and the production of basic pro- and anti-inflammatory cytokines. The rest of animals were undergone to T-dependent antigen immunization to assess the intensity of the cellular immune response *in vivo*.

For studying the proliferative activity, splenocytes were isolated by centrifugation of a spleen cell suspension in a ficoll density gradient of 1.078 g/cm³ (Lymphocyte Separation Medium, MP Biomedicals GmbH, Germany) at 1500 rpm for 40 min. The interphase splenocytes were washed three times in RPMI-1640 medium (Vector-BiAlgam JSC, Koltsovo settlement) and precipitated by centrifugation. Then the cells in the complete culture medium consisting of RPMI-1640, 5% inactivated fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES-buffer, 5×10^{-5} M 2-mercaptoethanol (Sigma, USA) and 80 µg/ml of gentamicin was introduced in the volume of 50 µl into 96-well round-bottom plates (Linbro, USA) at a concentration of 10^5 splenocytes per well. Concanavalin A (ConA) (Pharmacia Fine Chemicals, Sweden) and lipopolysaccharide (LPS) *E. coli* 0111: B4 (Sigma, USA) were used as mitogens for the induction of polyclonal cell activation, which were added to the cell suspension at suboptimal concentrations (determined in the series of preliminary experiments and were 3 and 5 µg/ml respectively) in amounts of 50 µl and/or culture medium to a total volume of 150 µl per well. Cells were cultured in a CO₂-incubator at +37°C in an atmosphere containing 5% CO₂ for 72 h. The proliferative activity of splenocytes was determined using a vital dye (CFSE) on a flow cytometer. Data are presented as a percentage relative to spontaneous cell proliferation of the corresponding group.

Cytokine levels were determined in splenocyte culture supernatant samples. For this, splenocytes were cultured at a concentration of 2×10^6 /ml in a volume of 2 ml in 24-well plates for immunoassay (Linbro, USA) in complete culture medium containing RPMI-1640, 10% inactivated fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES buffer and 80 µg/ml gentamicin, for 24 h to study the production of IL-1β and TNF-α; within 48 h — to study

(ЛПС) *E. coli* 0111:B4 (Sigma, USA), которые добавляли к суспензии клеток в субоптимальных концентрациях (определялись в серии предварительных экспериментов и составляли соответственно 3 и 5 мкг/мл) по 50 мкл и/или культуральную среду до полного объема 150 мкл на лунку. Культивирование клеток проводили в CO₂-инкубаторе при +37 °C в атмосфере, содержащей 5% CO₂, в течение 72 ч. Пролиферативную активность спленоцитов определяли при помощи витального красителя (CFSE), на проточном цитофлуориметре. Данные представляли в процентах относительно спонтанной пролиферации клеток соответствующей группы.

Уровни цитокинов определяли в образцах культуральных супернатантов спленоцитов. Для этого спленоциты культивировали в концентрации 2×10^6 /мл в объеме 2 мл в 24-луночных планшетах для иммунологических исследований (Linbro, USA) в полной культуральной среде, содержащей RPMI-1640, 10% инактивированную эмбриональную телячью сыворотку, 2 mM L-глутамин, 10 mM HEPES-буфера и 80 мкг/мл гентамицина, в течение 24 ч для исследования продукции ИЛ-1 β и ФНО- α ; в течение 48 ч — для исследования продукции ИЛ-10 и ИЛ-6 и в течение 72 ч — для оценки продукции спленоцитами ИФН- γ . Для исследования митоген-стимулированной продукции цитокинов в культуральную среду добавляли ЛПС *E. coli* 011:B4 для ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-6 и КонА — для ИФН- γ и ИЛ-10 в концентрациях, стимулирующих субоптимальную продукцию каждого из цитокинов, определенную в серии предварительных экспериментов. По окончании культивирования клеточную суспензию собирали, клетки осаждали центрифугированием, а культуральный супернатант использовали для исследования. Определение уровней цитокинов в исследуемых образцах проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирмы Invitrogen (Austria), согласно прилагаемой инструкции. Оптическую плотность исследуемых образцов измеряли при помощи спектрофотометра с вертикальным прохождением света Anthos 2020 (Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria) при длине волны 450 нм. Количественное содержание цитокинов выражали в пг/мл.

Интенсивность клеточного иммунного ответа оценивали *in vivo* по выраженности реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Для этого мышей иммунизировали — внутрибрюшинно вводили эритроциты барана (0.5% — 0.5 мл). Разрешающую дозу указанного

the production of IL-10 and IL-6 and within 72 h — to assess the production of IFN- γ by splenocytes. To study mitogen-stimulated cytokine production, *E. coli* 011:B4 LPS was added to the culture medium for IL-1 β , TNF- α and IL-6 and KonA — for IFN- γ and IL-10 at concentrations that stimulate suboptimal production of each of the cytokines determined in a series of preliminary experiments. At the end of the cell culture process, the cell suspension was harvested, the cells were precipitated by centrifugation, and the culture supernatant was used for the research. Determination of the cytokine levels in the test samples was carried out by the method of enzyme-linked immunosorbent assay using test systems from Invitrogen (Austria), according to the attached instruction manual. The optical density of the samples under study was measured using an Anthos 2020 vertical light transmission spectrophotometer (Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria) at a wavelength of 450 nm. The quantitative content of cytokines was expressed in pg/ml.

