

УДК 612.614.616.9

Д.С. Янковский, Г.С. Дымент, В.В. Бережной, В.О. Китам, Н.В. Химич

Виром человека

Научно-производственная компания «О.Д. Пролисок», г. Киев, Украина

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA.2019.1(97):49-74; doi 10.15574/SP.2019.97.49

Обзор посвящен изучению вирусного компонента микробиома человека — вирому. Приведены современные данные, касающиеся состава вирома, его формирования в процессе онтогенеза, роли в патогенезе болезней или поддержании гомеостаза. Особое внимание уделено бактериофагам (фагобиому) как доминантному члену вирома. Представлены сведения о влиянии бактериофагов на состояние прокариотного сообщества микробиома, иммунную систему и их потенциальное участие в развитии патологии. Рассмотрены дискуссионные вопросы, касающиеся перспектив использования бактериофаговой терапии в медицине.

Ключевые слова: виром, микробиом, вирусы, бактериофаги, метагеномика, прокариоты, фагобиом, фаговая терапия.

Human Virome

D.S. Yankovsky, G.S. Dyment, V.V. Berezhnoy, V.O. Kitam, N.V. Khimich

Science production company «O.D. Prolisok», Kyiv, Ukraine

The review is dealt with virome, a viral component of human microbiome. Modern data are discussed that concern the structure of virome, its formation during ontogenesis, the role in disease pathogenesis and in homeostasis maintenance. Special attention is paid to bacteriophages (phagobiome) as dominant members of virome. Modern data are submitted about the influence of bacteriophages on the state of microbiome prokaryotic community, immune system and their potential participation in the development of pathologies. Controversial questions, connected with the perspective of using bacteriophage therapy in medicine, are considered.

Key words: virome, microbiome, viruses, bacteriophages, metagenomics, prokaryotes, phagobiome, phage therapy.

Віром людини

Д.С. Янковський, Г.С. Димент, В.В. Бережний, В.О. Китам, Н.В. Химич

Науково-виробнича компанія «О.Д. Пролісок», м. Київ, Україна

Огляд присвячений вивченню вірусного компонента микробиому людини — вірому. Наведені сучасні дані щодо складу вірому, його формування у процесі онтогенезу, ролі в патогенезі хвороб або підтримці гомеостазу. Особлива увага приділена бактеріофагам (фагобіому) як домінуючому члену вірому. Наведені відомості про вплив бактеріофагів на стан прокариотного співтовариства микробиому, імунну систему та їх потенційну участь у розвитку патології. Розглянуті дискусійні питання, що стосуються перспектив використання бактеріофагової терапії у медицині.

Ключові слова: віром, микробиом, віруси, бактеріофаги, метагеноміка, прокариоти, фагобіом, фагова терапія.

Биологам пора перестать смотреть на вирусы как на случайные скопления генов. Мы задолжали этим господам признание выдающейся родословной.

Жан-Мишель Клавери

Наблюдающийся в последние годы стремительный приток новой информации относительно роли микробиома человека в поддержании его здоровья привел к заметному возрастанию интереса мирового научного сообщества к этой области знаний. Получено множество убедительных доказательств того, что микробиом воздействует на все процессы человеческого организма, включая поведение и биохимию мозга. Основываясь на этих данных, специалисты рассматривают микробиом как дополнительный орган человека, который, активно участвуя в пищеварении, управлении многочисленными метаболическими процессами, поддержании целостности эпителиального барьера, формировании колонизационной резистентности, обезвреживании эндо- и экзогенных токсинов, развитии и укреплении иммунной системы и ряде других физиологических функций, оптимизирует условия для нормальной жизнедеятельности организма человека в целом [3,20,36,73,91,173].

Длительное время основные усилия исследователей были направлены на познание бактериального компонента микробиома, однако не менее интересными являются его составляющие иной таксономической природы, в частности вирусное звено микробиома — *виром*. В целом виром человека намного менее изучен по сравнению с бактериальной общиной микробиома, однако сегодня наблюдается значительная активизация исследований в данной области знаний. Исследования показали, что более 80% вирусов, выявленных в последние годы в толстой кишке человека, ранее были неизвестны науке [144].

Согласно некоторым данным, в кишечнике, являющемся основным резервуаром микробиоты в теле человека, доля вирусных геномов составляет не менее 5% суммарного метагенома (совокупного генома всех микробных сообществ) [30,166]. Вместе с тем, поскольку изучение вирома человека находится в зачаточном состоянии, эти данные вскоре могут существен-

но измениться, благодаря интенсивному развитию новых методов исследований. Например, согласно утверждению J.L. Mokili и соавт. (2012), в настоящее время изучено не более 1% вирусного разнообразия окружающей среды [118]. Бесспорно, что многие представители виroma человека также еще ожидают своего открытия, чему будет способствовать активное внедрение в вирусологию новых прогрессивных методов исследования. Так, по мнению M. Woolhouse и соавт. (2012), более половины инфицирующих человека вирусов еще не обнаружены [185].

Наиболее надежным молекулярным подходом, доступным в настоящее время для рутинного анализа человеческого виroma, является метагеномика, которая независима от культивирования и позволяет проводить функциональные и секвенационные анализы коллективных микробных (в том числе вирусных) геномов, содержащихся в образце среды.

Следует признать, что метагеномные исследования виroma имеют ряд сложностей и ограничений. Многие из них связаны с методами выделения вирусного материала и его обработки. В связи с этим мы пока не имеем истинной картины разнообразия человеческого виroma. Еще предстоит открыть и оценить очень большое вирусное разнообразие, как патогенное, так и симбиотическое, чтобы лучше понять структуру и таксономию вирусного звена микробиома человека.

В таксономии живой природы вирусы выделяют в особое царство — *Vira*. Поскольку вирус лишен генов, необходимых для синтеза важнейших систем, свойственных клеточным формам жизни, например систем, ответственных за образование энергии, он не может полноценно функционировать самостоятельно. Однако, сравнительно небольшие геномы вирусов способны к мутациям и рекомбинациям, что является причиной быстрого появления и распространения вирусов с новыми свойствами.

Симбиотические вирусы содержат, очевидно, все клеточные организмы. Действительно, в геномах всех организмов (от прокариот до человека), обнаружено большое количество генов вирусного происхождения. Слияние генома клеточного организма с геномом вируса представляет собой процесс образования рекомбинантного (химерного) организма, который правомерно рассматривать в качестве взаимополезного симбиоза. В физиологиче-

ских условиях симбиотические вирусы защищают клеточных партнеров от своих болезнетворных вариантов, повышают защитные силы организма и усиливают механизмы его адаптации в меняющихся условиях внешней среды. Однако при воздействии определенных факторов, например изменении иммунного статуса макроорганизма, мирное взаимополезное существование может быть нарушено и трансформировано во взаимную агрессию.

Вирусы — это своеобразные природные «генные инженеры». За счет способности к интегрированию в генетический аппарат клетки подавляющее число вирусов (провирусов) могут длительно персистировать в организме. Появление при внедрении генов различных вирусов дополнительного объема генетической информации может представлять для клетки-симбионта определенный интерес. За счет этого она получает возможность функциональной перестройки, соответствующей изменениям окружающей среды. В частности, доказан факт формирования в клетках многочисленных эндогенных вирусов, представляющих собой блоки генетической информации, которой обмениваются клетки в пределах организма [166].

Важная роль вирусов в жизнедеятельности всех клеточных организмов позволяет их рассматривать в качестве универсального фактора адаптации, приводящего к такой трансформации жизнедеятельности клеток, при которой возникает биологически устойчивая система, что должно играть важную роль в эволюционном развитии биосферы [2].

Полагают, что вирусы являются наиболее богато представленными и многообразными представителями биологического мира Земли, а их численность в биосфере, по разным оценкам, составляет от 10³¹ до 10³² вирусоподобных частиц [26,30,163,165]. Вирусы генетически связаны со всеми другими представителями биосферы. Так, согласно последним исследованиям, геном человека содержит не менее 11% информации, которая кодируется вирусоподобными элементами и транспозонами [3].

Виром человека характеризуется удивительной таксономической и генетической сложностью. Он включает вирусы, которые инфицируют эукариотные клетки (эукариотный виром); бактериофаги (бактериальный виром); фаги, заражающие археи (архейный виром); профаги; эндогенные ретровирусы;

вирусные элементы, встроенные в геном человека [30,176]. Первоначально эндогенные ретровирусы, которые занимают не менее 8% генома человека [61], и другие вирусоподобные элементы генома человека считались генетическим мусором, накопленным в процессе эволюционной истории. Но теперь известно, что они выполняют множество функций, оказывающих воздействие на микробиом и жизнедеятельность человека в целом [148,149].

В отличие от бактериальных метагеномов кишечника, которые обогащены генами для синтеза и биогенеза клеточных компонентов (аминокислот, углеводов предшественников), виromы содержат гены, ассоциированные с репликацией, рекомбинацией и репарацией, а также с неизвестными функциями, которые связаны с использованием вирусами всей клеточной биомеханики для своего распространения [30,114].

Анализ результатов исследования вирома человека показывает, что во всех электронно-микроскопических оценках содержимого желудочно-кишечного тракта подавляющее количество вирусоподобных частиц составляют бактериофаги, преимущественно двухцепочечные ДНК-фаги порядка *Caudovirales*, который охватывает большинство известных фагов и включает семейства *Myoviridae*, *Siphoviridae* и *Podoviridae* [30,31,81]. Сегодня известно около 2040 полных геномных последовательностей представителей фагов порядка *Caudovirales* [30].

К примеру, из 1200 вирусных генотипов, обнаруженных M. Breitbart и соавт. (2003) в кишечном содержимом одного здорового взрослого человека, большинство принадлежало к семейству *Siphoviridae* (52,8%) и профагам (28,3%) [23]. Другие исследования показали, что наиболее многочисленными в составе вирома кишечника здоровых людей оказались фаги семейств *Siphoviridae*, *Myoviridae*, *Podoviridae* [97,114,112,116,145]. Согласно данным ряда исследований, количество фагов в кишечнике человека в целом составляет не менее 10^{15} [30,31,40,81,93]. На наш взгляд, эти оценки весьма занижены (учитывая концентрацию клеток только бактериальных представителей кишечного микробиома на уровне 10^{14} – 10^{16}) и в ближайшее время, благодаря интенсивному изучению вирома человека, бесспорно, будут уточнены.

Важное место в составе вирома человека, помимо двухцепочечных фагов, также занимают одноцепочечные ДНК-фаги семейств

Microviridae и *Inoviridae*. Так, с использованием метагеномных подходов, ориентированных на капсидный белок VP1, специфический для оцДНК-фагового семейства *Microviridae*, в кишечных метагеномах практически здоровых людей были обнаружены представители подсемейств *Gokushovirinae*, *Alpnavirinae* и *Pichovirinae* [96,106,150]. Предполагают, что некоторые из этих фагов персистируют в бактериях родов *Prevotella* и *Bacteroides*. В частности установлено, что последовательности данных фагов оказались близкими к профаг-подобным последовательностям превотелл и бактероидов [30,65,151,191].

В составе кишечного вирома человека обнаружены РНК-вирусы, большей частью представленные патогенными вирусами растений, которые, очевидно, попадают в кишечник с пищей [47,51,187]. Поскольку количество вирусов, обнаруживаемых в фекалиях, превосходит их количество в потребляемой пище, предполагается, что РНК-вирусы растений могут размножаться в желудочно-кишечном тракте человека [30,61,187].

Рядом авторов отмечается, что в составе виромов кишечника здоровых людей эукариотные ДНК-вирусы встречаются редко [22,25,30,112,114,144].

Примечательно, что в составе человеческого вирома рядом исследований выявлены гигантские вирусы, вызывающие в последние годы большой интерес вирусологов. В частности, D. Willner и соавт. (2009), используя методы метагеномики, обнаружили несколько последовательностей ДНК, связанных с гигантскими вирусами семейств *Poxviridae*, *Iridoviridae*, *Mimiviridae* и *Phycodnaviridae* [184]. Сообщалось также о выделении из крови здоровых лиц гигантских вирусов семейства *Marseilleviridae* [11,16]. Оказалось, что представители этого семейства реплицируются в человеческих Т-клетках, а не в амебах, как полагалось ранее [11].

Существенное воздействие на состав вирома оказывают физико-химические и биологические характеристики ниш обитания вирусов. Поэтому не удивительно, что кровь, верхние дыхательные пути, легкие, желудочно-кишечный тракт, кожа, слизистая оболочка глаз, ротовая полость, влагалище и нервная система содержат свои собственные вирусные сообщества, различающиеся по составу [30,140,141]. Некоторые вирусные таксоны встречаются в различных биотопах тела человека. Например, ДНК-вирусы семейств *Herpesviridae*,

Papillomaviridae, *Polyomaviridae* и *Anelloviridae* присутствуют как в респираторном тракте, так и в кишечнике, на коже, в крови и мочеполовой системе [140].

Каждый человек содержит уникальные вирусные популяции, которые оказывают существенное влияние на формирование микробного разнообразия в биотопах и здоровье человека в целом [30,31,81,146]. Так, длительное исследование четырех пар взрослых монозиготных близнецов и их матерей показало, что прокариотные сообщества кишечного содержимого родственных подопытных были очень близкими, однако каждый индивидуум имел собственный виром, заметно отличающийся по составу от виромов других членов семьи [146].

По мнению Н.W. Virgin и соавт. (2009), виром можно рассматривать как значительную часть индивидуальной генетической идентичности человека, независимо от того, интегрирован ли вирус в его хромосомы [177]. В формировании вирома человека очень важную роль играет локальная среда. Установлено, что виром, аналогично бактериальному компоненту микробиома (бактериобиому), зависит от диеты, географии проживания, этнической принадлежности и других факторов [140].

Экологические ниши вирома в теле человека очень разнообразны: помимо интегрирования в состав хромосом, вирусы заселяют все поверхности слизистых оболочек, а после устранения острых вирусных инфекций некоторые вирусы могут длительно сохраняться в нейронах, гематопоэтических клетках, стволовых клетках, сосудистых эндотелиальных клетках и, вероятно, многих других типах клеток [176]. Однако даже у практически здоровых людей находят как эукариотные, так и прокариотные вирусы, циркулирующие в крови и других биологических жидкостях, которые ранее считались стерильными [169].

Несмотря на существенные различия между эукариотными и прокариотными вирусами, их важным общим биологическим признаком является способность использования двух альтернативных жизненных циклов: «литического», сопровождающегося разрушением клетки, и «латентного», при котором вирусный геном интегрируется в клеточную хромосому и может долго в ней сохраняться. Такое разнообразие стилей жизни является одним из факторов устойчивости вирома и сложной сети его взаимодействия с остальными компонента-

ми микробиома и макроорганизмом. В зависимости от условий, эти взаимодействия могут варьировать от взаимовыгодного симбиоза до вирулентности.

В большинстве современных публикаций виром, особенно эукариотный, рассматривается как очаг вирусных инфекций в организме человека [1,54,62,121,161,166,186]. Причем обсуждается роль вирусов не только в развитии инфекций, но также в этиопатогенезе сложных хронических заболеваний. В частности, имеется ряд медицинских исследований, которые свидетельствуют о возможной связи с вирусными инфекциями таких серьезных форм патологии, как диабет 1-го типа, синдром хронической усталости, воспалительные заболевания кишечника, дегенеративные заболевания нервной системы и др. [61].

Вместе с тем накапливаются данные, что не всякая вирусная контаминация организма вредна. В экологических рамках вирома его члены могут быть как паразитическими, так и симбиотическими или комменсальными [134]. Многие вирусы являются необходимым и весьма важным звеном микробиома человека, имеющим физиологическое значение в его жизнедеятельности [47,61,113,140,148,149,166]. Установлено, что некоторые вирусы, известные как возбудители инфекций, могут присутствовать в организме как больных, так и практически здоровых лиц [88,160]. Помимо бактериофагов и эукариотных ДНК-вирусов, многочисленные РНК-вирусы, обычно считающиеся патогенами человека, также нередко обнаруживают в составе виромов здоровых людей. Так, ряд авторов сообщили о выявлении в составе кишечного вирома практически здоровых лиц представителей эукариотных вирусных семейств животных *Astroviridae*, *Caliciviridae*, *Picornaviridae*, *Reoviridae* и *Picobirnaviridae*, а также вирусных семейств растений, таких как *Virgaviridae* [16,36,63,140].

Как отмечают Н.W. Virgin и соавт. (2009), отдельные здоровые люди являются постоянными носителями не менее 10 инфекционных вирусов (вирусы герпеса, полиомавирусы, анеллевирусы, аденовирусы, папилломавирусы и др.), которые поддерживают в тонусе механизмы иммунной защиты, являясь регуляторами иммунофенотипа, индивидуального для каждого человека [177]. Например, показана способность некоторых системных вирусов (вирусов герпеса, вируса полиомы и др.) бессимптомно стимулировать иммунные реак-

ции [61]. Описаны также гуморальные иммунные реакции, индуцируемые некоторыми прокариотными вирусами (бактериофагами) [74]. Точные механизмы этих реакций пока не изучены, но установлена важная роль в их регуляции синтеза цитокинов иммунными клетками [176]. В зависимости от состава виroma и сформированного иммунофенотипа каждый индивидуум в дальнейшем по-разному реагирует на триггеры заболевания.

