© Гарєєв О.Л., Кравець Т.В., Лобанова К.І., 2022

doi:10.37321/immunology.2022.1-2-04

УДК 57.083.322

ПРОТЕОЛІЗ У ПАТОГЕНЕЗІ АЛЕРГОЛОГІЧНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ

ГАРЄЄВ О.Л., КРАВЕЦЬ Т.В., ЛОБАНОВА К.І.

«Виробнича фірма Сіместа», м. Одеса, Україна

Вступ. Багато що в трактуванні патогенезу алергічних захворювань залишається незрозумілим. У певній мірі це має відношення до початкової стадії розвитку процесу алергологічного захворювання. Не склалося узагальнене, однаково оцінюване уявлення про те, що відбувається на межі зовнішнього та внутрішнього середовища макроорганізму, у локації дотику факторів впливу з бар’єрними структурами. Розмірковуючи про розвиток алергологічного захворювання, оцінці підлягає стан виключно білкових структур, які потенційно можуть виступати як алергени для конкретного суб’єкта.

Не дискутуючи та не спростовуючи достовірність гігієнічної теорії, уявлень про набуту толерантність, про корисні антигени-алергени, тригерну роль IgE, накопичена кількість інформації, розрізнена за окремими природними дисциплінами, дає підставу запропонувати інше бачення розвитку алергологічного процесу.

Алергія є різновидом такої універсальної типової захисної реакції, як запалення. Патофізіологічний процес алергологічного захворювання поділено на два етапи. Початковий, що розгортається в зовнішньому для макроорганізму середовищі проживання мікробіома на слизових і шкірі, характеризується набутою ензимопатією, що виключає повний протеоліз окремо взятих зовнішніх білкових структур за ущербності в частині системи «активація-інгібування» мікробних протеаз та/або травних ферментів. У дебюті алергічного захворювання створюються умови безпеки структурної частини епітопів нативних білків. Пептиди, що уникли повного розщеплення, з набором амінокислотних послідовностей цілісних епітопів, виступають у ролі флогогенів алергічного запалення.

Накопичений градієнт концентрації конкретного пептиду на апікальній поверхні слизової оболонки під впливом пасивної дифузії переміщується по парацелюлярним каналам у внутрішнє середовище. Явище пасивної дифузії притаманне всім агрегатним станам речовин (газ, рідина, тверде тіло, аморфне, плазма) та припускати, що закони, описані Фіком, не реалізуються в біологічних об’єктах, не доводиться. У кінетиці дифузного процесу є специфічні характеристики білкових молекул. Їхні амфотерні властивості впливають на швидкість і рівномірність подолання бар’єру слизових оболонок і шкіри. Ступінь дисоціації білкових молекул, що коливається під впливом pH середовища перебування, робить можливим зменшити або збільшити швидкість проникнення. Максимально дисоційовані молекули знаходяться в достатньому часовому інтервалі, при якому ступінь біохімічної реакції повного гідролізу з накопиченням амінокислот як продуктів цього процесу, є вичерпаною. Перехід в ізоелектричний стан призводить до безперешкодного подолання магнітного замку білків тісних контактів.

Опинившись у внутрішньому середовищі макроорганізму, ці структури запускають наступний імунологічний етап захворювання, що саме з цього моменту робить їх алергенами. Ствердження того, що у зовнішньому середовищі присутні сотні сполук з алергенними властивостями, слід вважати неспроможнім.

Повнота імунної реакції визначається достатністю та пов’язана з імуногенними характеристиками антигену-алергену. Без надлишку або нестачі, рівно тією мірою специфічності властивостей чужорідного фактора в кожному випадку задіяні саме ті інструменти з арсеналу імунної системи, які оптимальні для деструкції та елімінації конкретного алергену. Тим самим формується індивідуальна клінічна картина зі своєю симптоматикою та наочністю стану внутрішнього середовища хворого. Поряд із відібраними для персоналізованого захисту компонентами клітинного та гуморального, вродженого та набутого імунітету, включаючи систему комплементу, при алергічній реакції у філогенезі вищих ссавців з’являється додатковий інструмент – IgE. Функціональність дії тріади «тучна клітина – IgE – Fc RI клітинний рецептор» спрямована на формування катарального запалення на слизових, у якому серозний ексудат механічно перешкоджає проникненню пептидів зі збереженими епітопами у внутрішнє середовище макроорганізму. Слід визнати своєрідність такої форми захисної реакції.

Догмат сучасної алергології заснований на системній помилці, у якій закладена підміна причини наслідком. Уявлення причинного зв’язку виникнення алергічного захворювання з наведеною індукцією IgE межує з інфантильністю твердження про те, що вітер дме, тому що

гойдаються дерева. В обох твердженнях є логіка. Помах віяла створює потік повітря, що імітує те, що відбувається за вікном у негоду. Проте, оцінюючи природні явища системно, у структурі яких враховуються ставлення до атмосферного тиску, вагове співвідношення повітряних мас залежно від температури, особливості нагріву земної поверхні сонячним випромінюванням, обертанням Землі навколо своєї осі, дає змогу відмовитися від вирубки дерев із метою недопущення ураганів. Більше того, посадка дерев по периметру поля запобігає та захищає від вивітрювання родючого ґрунту. Практика переформатування імунної відповіді з використанням методик АСІТ порівняння з ідеєю знищення дерев.

Доводиться визнати, що, не дивлячись на хрестоматійність постулату про захисну складову двоєдиного патофізіологічного процесу запалення, існує стійка деформація уявлення, яка не розмежовує благодатну і пагубну складові, що вимагає, в залежності від стадії розвитку патологічного процесу, застосовувати терапевтичні засоби проти запалення, судинозвужувальні, аж до стероїдних гормональних препаратів. Пригнічувати запальну реакцію у гострій фазі інфекційного та алергічного захворювання з медичного погляду контрпродуктивно. При цьому мистецтво клініциста має зводитися до адекватної оцінки тяжкості процесу, що розвивається, його генералізації із залученням тканин і органів, в яких можуть відбутися зміни, що ведуть до тяжких наслідків. Виявити флогоген і визначити заходи, що виключають подальший вплив на макроорганізм, має бути в пріоритеті лікування. Бажання лікаря зосередитись на протистоянні ознакам запалення, не приділяючи уваги флогогену, призводить до хронізації захворювання з посиленням ускладнень, аж до загибелі хворого. Такими ознаками запальної реакції можуть бути пул IgE в гострій фазі алергічної реакції; зрушення у системі коагуляція-фібриноліз; при значній ексудації, що веде до дегідратації, зміни ренін-альдостерон-ангіотензин системи; проліферація та апоптоз клітин, залучених у запальний процес, що потребує пристосувань зміни балансу в системі неповного протеолізу; у разі формування алергічного захворювання – дисфункція у протеолітичному розщепленні білка-флогогену ферментами конкретних мікроорганізмів, що є частиною мікробіома хворого.

Захоплює практичність природи, що концентрує можливу нескінченність захисних реакцій щодо незліченних форм зовнішнього пресингу на організм в одній елегантній формулі – різноманітність флогогенних впливів призводить до універсальної типової відповіді. Визначивши та виявивши флогоген і припинивши, перервавши його вплив на організм, вирішується завдання терапії незліченної низки захворювань, у тому числі алергологічних. Приймаючи до розуміння цей натуралістичний феномен, гігієнічна теорія, уявлення про набуту толерантність, про корисні алергени, виявляють себе надуманими, приватною точкою зору автора, але не відповідають втіленню природи.

Стійкість у деформованому уявлені патогенезу алергічного захворювання унеможливлює зосередження на вивченні протеолітичних реакцій, що проходять в середовищі існування мікробіома. Обсяг робіт, який визначається складністю завдань такого роду, пов’язаний з надзвичайною таксономічною різноманітністю прокаріотів та вкрай поверховим уявленням про взаємовідносини компонентів бактеріальної мікроекологічної системи, що формується. Закони, що описують такі взаємини, існують, тільки сьогодні про них нічого не відомо.

Невірним буде стверджувати, що процеси протеолізу білків – компонентів макронутрієнтів, не викликають інтерес дослідників. Такі роботи проводяться, у тому числі і фахівцями харчової переробної промисловості [1-4], які, не будучи медиками, цілеспрямовано пов’язують виразність алергічної реакції з глибиною гідролізу харчових білків, що вивчаються. Слід зазначити, що висновки, зроблені авторами оглядових публікацій щодо ступеня розщеплення харчових білків ферментами людини, не відповідають висновкам авторів, які мають результати експериментальних постановок. Пепсин, трипсин, хімотрипсин та інші ферменти людини не розщеплюють харчові білки повною мірою, зберігаючи певну кількість пептидів з достатньою кількістю амінокислот у послідовності, що мають потенціал викликати сенсибілізацію [5].