The intensity of the cellular immune response was assessed *in vivo* by the severity of the delayed-type hypersensitivity reaction (DTH). For this, the mice were immunized with the sheep erythrocytes (0.5% — 0.5 ml) injected intraperitoneally. A resolving dose of the specified antigen (50% — 0.05 ml) was injected under the plantar aponeurosis of the hind foot after 96 h. The formation of the DTH reaction was assessed 24 h after the injection of the challenging dose by the degree of paw swelling (change in its thickness compared to the positive control hind paw of the same animal, into which the RPMI-1640 medium was introduced). The reaction index (RI) was determined for each mouse by the formula $RI = (R_{ex} - R_c) / R_c$, where R_{ex} — the reaction in the experimental group, R_c — the reaction in the control group, and was expressed as a percentage [10].

For statistical processing of the actual material, statistical analysis methods were used with STATISTICA 10 software packages for Windows (StatSoft Inc., USA). When analyzing quantitative data, the normal distribution of actual data was checked using the Shapiro-Wilk test. When making comparisons of independent samples in the case of normal distribution and equal variances in groups, Student's *t*-test was used; if the distribution deviates from the normal, the Mann-Whitney test was used; measures of central tendency and dispersion are described by median (*Me*), lower (*Q1*) and upper (*Q3*) quartiles. Differences were considered significant at $p \leq 0.05$.

антигена (50% — 0.05 мл) вводили под апоневроз задней стопы через 96 ч. Формирование реакции ГЗТ оценивали через 24 ч после инъекции разрезающей дозы по степени опухания лапы (изменение ее толщины по сравнению с позитивно-контрольной задней лапой того же животного, в которую была введена среда RPMI-1640). Индекс реакции (ИР) определяли для каждой мыши по формуле $ИР = (P_o - P_k) / P_k$, где P_o — реакция в опытной группе; P_k — реакция в группе контроля, и выражали в процентах [10].

Для проведения статистической обработки фактического материала применяли методы статистического анализа с использованием программных пакетов STATISTICA 10 для Windows (StatSoft Inc., USA). При анализе количественных данных проверку на нормальность распределения фактических данных проводили с помощью критерия Шапиро — Уилка. При проведении сравнений независимых выборок в случае нормального распределения и равных дисперсий в группах применяли *t*-критерий Стьюдента; при отклонении распределения от нормального — критерий Манна — Уитни; меры центральной тенденции и рассеяния описаны медианой (*Me*), нижним (*Q1*) и верхним (*Q3*) квартилями. Различия считали значимыми при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При старении эффективность функционирования иммунной системы, заключающаяся в поддержании постоянства антигенного состава организма, уменьшается. Это приводит к ослаблению контроля за внутренней средой организма, иммунологической реактивности и исчезновению толерантности к антигенам собственных органов и тканей и, как следствие, появлению характерных для старения иммунопатологических синдромов: иммунодефицита и аутоагрессии. Во всех этих случаях происходит снижение активности иммунного ответа, как клеточного, так и гуморального, с падением эффекта иммунизации, титров антител в крови ниже защитного уровня, уменьшение эффективности клеточных иммунных реакций. Следствием этого является повышенный уровень заболеваемости, склонность к хронической патологии и онкопатологии, преобладание деструктивных процессов [11]. Сочетанное действие бифидо- и лактобактерий в составе мультисинбиотика ВБ, в соответствии с инструкцией производителя, способствует восстановлению и поддержанию собственной микрофлоры кишечника, вытесняя условно-патогенные и патогенные бактерии, лактулоза обеспечивает питатель-

RESULTS AND DISCUSSION

With aging, the effectiveness of the immune system functioning consisting in maintenance of the constancy of the antigenic composition of the body decreases. This leads to a weakening of control over the internal environment of the body, immunological reactivity and the losing of tolerance to the antigens of its own organs and tissues and, as a consequence, the appearance of immunopathological syndromes characteristic of aging: immunodeficiency and autoaggression. In all these cases, there is a decrease in the activity of the immune response, both cellular and humoral, with a drop in the effect of immunization, antibody titers in the blood below the protective level, and a decrease in the efficiency of cellular immune response. The consequence of this is an increased morbidity rate, a tendency to chronic pathology and oncopathology, the predominance of destructive processes [11]. The combined action of bifidobacteria and lactobacilli in the VB composition, in accordance with the manufacturer's instructions, contributes to restoration and maintenance of its own intestinal microflora, dislodges opportunistic and pathogenic bacteria; lactulose provides a nutrient medium for these probiotics when they enter the intestine, and microcellulose effectively entraps products of bacterial decay, eliminating them from the body.

The *in vivo* study of the intensity of the cellular immune response in aged experimental animals, which, similarly to humans, are characterized by a reduced response to immunization [8, 12–15], revealed that after a course of the VB, the intensity of the DTH reaction in 10-month-old mice exceeded that of a control group of the same age intact animals (Table 1).

One of the possible mechanisms stimulating the cellular immune response to the VB in aged animals, may be due to the influence of the probiotic microorganisms, included in the preparation, on the extrathymic generation of T-cells in the lymphoid tissue, associated with the intestine [16]. The administration of CP, as expected, caused immunosuppression, showing a decrease in the intensity of the DTH reaction; while the stimulating cell-mediated immune response effect of the VB was also recorded in the setting of CP-induced immunosuppression: an enhancement of this reaction reached the level corresponding to that of the intact animals of a similar age (see Table 1), which indicates the leveling of the CP-induced suppression of the cellular immune response under conditions of the prior VB administration.

ную среду для указанных пробиотиков при их попадании в кишечник, а микроцеллюлоза эффективно сорбирует продукты бактериального распада, выводя их из организма.