Большое значение в регуляции иммунных реакций, ассоциированных с виромом, имеют toll-подобные рецепторы, в частности TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9. В распознавании вирусной структуры и последующем развитии каскада сигнальных реакций также берут участие некоторые ферменты (цитоплазматическая РНК-геликаза и цитоплазматическая ДНК-сенсор-цГМФ-АМФ-синтетаза). Активация этих рецепторов приводит к транскрипции ядерных факторов NFκB, IRF3 и IRF7, что, в свою очередь, способствует экспрессии противовирусных эффекторов IFN-1, IL-6, IL-1β, IL-8, CXCL-10. Активируя один или несколько из этих путей, вирусы, в том числе бактериофаги, индуцируют противовирусный иммунный ответ и непрерывный цикл продукции цитокинов [47,48,92].

Начало формирования виroma в организме человека, очевидно, совпадает с первичным заселением его биотопов клеточными микробами. Одновременно с бактериальной колонизацией экологических ниш ребенка, что может происходить еще до его рождения [3], происходит контаминация организма вирусами-симбионтами, которые в физиологических условиях выполняют ряд позитивных функций аналогично другим облигатным микробам [178].

Установлено, что в начале жизни ребенка в составе его виroma преобладают бактериофаги. Так, анализ вирусных геномов новорожденных, проведенный В. Duerkor и соавт. (2012), подтвердил доминирование бактериофагов и формирование фагобиота параллельно с заселением биотопов ребенка бактериальной флорой [47]. Эукариотные ДНК-вирусы в исследованиях E.S. Lim и соавт. (2015) удавалось обнаружить, начиная с 3-го месяца жизни ребенка [94].

По данным М. Breitbart и соавт. (2008), к концу первой недели жизни младенца в составе кишечного содержимого определяется около 108/г вирусоподобных частиц [24].

Исследования S.R. Carding и соавт. (2017) показали, что в вирусном метагеноме однонедельного ребенка доминировали последовательности сифофагов и профагов, аналогично ДНК-виральным метагеномам взрослого человека. При этом в кишечном виrome младенца присутствовали восемь виральных генотипов, причем наиболее представленный из них составлял 43,6% от общего количества [30]. Были также обнаружены последовательности со значительной близостью к подофагам и миофагам. Более 50% последовательностей значимо совпадали с фагами, инфицирующими грамположительные бактерии родов *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* и *Staphylococcus*. Обнаружены также совпадения с фагами, которые инфицируют грамотрицательные бактерии родов *Bacteroides* и *Listonella* [22,24,30].

Отмечается низкое разнообразие виroma детей раннего возраста, что хорошо коррелирует с небольшим количеством видов бактериального сообщества кишечного микробиома, характерным для первой недели жизни ребенка.

По мнению исследователей, основная роль бактериофагов в составе микробиома младенцев заключается в контроле над поддержанием нормального бактериального баланса в биоценозе и реализации механизмов генетических рекомбинаций посредством трансдукции [47]. Однако вклад виroma в функционирование микробной системы человека, очевидно, является значительно многообразней, о чем свидетельствуют результаты метагеномных исследований последних лет [13,22,50,166].

Свидетельств физиологического значения присутствия вирусов наряду с другими микробами в организме человека становится все больше. Преобладающее количество изученных вирусных представителей микробиома являются бактериофагами, которые нацелены на определенные бактерии. В частности, бактериофаг таких распространенных представителей микробиома, как бактерии рода *Bacteroides*, получивший название CrAssphage, распространен в кишечнике около половины населения Земли [49,129]. Этот фаг с геномом в 97065 bp кодирует 80 белков [30]. Как оказалось, носителями фага CrAssphage могут быть также грамотрицательные бактерии рода *Prevotella* [50]. Обилие этих конкретных вирусов в составе виroma человека до сих пор неясно, но то, что их носителями являются здоровые люди, позволяет допускать физиологическое значе-

ние массового присутствия данного бактериофага в кишечнике.

Исследования с использованием экспериментальных животных позволили обнаружить γ-герпесвирусы, которые, как оказалось, могут помочь предотвратить гибель мышей от инфицирования патогеном вида *Listeria monocytogenes* и возбудителем чумы *Yersinia pestis* [18], а также активировать NK-клетки, что способствует повышению устойчивости к опухолеобразованию [183].

Белок, кодируемый вирусом HERV-W (Human Endogenous Retrovirus-W), известный как синцитин, необходим для правильного формирования плаценты. Он управляет слиянием клеток в ходе формирования наружного слоя плаценты, обеспечивает защиту эмбриона от иммунной системы матери и атак патогенных вирусов [72,176]. Отсутствие этого соединения может приводить к развитию опасных осложнений, включая преэклампсию, которая является серьезной угрозой жизни матери и ребенка [148,149]. В свою очередь, вирус GB-C (Pegivirus A) может помочь организму носителей ВИЧ замедлить прогрессирование распространения вируса в организме [176].

Заслуживает внимания информация о том, что отдельные вирусы способны выполнять некоторые функции бактериального компонента микробиома [49,84]. В этой связи весьма интересными представляются результаты исследований американских ученых, которые утверждают, что вирусы, живущие в кишечнике, играют роль дополнительной защиты от инфекций, когда бактерии с этой задачей уже не справляются [84]. К таким выводам исследователи пришли по итогам серии двухлетних экспериментов на мышах. После удаления бактериального компонента микробиома и введения грызунам вирусов рода *Norovirus* наблюдалось восстановление ткани кишечника, поврежденной воспалением, а также иммуностимулирующих функций утраченного бактериального сообщества. Например, по данным E. Kernbauer и соавт. (2014), инокуляции стерильным мышам вируса вида *Murine norovirus* было достаточно для размножения симбиотических бактерий с восстановлением морфологии тонкой кишки и функции лимфоцитов без явного воспаления или заболевания [85]. У мышей, инфицированных вирусом, количество врожденных лимфоидных клеток снижалось по сравнению с контролем. Инокуляция

мышиним норовирусом мышей дикого типа, которым на протяжении 10 дней вводили антибиотики, приводила к увеличению толщины ворсинок и количества гранул клеток Панета. Инфицирование грызунов вирусом *Murine norovirus* оказывало воздействие на экспрессию кишечных генов, влияло на развитие лимфоидных клеток и на иммунные ответы, связанные, в основном, с противовирусными ответами интерферона 1 типа, что было необходимо для опосредованного вирусом оздоровительного эффекта у инфицированных мышей. Обнаружено также воздействие на гены, ассоциированные с развитием и функцией кровяных клеток. Инокуляция норовирусом мышей, предварительно обработанных антибиотиками, защищала грызунов от суперинфекции *Citrobacter rodentium* [85].

Есть данные, что вирусом может влиять на транскрипцию в клетках макроорганизма, не содержащих вирусов. Это осуществляется посредством определенных сигнальных молекул и влияет на формирование транскрипционного фенотипа индивидуума в зависимости от структуры его виroma [19,176].

Предполагается защитная роль виroma относительно слизистой оболочки кишечника. Так, J.Y. Yang и соавт. (2016) с помощью декстран сульфата натрия индуцировали у мышей колит, а затем разрушали вирусом грызунов путем введения им коктейля из противовирусных препаратов. Установлено, что такие животные имели более тяжелую форму колита, нежели грызуны с интактным виромом. Кроме того, они отличались избыточной массой тела и уменьшенной длиной кишечника [193].

По данным E.F. Foxman и A. Iwasaki (2011), симбиотические вирусы за счет регуляции иммунных реакций могут повышать устойчивость организма человека к инфицированию вирулентными вирусами и развитию таких заболеваний, как астма и диабет 1 типа [61].

Эволюция взглядов на многостороннюю роль вирусов в организме человека, восприятие их не только в качестве патогенов, но и ценных симбионтов, может значительно повлиять на понимание генетики, патологии и физиологии человека.

Особую группу вирусов представляют *бактериофаги*, которые обнаруживаются во всех экосистемах, заселенных прокариотами (бактериями и археями). Несмотря на более чем столетнюю историю изучения бактериофагов, только в последние годы исследователи

получили убедительные доказательства того, что они являются исключительно важными регуляторами гомеостаза прокариотных популяций и стабильности микробиоты человека [44,102,125].

Фаги бактерий и архей (фагобиом), принимая активное участие в контроле над поддержанием нормального бактериального и архейного баланса в биоценозе, влияют на гомеостаз прокариотного звена микробиома, а также обеспечивают механизмы генетических рекомбинаций посредством трансдукции. Изменение микробиома под воздействием фагов происходит за счет приобретения новых генов и лизиса чувствительных популяций.

Наиболее численными бактериальными партнерами большинства идентифицированных кишечных фагов оказались члены типов *Bacteroidetes* и *Firmicutes*, что прогнозировано с учетом доминирования данных бактериальных таксонов в составе микробиома кишечника. При этом отношение виротипов к филотипам оказалось примерно равным 1:1 [30]. В целом каждый вид и штамм клеточных представителей микробиома является потенциальным местом обитания для адаптированного вируса.

Рядом метагеномных исследований установлена повсеместная распространенность бактериофагов как мобильных генетических элементов, которые оказывают сильное воздействие на бактериальную эволюцию, вызывают появление новых бактериальных патогенов, мобилизуют гены бактериальных клеток и выполняют другие функции [125].

При анализе микробиома кишечника, влагалища, легких, кожи, полости рта обнаружено значительное преобладание бактериофагов над прокариотами [23,114,125,176]. Полагают, что количество бактериофагов не менее чем в 10 раз превышает концентрацию прокариотных микробов, обитающих в теле человека [48]. С каждым годом обнаруживаются все новые бактериофаги, неизвестные ранее. Так, недавно ученые из Дании заявили об обнаружении ими в кишечнике человека более 800 новых видов бактериофагов [34].

Бактериофаги являются важным фактором, ответственным за разнообразие и состав микробиомных сообществ [174,178]. Наряду с вирулентными фагами, действующими по механизму уничтожения атакуемой клетки, широко распространены умеренные фаги, которые взаимодействуют с микробной клеткой

по типу интеграции, или вирогении. Умеренные фаги способны переходить из вегетативного состояния, присущего вирулентному фагу, в неинфекционную форму — профаг, интегрирующийся в хромосому микробной клетки. В отличие от генома вирулентного фага, функция которого определяет активную репродукцию фаговых частиц, профаг воспроизводится как часть микробной ДНК и синхронно с ней реплицируется. Некоторые фаги локализуются в цитоплазме клетки и не включаются в ее хромосому. Вирогения умеренных фагов называется *лизогенией*, а микробные клетки, содержащие в своей хромосоме профаг, называются *лизогенными*. Одной из особенностей лизогенных прокариот является приобретенный ими иммунитет к последующему заражению одноименным фагом. Вследствие этого бактериофаги, освободившиеся из отдельных клеток, не оказывают действия на остальную популяцию лизогенных микробов [48].

Специфический симбиоз клеточного микроорганизма с умеренным фагом является выгодным для обоих партнеров. Лизогенная клетка становится невосприимчивой относительно вирулентных вариантов «своего» фага и приобретает некоторые полезные свойства, а бактериофаг получает возможность длительное время быть защищенным от неблагоприятных внешних воздействий.

Благодаря лизогенизации, как патогенные, так и физиологические прокариоты могут изменять свои свойства. Например, условно-патогенные бактерии могут приобретать такие дополнительные признаки вирулентности, как способность к продукции токсинов, изменение морфологии или антигенных свойств, приобретение резистентности к лекарственным препаратам, расширение спектра метаболических свойств и др. Эти признаки контролируются генами профага и прокариотной клетки или только профага. Данное явление называется лизогенной конверсией [162,181]. Некоторые профаги могут изменять антигенные свойства грамотрицательных бактерий путем продуцирования ферментов, которые модифицируют O-антигенный компонент липополисахаридов [143]. Так, по данным M.R. Davies и соавт. (2013), бактериофаги могут участвовать в формировании популяций грамотрицательных бактерий с модифицированным O-антигеном за счет горизонтального переноса генов, ответственных за синтез гликозилтрансферазы, добавляющей к O-антигенному

компоненту липополисахарида отдельные сахара [42]. Такая модификация формирует в биотопе варианты бактерий, устойчивые к иммунным факторам [130]. Физиологические бактерии также могут расширить спектр своих свойств за счет профагов и укрепить свои позиции в составе микробиома.

Поскольку многие заболевания связаны с нарушениями в бактериальной составляющей микробиома, весьма целесообразным является анализ при этом фагобиома, который активно взаимодействует как с прокариотами, так и с организмом человека.

Фаги взаимодействуют со своими клеточными партнерами как единое экологическое сообщество. Посредством таких процессов, как лизис, модуляция экспрессии генов, горизонтальный перенос генов, антагонистическая коэволюция, изменение экосистемных процессов и базисной стехиометрии, фаги влияют на жизнедеятельность микробных клеток, в которых они обитают [47,48,77,83,87,122]. Между клеточными микробами и фагами часто происходит обмен информацией, и они успешно совместно функционируют при поддержании гомеостаза экосистемы. Нарушение баланса, как прокариот, так и фагов, отрицательно сказывается на устойчивости микробиома и может его значительно повреждать. Совместное воздействие клеточных микробов и фагов на устойчивость микробной экосистемы, в частности, реализуется за счет использования стратегии «убей победителя», которая не допускает доминирования одного микробного таксона [30]. Однако в физиологических условиях образ жизни бактериофагов в составе микробиома не основан на принципе «хищник или жертва», они мирно сосуществуют с прокариотами, снабжая их новыми генами и за это получая возможность размножаться [115].

Рядом работ показано, что бактериофаги могут транслоцировать через слизистые барьеры в кровь и внутренние органы. Так, бактериофаги обнаруживали в составе мочи у здоровых лиц и пациентов с микробными инфекциями [97,169]. Попадая во внутреннюю среду организма, бактериофаги могут оказывать регулирующее воздействие на иммунную систему [97,149]. Как отмечают исследователи, бактериофаги, ассоциированные со слизистыми оболочками, могут воздействовать как на врожденный, так и на приобретенный иммунитет [15]. Сообщается также способность бактериофагов подавлять воспалительные и ауто-

иммунные реакции, возникающие при бактериальной транслокации [69,71]. Причем противовоспалительное действие бактериофагов реализуется не только путем простого устранения бактериальных патогенов, но также за счет прямого взаимодействия с клетками, продуцирующими провоспалительные цитокины, и снижения избыточного производства активных форм кислорода, способствуя уменьшению уровня окислительного стресса [97,119]. Установлено, что многие секвенированные бактериальные геномы содержат сразу несколько профагов, несущих широкий спектр генов [9].

Следует отметить, что не только виром может воздействовать на прокариотный компонент микробиома. Установлена также обратная связь, когда бактерии влияют на вирусы. Эти механизмы могут быть реализованы как опосредовано, через воздействие на иммунные механизмы макроорганизма, так и за счет метаболической активности бактериальных сообществ.

В последние годы биологи активно исследуют особый тип иммунитета у бактерий и архей, обеспечивающий им устойчивость к вирулентным бактериофагам. Иммунный ответ обеспечивают специальные молекулы РНК, гены которых располагаются в особых локусах, получивших название CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats). Эти молекулы РНК распознают чужеродную ДНК и помогают ее уничтожить. Локусы CRISPR состоят из нескольких несоприкасающихся палиндромных повторов, между которыми имеются промежутки — спейсеры, представляющие собой короткий участок вирусной или плазмидной ДНК. Повторы CRISPR-последовательностей очень консервативны в пределах каждого вида микробов, но сильно различаются от вида к виду [80]. Анализ данных по метагеномным последовательностям дает детальную информацию о конкуренции «фаг-клетка» и «фаг-фаг» в пределах микробиома человека и показывает, что CRISPR-спейсеры активно и постоянно затребованы прокариотами в ответ на присутствие фагов в желудочно-кишечном тракте [162]. Возможные эффекты таких взаимодействий между фагами и их клеточными партнерами, оказываемые на состав и функции микробиоты и здоровье человека, пока не изучены, однако они могут быть весьма существенными, учитывая значимую роль микробиома в физиологии и патологии человека.

Интересно, что при внедрении нового фага формируются новые соответствующие спейсе-

ры в системе CRISPR у зараженных прокариот, и родительская клетка передает приобретенный иммунитет по наследству. В системе CRISPR также имеется встроенный механизм защиты собственной ДНК от аутоиммунного разрушения [104].