З урахуванням того факту, що перелічені ферменти беруть участь у неповному протеолізі при таких процесах як активація зимогенів, тим самим вичерпуючи свій кількісний склад, слід визнати, що роль позаклітинних протеаз мікробіома сильно недооцінена [6].

Можна припустити, що філогенетично було досягнуто паритету в розділі функцій з їх перерозподілом між генетично детермінованим кількісним і специфічним розмаїттям протеолітичних ферментів макроорганізму і мікробіомом. І це логічно – варіабельність білкових структур зовнішнього оточення не може бути порівняною з незначною кількістю травних ферментів макроорганізму [7].

Привертає увагу черговість, каскадність в протеолізі білків макронутрієнтів. Пептиди, що утворилися з різною довжиною послідовностей і окремі амінокислоти можуть бути індукторами експресії позаклітинних пептидаз прокаріотів.

Враховуючи незліченну варіабельність білкових структур зовнішнього середовища та ви-

сокий ступінь специфічності протеаз, не складно припустити чисельну рівнозначність пептидаз та пептидних зв’язків, які мають бути розщеплені.

Зіставлення такого кількісного різноманіття з геномом окремо взятих клітин прокаріот змушує припустити таксономічну спеціалізацію продукування специфічних протеаз у тісній кооперації, синергізм представників мікробіома [8,9].

Почуття кворуму, [10,11] яке має виражатися не тільки у чинниках вірулентності і утворенні біоплівок, аутоіндуктори можуть бути ініціаторами експресії генів зовнішніх протеаз одного виду бактерій, які у зовнішньому середовищі можуть забезпечити синергетичний метаболізм бактерій різних видів. Таке припущення пояснює різноманітність мікробіома.

Змінюючи уявлення про патогенез алергічних захворювань, що визначається наявністю або відсутністю білкових структур-флогогенів у внутрішньому середовищі макроорганізму, логічною є необхідність виділити в окрему систему позаклітинний протеоліз прокаріотів. Функціональна різноманітність, яка виражається одним терміном «протеоліз», куди включені: активація зимогенів, попередників гормонів з їхньою подальшою участю в метаболічних та ефекторних фізіологічних процесах макроорганізму [12]; просессінг біологічно активних пептидів, що забезпечує нейромодуляторні функції; внутрішньоклітинний убивітин-залежний протеоліз [13], залучений до регулювання експресії генів на транскрипційному та посттранскрипційному рівнях [14]; участь протеаз у проліферації та апоптозі клітин [15], що не вичерпує природу явища, не повинно уможливлювати позаклітинний протеоліз прокаріотів загубитися. Такий підхід дозволить узагальнити самодостатність у балансі активаторів та інгібіторів усередині такої системи. Потрібно з’ясувати необхідність рівнозначності числа протеаз та інгібіторів для прямої дезактивації за відомими механізмами, а саме – незворотні «уловлювальні» реакції та зворотні реакції щільного зв’язування [16].

Можливо, хімічні елементи (азот, вуглець, сірка) у структурі ліганда можуть своєю концентрацією у зовнішньому для мікроорганізма середовищі модулювати експресію генів протеаз або зупиняти її [17].

Треба визнати, що баланс активаторів та інгібіторів зовнішнього протеолізу прокаріотів має бути всередині, в рамках цієї системи [18]. Кількісна варіабельність зовнішніх протеаз, пов’язана з таксономічним розмаїттям мікробіома, повинна компенсуватися такою самою різноманітністю виключно внутрішньосистемними механізмами інактивації ферментів.

Явище фолдингу білків притаманне процесу синтезу. Можна припустити, що фолдинг протікає при зворотній дії – частковому гідролізі з формуванням лінійних пептидів. Дуалізм природних явищ виявляє себе прагненням до балансу ентальпійних та ентропійних станів системи, виражений як ізобарно-ізотермічний потенціал або вільна енергія Гіббса. Взаємодія цих двох протилежностей змушують пептид набувати глобулярної форми як максимально енергетично компенсованої. Більш того, новостворена конформація вимушено матиме антигенні властивості, відмінні від початкової нативної молекули. Немає необхідності говорити про те, що інформація про характеристики новостворених глобулярних структур, імунну відповідь з індукцією специфічних антитіл до епітопів цих структур, у сучасної алергології відсутня.

Отже, викладено причинні фактори, які уможливлюють пов’язання виникнення алергічної реакції у хворого зі ступенем гідролізу білкових структур зовнішнього середовища. При повноцінному функціонуванні протеолітичного апарату макроорганізму та мікробіома, що розщеплює білки на амінокислоти та/або олігопептиди, алергія не виникає. Набута або вроджена ферментопатія за конкретними протеазами призводить до формування імунної (алергічної) реакції на комплекс епітопів конкретної білкової структури, що проникнув у внутрішнє середовище.

І в кінці, виходячи з логіки викладеного вище, дається можливість зробити радикальний висновок. Слід визнати, що алергічного захворювання, як окремої назоформи, немає. Алергія — одне із видів запалення, отже, є синдромом, а не захворюванням. Такий синдром супроводжує органне або функціональне захворювання, в патогенезі якого присутня ензимопатія, при цьому імунна відповідь на білкову структуру, що виступає як флогоген з чужорідними для макроорганізмів властивостями, залишається штатною і формується у рамках такої універсальної, типової реакції, як запалення.

Мета проведеної роботи полягала у визначенні різноманітності та ступінь гідролізу білків макронутрієнтів за участю протеолітичних ферментів пробіотичних штамів-компонентів мікробіома людини. У дослідження було взято максимально доступну нам лінійку мікроорганізмів та екстракти харчових продуктів, які зазвичай розглядаються як потенційні алергени. Результативна спроба виявити гідроліз харчових білків-флогогенів алергічного запалення з участю нормофлори людини визначає переконаність в альтернативному представленні патогенезу алергічних захворювань.

Матеріали та методи дослідження. Екстракт алергенів коров’ячого молока отримували

шляхом прогрівання незбираного молока при 60˚ С, 10 хв і центрифугування при 4000 об/хв, 30 хв при 2˚ С [19]. Екстракт алергенів білка та жовтка яйця отримували, використовуючи екстрагуючий буферний розчин (1% Tween 20, 0.4% Triton X-100, 280 mM NaCl, 40 mM NaH2PO4, pH 7.4) [20]. Для отримання екстракту алергенів арахісу використовували буферний розчин, що екстрагує 8.85 mM NaCl, 7.75 KCl, 11.45 mM NaHCO3, 4.18 mM NaH2PO4, 2.83 mM Na2CO3, pH = 7.8. [21,22] та попереднє знежирення подрібненого сирого арахісу. Для виділення алергенів пшениці використовували TRIS-HCl буфер (10 mM, pH 8.6), 0,5 M NaCl, потім осадження 70% етанолом.

Білковий профіль екстрактів білків аналізували за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі з 15% додецилсульфатом натрію (SDS-PAGE), як описано [23]. Фарбували гель розчином срібла згідно з ДФУ (Фармакопея України).

Бактерії (відповідно до списку в таблиці №1) були отримані з Всеросійської колекції промислових мікроорганізмів (ВКПМ).

Для вирощування культур бактерій роду *Lactobacillus* використовували поживний бульйон MRS.

Для культивування штамів бактерій роду *Bifidobacterium* використовували середовище для біфідо-бактерій.

Для вирощування культур бактерій роду *Enterococcus* та *Lactococcus* використовували живильне середовище М-17.

Бактерії роду *Propionibacterium* культивували на живильному середовищі для пропіонових бактерій.

Гриби роду *Saccharomyces* культивували на живильному дріжджовому середовищі.

Більшість мікроорганізмів культивували при температурі +37˚ С. Ряд мікроорганізмів вимагав іншого температурного режиму: *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* – +40˚С, *Lactococcus lactis* та *Lactobacillus plantarum, Lactococcus lactis subsp. cremoris, Propionibacterium freudenreichii subsp. Shermanii, Saccharamyces cerevisiae* – +30˚ С.

Для дослідження протеолітичної активності мікроорганізмів живильне середовище, визначене для кожної групи мікроорганізмів, модифікували, вносячи до її складу екстракт білка (пшениці, молока, сої та ін.). До такого модифікованого живильного середовища додавали різні культури мікроорганізмів (10%) і культивували протягом 24 годин.