При исследовании интенсивности клеточного иммунного ответа *in vivo* у возрастных экспериментальных животных, которые, аналогично человеку, характеризуются сниженным ответом на иммунизацию [8, 12–15], выявлено, что после курсового введения ВБ интенсивность реакции ГЗТ у мышей 10-месячного возраста превышала такую по сравнению с контрольной группой интактных животных аналогичного возраста (табл. 1).

Одним из возможных механизмов стимулирующего клеточный иммунный ответ эффекта ВБ у возрастных особей может быть влияние входящих в состав препарата пробиотических микроорганизмов на экстрактимическую генерацию Т-клеток в лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником [16]. Введение ЦФ, как и ожидалось, вызывало иммуносупрессию, выразившуюся в снижении интенсивности реакции ГЗТ, при этом стимулирующий клеточный иммунный ответ эффект ВБ регистрировался также и на фоне ЦФ-индуцированной иммуносупрессии: повышение данной реакции наблюдалось до уровня, соответствующего таковому у интактных животных аналогичного возраста (см. табл. 1), что свидетельствует о нивелировании ЦФ-индуцируемой супрессии клеточного иммунного ответа на фоне введения ВБ.

Как известно, у человека и животных подавление иммунитета с возрастом не связано со снижением абсолютного количества иммунокомпетент-

It is known, that in humans and animals the suppression of immunity with age is not associated with a decrease in the absolute number of immunocytes, which is supported by a homeostatic multi-component mechanism, but depends on changes in their functional activity [15–18]. Study of the functional activity of immunocytes of aged animals *in vitro* after a course of the VB revealed the stimulation of the proliferative activity of splenocytes in response to T- and B-cell mitogens (see Table 1). As you see from Table 1, the course of the VB also prevents the CP-induced decrease in the proliferative activity of spleen cells. VB stimulation of the proliferative activity of immunocytes is also one of the mechanisms of the above demonstrated effect of this probiotic preparation in stimulating the cellular immune response. The leveling of CP-induced suppression of the cellular immune response and the proliferative activity of splenocytes in case of prior VB administration established in the present study, makes it possible to use this probiotic preparation during cytostatic therapy in oncopathology to reduce the negative side effect in the form of immunosuppression.

The functional activity of immunocytes of aged animals after a course of the VB was also assessed by the production of pro- and anti-inflammatory cytokines. It was found that in aged mice, the VB reduces the mitogen-stimulated production of pro-inflammatory cytokines IL-1 β and IFN- γ by splenocytes, while not significantly affecting the spontaneous production of these cytokines. In animals which were exposed to CP, causing immunosup-

Таблица 1. Интенсивность реакции ГЗТ и пролиферативная активность клеток селезенки возрастных мышей (CBAx57Bl/6)F1 после курсового введения препарата «ВедаБиотик», %

Table 1. The intensity of the DTH reaction and the proliferative activity of spleen cells in aged mice (CBAx57Bl/6)F1 after a course of the VedaBiotic preparation, %

Группы животных Animal groups	Индекс реакции ГЗТ (Me (25 %; 75 %)) Index of DTH reaction (Me (25%; 75%))	Пролиферативная активность спленоцитов Splenocyte proliferative activity	
		КонА-стимулированная пролиферация ConA-stimulated proliferation	ЛПС-стимулированная пролиферация LPS-stimulated proliferation
1. Интактные / Intact	21.2 (17.6; 28.9)	149	161
2. Вода / Water	37.5 (20.0; 55.0)	150	160
3. ЦФ / CP	1.25 (0.0; 2.5)**	70*	56*
4. «ВедаБиотик» / VedaBiotic	28.9 (25.0; 36.0)*	210*	240*
5. ЦФ, «ВедаБиотик» / CP, VedaBiotic	20.0 (2.5; 21.0)*	127*	117*

Примечание. В каждой группе — от 12 до 15 животных.

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ по сравнению с группами контроля 1 и 2; * $p < 0.05$ по сравнению с группой 3.
Note. Each group had from 12 to 15 animals.

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ compared to the control groups 1 and 2; * $p < 0.05$ compared to group 3.

ных клеток, которое поддерживается гомеостатическим многокомпонентным механизмом, но зависит от изменения их функциональной активности [15–18]. При исследовании функциональной активности иммунокомпетентных клеток возрастных животных *in vitro* после курсового введения ВБ выявлена стимуляция пролиферативной активности спленоцитов в ответ на Т- и В-клеточные митогены (см. табл. 1). Как видно из результатов, представленных в табл. 1, курсовое введение ВБ также предотвращает ЦФ-индуцированное снижение пролиферативной активности клеток селезенки. Стимуляция ВБ пролиферативной активности иммунокомпетентных клеток также является одним из механизмов продемонстрированного выше эффекта данного пробиотического препарата в отношении стимуляции клеточного иммунного ответа. Установленное в настоящем исследовании нивелирование ЦФ-индуцируемой супрессии клеточного иммунного ответа и пролиферативной активности спленоцитов на фоне введения ВБ обуславливает возможность использования данного пробиотического препарата при проведении цитостатической терапии при онкопатологии для снижения негативного побочного эффекта в виде иммуносупрессии.