В метагеномных исследованиях получены некоторые весьма неожиданные результаты. Несмотря на то, что явление трансдукции, посредством которой ДНК перемещается между клетками с помощью бактериофагов, было открыто еще в прошлом веке, обнаружение значительной пропорции бактериальной ДНК в фаговых частицах вызвало у исследователей удивление. Оказалось, что многие фаговые частицы содержат последовательности, идентифицированные как бактериальная ДНК. При анализе обнаружен общий генный состав у фаговых и бактериальных ДНК-фракций того же образца, включая последовательности, принадлежащие прокариотным иммунным системам (CRISPR-Cas) [49]. Выявление в составе фаговых ДНК генов резистентности бактерий к антибиотикам, а также генов вирулентности или генов, связанных с приспособленностью к новым бактериям-ассоциантам, свидетельствует о более активном, чем предполагалось ранее, участии бактериофагов в горизонтальном генетическом обмене и эволюции прокариот [35,125,135].

Некоторые исследователи высказывают предположение, что бактериальные клетки содержат многочисленные гены, унаследованные от древних профагов, для построения белковых капсидов, в которые упаковывается фаговая ДНК [9,90,125,135].

Бактериофаги всегда рассматривались исключительно в аспекте их взаимодействия с бактериями. Контролируя состав прокариотных популяций в биотопах человека и оказывая позитивное воздействие на иммунитет, бактериофаги выполняют важную физиологическую функцию. Однако, как оказалось, они играют роль в физиологии человека более глобальную, чем инфицирование отдельных компонентов бактериальных сообществ и за счет этого изменение их состава. В последнее время накапливается все больше доказательств, что связь бактериофагов с многоклеточными организмами, например с организмом человека, сильнее и глубже, чем казалось поначалу.

Эти данные демонстрируют сложные двунаправленные взаимодействия между фагобиомом и компонентами иммунной системы,

а также между фагобиомом, бактериальным, архейным и грибковым биомом [29,140].

При этом следует признать, что, несмотря на полифункциональность фагов, их роль в модификации состава прокариотного звена микробиома является весьма важной и многообразной. Помимо влияния на количество отдельных популяций прокариот, бактериофаги могут влиять на механизмы их взаимодействия с иммунной системой макроорганизма, например, модифицируя структуру антигенов. По мнению M. Lusiak-Szelachowska и соавт. (2017), основные физиологические функции бактериофагов заключаются в регулировании состава бактериальных популяций и способности оказывать противовоспалительное и иммуномодулирующее действие [97].

Бактериофаги могут являться одним из многочисленных механизмов конкурентных взаимодействий в микробных сообществах. В этой связи исследователи приводят интересные примеры воздействия фагов на состав бактериальных сообществ. Так, L. Selva и соавт. (2009) наблюдали регуляцию фагами конкуренции между популяциями бактерий видов *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*. Первый вид продуцирует перекись водорода, инициирующую SOS-ответ у бактерий и способную индуцировать профаги. В то же время, подавляющее большинство штаммов вида *S. aureus* содержит профаги, которые могут инициироваться в присутствии концентраций H_2O_2 , продуцированных *S. pneumoniae*. При этом профаги *S. pneumoniae* не индуцируются при таких концентрациях H_2O_2 . В результате *S. pneumoniae* превалирует, убивая лизогенные штаммы *S. aureus* посредством индуцирования профагов, вызывающих последующий лизис клеток [159].

В свою очередь, В. Duerkor и соавт. (2012) наблюдали, как бактериофаги могут воздействовать на динамику бактериальных популяций у штамма *Enterococcus faecalis* V583. Этот штамм продуцирует сложный фаг ФV1/7, образованный из профаговых элементов, кодируемых двумя различными хромосомами. Профаг ФV1 продуцирует капсиды, тогда как профаг ФV7 контролирует инфекцию восприимчивых бактериальных штаммов, причем штамм V583 может продуцировать ФV1/7. Индукция ФV1/7 сильно увеличивается при наличии свободных аминокислот в среде. Штамм, продуцирующий ФV1/7, имеет преимущество перед другими штаммами *E. faecalis*

в кишечнике, поскольку они лизируются фагом ФV1/7, тогда как штамм V583 устойчив к суперинфекции, что повышает успех *E. faecalis* V583 в процессе конкурентного роста [47].

Учитывая физиологическую важность бактериальной части микробиома, доказанную многочисленными исследованиями, эффекты фаговой составляющей вирома (фагобиома) должны оказывать огромное влияние на поддержание здоровья или развитие патологии.

Одним из важных эффектов фагобиома является его влияние на иммунную систему человека. Явление иммуногенности ассоциированных с человеком интактных фагов и/или их нуклеиновых кислот обнаружено давно. Продуцирование у человека и животных антител против бактериофагов наблюдали вскоре после их открытия. Рядом исследований показано, что при иммунизации человека или животных фаговыми лизатами можно легко получить антисыворотки против фагов [12,68,125]. Например, антитела против фага T4 природно присутствуют в сыворотке человека, по-видимому, вследствие постоянного наличия этих фагов в человеческих биомах [28,38,67]. Поэтому иммуномодулирующая функция фагобиома не вызывает сомнений. Этот эффект реализуется не только посредством модуляции прокариотного сообщества микробиома, но и непосредственно, благодаря иммуногенности фаговых частиц [176]. По данным авторов некоторых публикаций [48,55,169,176], частицы бактериофагов могут непосредственно контактировать с эпителиальными клетками, например, за счет переноса фаговых частиц дендритными клетками и макрофагами. В частности, F. Eriksson и соавт. (2003) выявили способность бактериофагов стимулировать продукцию макрофагами IL-1 β и TNF- α [107]. Сообщалось также, что мотивы CpG в геномах бактериофагов, которые стимулируют производство интерферона, могут оказывать защитное действие против вируса оспы [176].

Значительный всплеск интереса к бактериофагам произошел после публикации результатов исследований австралийских и американских ученых, которые показали, что слизистый матрикс кишечника является отличной средой для формирования уникального симбиоза между организмом человека и бактериофагами [14,113].

Как известно, слизь является мощнейшим барьером между микробными экосистемами и внутренней средой организма. Именно в слизи сконцентрирована основная масса микробио-

ма. Кроме микробных микроколоний, в ней также содержатся иммуноглобулины, лизоцим и многие другие факторы, защищающие организм от проникновения патогенных микробов. J.J. Vanг и соавт. (2013) при изучении состава и свойств слизей разных живых существ (от кораллов до человека) обнаружили, что количество бактериофагов в слизи в четыре раза превышает их концентрацию в окружающей среде [14].

Ученые установили, что отдельные поверхностные белки фаговых капсидов в состоянии присоединяться к гликанам, входящим в состав основного компонента муциновых комплексов слизи. За связывание с гликанами муцина у фагов отвечают белки, имеющие гипервариабельные домены, своей структурой напоминающие иммуноглобулины. Такие белки в капсидах фагов встречаются довольно часто, на что указывают, в частности, метагеномные исследования генетического материала фагов человеческого кишечника [14, 113].

Основываясь на этих данных, исследователи предложили модель, согласно которой многоклеточные организмы и фаги коэволюционировали, в результате чего среди механизмов иммунного ответа на бактериальные инфекции появился и некий «фаговый иммунитет», работающий в слизистых оболочках. Сами фаги от такого симбиоза тоже выигрывают, поскольку получают возможность заражать бактерии, которых на слизистых оболочках бывает в избытке, и эффективно размножаться. Авторы проведенных исследований предполагают, что фаги стали населять слизистые оболочки самых разных организмов с момента возникновения слизи в результате эволюции [14].

Большой интерес вызывает связь вирома с развитием заболеваний. В отличие от бактериальной составляющей микробиома, роль которой в физиологии и патологии человека доказана многими исследованиями, влияние виромных модификаций на здоровье человека только начинает изучаться. При этом если относительно патогенеза эукариотных вирусов имеется много данных, то только недавно стала рассматриваться возможность негативного влияния бактериофагов на здоровье человека [93,167–171].

Наряду с распространенными взглядами на бактериофаги как физиологическое звено микробиома человека, некоторые авторы рассматривают их в качестве потенциальных патогенов. Такая позиция, в частности, обуслов-

лена результатами недавних исследований, которые показали, что бактериофаги могут проникать через клеточные барьеры в кровь и внутренние органы. Например, по данным J.J. Barr (2017), ежедневно во внутреннюю среду организма проникает около 30 млрд фаговых частиц [13].

Поскольку длительное время полагалось, что бактериофаги поражают только микроорганизмы, они не рассматривались в качестве патогенов человека. Однако, по мнению некоторых ученых, бактериофаги — это нераспознанные патогены человека, ответственные за иницирование ряда заболеваний человека и за утяжеление их течения [97,167–170]. Эти данные являются дополнительным свидетельством важности поддержания гомеостаза микробиома человека в целом, включая всех его представителей, поскольку нарушение физиологического баланса в любом звене микробиома может привести к серьезным разрушительным последствиям, которые повлекут за собой развертывание целой цепи патологических изменений в организме человека.

Один из механизмов патологического воздействия бактериофагов на организм человека может быть реализован посредством негативных изменений прокариотных сообществ с формированием дисбиоза и развития связанных с ним заболеваний. Так, за счет лизиса физиологических микробов, например вследствие индукции их профагов, могут развиваться существенные микробиомные нарушения, способствующие развитию различных заболеваний. Полагают, что негативное воздействие на организм человека может также осуществляться за счет инфицирования бактериофагами эпителиальных клеток, а также вследствие массового проникновения фаговых частиц через нарушенный мукозальный барьер с влиянием на иммунные клетки, что может привести к неадекватной активации иммунитета [30,67,169].

Ассоциированные с вирулентными фагами изменения микробиоты служат иницирующим фактором разнообразных заболеваний, в том числе нейродегенеративной патологии и некоторых типов рака, которые характеризуются связью с микробиомом и аутоиммунностью [167–171].

Есть данные, что фаги могут влиять на организм человека через индуцирование повышенной кишечной проницаемости. Например, показано, что бактериофаги могут ухудшать

состояние кишечного барьера и вызывать «протекание» кишечника при повышенном отношении лактулоза/маннитол вследствие каскада изменений прокариотного баланса микробиома. Это, в конечном итоге, приводит к понижению численности видов *Lactobacillus* и *Feacalibacterium*, которые являются важными регуляторами кишечного барьера [170]. Индуцируемая фагами кишечная проницаемость сопровождалась повышением в плазме концентрации эндотоксина и увеличением провоспалительных цитокинов, что характерно для хронического воспаления [169].

В частности, выявлено увеличение количества вирулентных бактериофагов представителей рода *Lactococcus* у пациентов с болезнью Паркинсона. Поскольку при этом отмечалось 10-кратное снижение лактококков, синтезирующих нейротрансмиттеры, исследователи связывают установленные изменения в фагобиоме с развитием или поддержанием нейродегенеративной патологии [167]. По мнению некоторых исследователей, изменения в кишечном микробиоме и в нейротрансмиттерах, продуцируемых бактериями, могут играть роль в инициации α -синуклеинового нарушения сворачивания в нервной системе кишечника и, в свою очередь, распространяться по блуждающему нерву в центральную нервную систему, что может иницировать развитие болезни Паркинсона [10,155].

В исследованиях G. Tetz и V. Tetz (2018) установлено, что после перорального введения животным различных бактериофагов они обнаруживаются в крови. Причем транслокация бактериофагов (фагемия) ассоциировалась с повышением проницаемости кишечника, независимо от присутствия бактериальных ассоциантов исследуемых фагов в составе кишечного микробиома. В частности, после введения *reg os* в крови животных в высокой концентрации ($5-10^{10}$ фаговых частиц в одном миллилитре) обнаруживали фаги бактерий родов *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Bacillus* и *Paenibacillus* [47]. Эти же авторы наблюдали наличие бактериофагов в спинномозговой жидкости лиц, страдающих нейродегенеративными заболеваниями. Например, в спинномозговой жидкости больных рассеянным склерозом обнаружены бактериофаги шигелл и стафилококков [169]. Поскольку у пациентов с рассеянным склерозом наблюдается повышенная проницаемость кишечника и нарушение гематоэнцефалического барьера,

предполагается, что это усиливает шансы для прохождения фагов из кишечника в спинномозговую жидкость и мозг [58,111].

Исследователи допускают, что циркуляцию фагов в спинномозговой жидкости ранее не обнаруживали в связи с тем, что многие метагеномные исследования биологических жидкостей человека базировались на секвенировании 16S рНК-гена, что позволяет идентифицировать бактериальные виды, но не бактериофаги, обнаружение которых требует шотган-секвенирования [169].

В крови пациентов с саркоидозом и с болезнью Крона обнаружены микобактериофаги [27,67]. Различные бактериофаги также находили в образцах крови после перорального приема антибиотиков пациентами с бактериальными инфекциями, тогда как до приема антибиотиков фаги в их крови не обнаруживались [67]. Неизвестно, имели ли эти фаги кишечное происхождение.

Строго вирулентный *Listeria*-фаг P100, который в некоторых странах широко используется при переработке куриного мяса с целью понижения уровня патогенных бактерий рода *Listeria*, был также обнаружен в крови при его добавлении к питьевой воде [132].

Исследования L. Shapiro и соавт. (2004) показали, что фаги проходят плацентарный барьер [157]. По мнению исследователей, транслокация фагов может затрагивать любую ткань организма, включая нервную систему, что свидетельствует о необходимости дополнительных исследований для выяснения роли фагов, циркулирующих в биологических жидкостях человека, в поддержании здоровья или развитии болезни [169].

В связи с наблюдением в ряде исследований феномена фагемии, некоторые авторы допускают, что кровь может иметь собственную «базовую линию» популяции вирусов, с которой виром желудочно-кишечного тракта может взаимодействовать при заболевании. Однако ответ на этот вопрос может быть получен только после проведения более глубоких исследований [30].

Выявлена способность бактериофагов непосредственно взаимодействовать с клетками и белками человека, что может приводить к развитию патологических процессов. Так, показано, что свободные бактериофаги могут взаимодействовать с эукариотными клетками, которые допускают их трансцитоз через слой эпителиальных клеток. За счет этого в желу-

дочно-кишечном тракте может формироваться фагово-эукариотное взаимодействие [126]. Несмотря на то, что молекулярные механизмы фагово-эукариотных взаимодействий в процессе транслокации еще слабо изучены, полученные данные поднимают важные вопросы о ранее неизвестных внутриклеточных эффектах фагов в эукариотных клетках [13,126].

Недавно американские исследователи сообщили об обнаружении у бактериофагов прион-подобных доменов и высказали предположение, что прионовые домены в белках бактериофагов могут участвовать в перекрестных взаимодействиях с эукариотными белками и приводить к нарушению сворачивания белков у человека [171].

Как сами фаги, содержащие ДНК или РНК, так и компоненты лизированных ими бактерий, являются важными источниками МАР (ассоциированных с микробами молекулярных паттернов), которые распознаются многими толл-подобными рецепторами (TLR), включая TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9, что индуцирует синтез цитокинов и включает в действие иммунные механизмы, часто приводящие к развитию аутоиммунной и другой патологии.

Защитные механизмы человека, препятствующие избыточной фагемии, изучены недостаточно. Наряду с достаточной изученностью гуморального иммунного ответа на бактериофаги [12,68,125], относительно клеточного иммунитета на бактериофаги данные весьма ограничены и неоднозначны [68,125].

Следует отметить, что присутствие нуклеиновых кислот не только фагов, но и всех других представителей микробиома, не может однозначно рассматриваться в качестве патологии, поскольку процесс транслокации происходит и в физиологических условиях. По данным некоторых исследователей, фаги нередко обнаруживаются в крови здоровых людей [27,67,88].

С использованием обширного шотган-секвенирования циркулирующей в крови свободной ДНК, M. Kowarsky и соавт. (2017) обнаружили множество бактерий и вирусов, сотни которых являются ранее неидентифицированными членами человеческого микробиома. При этом у пациентов с ослабленным иммунитетом обнаружено увеличение популяции TTV-вирусов, которые, как известно, охватывают семейство анеловирусов [88]. По мнению исследователей, анализ микробного генома крови может послужить одним из важных диагностических методов развития болезней, ассоциированных

с нарушением микробиома. Изменение метагенома крови может явиться причиной острых или хронических заболеваний, этиология которых до сих пор не выяснена, а раннее выявление этих изменений может иметь предсказательное значение и позволять пресимптоматически идентифицировать заболевание.

Некоторые данные показывают, что транслокация фагов может принести пользу макроорганизму, подавляя иммунный ответ на местные антигены кишечного микроба посредством ингибирования интерлейкина-2, фактора некроза опухоли и продукции γ -интерферона [70]. По мнению других авторов, иммунный ответ на фаг может указывать на потенциальную побочную реакцию у пациентов с ослабленным иммунитетом, которая может гипотетически ухудшить состояние пациента [169]. Показано, что пациенты с нарушенным иммунитетом отличаются более высокой концентрацией нуклеиновых кислот в крови, что, очевидно, объясняется ослабленными защитными барьерами между местами обитания микробных сообществ и кровью. В целом, в настоящее время нет единого мнения относительно безопасности бактериофагов.