Після закінчення доби пробірки з бактеріями центрифугували при 3000 Об/хв, 30 хвилин, відбирали надосадову рідину для дослідження протеолізу екстракту білків внесеного білка. Склад білків екстрактів вивчали за допомогою електрофоретичного поділу в поліакриламідному гелі до культивування з бактеріями та після 24 годин культивування.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В ході експерименту фіксувалися вибіркові значення pH поживних середовищ до та після культивування взятих у дослідження мікроорганізмів з екстрактними білками сої та водорозчинними білками пшениці. Дані наведені в таблиці № 1.

Таблиця 1

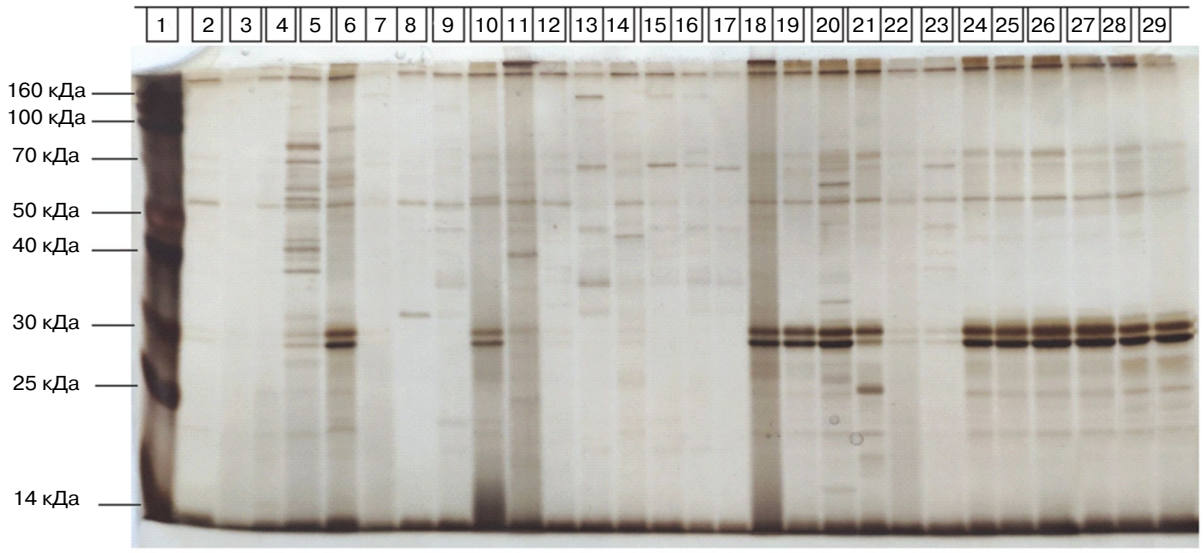
Коливання значення pH поживного середовища при культивуванні мікроорганізмів у присутності алергенів

№	Мікроорганізм	Поживне середовище	Показник pH поживного середовища				
			до культивування бактерій			після культивування бактерій	
			без добавок	додавання білків сої	додавання білків пшениці	додавання білків сої	додавання білків пшениці
1	ВКПМ БС-53.09 *Bacillus subtilis*	Поживний бульйон	7,0	7,12	7,12	5,94	5,85
2	ВКПМ БС-54.10 *Bifidobacterium adolescentis*	Середовище для біфідобактерій	6,9	6,9	6,9	4,42	4,45
3	ВКПМ БС-55.11 *Bifidobacterium animalis*					4,5	4,4
4	ВКПМ БС-56.12 *Bifidobacterium bifidum*					4,52	4,53
5	ВКПМ БС-58.14 *Bifidobacterium longum*					4,4	4,36
6	ВКПМ БС-59.15 *Bifidobacterium longum infantis*					4,58	4,54
7	ВКПМ БС-75.35 *Streptococcus salivarius*					4,25	5,25

Продовження таблиці 1

№	Мікроорганізм	Поживне середовище	Показник pH поживного середовища				
			до культивування бактерій			після культивування бактерій	
			без добавок	додавання білків сої	додавання білків пшениці	додавання білків сої	додавання білків пшениці
8	ВКПМ БС-60.16 *Enterococcus faecium*	Середовище М17	7,1	7,0	7,0	5,52	5,38
9	ВКПМ БС-76.36 *Streptococcus thermophilus*					5,34	5,34
10	ВКПМ БС-61.18 *Lactobacillus acidophilus*	MRS бульйон	6,4	6,5	6,5	4,36	4,35
11	ВКПМ БС-62.19 *Lactobacillus amylovorus*					6,1	6,27
12	ВКПМ БС-63.21 *Lactobacillus casei*					4,34	4,4
13	ВКПМ БС-64.22 *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*					6,03	5,88
14	ВКПМ БС-65.23 *Lactobacillus fermentum*					4,36	4,37
15	ВКПМ БС-67.24 *Lactobacillus helveticus*					4,33	4,36
16	ВКПМ БС-68.32 *Lactococcus lactis subsp. Lactis*					4,77	4,75
17	ВКПМ БС-69.26 *Lactobacillus plantarum*					4,34	4,35
18	ВКПМ БС-70.28 *Lactobacillus rhamnosus*					4,37	4,34
19	ВКПМ БС-71.29 *Lactobacillus sakei*					5,32	5,31
20	ВКПМ БС-72.31 *Lactococcus lactis subsp. cremoris*					6,92	6,8
21	ВКПМ БС-73.33 *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii*	Середовище для пропіонових бактерій	6,5-7	6,8	6,8	6,07	5,43
22	ВКПМ БС-75.35 *Saccharamyces cerevisiae*	Дріжджове середовище	6,91	6,9	6,9	5,57	6,16

Порівняльна оцінка значень pH під час експерименту показала, що додавання до поживного середовища білків сої та пшениці до етапу культивування мікроорганізмів на показник pH не впливають. Культивування штамів мікроорганізмів змінює величину pH по-різному з прив’язкою до видових характеристик бактерій, грибів. Значення pH, властиве кожному штаму після культивування, залишається незмінним незалежно від присутніх у поживному середовищі білків сої або білків пшениці. Величина pH, що змінилася, після культивування має бути розцінена як індикатор метаболізму окремо взятого штаму бактерій. [24,25]. Слід зазначити, що жоден зі штамів не виявив пристосовницьких метаболічних реакцій у відповідь на присутність білків сої та білків пшениці протягом 24 годин культивування. При цьому, ансамбль протеаз, характерний для кожного зі штамів, оптимізований мікроорганізмом під рецептуру прийнятного для нього поживного середовища, взаємодіяв з білками сої і білками пшениці з великою відмінністю від штаму до штаму (рис. 5, рис. 6). Отриманий результат напевно повинен бути врахованим за оцінки специфічності зовнішніх протеаз кишкової флори з числа долучених до експерименту.



1. Маркер молекулярного веса
2. Bacillus subtilis
3. Bifidobacterium adolescentis
4. Bifidobacterium animalis
5. Bifidobacterium bifidum
6. Bifidobacterium longum
7. Bifidobacterium longum infantis
8. Enterococcus faecium
9. Lactobacillus acidophilus
10. Lactobacillus amylovorus
11. Lactobacillus casei
12. Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus
13. Lactobacillus fermentum
14. Lactobacillus helveticus
15. Lactococcus lactis subsp. Lactis
16. Lactobacillus plantarum
17. Lactobacillus rhanmosus
18. Lactobacillus sakei
19. Lactococcus lactis subsp. cremoris
20. Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii
21. Saccharamyces cerevisiae
22. Streptococcus salivarius
23. Streptococcus thermophilus
24. Дріжджове середовище
25. Середовище для пропіонових бактерій
26. Середовище М17
27. MRS бульйон
28. Поживний бульйон
29. Середовище для біфідобактерій

α-Lactalbumin 14,2 kDa (**Bos d 4**), β-Lactoglobulin 18,3 kDa (**Bos d 5**), Serum albumin 67 kDa (**Bos d 6**), Immunoglobulin 160 kDa (**Bos d 7**), Caseins 20-30 kDa (**Bos d 9**–**Bos d 12**)