Функциональная активность иммунокомпетентных клеток возрастных животных после курсового введения ВБ оценивалась также по продукции про- и противовоспалительных цитокинов. Установлено, что у возрастных мышей ВБ снижает митоген-стимулированную продукцию спленоцитами провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИФН- γ , при этом существенно не влияя на спонтанную продукцию указанных цитокинов. У животных, подвергнутых воздействию ЦФ, вызывающего иммуносупрессию, как и ожидалось, регистрировалось подавление продукции всех исследуемых цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α ИФН- γ , ИЛ-10), при этом наблюдалось повышение митоген-стимулированной продукции ИЛ-6 практически до уровня, наблюдаемого у интактных животных аналогичного возраста (табл. 2). Повышение продукции этого цитокина, возможно, является одним из механизмов, посредством которых ВБ предотвращал вызываемое ЦФ ингибирование пролиферативной активности спленоцитов. ВБ приводил также к повышению спонтанной и митоген-стимулированной продукции клетками селезенки противовоспалительного цитокина ИЛ-10 у интактных животных, не изменяя таковую после введения ЦФ (см. табл. 2).

Согласно современным представлениям регуляция цитокинового каскада тесно связана с

pression, as expected, a suppression of the production of all studied cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α IFN- γ , IL-10) was recorded, while an increase in the mitogen-stimulated production of IL-6 was noted practically at the level observed in intact animals of a similar age (Table 2). An increase in the production of this cytokine is possibly one of the mechanisms by which the VB prevented CP-inhibition of the proliferative activity of splenocytes. In intact animals the VB also led to an increase in the spontaneous and mitogen-stimulated production of the anti-inflammatory cytokine IL-10 by spleen cells, without changing it after CP administration (see Table 2).

According to modern views, the regulation of the cytokine cascade is closely related to the state of the intestinal microbiota, with its qualitative and quantitative changes, which, in particular, determine the nature of systemic chronic low-grade inflammation (SCLI) that is usual for the elderly [2]. The SCLI is characterized by formation of relatively compensated balance between the action of the damaging factor and the systemic inflammatory reaction, on the one hand, and the buffer systems of anti-inflammatory resistance, on the other. It is considered that in age-associated pathology the SCLI is that link between insulin resistance, disorders of carbohydrate and lipid metabolism, obesity, atherosclerosis, metabolic syndrome. At the same time, it was found that some bacteria of the intestinal microbiota are able to prevent the SCLI development by suppressing microorganisms that trigger inflammatory reactions, improving the barrier function of the mucous membrane of the gastrointestinal tract, or directly affecting the inflammatory response cascade through the production of metabolites such as short-chain fatty acids, which play a great role in the immune system. Short-chain fatty acids bind to the GPR43 protein, which is involved in the regulation of the activity of the immune system and inflammation, providing intercellular communication in the immune system necessary for the normal resolution of the inflammation process [19].

Thus, the anti-inflammatory effect of butyric acid is well studied, and is realized mainly due to a decrease in the activity of histone acetylase and suppression of the activation of the associated nuclear transcription factor kappa B (NF- κ B) of colon epithelial cells. Butyrate inhibits the activity of the NF- κ B factor, which controls the expression of immune response genes and is responsible for the pro-

Таблица 2. Продукция цитокинов (пг/мл) клетками селезенки возрастных мышей (СВАхС57Bl/6)F1 после курсового введения препарата «ВедаБиотик» (Ме (25 %; 75 %))**Table 2.** Cytokine production (pg/ml) by spleen cells of aged mice (CBAxС57Bl/6)F1 after the course of the VedaBiotic preparation (Ме (25%; 75%))

Группы животных Animal groups	ИЛ-1 β / IL-1 β		ИЛ-6 / IL-6		ИЛ-10 / IL-10		ИФН- γ / IFN- γ		ФНО- α / TNF- α	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1. Интактные Intact	3.1 (2.27; 3.58)	6.74 (5.74; 7.65)	32.4 (25.1; 41.8)	111.92 (85.1; 156.3)	24.1 (18.5; 27.6)	195.17 (152.3; 258.9)	6.42 (4.21; 9.14)	64.47 (38.7; 74.95)	20.09 (16.1; 28.7)	31.00 (22.5; 41.4)
2. Вода / Water	3.24 (2.65; 3.91)	6.84 (5.48; 8.17)	30.6 (22.7; 41.8)	111.94 (64.5; 153.2)	22.19 (16.1; 32.5)	201.3 (164.9; 251.3)	6.42 (4.14; 7.85)	64.77 (50.3; 77.1)	22.43 (17.24; 29.76)	32.74 (23.8; 42.6)
3. ЦФ / CP	1.09 (0.76; 1.38)*	2.89 (1.27; 4.1)*	10.1 (7.11; 13.56)*	40.73 (32.9; 52.3)*	12.8 (9.5; 14.3)*	98.7 (68.7; 129.4)*	4.51 (3.08; 5.9)*	45.04 (34.6; 59.2)*	14.81 (10.4; 19.8)*	21.64 (17.5; 29.6)*
5. «ВедаБиотик» VedaBiotic	3.0 (2.2; 4.5)	3.37 (2.8; 5.3)*	33.6 (25.3; 45.7)	132.11 (99.1; 164.7)	42.68 (34.6; 53.8)*	298.3 (201.6; 365.2)*	6.14 (4.3; 8.1)	34.77 (26.4; 43.8)*	19.23 (11.6; 28.3)	30.61 (19.3; 44.6)
7. ЦФ, «ВедаБиотик» CP, VedaBiotic	1.22 (0.8; 1.5)	1.24 (0.9; 1.5)	14.2 (9.7; 18.3)	94.23 (71.3; 128.9)**	13.9 (9.5; 18.1)	107.45 (76.9; 145.2)	6.14 (4.14; 8.1)	46.14 (33.7; 56.3)	27.15 (19.7; 32.1)	31.52 (23.6; 40.3)

Примечание. 1 — спонтанная продукция цитокина; 2 — митоген-стимулированная продукция цитокина. В каждой группе — 6 животных.