Поскольку у пациентов с некоторыми заболеваниями и расстройствами, включая воспалительную болезнь кишечника, периодонтит, усиление устойчивости к антибиотикам и др., обнаружены изменения в составе фагобиома, исследователи ассоциируют эти формы патологии с изменениями в структуре бактериофагов [5,7,78,98,102,116,117,119,127,153]. Однако данные заболевания сопровождаются также изменениями в составе бактериальных популяций, в связи с чем пока трудно утверждать о том, модификация какого компонента микробиома является первичным фактором, индуцирующим развитие болезни.

Тем не менее, в ряде работ прослежена ассоциация между заболеваниями и увеличением количества вирулентных бактериофагов. Увеличение популяций вирулентных фагов, осуществляющих массивный лизис физиологических бактерий, приводит к нарушению кишечного барьера, фагемии, циркуляции фагов в кровотоке и спинномозговой жидкости. Это приводит к взаимодействию фагов с клетками и белками человека, что не наблюдается в физиологических условиях [169]. Также фаги были обнаружены в метагеномах дыхательных путей пациентов, страдающих муковисцидозом (кистозным фиброзом). Причем, как разнообразие,

так и относительная численность фагов в биоме больных кистозным фиброзом отличаются от таковых у пациентов с некистозным фиброзом [184]. Полагают, что эти изменения ассоциированы с бактериофагами. Например, мукоидные штаммы бактерий вида *Pseudomonas fluorescens* являются более вирулентными, чем их немучоидные изогенные варианты. Такая фенотипическая характеристика приобретает в присутствии фагов, поскольку она наделяет защитой против фаговой инфекции. Соответственно, мукоидные штаммы становятся устойчивыми против фагов с соответствующими пагубными последствиями для пациентов [159].

Как было показано в работе A. Reyes и соавт. (2013), кишечный микробиом крайне чувствителен к изменению популяции бактериофагов, что выражается в изменении его бактериального состава. Лизис бактерий также приводит к выделению в среду протеинов, липидов и нуклеиновых кислот, которые выступают в качестве патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMPs) и антигенов, запускающих провоспалительные каскадные сигналы, повреждение тканей и изменение клеточной проницаемости [147].

Еще одним потенциальным следствием в изменении кишечных бактериофагов может быть возникновение прямого воздействия бактериофагов на макроорганизм. Например, бактериофаги могут перемещаться из желудочно-кишечного тракта в соматические системы животных и людей [128]. Бактериофаги также могут вызывать ответные реакции гуморальной иммунной системы. Кроме того, стимуляция макрофагов элементами бактериофагов вызывает MyD88-зависимое формирование проинфламаторных цитокинов [56].

Установлено, что свободные вирулентные фаги наиболее распространены в биотопах лиц, страдающих заболеваниями кишечника, и их концентрация возрастает при приеме антибиотиков [110]. Например, существует мнение, что ассоциированный с бактериофагами дисбиоз может являться этиологическим фактором развития воспалительных заболеваний кишечника и колоректального рака [75,164].

В ряде работ обнаружены заметные различия в количестве бактериофагов в биопсиях толстой кишки у здоровых индивидуумов и больных воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) [30,93,128,137]. J.M. Norman и соавт. (2015) отмечали увеличение численно-

сти фагов (главным образом, *Caudovirales* и *Microviridae*) у лиц с болезнью Крона и язвенным колитом. При этом понижалась численность бактерий, ассоциированных с данными фагами. По мнению авторов, выявленная зависимость может объясняться динамикой «хищник-жертва» и развитием дисбиоза, влияющего на патогенез болезни [128]. Кроме того, лизис бактерий приводит к высвобождению белков, липидов и нуклеиновых кислот, которые могут вызывать воспаление кишечника [97]. Поскольку хроническое воспаление кишечника приводит к разрушению и усилению проницаемости эпителиальной ткани, полагают, что следствием этого может быть увеличение системного воздействия на поток микробных иммуногенов, в том числе и бактериофагов. Усиливающийся при этом лизис бактериальных клеток способствует сохранению и еще большему усугублению воспаления. По этим причинам, бактериофаги могут служить антигенами, которые стимулируют иммунитет макроорганизма и воспаление [30].

По данным исследователей, у пациентов с ВЗК заметно возрастала популяция фагов бактериальных родов *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* и *Streptococcus*, то есть бактерий сахаролитической группы. Причем на фоне увеличения численности фагов снижалось их разнообразие. Так, здоровые участники исследования содержали в среднем 62% из 23 коревых фагов, тогда как у пациентов с язвенным колитом это количество составляло 37%, а у лиц с болезнью Крона — 30% [127].

В работе J.R. Penades и соавт. (2015) проведено сравнение фагобиома лиц, страдающих болезнью Крона, и их здоровых родственников, которое показало значительные различия в составе и таксономии бактериофагов [135]. По данным P. Lepage и соавт. (2008), в кишечнике пациентов с болезнью Крона количество бактериофагов в 30 раз превышало их количество в кишечнике здоровых пациентов. По мнению авторов, это является следствием индукции профагов в условиях развития воспалительных процессов [93].

Некоторыми исследованиями установлено, что, помимо бактериофагов, у больных ВЗК изменяются и другие члены виroma. Согласно современным данным, эукариотные вирусы в количественном соотношении значительно уступают бактериофагам, однако их роль в функционировании виroma является бесспорной. Пока мало сведений имеется отно-

сительно того, как распространяются эти инфекционные агенты. Вместе с тем, важно отметить, что вирусы эукариот могут изменять течение воспалительных болезней, влияя на генетические маркеры риска ВЗК, что подтверждается работами, основанным на изучении мышей с мутацией в генах *Il-10* или *Atg16l1* [17,128,164].

Как и бактериофаги, эукариотные вирусы являются иммуногенными. Например известно, что ВИЧ-1 и ротавирусы переходят из кишечника и распространяются в периферической ткани с участием компонентов иммунной системы. Энтероциты способны распознавать специфические фаговые пептиды и транспортировать их через барьер слизистой оболочки [67]. Транслокация у ВИЧ-пациентов ассоциируется с системным воспалением [120].

W. Wang и соавт. (2015) исследовали РНК-вирусы в кишечной ткани у 10 пациентов с ВЗК и у 10 здоровых подопытных. Результаты показали, что больные содержат больше эукариотных вирусов, чем здоровые подопытные. Так, представители семейства *Adenoviridae* присутствовали в образцах пациентов с ВЗК, но их не было в здоровом контроле. Человеческие эндогенные ретровирусы (HERV) были обнаружены в виромах больных с ВЗК. В частности, экспрессия HERV-белков была связана с воспалительным состоянием. Значительно более высокие уровни HERV наблюдали у ВЗК-пациентов с ко-инфекцией герпесвирусами. Значение этой ассоциации по отношению к ВЗК неизвестно, однако инфицирование другими вирусами может инициировать экспрессию HERV [179].

Следует отметить, что информация относительно роли в составе микробиома эукариотных представителей виroma не менее противоречива, чем касательно бактериофагов. Наряду с предположениями об их участии в патогенезе заболеваний, в отдельных работах указывается способность эукариотных вирусов формировать иммунную защиту макроорганизма от вирусных и, предположительно, бактериальных инфекций [1,18,182,183]. Установлена способность герпесвирусов активировать НК-клетки, что повышает иммунную защиту макроорганизма от канцерогенеза [182].

Модификации фагобиома отмечены и при экстраинтестинальных заболеваниях. Так, измененные бактериофаги наряду с дисбиозом наблюдались у пациентов с периодонтальным заболеванием, что свидетельствует о том,

что вирусы также могут участвовать в здоровье полости рта [98,154].

Результаты исследований G. Zhao и соавт. (2017) показали, что у пациентов с диабетом 1 типа наблюдались изменения в составе кишечных фагобиомов по сравнению со здоровыми лицами. Причем фагобиомные изменения имели первичный характер относительно изменения популяций бактерий, ассоциированных с этими фагами. Полученные результаты позволили авторам сделать предположение о первичной роли фагобиомных изменений в развитии дисбиоза [190]. Однако, учитывая небольшое количество пациентов, участвующих в этом исследовании, выводы о том, что изменения фагобиома предшествуют развитию бактериального баланса при развитии микробиомных нарушений, на наш взгляд, являются преждевременными и требуют доказательств в более масштабных исследованиях.

По утверждению Y. Ma и соавт. (2018), фагобиом кишечника может играть важную роль при диабете 2 типа, а также ожирении и связанных с ним заболеваниях. Причем обнаруженные авторами изменения в фагобиоме больных сахарным диабетом, по их мнению, нельзя объяснить просто как ко-вариацию с измененными бактериальными ассоциантами. По мнению исследователей, эти результаты означают, что в дополнение к кардинальному и высоко-специфичному взаимодействию бактерий и фагов, фагобиом в кишечной экосистеме может управлять и другими механизмами [100].

Поскольку бактериофаги ответственны за горизонтальный перенос генетического материала между бактериями, увеличение численности вирулентных фагов при заболеваниях могут приводить не только к изменению баланса бактериальных видов в составе микробиома. Следствием таких модификаций может явиться увеличение популяций бактерий с измененными свойствами, например с повышенной резистентностью к медикаментозной терапии, увеличенным спектром факторов патогенности. За счет этого бактериофаги могут также наносить вред здоровью человека [117]. Поэтому важную роль играет поддержание физиологического баланса прокариот и бактериофагов различных таксономических групп.

Фагобиом человека может пополняться за счет поступления бактериофагов из внешней среды. Например, человек может заразиться бактериофагами при бактериальных инфекциях, потреблении ферментированных продук-

тов питания и микробных препаратов, за счет нозокомиальных инфекций во время пребывания в стационарах и т.д. Неконтролируемое хаотичное поступление бактериофагов из внешней среды может вызывать непредсказуемые изменения фагобиома и микробиома в целом. В частности фаги, полученные из нозокомиальных клеток, имеют повышенную скорость мутаций, которая также влияет на ДНК профага, снабжая фаговые потомства новыми свойствами, в том числе связанными со способностью преодолевать защитные механизмы макроорганизма [169].

D. Willner и соавт. (2009) в исследовании образцов мокроты от пациентов с легочным заболеванием впервые предположили передачу бактериофагов между различными индивидуумами [184]. Позже в исследовании M. Lu и соавт. (2016) это наблюдение было подтверждено. При изучении оральных и кишечных виромов у 20 индивидуумов на протяжении 6-месячного периода установлено, что фаги устойчиво сохранялись в составе этих виромов и легко передавались между родственными и неродственными членами того же семейства [99].

Перенос фагов, кодирующих вирулентность или резистентность к антибиотикам, может оказывать взаимное влияние на формирование микробиомов у индивидуумов, находящихся в тесном контакте. Вместе с тем, по мнению некоторых авторов, оценка генов резистентности в человеческих виромах может быть завышенной [30,114,184], поскольку предполагается, что они редко кодируются в фагах [99]. F. Enault и соавт. (2017) в этой связи предлагают получаемые данные анализировать с осторожностью, в частности проводить надлежащую *in silico* проверку консервативных участков для более точного выяснения их функций, чтобы избежать преувеличенной интерпретации данных [52]. Эти авторы полагают, что индуцирование профагов, закодированных в прокариотных геномах, в процессе лечения антибиотиками, по-видимому, более важно для бактериального сообщества микробиома, приобретающего способность к повышению уровня генерализованной трансдукции [52].

Является ли изменение в фагобиоме человека причиной или следствием микробиомных нарушений, ассоциированных с различными заболеваниями, пока не установлено. Инфицируя специфические популяции бактерий и архей, фаги могут изменять структуру микро-

биоты. За счет уничтожения клеток определенных прокариот или изменения их фенотипа фаги могут участвовать в поддержании микробиомного гомеостаза или развитии дисбиоза и заболеваний, ассоциированных с ним. То есть, учитывая, что фагобиом может влиять на популяции бактерий, возможны два варианта: изменения прокариотного компонента микробиома, что влечет за собой модификацию фагобиома, или изменения в составе бактериофагов, способствующие нарушению бактериального баланса [127,137].

Следует учитывать вклад бактериофагов в результаты любых манипуляций с прокариотами. Например, бактериофаги способны повлиять на результаты микробиологических анализов при выявлении бактериального возбудителя болезни. В частности, есть данные о полном отсутствии или сниженном количестве бактериальных изолятов в клинических образцах с высокими титрами фагов, поскольку литическая активность фагов может сильно нарушать целенаправленное выделение бактерий [28]. Некоторые сложности также возникают при использовании молекулярных методов для выявления определенных вирулентных генов в патогенных бактериях. Поскольку некоторые гены локализованы в умеренных фагах, а методы экстракции ДНК не различают бактериальные и фаговые ДНК, такие гены, как, например, ген Shiga-токсина, можно обнаружить при отсутствии токсин-продуцирующих бактерий [105]. Обнаружение некоторых бактериальных групп по 16SrДНК с использованием кПЦР или посредством геномного секвенирования в смешанных образцах также может давать ложные результаты, если образец содержит фаги, и фактически ДНК в фагах амплифицируется в отсутствие интактных бактериальных клеток. Этим можно объяснить несоответствие между большим количеством генных копий 16SrДНК, полученных кПЦР-амплификацией, и иногда наблюдаемым отсутствием бактериальных изолятов [57]. Одна из гипотез утверждает, что такие положительные результаты могут быть связаны с амплификацией бактериальной ДНК в фаговых частицах или бактериальной ДНК, высвобождаемой в образце после фагового лизиса [125].

На состав и функциональную активность виroma в целом и фагобиома, в частности, влияет множество экзогенных и эндогенных факторов. Как и в случае прокариотного ком-

понента микробиома, на состав бактериальных и эукариотных вирусов каждого индивидуума влияет рацион питания, прием медикаментозных препаратов, санитарно-гигиенические факторы, географическая локализация, возраст, образ жизни, время года и др. [43,45,114,128,130,145]. В частности показано, что в случае, когда участники исследования получали одинаковую диету, наблюдалось некоторое сближение фагобиомов, хотя у каждого индивидуума при этом сохранялся собственный уникальный состав бактериофагов [114].

Вирулентные фаги могут формироваться из профагов за счет их индукции вследствие воздействия различных стимулов окружающей среды, например стресса, приема антибиотиков и других медикаментозных средств и др. Это вызывает изменение в функционировании бактериофагов, что в свою очередь выражается в переходе к активному лизису бактерий и заражению соседних клеток. Этот процесс также приводит к выделению большого количества данных вирусов в просвет кишечника. Индукция профагов может приводить к развитию дисбиотических изменений в составе прокариотного компонента микробиома и углублению патологических изменений в организме [128,130]. Например, S. Mills и соавт. (2013) показали, что многие из вирулентных фагов развиваются из профагов в условиях стресса. В таких условиях профаги становятся важным регулятором микробиома и сами могут приводить к развитию дисбиоза. Основываясь на этих наблюдениях, авторы предложили модель «перетасовки сообщества», которая предполагает, что индукция профагов приводит к нарушению физиологического соотношения между мутуалистами и патогенами и развитию дисбиоза [110].

Установлено, что антибиотическая терапия воздействует не только непосредственно на клетки прокариот, но и на вирусоподобные частицы [8]. Так, например, на мышах было показано, что хинолоны индуцируют профаги, кодирующие Shiga-токсин у *Escherichia coli*, что ведет к продуцированию токсина и смерти животного [188].

В продолжительном исследовании с участием четырех пациентов, при лечении которых использовалось внутривенное введение антибиотиков широкого спектра действия, показано воздействие антибиотической терапии на состав виroma. При этом наблюдалось большее влияние на виromы ротовой полости, чем на

виروмы кишечника. В частности, в оральном виrome пациентов, принимавших антибиотики, увеличивалась концентрация папиллома-вирусов. В фекальных виромах пациентов наблюдалось незначительное увеличение генов резистентности к антибиотикам [7,8].

В зависимости от механизма действия антибиотиков они могут оказывать различное воздействие на виром. Так, показано, что фторхинолоны, такие как норфлоксацин и ципрофлоксацин, могут за счет влияния на репликацию ДНК индуцировать выход фагов из клеток лизогенных бактериальных штаммов [2,113]. В то же время такие антибиотики, как колистин и меропенем, ингибировали продукцию фагов из-за разрушения клеточной мембраны [59,97].

Кроме антибиотиков, на структуру вирома могут оказывать воздействие и другие медикаментозные препараты. К примеру, установлено значительное воздействие на состав вирома иммуносупрессивной терапии [45]. Исследования, проведенные в группе пациентов, перенесших пересадку сердца и легких, которые получали с целью профилактики иммунодепрессанты, установили существенное изменение структуры вирусного компонента плазмы крови при относительной стабильности бактериальных сообществ микробиома. При этом отмечалось заметное увеличение в плазме крови ДНК анелловирусов [45]. Эти данные подтверждены другими исследованиями, которые показали ощутимый рост концентрации ДНК анелловирусов в крови лиц с иммунодефицитами [88].