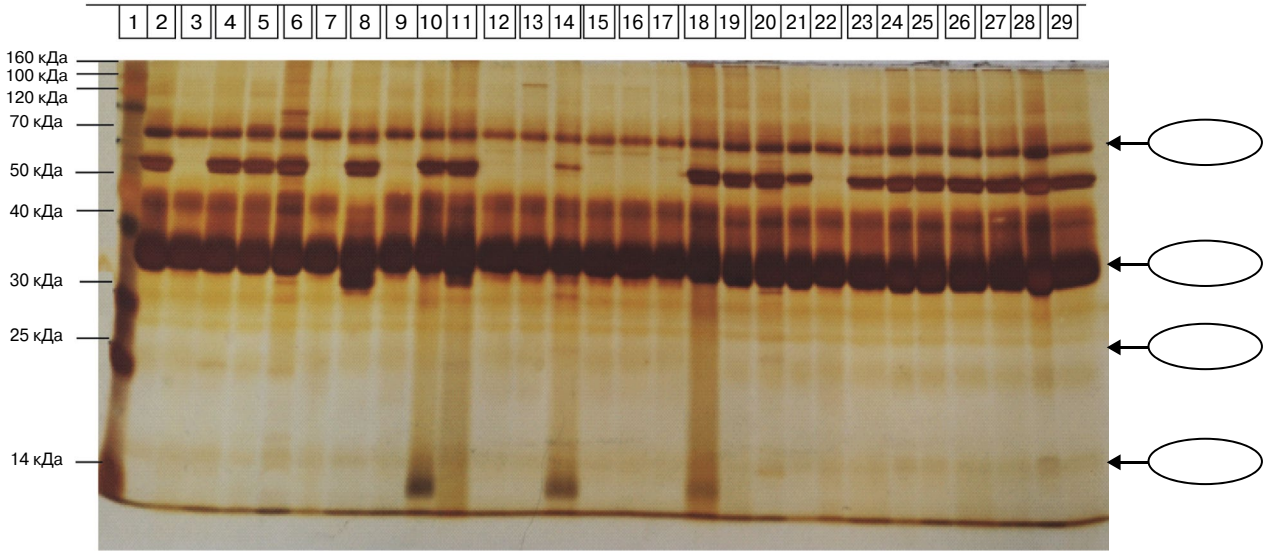
Рис. №1. Електрофореграма продуктів гідролізу білків коров’ячого молока отримані при культивуванні з мікроорганізмами

Для рис. 1 можна спостерігати цікавий факт того, як виявляють свої властивості протеази різних мікроорганізмів, де повністю гідролізуються всі фракції казеїну, при тому, що це найстійкіший до руйнування білок коров’ячого молока. Оскільки йдеться про мікроорганізми, що становлять пробіотичну групу, доречною буде пропозиція використовувати у якості біологічно активної добавки у комплексі терапії хворих на алергію на казеїн пропис таких штамів як: ВКПМ БС-53.09 *Bacillus subtilis*, ВКПМ БС-54.10 *Bifidobacterium adolescentis*, ВКПМ БС-55.11 *Bifidobacterium animalis*, ВКПМ БС-59.15 *Bifidobacterium longum infantis*, ВКПМ БС-60.16 *Enterococcus faecium*, ВКПМ БС-61.18 *Lactobacillus acidophilus*, ВКПМ БС-64.22 *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, ВКПМ БС-65.23 *Lactobacillus fermentum*, ВКПМ БС-67.24 *Lactobacillus helveticus*, ВКПМ БС-68.32 *Lactococcus lactis subsp. Lactis*, ВКПМ БС-69.26 *Lactobacillus plantarum*, ВКПМ БС-70.28 *Lactobacillus rhamnosus*.

Потрібно нагадати, що при такому діагнозі сучасна алергологія рекомендує виключити з харчового раціону молочні продукти, при тому, що виконати призначення такого роду вкрай важко та більше того, це збіднює харчову палітру пацієнта.

На рис. 2 чітко можна простежити гідроліз білків із молекулярною масою 60 kDa, електрофорегама яких представлена у треках 3,12,13,15-17,22. При цьому основний склад

білків курячого яйця не підлягали гідролізу за участю ферментів мікробів, взятих у дослідження. Потрібно зазначити, що постановка експерименту виконувалася не достатньо коректно. З точки зору фізіології вірним є той факт, що мікробіом є лише одним з учасників процесу травлення [26]. Надалі має сенс максимально близько імітувати процеси, що проходять in vivo щодо локалізації, послідовності у впливі ферментів макроорганізму з залученням ферментів мікробіома. На наступному етапі експерименту доцільним є залучення у дослідження продуктів гідролізу білків, починаючи з ферментації пепсином і далі просування харчової грудки до товстого кишечника.



1. Маркер молекулярної ваги
2. Bacillus subtilis
3. Bifidobacterium adolescentis
4. Bifidobacterium animalis
5. Bifidobacterium bifidum
6. Bifidobacterium longum
7. Bifidobacterium longum infantis
8. Enterococcus faecium
9. Lactobacillus acidophilus
10. Lactobacillus amylovorus
11. Lactobacillus casei
12. Lactobacillus drlbrueckii subsp. bulgaricus
13. Lactobacillus fermrntum
14. Lactobacillus helveticus
15. Lactococcus lactis subdp. Lactis
16. Lactobacillus plantarum
17. Lactobacillus rhamnosus
18. Lactobacillus sakei
19. Lactococcus lactis subsp. cremoris
20. Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii
21. Saccharamyces cerevisiae
22. Streptococcus salivarius
23. Streptococcus thermophilus
24. Дріжджове середовище
25. Середовище для пропіонових бактерій
26. Середовище М17
27. MRS бульйон
28. Поживний бульйон
29. Середовище для біфідобактерій

Ovomucoid 28 kDa (**Gal d 1**), Ovalbumin 44 kDa (**Gal d 2**), Ovotransferrin 77 kDa (**Gal d 3**), Lysozyme 14kDa (**Gal d 4**)

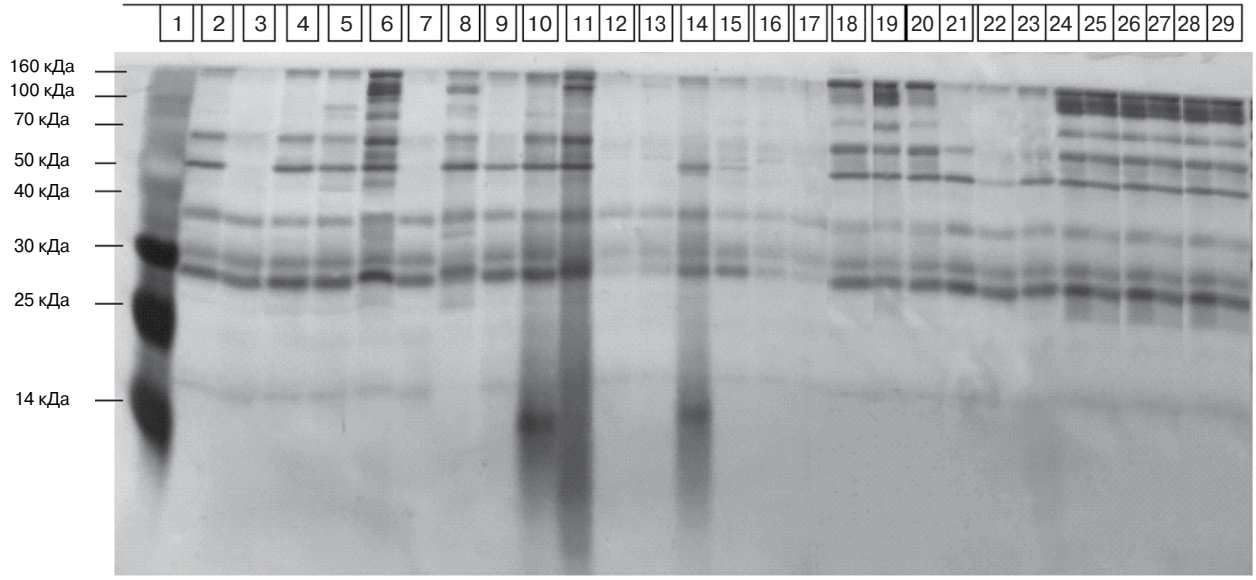
Рис. №2. Електрофореграма продуктів гідролізу білків курячого яйця, отримані при культивуванні з мікроорганізмами

Звертає на себе увагу той факт, що зовнішні протеази мікроорганізмів одного роду досить різним ступенем беруть участь у гідролізі конкретного білка. Цікавою є оцінка фореграм, представлених на рис. 1, 3, 5, 6, треки з 3-го по 7-ий (*Bifidobacterium spp.*, білки коров’ячого молока, жовток курячого яйця, спирторозчинні білки пшениці, білки сої).

З іншого боку, неможливо залишити поза увагою те, що той самий білок піддається гідролізу за участю ферментів мікроорганізмів з різних таксономічних груп. Наприклад, рис. 1, трек 2 (ВКПМ БС-53.09 *Bacillus subtilis*), трек 3 (ВКПМ БС-54.10 *Bifidobacterium adolescentis*), трек 16 (ВКПМ БС-69.26 *Lactobacillus plantarum*), трек 22 (ВКПМ БС-75.35 *Streptococcus salivarius*).

При цьому вище було зазначено, що в реакціях гідролізу всіх взятих у дослідження білків беруть участь «штатні» ферменти мікроорганізмів, що використовуються в розщепленні субстратів поживних середовищ, оптимальних для їх культивування.