* $p < 0.05$ по сравнению с группой 1; ** $p < 0.05$ по сравнению с группой 3.

Note. 1 — spontaneous cytokine production; 2 — mitogen-stimulated cytokine production. Each group has 6 animals.

* $p < 0.05$ as compared to group 1; ** $p < 0.05$ as compared to group 3.

состоянием микробиоты кишечника, с ее качественными и количественными изменениями, которые, в частности, обуславливают характер системного низкоградуированного хронического воспаления (СНХВ), свойственного для пожилого возраста [2]. При СНХВ происходит формирование относительно компенсированного равновесия между действием повреждающего фактора и системной воспалительной реакцией — с одной стороны и буферными системами противовоспалительной резистентности — с другой. Считается, что при возраст-ассоциированной патологии именно СНХВ является связующим звеном между инсулинорезистентностью, нарушениями углеводного и липидного обменов, ожирением, атеросклерозом, метаболическим синдромом. При этом установлено, что некоторые бактерии кишечной микробиоты способны препятствовать развитию СНХВ посредством подавления микроорганизмов, запускающих воспалительные реакции, улучшения барьерной функции слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта либо непосредственного воздействия на каскад воспалительной реакции путем продукции таких метаболитов, как короткоцепочечные жирные кислоты, играющие огромную роль в работе иммунной системы. Короткоцепочечные жирные кислоты связываются с белком GPR43, который участвует в регуляции активности иммунной системы и вос-

duction of cytokines, which leads to a decrease in the secretion of proinflammatory cytokines [20, 21]. The relationship between the state of the intestinal microbiota and changes in the levels of serum amyloid A3 (SAA3) which is an essential factor in the development of SCLI has been described [22]. The relationship between the composition of the microbiota and the number of T-regulatory cells (Treg) that perform suppressive functions was proved. In particular, Treg prevent autoimmune disorders, control the immune response against viruses, parasites, bacteria and fungi, prevent pathological immune responses to host's own microflora, and control antitumor immunity [23–25]. Treg express by CD4+ and CD25+ receptors, a transcription factor FoxP3 capable of inhibiting NFAT transcription factors (nuclear factor of activated T-lymphocytes) and NF- κ B, which is one of the mechanisms of inhibiting the synthesis of proinflammatory cytokines and suppressing the inflammatory process [26]. In connection with the mentioned above, the modulating effect of the VB on the production of cytokines by immunocytes, which causes a decrease in the level of proinflammatory cytokines IL-1 β and IFN- γ and an increase in the level of anti-inflammatory cytokine IL-10, can be interpreted as a positive effect of the preparation aimed at reducing SCLI.

паления, обеспечивая межклеточную коммуникацию в иммунной системе, необходимую для нормального разрешения процесса воспаления [19].

Так, хорошо изучен противовоспалительный эффект масляной кислоты, реализуемый в основном за счет снижения активности гистоновой ацетилазы и ингибирования активации связанного с ней ядерного фактора транскрипции кап-па В (NF-κB) эпителиоцитов толстой кишки. Бутират подавляет активность фактора NF-κB, который контролирует экспрессию генов иммунного ответа и отвечает за продукцию цитокинов, что приводит к снижению секреции провоспалительных цитокинов [20, 21]. Описана взаимосвязь состояния микробиоты кишечника с изменениями уровней сывороточного амилоида А₃ (SAA₃), являющегося существенным фактором в развитии СНХВ [22]. Доказана также взаимосвязь состава микробиоты с количеством Т-регуляторных клеток (Treg), осуществляющих супрессорные функции. В частности, Treg предотвращают аутоиммунные расстройства, контролируют иммунный ответ против вирусов, паразитов, бактерий и грибов, предотвращают патологические иммунные реакции на собственную микрофлору и контролируют противоопухолевый иммунитет [23–25]. Treg экспрессируют рецепторы CD4⁺ и CD25⁺, транскрипционный фактор FoxP3, способный ингибировать факторы транскрипции NFAT (ядерный фактор активированных Т-лимфоцитов) и NF-κB, что является одним из механизмов ингибирования синтеза провоспалительных цитокинов и подавления воспалительного процесса [26]. В связи с вышеизложенным модулирующее действие ВБ на продукцию иммунокомпетентными клетками цитокинов, вызывающее снижение уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1β и ИФН-γ и повышение уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-10, можно трактовать как положительный эффект препарата, направленный на снижение СНХВ.

Доказанное влияние микробиоты кишечника на иммунную адаптацию и становление толерантности организма к факторам внешней среды позволило использовать микроорганизмы — симбионты человека для профилактики и лечения целого ряда заболеваний [27]. Целесообразность использования пробиотиков для модуляции иммунных реакций человека не вызывает сомнений в силу неуклонно расширяющейся доказательной базы, касающейся их безопасности и иммунокорригирующего влияния. Установленные механизмы молекулярного действия, данные рандомизированных исследований и метаанализов, а так-

The proven influence of the intestinal microbiota on immune adaptation and the development of the organism tolerance to environmental factors made it possible to use microorganisms — human symbionts for the prevention and treatment of a number of diseases [27]. The feasibility of using probiotics to modulate human immune responses is beyond doubt due to the steadily expanding evidence base regarding their safety and immune correcting effect. The revealed mechanisms of molecular action, data from randomized studies and meta-analyses, as well as vast experience in the practical use of probiotic preparation prove their effectiveness for the prevention and reduction of the severity of a number of human diseases mediated or accompanied with immune imbalance.