Следует отметить, что данные, касающиеся количественных и таксономических различий обнаруженных вирусов при различных заболеваниях, пока еще весьма противоречивы. Виромные исследования на сегодня в основном проводились на небольших человеческих когортах в ограниченных географических областях и в большой степени были сосредоточены на описании фаговых популяций. На интерпретацию результатов могут влиять подходы, использованные для анализа данных в различных исследованиях.

Необходимо, однако, отметить, что грань между позитивными и негативными свойствами отдельных представителей вирома относительно влияния на здоровье человека очень хрупкая, и факторы, способствующие преобладанию агрессивных свойств, изучены очень плохо. Ведь хорошо известно, что многие

хронические вирусные инфекции оказывают мощное угнетающее воздействие на иммунитет, что позволяет вирусам повреждать слизистые оболочки, способствуя микробной транслокации за пределы биотопов, развитию воспалительных реакций и системных инфекций [76]. С другой стороны, накоплено множество свидетельств мирного сосуществования вирусов с организмом человека. Вероятно, потребуется еще немало исследований для того, чтобы получить более полные представления о месте симбиотических вирусов в микробиоме человека и методах поддержания физиологического баланса между отдельными звеньями микробиома.

В связи с растущей резистентностью патогенных бактерий к антибиотикам и поиском альтернативных путей борьбы с инфекциями, в последние годы заметно возрос интерес к использованию вирусов, прежде всего бактериофагов, в клинических целях. Попытки использования бактериофагов для борьбы с возбудителями инфекций имеют достаточно давнюю историю. Еще в начале 20-го века французский ученый Ф. Д'Эрелль предложил использование бактериофагов для лечения бактериальных инфекций у человека и животных [46]. Так, в 1919 году, то есть задолго до открытия антибиотиков, предлагалось использование фагов для подавления патогенов вида *Shigella dysenteriae* [181]. Такой подход, однако, не получил большой поддержки из-за ряда трудностей, в частности необходимости идентификации возбудителя в связи с высокой специфичностью фагов. После открытия антибиотиков интерес к бактериофагам как антибактериальным агентам резко упал. И только в последние годы, в связи с ростом антибиотикорезистентности бактериальных патогенов, ученые снова обратили внимание на фаги как на перспективные противомикробные средства, особенно в случае мультирезистентных возбудителей инфекций [69].

Гены устойчивости к антибиотикам, включая β -лактамы, аминогликозиды, хлорамфениколы и тетрациклин, представляют собой серьезную угрозу для современного лечения распространенных заболеваний, и в настоящее время эти гены, как представляется, в избытке присутствуют в окружающей среде [95,189]. Особенно трудными для лечения сегодня являются нозокомиальные инфекции, вызванные патогенами группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneu-*

moniae, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter spp.*) [95].

В поисках перспективных стратегий борьбы с резистентностью бактерий к антибиотикам предлагается пересмотреть практику фаговой терапии, которая, по мнению ее сторонников, имеет определенные преимущества перед антибиотиками, прежде всего, благодаря специфичности к чувствительным бактериям, способности к деградации биопленки и относительно низкой токсичности по отношению к организму человека [21].

Получен ряд обнадеживающих результатов, установивших перспективность фаготерапии в лечении некоторых бактериальных инфекций [32,107]. Особый интерес вызывают полиштаммовые смеси бактериофагов (фаговые коктейли), использование которых позволяет избежать случаев неудачного лечения, обусловленного приобретением патогенными бактериями резистентности к отдельному фагу [95]. Вместе с тем показано, что даже устойчивые к фагу патогены после встречи с его вирулентными формами зачастую утрачивают некоторые вирулентные свойства и поддаются активной атаке со стороны иммунной системы с формированием сбалансированного противовоспалительного эффекта [32,69]. Некоторые фаговые коктейли прошли достаточно успешные испытания на животных моделях для лечения устойчивых к антибиотикам инфекций кожи, легких и желудочно-кишечного тракта [95]. Следует отметить, что в некоторых странах бывшего СССР, особенно в России и Грузии, препараты бактериофагов на протяжении длительного времени используются в клинической практике. Однако относительно эффективности фаговой терапии мнения специалистов неоднозначны. В частности, в процессе исследований выявлена зависимость фаговой терапии от географии региона. Например, использование коктейлей фагов, полученных в России, показало их неэффективность в странах Азии [21,86]. Использование бактериофагов в лечении больных с различными инфекциями (отитом, инфекциями дыхательных и мочевыводящих путей, ожоговыми ранами) также не всегда приводило к положительным результатам [69,175,194].

Несмотря на растущий интерес к бактериофагам, в настоящее время фаговые препараты, одобренные для использования в медицине, имеются только в постсоветских странах. В то же время в странах ЕС и Соединенных

Штатах пока отсутствуют средства фаговой терапии, разрешенные для клинического применения, что обусловлено отсутствием масштабных клинических исследований, результаты которых убедительно доказывают их безопасность и эффективность.

Препятствием на пути широкого внедрения фаговой терапии в медицинскую практику является ряд особенностей бактериофагов. Одной из проблем, возникающих при использовании бактериофагов в клинических целях, является их специфичность. Казалось бы, специфичность фагов является позитивным их отличием от антибиотиков, поскольку гарантирует безопасность для физиологического прокариотного звена микробиома. Однако из-за того, что каждый бактериофаг инфицирует только строго определенный вид бактерий или даже определенный штамм, необходимо проведение бактериологического исследования биологического материала больного с целью фаготипирования. Это значительно отсрочивает начало фаготерапии, несмотря на разработку ускоренных методик определения фаготипа, например, с помощью ПЦР или масс-спектрометрии. Тем более, что эти методы внедряются достаточно медленно из-за высокой стоимости и требований к квалификации специалистов. Для решения практических трудностей, ассоциированных со специфичностью фагов, рекомендуется создание и распространение обширных коллекций фагов, действующих на клинически значимые штаммы возбудителей, и соответствующий опыт их клинического применения. Это позволит осуществлять быстрый поиск специфического фага относительно конкретного штамма возбудителя инфекции. При фаговой терапии нужно иметь большой арсенал препаратов, каждый из которых нужно тестировать и подбирать индивидуально для конкретного больного. Это, в конечном счете, приводит к значительному удорожанию такого персонализированного лечения.

Перед использованием бактериофагов нужно обязательно тестировать бактерии пациента на восприимчивость к фаговому препарату. Это можно делать лишь в хорошо оборудованных центрах, располагающих коллекциями фагов и лабораториями для микробиологического тестирования. Сеть таких центров целесообразно создавать в рамках планируемого развития персонализированной медицины.

Трудности вызывает также необходимость соблюдения особых условий хранения и транс-

портировки бактериофагов для поддержания их активности. Следует учитывать, что фаги имеют ограниченную стабильность в растворе и претерпевают значительное снижение титра фагов во время обработки и хранения.

Многие бактериофаги инактивируются в условиях низкого pH желудка при пероральном применении препаратов, а также ингибируются неспецифическим действием различных факторов в жидкостях организма. Для защиты фагов от неблагоприятных факторов некоторые специалисты предлагают инкапсуляцию фагов (например, в липосомах), что также может способствовать увеличению времени циркуляции фага, имеющего значение в случае системных или внутриклеточных инфекций [101].

Бактериофаги бессильны против тех бактерий, которые развиваются внутри эукариотных клеток. Поэтому они не могут заменить антибиотики в случае заболеваний, вызываемых ими.

Исследования на животных показали, что эффективность результатов фаговой терапии зависит от концентрации фагов, доставляемой в место заражения. Вместе с тем может наблюдаться снижение концентрации фагов *in vivo* из-за взаимодействия с антителами человека или другими защитными механизмами. Это может потребовать повторного введения фаговых препаратов.

Существует проблема доставки бактериофага в организм. Если микробная инфекция развивается в органах, куда фаговый препарат можно приложить напрямую в виде капель или спрея (на коже, открытых ранах, ожогах, слизистых оболочках носоглотки, ушей, глаз), эффективность терапии обычно выше. Однако при инфекции другой локализации вопросы доставки бактериофагов являются более сложными для осуществления.

Оказалось, что динамика взаимодействия бактериофага с клеточным ассоциантом может также изменяться в соответствии с гомогенностью и структурой среды, а также в зависимости от условий, которые облегчают встречу «фаг-клетка» [44]. Очевидно, с этой особенностью обусловлены многие неудачные попытки применения фаговой терапии при инфекциях толстой кишки, плотное содержание которой затрудняет бактериофагам поиск клеток-мишеней.

Несмотря на утверждения ряда авторов о безопасности фаговой терапии для здоровья пациентов, заслуживают внимания исследо-

вания последних лет, результаты которых демонстрируют способность пероральных препаратов бактериофагов вызывать осложнения у животных. В частности, G. Tetz и V. Tetz (2016), используя мышиную модель, показали, что пероральное введение коммерческого российского фагового коктейля способно увеличить кишечную проницаемость и повысить сывороточные уровни воспалительных циркулирующих иммунных комплексов в крови, которые связаны с рядом патологических состояний [170].

В то же время Y. Hong и соавт. (2016) не выявили значительного повышения уровня цитокинов в ответ на лечение фагом к *E. coli* O157 [79]. N.V. Pincus и соавт. (2015) обнаружили, что воспалительная реакция на фаг зависит от места заражения. Авторы использовали фаг SATA-8505, специфичный к устойчивому к метициллину штамму *Staphylococcus aureus*. Показано, что используемый бактериофаг не вызывал воспалительных реакций в мононуклеарных культурах периферической крови. Тем не менее, этот фаг вызывал продукцию γ -интерферона в первичных культурах кератиноцитов человека и индуцировал воспалительные реакции на моделях мышей, особенно на модели хронического гранулематозного заболевания [138].

Очевидно, что многие проблемы безопасности фаговой терапии все еще нуждаются в решении. Вполне вероятно, что физиологический ответ на фаги также различается у разных людей и зависит от конкретных используемых штаммов фагов. Чтобы определить безопасность лечения фагом для здоровья человека, будущие исследования должны быть сосредоточены на клинических испытаниях, так как большая часть текущих исследований иммунологического ответа на фаг ограничена моделями на животных.

Несмотря на сложности использования бактериофагов в медицине, в последние годы работы в этом направлении начали проводиться более интенсивно, и ряд препаратов на основе природных и генетически модифицированных штаммов бактериофагов, активных в отношении таких патогенных бактерий, как *Clostridium difficile* и *Pseudomonas aeruginosa*, уже проходят доклинические исследования. Однако их применение в клинике при условии успешных результатов исследований планируется не ранее 2023 года [38].

Некоторые исследователи полагают, что бактериофаговое сообщество микробиома

может играть роль в поддержании здоровой микробиоты и, возможно, восстановлении дисбиотического микробиома [103]. Однако механизмы, посредством которых сообщества фагов могут содействовать микробиомному здоровью, находятся еще только на уровне обсуждений. Для практического применения фагов с целью восстановления или поддержания общего микробиома необходимы дополнительные глубокие исследования, позволяющие создание доступных методов оценки микробиомных нарушений, разработку персонализированных поливалентных фаговых препаратов и методов их введения в биотопы человека.

Показано, что некоторые бактериофаги способны тормозить рост раковых клеток, связываясь с белками их мембраны. Кроме того, фаги могут подавлять иммунный ответ организма (в том числе выработку Т-клеток), предотвращая отторжение трансплантированных тканей [54,55].

Как полагают М. Lusiak-Szelachowska и соавт. (2017), заслуживает также внимания способность бактериофагов опосредовать положительные эффекты фекальной трансплантации [97].

S.J. Ott и соавт. (2017) при лечении пациентов с *Clostridium difficile*-инфекцией использовали фекальную трансплантацию донорским материалом, освобожденным от микробных клеток путем стерильной фильтрации. Использованные в исследовании фекальные фильтраты, помимо бактериальных фрагментов, белков, антимикробных соединений, метаболитических продуктов и олигонуклеотидов/ДНК, содержали фаги, которые, по мнению исследователей, могли внести определенный вклад в суммарный позитивный эффект [133].

По данным Т. Zuo и соавт. (2017), результативность фекальной трансплантации пациентов с инфекцией *Clostridium difficile* была выше, когда доноры имели более высокое разнообразие и численность бактериофагов порядка *Caudovirales* по сравнению с реципиентами. Оказалось, что у более половины пациентов наблюдался повтор заболевания после фекальной трансплантации, если виром реципиента был богаче, чем виром донора [192].

В некоторых работах выявлены противовоспалительные свойства бактериофагов. Полагают, что они реализуются посредством двух механизмов: снижения популяции клеток условно-патогенных бактерий с провоспалительной активностью и непосредственного

влияния на развитие воспалительных реакций [69,109]. Однако, учитывая результаты других исследований, показавших провоспалительные эффекты некоторых бактериофагов [70,169], эти вопросы требуют дальнейшего изучения.

Показана способность бактериофагов, в частности фага T4, ингибировать некоторые вирусные [142] и грибковые инфекции [136], отдельные фаги уменьшают продукцию реактивных форм кислорода, вызванную бактериями и эндотоксином, в связи с чем исследователи оценивают их потенциал в лечении сепсиса [180].

Большой научный резонанс вызвали результаты исследований, показавшие перспективность фаговой терапии при таких тяжелых нейродегенеративных заболеваниях, как болезни Альцгеймера и Паркинсона. Оказалось, что нитевидный бактериофаг M-13, специфичный к бактериям вида *Escherichia coli*, способен уменьшать количество амилоидных бляшек и телец Леви [89,157]. Основная проблема практического применения фагов для этих целей обусловлена отсутствием эффективного и безопасного метода введения фаговой субстанции в мозг.

Существует взгляд на бактериофаги как на иммуномодуляторы с клинически полезными свойствами, которые можно применять даже у иммунокомпрометированных лиц [67,69]. Вместе с тем выявленная иммуногенность бактериофагов, преимущественно ассоциированная с капсидными белками, является одним из ограничивающих факторов по их применению в качестве антибактериального препарата.

Перспективной особенностью бактериофагов является выявленная у них способность разрушать бактериальные биопленки за счет наличия экзополисахариддеполимеразной активности [4,64]. Однако неясно, может ли это свойство оказывать деструктивное воздействие на приэпителиальные биопленки, заселенные физиологическими бактериями.

Вопрос совместного использования бактериофагов и антибиотиков все чаще рассматривается как одно из перспективных направлений борьбы с возбудителями инфекций. Так, получены убедительные данные, свидетельствующие о синергизме воздействия такого комбинированного подхода к борьбе с бактериальными возбудителями инфекций [172].

Комплексная антибиотик-фаговая терапия, по мнению специалистов, сможет позволить,

например, снизить дозы антибиотиков до значений, не вызывающих выраженных побочных эффектов. Соответственно, и механизм выработки у бактерий устойчивости к обоим компонентам комбинированного лекарства менее вероятен. Таким образом, бактериофаги могут стать не столько альтернативой, сколько дополнением и усилением в борьбе с инфекциями.

Фаги могут применяться не только в качестве противомикробных препаратов. Рассматриваются вопросы их применения в качестве носителей лекарственных препаратов, антител или химических соединений с терапевтическими свойствами.

Вызывает также интерес фаготерапия для сдерживания бактерий, загрязняющих пищевые продукты, например представителей вида *Listeria* [40]. Технологии обезвреживания с помощью бактериофагов продуктов питания достаточно активно внедряются в пищевую индустрию. Фаговые препараты, в частности, используются для подавления в продуктах питания таких патогенных бактерий, как *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, MRSA (метициллинрезистентный *Staphylococcus aureus*), *E. coli* O157: H7, *Mycobacterium tuberculosis*, *Campylobacter spp.*, *Pseudomonas syringae* и др. [53,124].

Бактериофаговые препараты также используются в качестве средств дезинфекции. В частности, созданы препараты фагов в виде аэрозолей, которые успешно испытаны в экспериментах по защите сельскохозяйственных птиц на крупных фермах, а также в рыбоводческих хозяйствах [101].

Многообещающими являются работы в направлении использования кодируемых бактериофагами литических ферментов. Трансмембранный холин и лизин, используемые бактериофагами для лизиса клеточных стенок бактерий, в последние годы привлекают внимание исследователей как компоненты нового поколения антибактериальных препаратов. Эти ферменты специфичны для каждого фага по структуре и активности, однако многие из них могут лизировать сразу несколько патогенных бактерий [131]. Гены для фаговых литических ферментов экспрессируются бактериальной клеткой во время литического цикла и за счет гидролиза клеточной стенки способствуют выделению вирусного потомства. Открытие и анализ этих белков создает возможности для разработки новых фармацевтических препаратов на основе фагов [95].