Чи оцінювати такий результат як прояв коменсалізму чи іншої форми трофічного симбіозу як фактор стійкості мікроекосистеми, напевно, дискусійно.



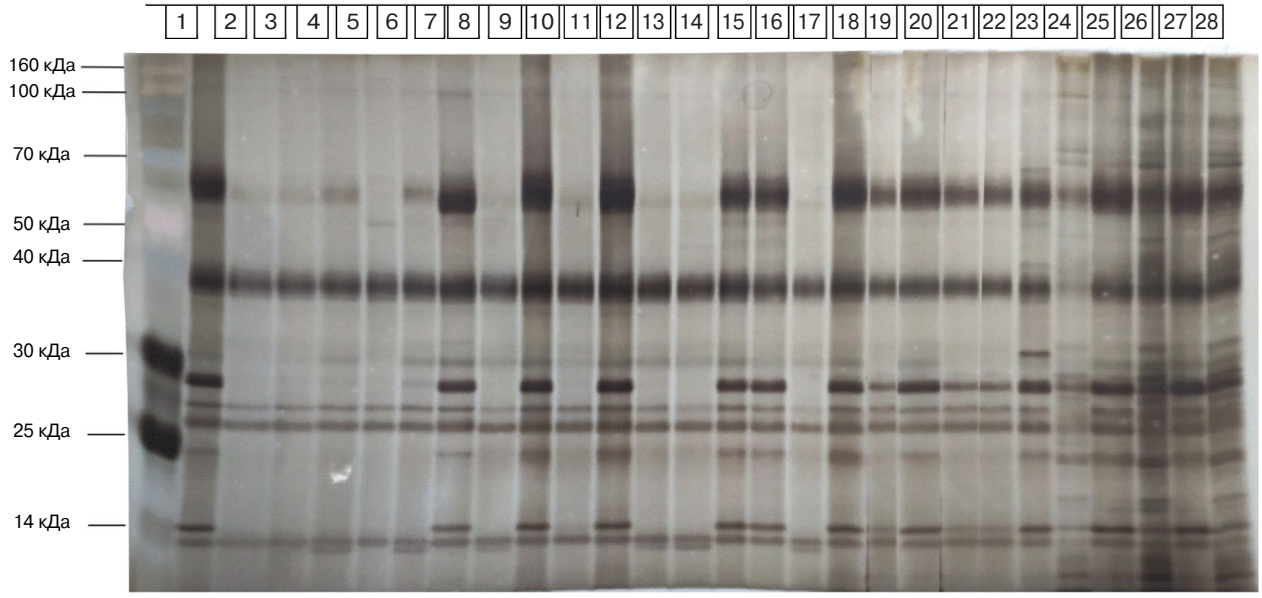
1. Маркер молекулярної ваги
2. Bacillus subtilis
3. Bifidobacterium adolescentis
4. Bifidobacterium animalis
5. Bifidobacterium bifidum
6. Bifidobacterium longum
7. Bifidobacterium longum infantis
8. Enterococcus faecium
9. Lactobacillus acidophilus
10. Lactobacillus amylovorus
11. Lactobacillus casei
12. Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus
13. Lactobacillus fennentum
14. Lactobacillus helveticus
15. Lactococcus lactis subsp. Lactis
16. Lactobacillus plantarum
17. Lactobacillus rhamnosus
18. Lactobacillus sakei
19. Lactoooocus lactis subip. cremoris
20. Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii
21. Saccharamyces cerevisiae
22. Streptococcus salivarius
23. Streptococcus thermophilus
24. Дріжджове середовище
25. Середовище для пропіонових бактерій
26. Середовище М17
27. MRS бульйон
28. Поживний бульйон
29. Середовище для біфідобактерій

Serum albumin 69 kDa (**Gal d 5**), Fragment of vitellogenin-1 precursor (YGP42) 35kDa (**Gal d 6**)

Рис. №3. Електрофореграма продуктів гідролізу жовтка курячого яйця, отримані при культивуванні з мікроорганізмами

Слід оцінити різноманітність результатів гідролізу різних білків ферментами одного мікроорганізму, зокрема ВКПМ БС-56.12 *Bifidobacterium bifidum*. На рис. 1, 7 можна спостерігати безліч новостворених пептидів. На рис. 2, 3 білки курячого яйця зберегли структуру без видимих змін. Якщо на рис. 4 водорозчинні білки пшениці частково зазнали гідролізу, то на рис. 5 спирторозчинні білки повністю розщеплені.

Яка химерність гри протеаз одного окремого мікроорганізму! Від первинної незайманої структури до повної руйнації, а поміж ними – розподіл на фрагменти з утворенням нових структур пептидів.

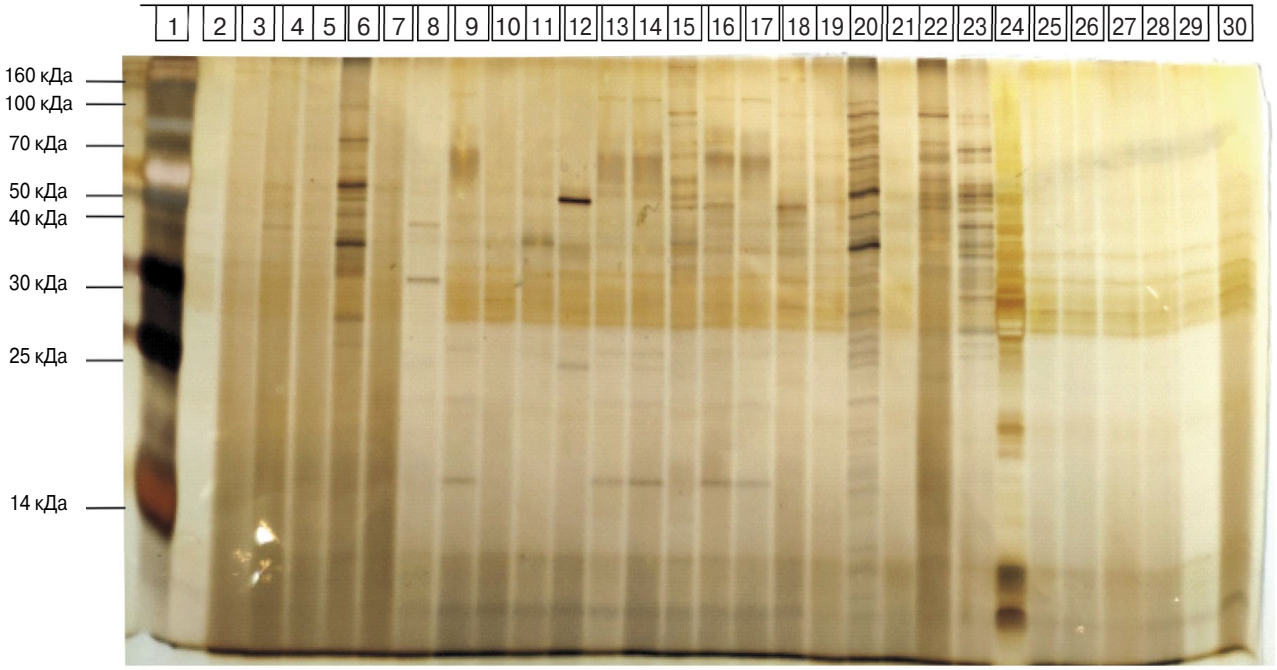


1. Маркер молекулярного веса
2. Bacillus subtilis
3. Bifidobacterium adolescentis
4. Bifidobacterium animalis
5. Bifidobacterium bifidum
6. Bifidobacterium longum
7. Bifidobacterium longum infantis
8. Enterococcus faecium
9. Lactobacillus acidophilus
10. Lactobacillus amylovorus
11. Lactobacillus casei
12. Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus
13. Lactobacillus fermentum
14. Lactobacillus helveticus
15. Lactococcus lactis
16. Lactobacillus plantarum
17. Lactobacillus rhanmosus
18. Lactobacillus sakei
19. Lactococcus lactis subsp. cremoris
20. Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii
21. Saccharamyces cerevisiae
22. Streptococcus salivarius
23. Streptococcus thermophilus
24. Дріжджове середовище
25. MRS бульйон
26. Середовище М17
27. Поживний бульйон
28. Середовище для біфідобактерій

Профілін 14 kDa (**Tri a 12**), неспецифічний білок-переносник ліпідів 19 kDa (**Tri 14**), інгібітори α-амілази: мономірний 12 kDa (**Tri a 15**), димерний 13 kDa (**Tri a 28**), тертамерний 13-17 kDa (**Tri a 29 Tri a 30**), аглютинін 17 kDa (**Tri a 18**), тіоредоксин 13 kDa (**Tri a 25**), гомолог тіолредуктази 27 kDa (**Tri a 27**), тріозофосфатизомераза 26 kDa (**Tri 26**), 1-Cys-пероксиредоксин 24 kDa (**Tri 24**), серпін 40 kDa (**Tri 33**), гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогеназа 40-42 kDa (**Tri 34**), дегідрін 12 kDa (**Tri 35**), α-пуротіонін 12 kDa (**Tri 37**), білок, подібний інгібітору серинової протеази 9 kDa (**Tri 39**), глутатіонтрансфераза 25 kDa, тауматін-подібний білок 18 kDa, пероксидаза 36 kDa.