CONCLUSION

When performing a study on the immune modulating properties of the probiotic preparation, VedaBiotic in aged experimental animals, the following was found:

1. A course of supplementation with the preparation stimulates the cellular immune response.
2. In CP-induced immunosuppression, this preparation gives even a stronger effect, stimulating the immune response, and up-regulating the DTH reaction to the level observed in intact animals of a similar age.
3. The VedaBiotic stimulates the proliferative activity of immune competent cells, including the case with the CP-induced immunosuppression.
4. The VedaBiotic has a modulating effect on the production of cytokines by immunocytes, causing a decrease in the level of proinflammatory cytokines IL-1β and IFN-γ, and an increase in the level of anti-inflammatory cytokine IL-10.

Thus, the VedaBiotic has a positive immune modulating effect and can be used as a nutritional supplement — a source of probiotic microorganisms — to reduce the negative side effects of cytostatic therapy, as well as to improve the quality of life of elderly people and prevent the development of age-associated pathology.

Funding. This research was funded by the budgetary funds of the Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk) and funds of VedaGenetika LLC (Novosibirsk) on the basis of an agreement on scientific and practical cooperation dated February 3, 2020.

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

же огромный опыт практического использования пробиотических препаратов доказывают их эффективность для профилактики и снижения тяжести целого ряда заболеваний человека, опосредованных или сопровождающихся иммунным дисбалансом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При проведении исследования иммуномодулирующих свойств пробиотического препарата «ВедаБиотик» у возрастных экспериментальных животных было установлено следующее:

1. Курсовое введение препарата стимулирует клеточный иммунный ответ.

2. При ЦФ-индуцированной иммуносупрессии данный препарат оказывает еще более сильный эффект, стимулирующий иммунный ответ, повышая выраженность реакции ГЗТ до уровня, наблюдаемого у интактных животных аналогичного возраста.

3. Препарат «ВедаБиотик» стимулирует пролиферативную активность иммунокомпетентных клеток, в том числе и на фоне ЦФ-индуцированной иммуносупрессии.

4. Препарат «ВедаБиотик» оказывает модулирующее действие на продукцию цитокинов им-

мунокомпетентными клетками, вызывая снижение уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИФН- γ и повышение уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-10.

Таким образом, препарат «ВедаБиотик» оказывает позитивный иммуномодулирующий эффект и может быть использован в качестве биологически активной добавки к пище — источника пробиотических микроорганизмов — для снижения негативных побочных эффектов цитостатической терапии, а также лицами пожилого возраста для улучшения качества жизни и профилактики развития возраст-ассоциированной патологии.

Финансирование. Данная работа финансировалась за счет бюджетных средств ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (Новосибирск) и средств ООО «ВедаГенетика» (Новосибирск) на основании договора о научно-практическом сотрудничестве от 03.02. 2020.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Landman C., Quévrain E. Gut microbiota: Description, role and pathophysiological implications. *Rev. Med. Interne*. 2016. Vol. 37 (6). P. 418–423. doi: 10.1016/j.revmed.2015.12.012.
- Каштанова Д.А., Егшатын Л.В., Ткачева О.Н. Участие микробиоты кишечника человека в процессах хронического системного воспаления // *Клин. микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2015. Т. 17, № 4. С. 310–317.
- Никонова Е.Л., Попова Е.Н. Микробиота. М., 2019. 256 с.
- Belkaid Y., Harrison O. J. Homeostatic immunity and the microbiota. *Immunity*. 2017. Vol. 46 (4). P. 562–576. doi: 10.1016/j.immuni.2017.04.008.
- Lin L., Zhang J. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases // *BMC Immunology*. 2017. Vol. 18: 2. doi: 10.1186/s12865-016-0187-3.
- Agace W.W., McCoy K.D. Regionalized development and maintenance of the intestinal adaptive immune landscape // *Immunity*. 2017. Vol. 46 (4). P. 532–548. doi: 10.1016/j.immuni.2017.04.004.
- Багиров Н.С., Петухов И.Н., Дмитриев Н.В., Григорьевская З.В. Микробиом и рак: есть ли связь? Обзор литературы // *Злокачественные опухоли*. 2018. Т. 8, № 3s1. С. 22–26. doi: 10.18027/2224-5057-2018-8-3s1-22-26.
- Маркова Е.В. Иммунная система и высшая нервная деятельность. Механизмы нейроиммунных взаимодействий в реализации и регуляции поведенческих реакций. Saarbrücken, 2012. 258 с.

REFERENCES

- Landman C., Quévrain E. (2016). Gut microbiota: Description, role and pathophysiological implications. *Rev. Med. Interne*, 37 (6), 418–423. doi: 10.1016/j.revmed.2015.12.012.
- Kashtanova D.A., Egshatyan L.V., Tkacheva O.N. (2015). The involvement of human gut microbiota in chronic systemic inflammation. *Clin. Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 17 (4), 310–317.
- Nikonova E.L., Popova E.N. (2019). *Microbiota*. Moscow, 256 p. In Russ.
- Belkaid Y., Harrison O. J. (2017). Homeostatic immunity and the microbiota. *Immunity*, 46 (4), 562–576. doi: 10.1016/j.immuni.2017.04.008.
- Lin L., Zhang J. (2017). Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. *BMC Immunology*, 18: 2. doi: 10.1186/s12865-016-0187-3.
- Agace W.W., McCoy K.D. (2017). Regionalized development and maintenance of the intestinal adaptive immune landscape. *Immunity*, 46 (4), 532–548. doi: 10.1016/j.immuni.2017.04.004.
- Bagirov N.S., Petukhov I.N., Dmitriev N.V., Grigoryevskaya Z.V. (2018). The microbiome and cancer: is there a connection? A literature review. *Malignant Tumors*, 8 (3s1), 22–26. doi: 10.18027/2224-5057-2018-8-3s1-22-26. In Russ.
- Markova E.V. (2012). *Immune System and Higher Nervous Activity. Mechanisms of Neuroimmune Interactions in the Implementation and Regulation of Behavioral Responses*. Saarbrücken, 258 p. In Russ.