Одним из недостатков фаговых лизинов является их недостаточная активность относительно грамотрицательных бактерий, поскольку мишенью этих ферментов является пептидогликан, который у грамотрицательных бактерий защищен липополисахаридной мембраной. Однако уже получены искусственные молекулы лизина, лишенные этого недостатка. По мнению исследователей, будущий потенциал применения фаговых лизинов включает комбинированное их применение в сочетании с антибиотиками [33].

Уже испытываются в качестве противобактериальных средств отдельные компоненты фагов и вещества, используемые ими для поражения бактерий. Например, бактериоцины, фрагменты хвостовой структуры фагов, которые повреждают клеточную стенку бактерий, образуя в ней поры, что приводит к быстрой потере важных для клетки ионов и ее гибели. Таким образом, фаговые компоненты и ферменты могут быть гораздо более практичным терапевтическим средством из-за их сниженного иммунологического потенциала, а также простоты производства, очистки и хранения.

Несмотря на то, что имеющаяся литература по использованию бактериофагов и их белков все чаще показывает перспективность фаговой терапии в качестве одной из альтернатив или дополнения к антибиотикам, расхождения в последних данных об иммуномодулирующих эффектах, диапазоне чувствительных патогенов и потенциале горизонтального переноса генов совершенно ясно показывают необходимость дальнейших исследований с целью лучшего понимания взаимодействия между фагом, микробиомом и организмом человека.

Очевидно, что вряд ли в ближайшее время удастся на основании полученных результатов исследований прийти к созданию эффективных и безопасных средств борьбы с резистентными возбудителями инфекций. Для решения растущей проблемы устойчивых к антибиотикам инфекций необходимы масштабные и глубокие исследования. В будущем, возможно, терапия с использованием некоторой комбинации бактериофагов, полученных из фагов литических белков, биоинженерных фагов и антибиотиков позволит повысить эффективность лечения больных.

В последние годы осуществляются попытки использования, помимо бактериофагов, эукариотных вирусов. Например, развивается направление виротерапии, основанное на ис-

пользовании специальных генетически измененных эукариотных вирусов для лечения ряда заболеваний, преимущественно онкологической патологии. Использование онколитических вирусов, по мнению ученых, представляет собой перспективное направление иммунотерапии рака [60,152,158]. Основные проблемы, которые возникают при работе с вирусами, — это вероятность развития иммунного ответа в организме реципиента, а также неконтролируемое встраивание генетических конструкций в геном здоровых клеток и, как следствие, возникновение раковой опухоли. Поэтому широкое применение этого метода в клинической практике требует дальнейших исследований.

Таким образом, изучение виroma человека, как одного из важных компонентов микробиома, приобрело грандиозный размах. Это имеет огромное значение для более глубокого познания микробной системы человека в целом. Действительно, ни один из компонентов микробиома человека невозможно изучать отдельно, учитывая тесную взаимосвязь

виroma с прокариотными и эукариотными сообществами. Только интегральный анализ всех частей микробиома, их взаимоотношений между собой и с клетками макроорганизма, может привести к пониманию роли этого сложнейшего микробного сообщества в поддержании здоровья или развитии болезней.

Накопленный материал в области изучения виroma предполагает, что усиление внимания в исследованиях микробиома человека к роли вирусов, наряду с другими членами уникального микробного сообщества, позволит достичь значительного прогресса в этой области знаний. Большое количество исследований последних лет указывает на огромный потенциал симбиотических вирусов в диагностических и терапевтических применениях. Однако необходимы дальнейшие исследования для более глубокого понимания роли виroma в здоровье и заболеваниях, а также оценки потенциального использования некоторых его представителей для клинической терапии и контролируемых манипуляций с микробной экосистемой человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобир ВВ, Понятовський ВА, Дюжикова ОМ, Широбоков ВП. (2015). Нові дані про людський віром та вплив мікробіоти на його функціонування. Вісник морфології. 21; 2: 531–537.
2. Уманский ГК. (1979). Презумпция невиновности вирусов. Химия и жизнь. 5: 25–29.
3. Янковский ДС, Широбоков ВП, Дымент ГС. (2017). Микробиом. Киев: ФЛП Верес О.И.: 640.
4. Abedon ST. (2015). Ecology of Anti-Biofilm Agents I: Antibiotics versus Bacteriophages. Pharmaceuticals (Basel). 8: 525–558. doi 10.3390/ph8030525.
5. Abeles SR, Robles-Sikisaka R, Ly M, Lum AG, Salzman J, Boehm TK, Pride DT. (2014). Human oral viruses are personal, persistent and gender-consistent. ISME J. 8(9): 1753–1767. doi 10.1038/ismej.2014.31. Epub 2014 Mar 20.
6. Abeles SR, Pride DT. (2014). Molecular bases and role of viruses in the human microbiome. J Mol Biol. 426: 3892–3906. doi 10.1016/j.jmb.2014.07.002. Epub 2014 Jul 11.
7. Abeles SR, Ly M, Santiago-Rodriguez TM, Pride DT. (2015). Effects of Long Term Antibiotic Therapy on Human Oral and Fecal Viromes. PLOS ONE. 10:e0134941 doi 10.1371/journal.pone.0134941.
8. Abeles SR, Jones MB, Santiago-Rodriguez TM, Ly M, Klitgord N, Yooseph S, Nelson KE, Pride DT. (2016). Microbial diversity in individuals and their household contacts following typical antibiotic courses. Microbiome. 4(1): 39. doi 10.1186/s40168-016-0187-9.
9. Asadulghani M, Ogura Y, Ooka T, Itoh T, Sawaguchi A, Iguchi A et al. (2009). The defective prophage pool of Escherichia coli O157: prophage-prophage interactions potentiate horizontal transfer of virulence determinants. PLoS Pathog. 5: e1000408. doi 10.1371/journal.ppat.1000408.
10. Asano Y, Hiramoto T, Nishino R, Aiba Y, Kimura T, Yoshihara K, Koga Y, Sudo N. (2012). Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 303: 1288–1295. doi 10.1152/ajpgi.00341.2012. Epub 2012 Oct 11.
11. Ayukeykong J, Lindh M, Nenonen N, Tah F, Nkuo-Akenji T, Bergstrom T. (2011). Enteric viruses in healthy children in Cameroon: viral load and genotyping of norovirus strains. J. Med. Virol. 83: 2135–2142. doi 10.1002/jmv.22243.
12. Bacon EJ, Richmond SJ, Wood DJ, Stirling P, Bevan BJ, Chalmers WS. (2017). Serological detection of phage infection in Chlamydia psittaci recovered from ducks. Vet. Rec. 119: 618–620. doi 10.1136/vr.119.25-26.618.
13. Barr JJ. (2017). A bacteriophages journey through the human body. Immunol. Rev. 279(1): 106–122. doi 10.1111/imr.12565.
14. Barr JJ, Auro R, Furlan M, Whiteson KL, Erb ML, Pogliano J, Stotland A, Wolkowicz R, Cutting AS, Doran KS, Salamon P, Youle M, Rohwer F. (2013). Bacteriophage adhering to mucus provide a non-host-derived immunity. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 110(26): 10771–10776. <https://doi.org/10.1073/pnas.1305923110>.
15. Barr JJ, Auro R, Sam-Soon N, Kassegne S, Peters G, Bonilla N, Hatay M, Mourrada S, Bailey B, Youle M, Felts B, Baljon A, Nulton P, Salamon J, Rohwer F. (2015). Subdiffusive motion of bacteriophage in mucosal surfaces increases the frequency of bacterial encounters. PNAS. 112: 13675–13680. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508355112>.
16. Barreira DM, Ferreira MS, Fumian TM, Checon R, de Sadosky AD, Leite JP, Miagostovich MP, Spano LC. (2010). Viral load and genotypes of noroviruses in symptomatic and asymptomatic children in southeastern Brazil. J. Clin. Virol. 47: 60–64. doi 10.1016/j.jcv.2009.11.012. Epub 2009 Dec 8.
17. Barker J, Vipond IB, Bloomfield SF. (2004). Effects of cleaning and disinfection in reducing the spread of norovirus contamination via environmental surfaces. J. Hosp. Infect. 58: 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2004.04.021>.
18. Barton ES, White DW, Cathelyn JS, Brett-McClellan KA, Engle M, Diamond MS, Miller VL, Virgin HW. (2007). Herpesvirus latency confers symbiotic protection from bacterial infection. Nature. 447: 326–329. doi 10.1038/nature05762.
19. Basic M, Keubler LM, Buettner M, Achard M, Breves G, Schroder B, Smoczek A, Jorns A, Wedekind D, Zschemisch NH, Gunther C, Neumann D, Lienenklaus S, Weiss S, Horneff MW, Mahler M, Bleich A. (2014). Norovirus triggered microbiota-driven mucosal inflammation in interleukin 10-deficient mice. Inflamm. Bowel Dis. 20: 431–443. doi 10.1097/01.MIB.0000441346.86827.ed.
20. Bengmark S. (2012). Gut microbiota, immune development and function. Pharmacol Res. 7: 1023–1029. doi 10.1016/j.phrs.2012.09.002. Epub 2012 Sep 16.
21. Bourdin G, Navarro A, Sarker SA, Pittet AC, Qadri F, Sultana S, Cravioto A, Talukder KA, Reuteler G, Brussow H. (2014). Coverage of diarrhoea-associated Escherichia coli isolates from different origins with two types of phage cocktails. Microb. Biotechnol. 7: 165–176. doi 10.1111/1751-7915.12113.
22. Breitbart M, Bonnain C, Malki K, Sawaya NA. (2018). Phage puppet masters of the marine microbial realm. Nature microbiology. 3: 754–766. doi 10.1038/s41564-018-0166-y.

23. Breitbart M, Hewson I, Felts B, Mahaffy JM, Nulton J, Salamon P, Rohwer F. (2003). Metagenomic analysis of an uncultured viral community from human feces. *J. Bacteriol.* 185: 6220–6223. doi 10.1128/JB.185.20.6220-6223.2003.
24. Breitbart M, Haynes M, Kelley S, Angly F, Edwards RA, Felts B, Mahaffy JM, Mueller J, Nulton J, Rayhawk S, Rodriguez-Brito B, Salamon P, Rohwer F. (2008). Viral diversity and dynamics in an infant gut. *Res. Microbiol.* 159: 367–373. doi 10.1016/j.resmic.2008.04.006. Epub 2008 May 1.
25. Breitbart M, Rohwer F. (2004). Global distribution of nearly identical phage-encoded DNA sequences. *FEMS Microbiol. Lett.* 236: 249–256. doi 10.1016/j.femsle.2004.05.042.
26. Breitbart M, Rohwer F. (2005). Here a virus, there a virus, everywhere the same virus? *Trends Microbiol.* 13: 278–284. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.04.003>.
27. Breitbart M, Rohwer F. (2005). Method for discovering novel DNA viruses in blood using viral particle selection and shotgun sequencing. *Biotechniques.* 39: 729–736. doi 10.2144/000112019.
28. Brown-Jaque M, Muniesa M, Navarro F. (2016). Bacteriophages in clinical samples can interfere with microbiological diagnostic tools. *Sci. Rep.* 6. doi 10.1038/srep33000.
29. Cadwell K. (2015). The virome in host health and disease. *Immunity.* 42(5): 805–813. doi 10.1016/j.immuni.2015.05.003.
30. Carding SR, Davis N, Hoyles L. (2017). Review article: the human intestinal virome in health and disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 46(9): 800–815. doi 10.1111/apt.14280. Epub 2017 Sep 4.
31. Castro-Mejia JL, Muhammed MK, Kot W, Neve H, Franz CM, Hansen LH, Vogensen FK, Nielsen DS. (2015). Optimizing protocols for extraction of bacteriophages prior to metagenomic analyses of phage communities in the human gut. *Microbiome.* 3: 64. doi 10.1186/s40168-015-0131-4.
32. Chan BK, Abedon ST, Loc-Carrillo C. (2013). Phage cocktails and the future of phage therapy. *Future Microbiol.* 8: 769–783. doi 10.2217/fmb.13.47.
33. Chopra S, Harjai K, Chhibber S. (2016). Potential of combination therapy of endolysin MR-10 and minocycline in treating MRSA induced systemic and localized burn wound infections in mice. *Int. J. Med. Microbiol.* 306: 707–716. doi 10.1016/j.ijmm.2016.08.003. Epub 2016 Sep 1.
34. Cieplak T, Soffer N, Sulakvelidze A, Nielsen DS. (2018). A bacteriophage cocktail targeting Escherichia coli reduces E. coli in simulated gut conditions, while preserving a non-targeted representative commensal normal microbiota. *Gut Microbes.* 9(5): 391–399. doi 10.1080/19490976.2018.1447291.
35. Colomer-Lluch M, Jofre J, Muniesa M. (2011). Antibiotic resistance genes in the bacteriophage DNA fraction of environmental samples. *PLoS ONE.* 6(3): e17549. doi 10.1371/journal.pone.0017549.
36. Colson P, Pagnier I, Yoosuf N, Fournous G, La Scola B, Raoult D. (2013). 'Marseilleviridae', a new family of giant viruses infecting amoebae. *Arch. Virol.* 158: 915–920. doi 10.1007/s00705-012-1537-y. Epub 2012 Nov 29.
37. Costello EK, Stagaman K, Dethlefsen L, Bohannan BJ, Relman DA. (2012). The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome. *Science.* 336: 1255–1262. doi 10.1126/science.1224203. Epub 2012 Jun 6.
38. Czaplewski L, Bax R, Clokie M, Dawson M, Fairhead H, Fischetti VA et al. (2016). Alternatives to antibiotics – a pipeline portfolio review. *Lancet. Infect. Dis.* 16: 239–251. doi 10.1016/S1473-3099(15)00466-1. Epub 2016 Jan 13.
39. Dabrowska K, Miernikiewicz P, Piotrowicz A, Hodyra K, Owczarek B, Lecion D et al. (2014). Immunogenicity studies of proteins forming the T4 phage head surface. *J. Virol.* 88: 12551–12557. doi 10.1128/JVI.02043-14. Epub 2014 Aug 20.
40. Dalmasso M, Hill C, Ross RP. (2014). Exploiting gut bacteriophages for human health. *Trends Microbiol.* 22: 399–405. doi 10.1016/j.tim.2014.02.010. Epub 2014 Mar 20.
41. Davies EV, Winstanley C, Fothergill JL, James CE. (2016). The role of temperate bacteriophages in bacterial infection. *FEMS Microbiol. Lett.* 363(5): fnw015. doi 10.1093/femsle/fnw015.
42. Davies MR, Broadbent SE, Harris SR, Thomson NR, van der Woude MW. (2013). Horizontally acquired glycosyltransferase operons drive salmonellae lipopolysaccharide diversity. *PLoS Genetics.* 9(6): e1003568. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003568>.
43. Delwart E. (2013). A roadmap to the human virome. *PLoS Pathog.* 9. doi 10.1371/journal.ppat.1003146. Epub 2013 Feb 14.
44. De Paepe M, Leclerc M, Tinsley CR, Petit M-A. (2014). Bacteriophages: an underestimated role in human and animal health? *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 4: 39. doi 10.3389/fcimb.2014.00039.
45. De Vlaminc I, Khush KK, Strehl C, Kohli B, Luikart H, Neff N F, Okamoto J, Snyder TM, Cornfield DN, Nicolls MR, Weill D, Bernstein D, Valantine HA, Quake SR. (2013). Temporal response of the human virome to immunosuppression and antiviral therapy. *Cell.* 155: 1178–1187. doi 10.1016/j.cell.2013.10.034.
46. D'Herelle F. (1917). Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysenteriques (An invisible microbe that is antagonistic to the dysentery bacillus). *Comptes rendus Acad. Sciences.* 165: 373–375. doi 10.1155/2014/382539.
47. Duerkop B, Clements C, Rollins D, Rodrigues J, Hooper L. (2012). A composite bacteriophage alters colonization by an intestinal commensal bacterium. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 109(43): 17621–17626. doi 10.1073/pnas.1206136109. Epub 2012 Oct 8.
48. Duerkop BA, Hooper LV. (2013). Resident viruses and their interactions with the immune system. *Nature immunology.* 14: 654–659. doi 10.1038/ni.2614.
49. Dutilh BE, Cassman N, McNair K, Sanchez SE, Silva GGZ, Barr JJ, Speth DR, Seguritan V, Aziz RK, Felts B, Dinsdale EA, Mokili JL, Edwards RA. (2014). A highly abundant bacteriophage discovered in the unknown sequences of human faecal metagenomes. *Nature Communications.* 5: 4498–4512. doi 10.1038/ncomms5498.
50. Dutilh BE, Reyes A, Hall RJ, Whiteson KL. (2017). Editorial: Virus Discovery by Metagenomics: The (Im)possibilities. *Front Microbiol.* 8: 1710. doi 10.3389/fmicb.2017.01710.
51. Eckardt AJ, Baumgart DC. (2011). Viral gastroenteritis in adults. *Recent Pat. Antinfect. Drug Discov.* 6(1): 54–63. PMID:21210762.
52. Enault F, Briet A, Bouteille L, Roux S, Sullivan MB, Petit MA. (2017). Phages rarely encode antibiotic resistance genes: a cautionary tale for virome analyses. *ISME J.* 11: 237–247. doi 10.1038/ismej.2016.90. Epub 2016 Jun 21.
53. Enderesen L, O'Mahony J, Hill C, Ross RP, McAuliffe O, Coffey A. (2014). Phage therapy in the food industry. *Annu Rev. Food Sci. Technol.* 5: 327–349. doi: 10.1146/annurev-food-030713-092415. Epub 2014 Jan 9.
54. Engels EA, Pfeiffer RM, Fraumeni JF, Kasiske BL, Israni AK, Snyder JJ, Wolfe RA, Goodrich NP, Bayakly AR, Clarke CA, Copeland G, Finch JL, Fleissner ML, Goodman MT, Kahn A, Koch L, Lynch CF, Madeleine MM, Pawlish K, Rao C, Williams MA, Castenson D, Curry M, Parsons R, Fung G, Lin M. (2011). Spectrum of cancer risk among US solid organ transplant recipients. *JAMA.* 306: 1891–1901. doi 10.1001/jama.2011.1592.
55. Eriksson F, Culp WD, Massey R, Egevad L, Garland D, Persson MA, Pisa P. (2007). Tumor specific phage particles promote tumor regression in a mouse melanoma model. *Cancer Immunol Immunother.* 56(5): 677–687. doi 10.1007/s00262-006-0227-6.
56. Eriksson F, Tsagozis P, Lundberg K, Parsa R, Mangsbo SM, Persson MA, Harris RA, Pisa P. (2009). Tumor-specific bacteriophages induce tumor destruction through activation of tumor-associated macrophages. *J. Immunol.* 182(5): 3105–3111. doi 10.4049/jimmunol.0800224.
57. Esparcia O, Montemayor M, Ginovart G, Pomar V, Soriano G, Pericas R et al. (2011). Diagnostic accuracy of a 16S ribosomal DNA gene-based molecular technique (RT-PCR, microarray, and sequencing) for bacterial meningitis, early-onset neonatal sepsis, and spontaneous bacterial peritonitis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 69: 153–160. doi 10.1016/j.diagmicrobio.2010.10.022.
58. Fasano A. (2011). Leaky Gut and Autoimmune Diseases. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 42: 71–78. doi 10.1007/s12016-011-8291-x.
59. Fothergill JL, Mowat E, Walshaw MJ, Ledson MJ, James CE, Winstanley C. (2011). Effect of antibiotic treatment on bacteriophage production by a cystic fibrosis epidemic strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55: 426–428. doi 10.1128/AAC.01257-10. Epub 2010 Oct 25.
60. Fountzialis C, Patel S, Mahalingam D. (2017). Review: oncolytic virotherapy, updates and future directions. *Oncotarget.* 8(60): 102617–102639. doi 10.18632/oncotarget.18309. eCollection 2017 Nov 24.
61. Foxman EF, Iwasaki A. (2011). Genome-virome interactions: examining the role of common viral infections in complex disease. *Nat. Rev. Microbiol.* 9: 254–264. doi 10.1038/nrmicro2541.
62. Friis-Nielsen J, Kjartansdottir KR, Mollerup S, Asplund M, Mourier T, Jensen RH, Hansen TA, Rey-Iglesia A, Richter SR, Nielsen IB, Alquezar-Planas DE, Olsen PV, Vinner L, Fridholm H, Nielsen LP, Willerslev E, Sicheritz-Ponten T, Lund O, Hansen AJ, Izarzugaza JM, Brunak S. (2016). Identification of known and novel recurrent viral sequences in data from multiple patients and multiple cancers. *Viruses.* 8(2): 53. doi 10.3390/v8020053.
63. Gabbay YB, Luz CR, Costa IV, Cavalcante-Pepino EL, Sousa MS, Oliveira KK, Wanzeller AL, Mascarenhas JD, Leite JP, Linhares AC. (2005). Prevalence and genetic diversity of astroviruses in children with and without diarrhea in Sao Luis, Maranhao, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 100: 709–714.
64. Gabisoniya TG, Loladze MZ, Nadiradze MM, Chakhunashvili NK, Alibegashvili MG, Tamarashvili NG, Pushkina VA. (2016). Effects of bacteriophages on biofilm formation by strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Biochem. Microbiol.* 52: 293–297. doi 10.1134/S0003683816030042.
65. Gansauge MT, Meyer M. (2013). Single-stranded DNA library preparation for the sequencing of ancient or damaged DNA. *Nat. Protoc.* 8: 737–748. doi 10.1038/nprot.2013.038. Epub 2013 Mar 14.