Рис. №4. Електрофореграма продуктів гідролізу водорозчинних білків пшениці (альбуміни, глобуліни), отримані при культивуванні з мікроорганізмами

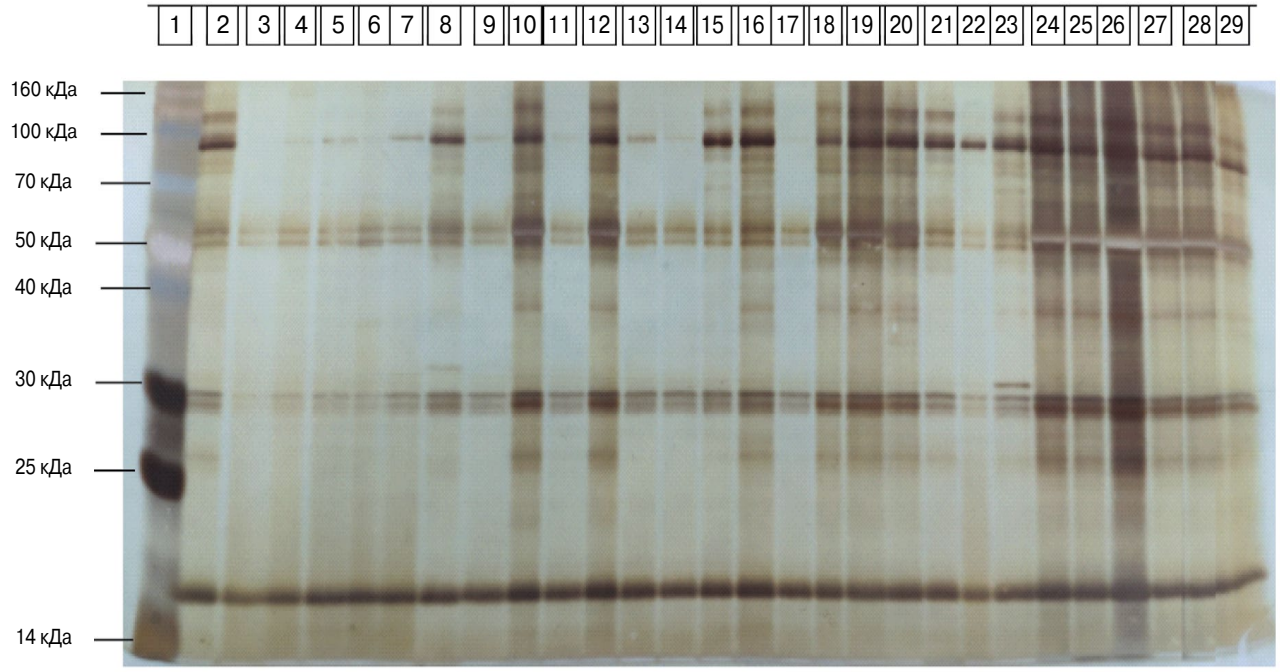
Оцінюючи результати впливу позаклітинних протеаз мікробів на білки пшениці, на рис. 4 слід звернути увагу на трек 2 (ВКПМ БС-53.09 *Bacillus subtilis*), на якому фракція глютену від 28 до 65 kDa суттєво розщеплена. На перелічених треках – трек 6 (ВКПМ БС-58.14 *Bifidobacterium longum*), трек 20 (ВКПМ БС-73.33 *Propionibacterium freudenreichii subsp. Shermanii*), трек 22 (ВКПМ БС-75.35 *Streptococcus salivarius*), трек 23 (ВКПМ БС-76.36 *Streptococcus thermophilus*) відзначається інтенсивне утворення пептидів у сегменті гліадинів, які не притаманні нативним білкам пшениці. Вочевидь, що конформаційна структура цих білків впливає на результат гідролізу. Існуючі численні пропозиції щодо промислового гідролізу глютену [27] можна доповнити або замінити на корекцію ферментопатії у хворого з алергією на глютен, використовуючи пробіотичні засоби, у складі таких штамів, що представлено на фореграмі трек 2, трек 8.



1. Маркер молекулярного веса
2. Bacillus subtilis
3. Bifidobacterium adolescentis
4. Bifidobacterium animalis
5. Bifidobacterium bifidum
6. Bifidobacterium longum
7. Bifidobacterium longum infantis
8. Enterococcus faecium
9. Lactobacillus acidophilus
10. Lactobacillus amylovorus
11. Lactobacillus casei
12. Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus
13. Lactobacillus fermentum
14. Lactobacillus helveticus
15. Lactococcus lactis
16. Lactobacillus plantarum
17. Lactobacillus rhanmosus
18. Lactobacillus sakei
19. Lactococcus lactis subsp. cremoris
20. Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii
21. Saccharamyces cerevisiae
22. Streptococcus salivarius
23. Streptococcus thermophilus
24. Екстракт пшениці
25. Дріжджове середовище
26. Пропіонове середовище
27. Середовище М17
28. MRS бульйон
29. Поживний бульйон
30. Середовище для біфідобактерій

α/β-гліадин 28-35 kDa (**Tri 21**), γ-гліадин 28-35 (**Tri 20**), ω1,2-гліадин 40 kDa, ω5-гліадин 65 kDa (**Tri 19**), високомолекулярні субодиниці глютеніна 88 kDa (**Tri 26**), низькомолекулярні субодиниці глютеніна 32-40 kDa (**Tri 36**)

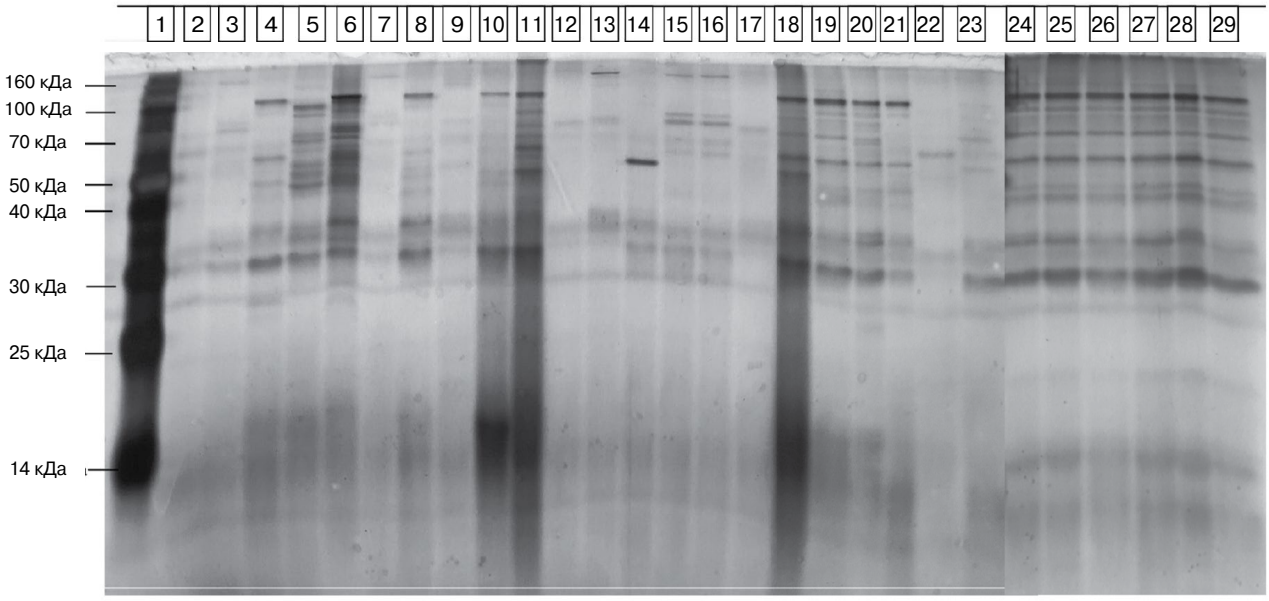
Рис. №5. Електрофореграма продуктів гідролізу спирторозчинних білків пшениці (глютенини), отримані при культивуванні з мікроорганізмами