9. Маркова Е.В., Княжева М.А., Рюмина Т.В., Козлов В.А. Особенности функционирования клеток иммунной системы у особей с агрессивно- и депрессивноподобными типами поведения // В мире научных открытий. 2014. Т. 8, № 56. С. 131–147.
10. Yoshikai Y., Miake S., Matsumoto T., Nomoto K., Takeya K. Effect of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed footpad reaction to SRBC in mice // *Immunology*. 1979. Vol. 38 (3). P. 577–583.
11. Сергеева Е.В. Состояние иммунитета у лиц пожилого возраста // *Экология человека*. 2010. № 5. С. 55–58.
12. Markova E.V., Obukhova L.A., Kolosova N.G. Activity of cell immune response and open field behavior in Wistar and OXYS rats // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2003. Vol. 136 (4). P. 377–379.
13. Markova E.V., Obukhova L.A., Kolosova N.G. Parameters of cell immune response in Wistar and OXYS rats and their behavior in the open field test // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2003. Vol. 136 (6). P. 588–590.
14. Crooke S.N., Ovsyannikova I.G., Poland G.A., Kennedy R.B. Immunosenescence and human vaccine immune responses // *Immun. Ageing*. 2019. Vol. 16: 25. doi: 10.1186/s12979-019-0164-9.
15. Goronzy J.J., Weyand C.M. Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines // *Nat. Immunol.* 2013. Vol. 14 (5). P. 428–436. doi: 10.1038/ni.2588.
16. Воронцова З.А., Никитюк Д.Б., Кудаева Э.Ф. Кишечно-ассоциированная лимфоидная ткань как информационно корректирующая система экстремальных состояний (краткий обзор литературы) // *Вестн. новых мед. технологий. Электрон. изд.* 2016. № 4. doi: 10.12737/21854.
17. Cicin-Sain L., Messaoud I., Park B. et al. Dramatic increase in naive T-cell turnover is linked to loss of naive T cells from old primates // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007. Vol. 104. P. 19960–19965. doi: 10.1073/pnas.0705905104.
18. Tsukamoto H., Clise-Dwyer K., Huston G.E. et al. Age-associated increase in lifespan of naive CD4 T-cells contributes to T-cell homeostasis but facilitates development of functional defects // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009. Vol. 106 (43). P. 18333–18338. doi: 10.1073/pnas.0910139106.
19. Maslowski K.M., Vieira A.T., Ng A. et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43 // *Nature*. 2009. Vol. 461. P. 1282–1286.
20. Meijer K., de Vos P., Priebe M.G. Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: what relevance for health // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2010. Vol. 13 (6). P. 715–721. doi: 10.1097/MCO.0b013e32833eebe5.
21. Hamer H.M., Jonkers D., Venema K. et al. Review article: the role of butyrate on colonic function // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008. Vol. 27. P. 104–119. doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03562.x
22. Faty A., Ferré P., Commans S. The acute phase protein serum amyloid A induces lipolysis and inflammation in human adipocytes through distinct pathways // *PLoS One*. 2012. Vol. 7 (4). P. e34031. doi: 10.1371/journal.pone.0034031.
9. Markova E.V., Knyazheva M.A., Rumina T.V., Kozlov V.A. (2014). Immune cells functioning features in individuals with aggressive- and depressive-like behaviors. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 8 (56), 131–147. In Russ.
10. Yoshikai Y., Miake S., Matsumoto T., Nomoto K., Takeya K. (1979). Effect of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed footpad reaction to SRBC in mice. *Immunology*, 38 (3), 577–583.
11. Sergeeva E.V. (2010). The status of immunity of elderly people. *Human Ecology*, 5, 55–58.
12. Markova E.V., Obukhova L.A., Kolosova N.G. (2003). Activity of cell immune response and open field behavior in Wistar and OXYS rats. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 136 (4), 377–379.
13. Markova E.V., Obukhova L.A., Kolosova N.G. (2003). Parameters of cell immune response in Wistar and OXYS rats and their behavior in the open field test. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 136 (6), 588–590.
14. Crooke S.N., Ovsyannikova I.G., Poland G.A., Kennedy R.B. (2019). Immunosenescence and human vaccine immune responses. *Immun. Ageing*, 16: 25. doi: 10.1186/s12979-019-0164-9.
15. Goronzy J.J., Weyand C.M. (2013). Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines. *Nat. Immunol.*, 14 (5), 428–436. doi: 10.1038/ni.2588.
16. Vorontsova Z.A., Nikityuk D.B., Kudaeva E.F. (2016). Gut associated lymphoid tissue as information and corrective system of extreme conditions (brief literature report). *Journal of New Medical Technologies, eEdition*, 4. doi: 10.12737/21854.
17. Cicin-Sain L., Messaoud I., Park B. et al. (2007). Dramatic increase in naive T cell turnover is linked to loss of naive T cells from old primates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 19960–19965. doi: 10.1073/pnas.0705905104.
18. Tsukamoto H., Clise-Dwyer K., Huston G.E. et al. (2009). Age-associated increase in lifespan of naive CD4 T cells contributes to T-cell homeostasis but facilitates development of functional defects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106 (43), 18333–18338. doi: 10.1073/pnas.0910139106.
19. Maslowski K.M., Vieira A.T., Ng A. et al. (2009). Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*, 461, 1282–1286.
20. Meijer K., de Vos P., Priebe M.G. (2010). Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: what relevance for health. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 13 (6), 715–721. doi: 10.1097/MCO.0b013e32833eebe5.
21. Hamer H.M., Jonkers D., Venema K. et al. (2008). Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 27, 104–119. doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03562.x
22. Faty A., Ferré P., Commans S. (2012). The acute phase protein serum amyloid A induces lipolysis and inflammation in human adipocytes through distinct pathways. *PLoS One*, 7 (4), e34031. doi: 10.1371/journal.pone.0034031.
23. Piccirillo C.A., Shevach E.M. (2004). Naturally-occurring CD4+CD25+ immunoregulatory T-cells:

23. Piccirillo C.A., Shevach E.M. Naturally-occurring CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T-cells: central players in the arena of peripheral tolerance // *Semin. Immunol.* 2004. Vol. 16 (2). P. 81–88.
24. Pronio A., Montesani C., Butteroni C. et al. Probiotic administration in patients with ileal pouch-anal anastomosis for ulcerative colitis is associated with expansion of mucosal regulatory cells // *Inflamm. Bowel. Dis.* 2008. Vol. 14. P. 662–668.
25. Елисеева Д.Д., Завалишин И.А., Караулов А.В., Быковская С.Н. Роль регуляторных Т-клеток в развитии аутоиммунных нарушений при рассеянном склерозе // *Вестн. РАМН.* 2012. Т. 3. С. 68–74.
26. Bettelli E., Dastrange M., Oukka M. Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF-kappa to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. Vol. 102. P. 5138–5143.
27. Шпагина Л.А., Герасименко О.Н., Горобей А.М. и др. Роль мультисинбиотика в комплексном лечении геронтологических пациентов // *Сиб. мед. вестн.* 2020. № 3. С. 50–54.
- central players in the arena of peripheral tolerance. *Semin. Immunol.*, 16 (2), 81–88.
24. Pronio A., Montesani C., Butteroni C. et al. (2008). Probiotic administration in patients with ileal pouch-anal anastomosis for ulcerative colitis is associated with expansion of mucosal regulatory cells. *Inflamm. Bowel. Dis.*, 14, 662–668.
25. Eliseeva D.D., Zavalishin I.A., Karaulov A.V., Bykovskaya S.N. (2012). The role of regulatory T-cells in the development of autoimmune process in multiple sclerosis. *Annals of the Russ. Academy of Medical Sciences*, 3, 68–74.
26. Bettelli E., Dastrange M., Oukka M. (2005). Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF-kappa to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 102, 5138–5143.
27. Shpagina L.A., Gerasimenko O.N., Gorobey A.M. et al. (2020). The role of multisymbiotics in the comprehensive treatment of older patients. *Siberian Medical Bulletin*, 3, 50–54.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Маркова Евгения Валерьевна — д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (Новосибирск).

Сорокин Олег Викторович — канд. мед. наук, генеральный директор ООО «ВедаГенетика» (Новосибирск).

Гольдина Ирина Александровна — научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (Новосибирск).

Савкин Иван Владимирович — научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (Новосибирск).

Княжева Мария Александровна — младший научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (Новосибирск).

Серенко Евгений Владимирович — аспирант лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (Новосибирск).

Бакулин Константин Александрович — канд. мед. наук, проректор по воспитательной работе ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Молокеев Алексей Владимирович — д-р биол. наук, директор по науке АО «Вектор-БиАльгам» (р.п. Кольцово, Новосибирская область).

Образец цитирования: Маркова Е.В., Сорокин О.В., Гольдина И.А., Савкин И.В., Княжева М.А., Серенко Е.В., Бакулин К.А., Молокеев А.В. Иммуномодулирующие свойства пробиотического препарата «ВедаБиотик» при старении // *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2021. № 1. С. 41–54.

ABOUT THE AUTHORS

Markova Evgeniya Valeryevna — Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Head, Laboratory of Neuroimmunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk).

Sorokin Oleg Viktorovich — Cand. Sci. (Med.), Director-General, VedaGenetika LLC (Novosibirsk).

Goldina Irina Aleksandrovna — Researcher, Laboratory of Neuroimmunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk).

Savkin Ivan Vladimirovich — Researcher, Laboratory of Neuroimmunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk).

Knyazheva Maria Aleksandrovna — Junior Researcher, Laboratory of Neuroimmunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk).

Serenko Evgeniy Vladimirovich — Post-graduate Student, Laboratory of Neuroimmunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk).

Bakulin Konstantin Aleksandrovich — Cand. Sci. (Med.), Vice-Rector for Pedagogical Work, Novosibirsk State Medical University.

Molokeev Aleksey Vladimirovich — Dr. Sci. (Bio.), Director for Science, Vector-BiAlgam JSC (Koltsovo settlement, Novosibirsk Region).

Citation example: Markova E.V., Sorokin O.V., Goldina I.A., Savkin I.V., Knyazheva M.A., Serenko E.V., Bakulin K.A., Molokeev A.V. (2021). Immunomodulating properties of the probiotic preparation, VedaBiotic in aging. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 41–54.