66. Gilbert C, Cordaux R. (2017). Viruses as vectors of horizontal transfer of genetic material in eukaryotes. *Curr Opin Virol.* 25: 16–22. doi 10.1016/j.coviro.2017.06.005. Epub 2017 Jun 30.
67. Gorski A, Jonczyk-Matysiak E, Miedzybrodzki R, Weber-Dabrowska B, Lusiak-Szelachowska M, Baginska N, Borysowski J, Lobočka MB, Węgrzyn A, Węgrzyn G. (2018). Phage Therapy: Beyond Antibacterial Action. *Front Med (Lausanne).* 5: 146. doi 10.3389/fmed.2018.00146. eCollection 2018.
68. Gorski A, Miedzybrodzki R, Borysowski J, Dabrowska K, Wierzbicki P, Ohams M et al. (2012). Phage as a modulator of immune responses: practical implications for phage therapy. *Adv. Virus Res.* 83: 41–71. doi 10.1016/B978-0-12-394438-2.00002-5.
69. Gorski A, Miedzybrodzki R, Weber-Dabrowska B, Fortuna W, Letkiewicz S, Rogoz P, Jonczyk-Matysiak E, Dabrowska K, Majewska J, Borysowski J. (2016). Phage therapy: combating infections with potential for evolving from merely a treatment for complications to targeting diseases. *Front. Microbiol.* 7: 1515. doi 10.3389/fmicb.2016.01515.
70. Gorski A, Wazna E, Dabrowska BW, Dabrowska K, Switala-Jelen K, Miedzybrodzki R. (2006). Bacteriophage translocation. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 46: 313–319. doi 10.1111/j.1574-695X.2006.00044.x.
71. Gorski A, Weber-Dabrowska B. (2005). The potential role of endogenous bacteriophages in controlling invading pathogens. *Cell Mol. Life Sci.* 62: 511–519. doi 10.1007/s00018-004-4403-6.
72. Grandi N, Tramontano E. (2017). Type W Human Endogenous Retrovirus (HERV-W) Integrations and Their Mobilization by L1 Machinery: Contribution to the Human Transcriptome and Impact on the Host Physiopathology. *Viruses.* 9(7): 162. doi 10.3390/v9070162
73. Guarino A, Wudy A, Basile F, Ruberto E, Buccigrossi V. (2012). Composition and roles of intestinal microbiota in children. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 25(1): 63–66. doi 10.3109/14767058.2012.663231. Epub 2012 Mar 5.
74. Hamzeh-Mivehroud M, Mahmoudpour A, Rezazadeh H, Dastmalchi S. (2008). Non-specific translocation of peptide-displaying bacteriophage particles across the gastrointestinal barrier. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 70(2): 577–581. doi 10.1016/j.ejpb.2008.06.005. Epub 2008 Jun 17.
75. Hanahan C, Weinberg RA. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 144(5): 646–674. doi 10.1016/j.cell.2011.02.013.
76. Handley SA, Thackray LB, Zhao G, Presti R, Miller AD, Droit L, Abbink P, Maxfield L.F, Kambal A, Duan E, Stanley K, Kramer J, Macri SC, Permar SR, Schmitz JE, Mansfield K, Brechnley JM, Veazey RS, Stappenbeck TS, Wang D, Barouch DH, Virgin HW. (2012). Pathogenic simian immunodeficiency virus infection is associated with expansion of the enteric virome. *Cell.* 151(2): 253–266. doi 10.1016/j.cell.2012.09.024.
77. Hannigan GD, Duhaime MB, Koutra D, Schloss PD. (2018). Biogeography and environmental conditions shape bacteriophage-bacteria networks across the human microbiome. *PLoS Comput Biol.* 14(4): e1006099. doi <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006099>.
78. Hannigan GD, Meisel JS, Tyldsley AS, Zheng Q, Hodkinson BP, SanMiguel AJ, Minot S, Bushman FD, Grice EA. (2015). The Human Skin Double-Stranded DNA Virome: Topographical and Temporal Diversity, Genetic Enrichment, and Dynamic Associations with the Host Microbiome. *mBio.* – 2015. 6: e01578–15. doi 10.1128/mBio.01578-15.
79. Hong Y, Thimmapuram J, Zhang J, Collings CK, Bhide K, Schmidt K, Ebner PD. (2016). The impact of orally administered phages on host immune response and surrounding microbial communities. *Bacteriophage.* 6(3): e1211066. doi 10.1080/21597081.2016.1211066.
80. Horvath P, Barrangou R. (2010). CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. *Science.* 327(5962): 167–170. doi 10.1126/science.1179555.
81. Hoyles L, McCartney AL, Neve H, Gibson GR, Sanderson JD, Heller KJ, van Sinderen D. (2014). Characterization of virus-like particles associated with the human faecal and caecal microbiota. *Res. Microbiol.* 165: 803–812. doi 10.1016/j.resmic.2014.10.006. Epub 2014 Oct 22.
82. Jagdale SS, Joshi RS. (2018). Enemies with benefits: mutualistic interactions of viruses with lower eukaryotes. *Arch. Virol.* 163(4): 821–830. doi 10.1007/s00705-017-3686-5. Epub 2018 Jan 6.
83. Jover LF, Effler TC, Buchan A, Wilhelm SW, Weitz JS. (2014). The elemental composition of virus particles: implications for marine biogeochemical cycles. *Nature Reviews Microbiology.* 12: 519–528. doi 10.1038/nrmicro3289.
84. Kernbauer E, Ding Y, Cadwell K. (2014). An enteric virus can replace the beneficial function of commensal bacteria. *Nature.* 516: 94–98. doi 10.1038/nature13960. Epub 2014 Nov 19.
85. Kim M, Lee H, Chang KO, Ko G. (2009). Molecular characterization of murine norovirus isolates from South Korea. *Virus Res.* 147: 1–6. doi 10.1016/j.virusres.2009.08.013. Epub 2009 Sep 30.
86. Koskella B. (2014). Bacteria-phage interactions across time and space: merging local adaptation and time-shift experiments to understand phage evolution. *Am. Nat.* 184(1): 9–21. doi 10.1086/676888. Epub 2014 Jul 8.
87. Koskella B, Brockhurst MA. (2014). Bacteria-phage coevolution as a driver of ecological and evolutionary processes in microbial communities. *FEMS Microbiology Reviews.* 38: 916–931. doi 10.1111/1574-6976.12072.
88. Kowarsky M, Camunas-Soler J, Kertesz M, De Vlamincck I, Koh W, Pan W, Martin L, Neff NF, Okamoto J, Wong RJ, Kharbanda S, El-Sayed Y, Blumenfeld Y, Stevenson DK, Shaw GM, Wolfe ND, Quake SR. (2017). Numerous uncharacterized and highly divergent microbes, which colonize humans, are revealed by circulating cell-free DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 114(36): 9623–9628. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707091114>
89. Ksendzovsky A, Walbridge S, Saunders RC, Asthagiri AR, Heiss JD, Lonser RR. (2012). Convection-enhanced delivery of M13 bacteriophage to the brain. *J. Neurosurg.* 117(2): 197–203. doi 10.3171/2012.4.JNS111528. Epub 2012 May 18.
90. Lang AS, Zhaxybayeva O, Beatty JT. (2012). Gene transfer agents: phage-like elements of genetic exchange. *Nat. Rev. Microbiol.* 10: 472–482. doi 10.1038/nrmicro2802.
91. Lederberg J, McCray AT. (2001). 'Ome sweet 'omics – A genealogical treasury of words. *Scientist.* 15(7): 8. doi 10.4236/jep.2018.95030.
92. Lee YK, Mazmanian SK. (2010). Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system. *Science.* 330(6012): 1768–1773. doi 10.1126/science.1195568.
93. Lepage P, Colombet J, Marteau P, Sime-Ngando T, Dore J, Leclerc M. (2008). Dysbiosis in inflammatory bowel disease: a role for bacteriophages? *Gut.* 57: 424–425. doi 10.1136/gut.2007.134668.
94. Lim ES, Zhou Y, Zhao G et al. (2015). Early life dynamics of the human gut virome and bacterial microbiome in infants. *Nat. Med.* 21: 1228–1234. doi 10.1038/nm.3950. Epub 2015 Sep 14.
95. Lin DM, Koskella B, Lin HC. (2017). Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 8(3): 162–173. doi 10.4292/wjgpt.v8.i3.162.
96. Littman DR, Pamer EG. (2011). Role of the commensal microbiota in normal and pathogenic host immune responses. *Cell Host Microbe.* 10: 311–323. doi 10.1016/j.chom.2011.10.004.
97. Lusiak-Szelachowska M, Weber-Dabrowska B, Jonczyk-Matysiak E, Wojciechowska R, Gorski A. (2017). Bacteriophages in the gastrointestinal tract and their implications. *Gut Pathog.* 9: 44. doi 10.1186/s13099-017-0196-7.
98. Ly M, Abeles SR, Boehm TK, Robles-Sikisaka R, Naidu M, Santiago-Rodriguez T et al. (2014). Altered Oral Viral Ecology in Association with Periodontal Disease. *mBio.* 5(3): e01133–14. doi 10.1128/mBio.01133-14.
99. Ly M, Jones MB, Abeles SR et al. (2016). Transmission of viruses via our microbiomes. *Microbiome.* 4: 64. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0212-z>.
100. Ma Y, You X, Mai G, Tokuyasu T, Liu C. (2018). A human gut phage catalog correlates the gut phageome with type 2 diabetes. *Microbiome.* 6: 24. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0410-y>
101. Malik DJ, Sokolov IJ, Vinner GK, Mancuso F, Cinqurri S, Vladislavjevic GT, Clokie MRJ, Garton NJ, Stapley AGF, Kirpichnikova A. (2017). Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. *Adv. Colloid Interface Sci.* 249: 100–133. doi 10.1016/j.cis.2017.05.014. Epub 2017 May 14.
102. Manrique P, Bolduc B, Walk ST, van der Oost J, de Vos WM, Young MJ. (2016). Healthy human gut phageome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 113: 10400–10405. doi 10.1073/pnas.1601060113. Epub 2016 Aug 29.
103. Manrique P, Dills M, Young MJ. (2017). The human gut phage community and its implications for health and disease. *Viruses.* 9: 141. pii: E141. doi 10.3390/v9060141.
104. Marraffini LA, Sontheimer EJ. (2010). Self versus non-self discrimination during CRISPR RNA-directed immunity. *Nature.* 463: 568–571. doi 10.1038/nature08703. Epub 2010 Jan 13.
105. Martinez-Castillo A, Muniesa M. (2014). Implications of free Shiga toxin-converting bacteriophages occurring outside bacteria for the evolution and the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 4: 46. doi 10.3389/fcimb.2014.00046. eCollection 2014.
106. Mavrich TN, Hatfull GF. (2017). Bacteriophage evolution differs by host, lifestyle and genome. *Nat. Microbiol.* 2: 17112. doi 10.1038/nrmicrobiol.2017.112.
107. Matsuzaki S, Rashed M, Uchiyama J, Sakurai S, Ujihara T, Kuroda M, Imai S, Ikeuchi M, Tani T, Fujieda M et al. (2005). Bacteriophage therapy: A revitalized therapy against bacterial infectious diseases. *J. Infect. Chemother.* 11: 211–219. doi 10.1007/s10156-005-0408-9.
108. Messing J. (2016). Phage M13 for the treatment of Alzheimer and Parkinson disease. *Gene.* 583: 85–89. doi 10.1016/j.gene.2016.02.005. Epub 2016 Feb 8.
109. Miernikiewicz P, Klopot A, Soluch R, Szkuta P, Keska W, Hodyra-Stefaniak K et al. (2016). T4 phage tail adhesion Gp12 counteracts LPS-induced inflammation in vivo. *Front. Microbiol.* 7: 1112. doi 10.3389/fmicb.2016.01112.