1. Маркер молекулярного веса
2. Bacillus subtilis
3. Bifidobacterium adolescentis
4. Bifidobacterium animalis
5. Bifidobacterium bifidum
6. Bifidobacterium longum
7. Bifidobacterium longum infantis
8. Enterococcus faecium
9. Lactobacillus acidophilus
10. Lactobacillus amylovorus
11. Lactobacillus casei
12. Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus
13. Lactobacillus fermentum
14. Lactobacillus helveticus
15. Lactococcus lactis
16. Lactobacillus plantarum
17. Lactobacillus rhanmosus
18. Lactobacillus sakei
19. Lactococcus lactis subsp. cremoris
20. Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii
21. Saccharamyces cerevisiae
22. Streptococcus salivarius
23. Streptococcus thermophilus
24. Дріжджове середовище
25. Середовище для пропіонових бактерій
26. Середовище М17
27. MRS бульйон
28. Поживний бульйон
29. Середовище для біфідобактерій

Gly m 3 or **Gly m 8** (14 kDa), **Gly m 4** (16-18 kDa), STI (20-22 kDa), **Gly m Bd** 28 K (26-28 kDa), **Gly m Bd** 30 K (31-34 kDa), **Gly m 5**-β- subunit of β-conglycinin (50 kDa), subunit of G5 **Gly m 6** (55 kDa), **Gly m 5**-α-subunit of β-conglycinin/**Gly m Bd** 60K (65 kDa), and **Gly m 5**-α-subunit of β-conglycinin [28].

Рис. №6. Електрофореграма продуктів гідролізу білків сої, отримані при культивуванні з мікроорганізмами



1. Маркер молекулярного веса
2. Bacillus subtilis
3. Bifidobacterium adolescentis
4. Bifidobacterium animalis
5. Bifidobacterium bifidum
6. Bifidobacterium longum
7. Bifidobacterium longum infantis
8. Enterococcus faecium
9. Lactobacillus acidophilus
10. Lactobacillus amylovorus
11. Lactobacillus casei
12. Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus
13. Lactobacillus fermentum
14. Lactobacillus helveticus
15. Lactococcus lactis subsp. Lactis
16. Lactobacillus plantarum
17. Lactobacillus rhanmosus
18. Lactobacillus sakei
19. Lactococcus lactis subsp. cremoris
20. Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii
21. Saccharamyces cerevisiae
22. Streptococcus salivarius
23. Streptococcus thermophilus
24. Дріжджове середовище
25. Середовище для пропіонових бактерій
26. Середовище М17
27. MRS бульйон
28. Поживний бульйон
29. Середовище для біфідобактерій

Купін (тип біциліну, 7S глобулін) 64 kDa (**Ara h 1**), Конглютин (альбумін 2S) 17,5 kDa (**Ara h 2**), 15 kGa (**Ara h 6**), 16-17 kDa (**Ara h 7**), Купін (легумінового типу, 11S глобулін, гліцинін) 60 kDa (**Ara h 3**), Профілін 14 kDa (**Ara h 5**), білок, пов’язаний із патогенезом (PR-10) 17 kDa (**Ara h 8**), неспецифічний білок-переносник ліпідів типу 1 9,1 kDa (**Ara h 9**), Олеозін 18 kDa (**Ara h 10**), Дефенсін 5,2 kDa (**Ara h 12**), 8,4 kDa (**Ara h 13**).

Рис. №7. Електрофореграма продуктів гідролізу білків арахісу, отримані при культивуванні з мікроорганізмами

Слід зазначити, що в експерименті не бралися до уваги сортові відмінності білків рослинного походження (рис. 4-7 пшениця, соя, арахіс), яке, безсумнівно, необхідно враховувати у можливих подальших постановках.

Результати проведених досліджень слід розцінювати як перший етап, що мають поверхневий, без деталізації, характер. Усвідомлено не акцентувалася увага на методиках оцінки як продуктів гідролізу, так і ферментів, що беруть участь у дослідженні. Тим не менш, багато в чому наївні постанови уможливлюють планування низки наступних експериментів.

Висновки

Висловлена думка про роль повного позаклітинного протеолізу мікробіоти хворого в патогенезі його алергічного захворювання, що підтверджується різноманітністю та глибиною розщеплення білків із числа макронутрієнтів. Процес такого роду безумовно потребує додаткового вивчення. Накопичена інформація про протеолітичні ферменти, їх активність впливу та механізми інгібування вимагає систематизації окремо виділеного напрямку, що поширюється в тому числі і на алергологічний розділ імунології.

Якщо ферментопатія, що є причиною алергічного захворювання, видає у результаті збереження амінокислотних послідовностей з алергенними властивостями, стає актуальним і необхідним використовувати серологічні тести з синтезованими пептидами, що імітують амінокислотні послідовності епітопів, у якості субстрату. Якщо такі методики досить тривалий час практикуються в дослідженнях [29], то для клінічної медицини – це перспектива майбутнього. Не слід забувати про необхідність продовження роботи з картування епітопних послідовностей білкових структур [30] – потенційних флогогенів алергічного запалення. Крім того, клінічна лабораторна практика при діагностиці алергічних захворювань має бути розширена персоналізованими мікробіологічними дослідженнями. Продовжуючи використовувати культуральні методи, з’являється необхідність доповнення досліджень хроматографічними методами – мас-спектрометрією та геномними 16S рРНК мікроорганізмів флори хворого [31].

На наш погляд, залучання лікувальних заходів з використанням пробіотичних штамів з підтвердженим у лабораторному дослідженні гідролізом білків, що викликають сенсибілізацію у конкретного алергологічного хворого, є доцільним та безпечним.

ЛІТЕРАТУРА:

1. *Антипова Т.А., Фелік С.В., Кузнєцов В.В. та ін.* Нове покоління гіпоалергенних продуктів дитячого харчування // Молочна промисловість.2013. № 12. С. 56–57.;
2. *Головач Т.Н., Курченко В.П.* Алергенність білків молока та шляхи її зниження // Праці Білорусь. госуд. ун-ту. Сер: Фізіологічні, біохімічні та молекулярні основи функціонування біосистем.2010. Т. 5. Ч. 1. С. 9–51.;
3. *Кручинін А.Г.* Розробка технології спільної коагуляції молочних та рослинних білків у виробництві сирного продукту зі зниженою алергенністю: Москва, 2014. .;
4. *Богданова Е.В.* Розробка фізико-хімічних та біотехнологічних способів модифікації білково-вуглеводного комплексу молочної сироватки для реалізації у виробництві продуктів харчування. «Воронезький державний університет інженерних технологій» https://www.ncfu.ru/export/uploads/dokumenty-dissertacii/disser_bogdanova.pdf
5. *Головач Т.Н., Курченко В.П.* Гідроліз білків молока ферментними препаратами та системами молочнокислих бактерій «Інститут м’ясо-молочної промисловості», Білоруський державний університет, Мінськ, Республіка Білорусь http://www.bio.bsu.by/proceedings/articles/2012-7-1-106-126.pdf
6. *Nitzan Koppel, Vayu Maini Rekdal, Emily P. Balskus.* Chemical transformation of xenobiotics by the human gut microbiota Department of Chemistry and Chemical Biology, Harvard University, 12 Oxford Street, Cambridge, MA 02138, USA. Broad Institute, Cambridge, MA 02139, USA https://www.science.org/doi/10.1126/science.aag2770
7. *Trang T.H. Nguyen, David D. Myrold, Ryan S. Mueller.* Distributions of Extracellular Peptidases Across Prokaryotic Genomes Reflect Phylogeny and Habitat. Department of Crop and Soil Science, Oregon State University, Corvallis, OR, United States, Department of Microbiology, Oregon State University, Corvallis, OR, United States https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00413/full
8. *Lokesh P Tripathi. R. Sowdhamini.* Genome-wide survey of prokaryotic serine proteases: Analysis of distribution and domain architectures of five serine protease families in prokaryotes https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-9-549
9. *Trang T.H. Nguyen, David D. Myrold,1 and Ryan S. Mueller.* Distributions of Extracellular Peptidases Across Prokaryotic Genomes Reflect Phylogeny and Habitat https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6411800
10. *Costi D. Sifri.* Quorum Sensing: Bacteria Talk Sense Division of Infectious Diseases and International Health, University of Virginia Health System, Charlottesville https://academic.oup.com/cid/article/47/8/1070/345306
11. *Marijke Frederix, J. Allan Downie.* Quorum Sensing «Достижения микробной физиологии», 2011 г. https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/quorum-sensing
12. *Ярова Г.Я.* Біорегулюючі функції та патогенетична роль протеолізу. III. Фізіологічна роль та біохімічні механізми протеолітичної деградації білків. – Лабораторна медицина №6 РАМЛД
13. *Alexander Varshvsky.* Regulated protein degradation https://www.cell.com/trends/biochemical-sciences/fulltext/S0968-0004(05)00095-2
14. *Samar A Mahmoud. Peter Chien.* Regulated Proteolysis in Bacteria Department of Biochemistry and Molecular Biology, Molecular and Cellular Biology Graduate Program, University of Massachusetts Amherst, Amherst MA 01003 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6013389

15. *Яровая Г.Я.* Роль протеолитических ферментов в контроле различных стадий апоптоза
16. *Jerica Sabotič, Janko Kos.* Microbial and fungal protease inhibitors–current and potential applications Applied Microbiology and Biotechnology volume 93, pages1351–1375 (2012 https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-011-3834-x
17. *Yu-Zhong Zhang, Wei-Xin Zhang, Xiu-Lan Chen.* Mechanisms for Induction of Microbial Extracellular Proteases in Response to Exterior Proteins Authors: AUTHORS INFO & AFFILIATIONS https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.01036-20
18. *Tomasz Kantyka, Neil D. Rawlings, Jan Potempa.* Prokaryote-derived protein inhibitors of peptidases: a sketchy occurrence and mostly unknown function https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2952067/
19. *Mirva Steinhoff, Markus Fischer, Angelika Paschke.* Comparison of extraction conditions for milk and hen’s egg allergens. Food Additives and Contaminants, 2011, pp.1. 10.1080/19440049.2010.545957 hal-00670743
20. *Yeung JM, Newsome WH, Abbott MA.* 2000. Determination of egg proteins in food products by enzyme immunoassay. JAOAC Int. 83: 139-143.
21. *Koppelman S.J., Smits M., Tomassen M., et al.* Release of Major Peanut Allergens from Their Matrix under Various pH and Simulated Saliva Conditions–Ara h2 and Ara h6 Are Readily Bio-Accessible Nutrients. 2018 Sep; 10(9): 1281;
22. *Soares J.R.,Guimarães I.M., et al.* Allergen Extraction: Factors Influencing the Yield, Allergenicity and Sensitivity of Immunoassays)
23. *Laemmli* (Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the a assembly of the 439 head of bacteriophage T4. nature. 1970;227(5259):680-5.)
24. *Zehra Esra Ilhan,a,b,c Andrew K. Marcus,a Dae-Wook Kang, Bruce E. Rittmann, Rosa Krajmalnik-Browncorresponding*. pH-Mediated Microbial and Metabolic Interactions in Fecal Enrichment Cultures Garret Suen, EditorGarret Suen, University of Wisconsin—Madison; https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5415631
25. *Rubén Sánchez-Clemente, María Isabel Igeño, Ana G. Población, María Isabel Guijo, Faustino Merchán, Rafael Blasco*. Study of pH Changes in Media during Bacterial Growth of Several Environmental Strains Departamento de Bioqu mica y Biolog a Molecular y Gen tica, Facultad de Veterinaria, and Instituto Universitario de Investigaci n de Carne y Productos C rnicos (IProCar), Universidad de Extremadura, 10003 C ceres, Spain; https://www.mdpi.com/2504-3900/2/20/1297/pdf
26. *Smith E.A., Macfarlane G.T.* Enumeration of amino acid fermenting bacteria in the human large intestine: effects of pH and starch on peptide metabolism and dissimilation of amino acids FEMS Microbiology Ecology, Volume 25, Issue 4, April 1998, Pages 355–368 https://academic.oup.com/femsec/article/25/4/355/495669
27. *Carlo G. Rizzello, Maria De Angelis, Raffaella Di Cagno, Alessandra Camarca, Marco Silano, Ilario Losito, Massimo De Vincenzi, Maria D. De Bari, Francesco Palmisano, Francesco Maurano, Carmen Gianfrani, Marco Gobbetti.* Highly Efficient Gluten Degradation by Lactobacilli and Fungal Proteases during Food Processing: New Perspectives for Celiac Disease. https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/AEM.00260-07
28. *Anna Jedrusek-Golinska, Dorota Piasecka-Kwiatkowska, Paulina Zielinska Magdalena Zielinska-Dawidziak, Krystyna Szymandera-Buszka, Marzanna H.* Soy Preparations Are Potentially Dangerous Factorsin the Course of a Food Allergy
29. *Yanjun Cong, Fei Lou†, Wentong Xue ,Linfeng Li, Minghai Chena.* Characterisation of the IgE-binding immunodominant epitopes on Ara h1. https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09540100802172599
30. *Hiroaki Matsuo, Tomoharu Yokooji, Takanori Taogoshi.* Common food allergens and their IgE-binding epitopes. Department of Pharmaceutical Services, Hiroshima University Hospital, Hiroshima, Japan. https://www.researchgate.net/publication/282358182
31. *Borinskaya S, N.K. Yankovsky.* Structure_ of_prokaryotic_genomes Vavilov Institute of General Genetics November 1999Molecular Biology 33(6):831-845 https://www.researchgate.net/publication/287462505 _

РЕЗЮМЕ

ПРОТЕОЛІЗ У ПАТОГЕНЕЗІ АЛЕРГОЛОГІЧНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ

Гарєєв О.Л., Кравець Т.В., Лобанова К.І.

«Виробнича фірма «Сіместа», м. Одеса, Україна

У дослідженні наведено результати оцінки культивування мікроорганізмів, що входять до складу транзиторної та нормофлори кишківника людини, з білками, екстрагованими з продуктів харчування, що складають щоденний раціон. В експеримент було залучено: екстракти білків коров’ячого молока, курячого жовтка, курячого білка, сої, пшениці, арахісу. Всі штами мікроорганізмів є пробіотичними, які у якості біологічно активних добавок (БАД) різними прописами широко використовуються як засоби терапії. Було отримано підтвердження участі позаклітинних протеолітичних ферментів мікроорганізмів у деструкції харчових білків. Відзначено вибірковість впливу ферментів одного штаму на різні харчові білки; участь у гідролізі конкретного білка протеаз штамів різних таксономічних груп.

Ключові слова: протеоліз, мікробіом, патогенез алергічного захворювання, електрофореграма.

SUMMARY

PROTEOLYSIS IN THE PATHOGENESIS OF ALLERGIC DISEASE

Hareev O., Kravets T., Lobanova K.

“Production company “Simesta”, Odesa, Ukraine

In the proposed study, the results of cultivating microorganisms that are part of the transient and normoflora of the human intestine, with proteins extracted from food, which are commonly included in the daily diet, were evaluated. An extract of cow’s milk proteins, extracts of chicken yolk proteins, chicken protein, soy, wheat, and peanuts were taken in the experiment. All strains of microorganisms are probiotic, which, as biologically active additives (BAA), are widely used in various formulations as a means of therapy. Confirmation was obtained of the participation of extracellular proteolytic enzymes of the studied microorganisms in the degradation of food proteins. The selectivity of the effect of enzymes of one strain on various food proteins was noted; participation in the hydrolysis of a specific protein of proteases of strains of various taxonomic group.

Key words: proteolysis, microbiome, pathogenesis of allergic disease, electrophoregram.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

- **Гарєєв Олексій Леонідович**
  директор у виробничій фірмі “Сіместа”
  Адреса: 65000, м. Одеса, вул. Мельницька, 20-а
  Тел.: +38-099-282-18-20
  E-mail: alexeygareev@simesta.com

- **Лобанова Катерина**
  завідувачка серологічного відділу в виробничій фірмі «Сіместа».
  Адреса: 65000, м. Одеса, вул. Мельницька, 20-а
  Тел.: 099-282-18-20
  E-mail: lobanovasimesta@ukr.net

- **Кравець Тетяна**
  завідувачка виробництва у виробничій фірмі «Сіместа».
  Адреса: 65000, м. Одеса, вул. Мельницька, 20-а
  Тел.: 099-282-18-20
  E-mail: tatyanakravets@simesta.com

- **Hareev Oleksii**
  Director of the Production company “Simesta”
  Address: 65000, Odesa, st. Melnytska, 20-a
  Tel.: +38-099-282-18-20
  E-mail: alexeygareev@simesta.com

- **Lobanova Kateryna**
  head of the serological department at “Production company “Simesta”.
  Address: 65000, Odesa, st. Melnytska, 20-a
  Tel.: 099-282-18-20
  E-mail: lobanovasimesta@ukr.net

- **Kravets Tetiana**
  Production Manager at “Production company “Simesta”.
  Address: 65000, Odesa, st. Melnytska, 20-a
  Tel.: 099-282-18-20
  E-mail: lobanovasimesta@ukr.net

Стаття надійшла до редакції 10.03.2022 р.