110. Mills S, Shanahan F, Stanton C, Hill C, Coffey A, Ross RP. (2013). Movers and shakers: influence of bacteriophages in shaping the mammalian gut microbiota. *Gut Microbes*. 4(1): 4–16. doi 10.4161/gmic.22371. Epub 2012 Sep 28.
111. Minagar A, Alexander J. (2003). Blood-brain barrier disruption in multiple sclerosis. *Mult. Scler. J.* 9: 540–549. doi 10.1191/1352458503ms9650a.
112. Minot S, Bryson A, Chehoud C, Wu GD, Lewis JD, Bushman FD. (2013). Rapid evolution of the human gut virome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 110: 12450–12455. doi 10.1073/pnas.1300833110. Epub 2013 Jul 8.
113. Minot S, Grunberg S, Wu GD, Lewis JD, Bushman FD. (2012). Hypervariable loci in the human gut virome. *Current Issue*. 109(10): 3962–3966. doi 10.1073/pnas.1119061109.
114. Minot S, Sinha R, Chen J, Li H, Keilbaugh SA, Wu GD, Lewis JD, Bushman FD. (2011). The human gut virome: Inter-individual variation and dynamic response to diet. *Genome Res*. 21(10): 1616–1625. doi 10.1101/gr.122705.111. Epub 2011 Aug 31.
115. Mishra N, Pereira M, Rhodes RH, An P, Pipas JM, Jain K, Kapoor A, Briese T, Faust PL, Lipkin WI. (2014). Identification of a novel polyomavirus in a pancreatic transplant recipient with retinal blindness and vasculitic myopathy. *J. Infect. Dis*. 210: 1595–1599. doi 10.1093/infdis/jiu250. Epub 2014 May 1.
116. Modi SR, Collins JJ, Relman DA. (2014). Antibiotics and the gut microbiota. *J. Clin. Invest*. 124(10): 4212–4218. doi 10.1172/JCI12333.
117. Modi SR, Lee HH, Spina CS, Collins JJ. (2013). Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome. *Nature*. 499: 219–222. doi 10.1038/nature12212. Epub 2013 Jun 9.
118. Mokili JL, Rohwer F, Dutilh BE. (2012). Metagenomics and future perspectives in virus discovery. *Curr. Opin. Virol.* 2: 63–77. doi 10.1016/j.coviro.2011.12.004. Epub 2012 Jan 20.
119. Monaco CL, Gootenberg DB, Zhao G, Handley SA, Ghebremichael MS, Lim ES et al. (2016). Altered Virome and Bacterial Microbiome in Human Immunodeficiency Virus-Associated Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Cell Host and Microbe*. 19: 311–322. doi 10.1016/j.chom.2016.02.011.
120. Monaco CL, Kwon DS. (2017). «Next-generation Sequencing of the DNA Virome from Fecal Samples». *Bio-protocol*. 7(5). pii: e2159. doi 10.21769/BioProtoc.2159.
121. Montgomery ND, Parker JS, Eberhard DA, Patel NM, Weck KE, Sharpless NE, Hu Z, Hayes DN, Gully ML. (2016). Identification of human papillomavirus infection in cancer tissue by targeted next-generation sequencing. *Appl. Immunohistochem Mol. Morphol*. 24: 490–495. doi 10.1097/PAI.0000000000000215.
122. Moon BY, Park JY, Hwang SY, Robinson DA, Thomas JC, Fitzgerald JR et al. (2015). Phage-mediated horizontal transfer of a *Staphylococcus aureus* virulence-associated genomic island. *Scientific Reports*. 5: 9784. doi 10.1038/srep09784.
123. Nakamura S, Yang CS, Sakon N et al. (2009). Direct metagenomic detection of viral pathogens in nasal and fecal specimens using an unbiased high-throughput sequencing approach. *PLoS ONE*. 4: e4219. doi 10.1371/journal.pone.0004219. Epub 2009 Jan 19.
124. Nannapaneni R, Soni KA. USA: John Wiley & Sons, Ltd; (2015). Use of Bacteriophages to Remove Biofilms of *Listeria monocytogenes* and other Foodborne Bacterial Pathogens in the Food Environment. *Biofilms in the Food Environment*, Second Edition: 131–144.
125. Navarro F, Muniesa M. (2017). Phages in the Human Body. *Front Microbiol*. 8: 566. doi 10.3389/fmicb.2017.00566.
126. Nguyen S, Baker K, Padman B, Patwa R, Dunstan R, Weston T, Schlosser K, Bailey B, Lithgow T, Lazarou M et al. (2017). Bacteriophage Transcytosis Provides a Mechanism to Cross Epithelial Cell Layers. *mBio*. 8: e01874–17. doi 10.1128/mBio.01874-17.
127. Norman JM, Handley SA, Baldrige MT, Droit L, Liu CY, Keller BC et al. (2015). Disease-specific alterations in the enteric virome in inflammatory bowel disease. *Cell*. 160: 447–460. doi 10.1016/j.cell.2015.01.002. Epub 2015 Jan 22.
128. Norman JM, Handley SA, Virgin HW. (2014). Kingdom-agnostic metagenomics and the importance of complete characterization of enteric microbial communities. *Gastroenterology*. 146: 1459–1469. doi 10.1053/j.gastro.2014.02.001. Epub 2014 Feb 5.
129. Ogilvie LA, Bowler LD, Caplin J et al. (2013). Genome signature-based dissection of human gut metagenomes to extract subliminal viral sequences. *Nat. Commun*. 4: 2420. doi 10.1038/ncomms3420.
130. Ogilvie LA, Caplin J, Dedi C et al. (2012). Comparative (meta)genomic analysis and ecological profiling of human gut-specific bacteriophage ϕ B124-14. *PLoS ONE*. 7: e35053. doi 10.1371/journal.pone.0035053. Epub 2012 Apr 25.
131. Oliveira H, Vilas Boas D, Mesnage S, Kluskens LD, Lavigne R, Sillankorva S, Secundo F, Azeredo J. (2016). Structural and Enzymatic Characterization of ABgp46, a Novel Phage Endolysin with Broad Anti-Gram-Negative Bacterial Activity. *Front Microbiol*. 7: 208. doi 10.3389/fmicb.2016.00208. eCollection 2016.
132. Oliveira M, Vinas I, Colas P, Anguera M, Usall J, Abadías M. (2014). Effectiveness of a bacteriophage in reducing *Listeria monocytogenes* on fresh-cut fruits and fruit juices. *Food Microbiol*. 38: 137–142. doi 10.1016/j.fm.2013.08.018. Epub 2013 Sep 11.
133. Ott SJ, Waetzig GH, Rehman A et al. (2017). Efficacy of sterile fecal filtrate transfer for treating patients with *Clostridium difficile* infection. *Gastroenterology*. 152: 799–811. doi 10.1053/j.gastro.2016.11.010. Epub 2016 Nov 17.
134. Parker MT. (2016). An ecological framework of the human virome provides classification of current knowledge and identifies areas of forthcoming discovery. *Yale J. Biol. Med*. 89: 339–351. eCollection 2016 Sep.
135. Penades JR, Chen J, Quiles-Puchalt N, Carpena N, Novick RP. (2015). Bacteriophage-mediated spread of bacterial virulence genes. *Curr. Opin. Microbiol*. 23: 171–178. doi 10.1016/j.mib.2014.11.019. Epub 2014 Dec 19.
136. Penner JC, Ferreira JA, Secor PR, Sweere JM, Burukova M, Joubert LM et al. (2016). Pf4 bacteriophage produced by *Pseudomonas aeruginosa* inhibits *Aspergillus fumigatus* metabolism via iron sequestration. *Microbiology*. 162(9): 1583–1594. doi 10.1099/mic.0.000344.
137. Perez-Brocá V, García-López R, Nos P, Beltran B, Moret I, Moya A. (2015). Metagenomic analysis of Crohn's disease patients identifies changes in the virome and microbiome related to disease status and therapy, and detects potential interactions and biomarkers. *Inflamm. Bowel Dis*. 21: 2515–2532. doi 10.1097/MIB.0000000000000549.
138. Pincus NB, Reckhow JD, Saleem D, Jammeh ML, Datta SK, Myles IA. (2015). Strain Specific Phage Treatment for *Staphylococcus aureus* Infection Is Influenced by Host Immunity and Site of Infection. *PLoS One*. 10: e0124280. doi 10.1371/journal.pone.0124280. eCollection 2015.
139. Popgeorgiev N, Boyer M, Fancello L, Monteil S, Robert C, Rivet R, Nappes C, Azza S, Chiaroni J, Raoult D, Desnues C. (2013). Marseillevirus-like virus recovered from blood donated by asymptomatic humans. *J. Infect. Dis*. 208(7): 1042–1050. doi 10.1093/infdis/jit292. Epub 2013 Jul 2.
140. Popgeorgiev N, Temmam S, Raoult D et al. (2013). Describing the Silent Human Virome with an Emphasis on Giant Viruses. *Intervirology*. 56: 395–412. doi 10.1159/000354561. Epub 2013 Oct 17.
141. Pride DT, Salzman J, Haynes M, Rohwer F, Davis-Long C, White RA, Loomer P, Armitage GC, Relman DA. (2012). Evidence of a robust resident bacteriophage population revealed through analysis of the human salivary virome. *ISME J*. 6: 915–926. doi 10.1038/ismej.2011.169. Epub 2011 Dec 8.
142. Przybylski M, Borysowski J, Jkaubowska-Zahorska R, Weber-Dabrowska B, Gorski A. (2015). T4 bacteriophage-mediated inhibition of adsorption and replication of human adenovirus in vitro. *Future Microbiol*. 10: 453–460. doi 10.2217/fmb.14.147.
143. Rakhuba DV, Kolomiets EI, Dey ES, Novik GI. (2010). Bacteriophage receptors, mechanisms of phage adsorption and penetration into host cell. *Pol. J. Microbiol*. 59: 145–155. doi 10.1016/j.micres.2015.01.008.1.94.
144. Reese TA, Wakeman BS, Choi HS, Hufford MM, Huang X, Zhang SC, Buck MD, Jezewski A, Kambal A, Liu CY, Goel G, Murray PJ, Xavier RJ, Kaplan MH, Renne R, Speck SH, Artyomov MN, Pearce EJ, Virgin HW. (2014). Helminth infection reactivates latent γ -herpesvirus via cytokine competition at a viral promoter. *Science*. 345(6196): 573–577. doi 10.1126/science.1254517.
145. Reyes A, Blanton LV, Cao S et al. (2015). Gut DNA viromes of Malawian twins discordant for severe acute malnutrition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 112: 11941–11946. <https://doi.org/10.1073/pnas.1514285112>.
146. Reyes A, Haynes M, Hanson N, Angly FE, Heath AC, Rohwer F, Gordon JI. (2010). Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature*. 466: 334–338. doi 10.1038/nature09199.
147. Reyes A, Wu M, McNulty NP, Rohwer FL, Gordon JI. (2013). Gnotobiotic mouse model of phage-bacterial host dynamics in the human gut. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 110: 20236–20241. <https://doi.org/10.1073/pnas.1319470110>.
148. Roossinck MJ. (2015). Move over bacteria! Viruses make their mark as mutualistic microbial symbionts. *J. Virol*. 89(13): 6532–6535. doi 10.1128/JVI.02974-14.
149. Roossinck MJ. (2011). The good viruses: viral mutualistic symbioses. *Nat. Rev. Microbiol*. 9: 99–108. doi 10.1038/nrmicro2491. Epub 2011 Jan 4.
150. Roux S, Krupovic M, Poulet A, Debros D, Enault F. (2012). Evolution and diversity of the Microviridae viral family through a collection of 81 new complete genomes assembled from virome reads. *PLoS ONE*. 7: e40418. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040418>.
151. Roux S, Solonenko NE, Dang VT et al. (2016). Towards quantitative viromics for both double-stranded and single-stranded DNA viruses. *Peer J*. 4: e2777. doi 10.7717/peerj.2777. eCollection 2016.
152. Samson A, Scott KJ, Taggart D, West EJ, Wilson E et al. (2018). Intravenous delivery of oncolytic reovirus to brain tumor patients immunologically primes for subsequent checkpoint blockade. *Science Translational Medicine*. 10(422). pii: eaam7577. doi 10.1126/scitranslmed.aam7577.
153. Santiago-Rodríguez TM, Ly M, Bonilla N, Pride DT. (2015). The human urine virome in association with urinary tract infections. *Frontiers in Microbiology*. 6: 14. doi 10.3389/fmicb.2015.00014.
154. Santiago-Rodríguez T, Naidu M, Abeles S, Boehm T, Ly M, Pride D. (2015). Transcriptome analysis of bacteriophage communities in periodontal health and disease. *BMC Genom*. 16: 549. doi 10.1186/s12864-015-1781-0.

155. Scheperjans F. (2016). Gut microbiota, 1013 new pieces in the Parkinson's disease puzzle. *Curr. Opin. Neurol.* 29: 773–780. doi 10.1097/WCO.0000000000000389.
156. Selva L, Viana D, Regev-Yochay G, Trzcinski K, Corpa JM, Lasa I et al. (2009). Killing niche competitors by remote-control bacteriophage induction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106: 1234–1238. doi 10.1073/pnas.0809600106. Epub 2009 Jan 13.
157. Shapiro L, Harmon W, Strom T, Bunn H. (2004). In utero detection of T7 phage after systemic administration to pregnant mice. *Biotechniques*: 37: 81–83. doi 10.2144/04371ST04.
158. Shen W, Patnaik MM, Ruiz A, Russell SJ, Peng KW. (2016). Immunovirotherapy with vesicular stomatitis virus and PD-L1 blockade enhances therapeutic outcome in murine acute myeloid leukemia. *Blood*. 127(11): 1449–1458. doi 10.1182/blood-2015-06-652503. Epub 2015 Dec 28.
159. Scanlan PD, Buckling A. (2012). Co-evolution with lytic phage selects for the mucoid phenotype of *Pseudomonas fluorescens* SBW25. *ISME J.* 6: 1148–1158. doi 10.1038/ismej.2011.174. Epub 2011 Dec 22.
160. Smits L, Osterhaus ADME. (2010). Human picobirnaviruses identified by molecular screening of diarrhea samples. *J. of Clin. Microbiology*. 48(5): 1787–1794. doi 10.1128/JCM.02452-09. Epub 2010 Mar 24.
161. Sridhar S, To KK, Chan JF, Lau SK, Woo PC, Yuen KY. (2015). A systematic approach to novel virus discovery in emerging infectious disease outbreaks. *J. Mol. Diagn.* 17: 230–241. doi 10.1016/j.jmoldx.2014.12.002. Epub 2015 Mar 4.
162. Stern A, Mick E, Tirosh I, Sagy O, Sorek R. (2012). CRISPR targeting reveals a reservoir of common phages associated with the human gut microbiome. *Genome Res.* 22: 1985–1994. doi 10.1101/gr.138297.112. Epub 2012 Jun 25.
163. Sullivan MB, Weitz JS, Wilhelm S. (2017). Viral ecology comes of age. *Environ Microbiol Rep.* 9: 33–35. doi 10.1111/1758-2229.12504.
164. Sun L, Nava GM, Stappenbeck TS. (2011). Host genetic susceptibility, dysbiosis, and viral triggers in inflammatory bowel disease. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 27: 321–327. doi 10.1097/MOG.0b013e32834661b4.
165. Suttle CA. (2005). Viruses in the sea. *Nature*. 437: 356–361. doi 10.1038/nature04160.
166. Tan SK, Relman DA, Pinsky BA. (2017). The Human Virome: Implications for Clinical Practice in Transplantation Medicine. *J. Clin. Microbiol.* 55(10): 2884–2893. doi 10.1128/JCM.00489-17. Epub 2017 Jul 19.
167. Tetz G, Brown S, Hao Y, Tetz V. (2018). Parkinson disease and bacteriophages as its overlooked contributors. *bioRxiv*. doi 10.1101/305896.
168. Tetz G, Ruggles K, Zhou H, Heguy A, Tsigos A, Tetz V. (2017). Bacteriophages as potential new mammalian pathogens. *Sci. Rep.* 7: 7043. doi 10.1038/s41598-017-07278-6.
169. Tetz G, Tetz V. (2018). Bacteriophages as New Human Viral Pathogens. *Microorganisms*. 6(2): 54. doi 10.3390/microorganisms6020054.
170. Tetz G, Tetz V. (2016). Bacteriophage infections of microbiota can lead to leaky gut in an experimental rodent model. *Gut Pathog.* 8: 33. doi 10.1186/s13099-016-0109-1.
171. Tetz G, Tetz V. (2017). Prion-Like Domains in Phagobiota. *Front. Microbiol.* 8: 2239. doi 10.3389/fmicb.2017.02239.
172. Torres-Barcelo C, Hochberg ME. (2016). Evolutionary rationale for phages as complements of antibiotics. *Trends Microbiol.* 24: 249–256. doi 10.1016/j.tim.2015.12.011. Epub 2016 Jan 17.
173. Tremaroli V, Backhed F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*. 489: 242–249. doi 10.1038/nature11552.
174. Ventura M, Sozzi T, Turrone F, Matteuzzi D, van Sinderen D. (2011, Aug). The impact of bacteriophages on probiotic bacteria and gut microbiota diversity. *Genes Nutr.* 6: 3: 205–207. doi 10.1007/s12263-010-0188-4.
175. Verbeken G, Huys I, DeVos D, De Coninck A, Roseeuw D, Kets E et al. (2016). Access to bacteriophage therapy: discouraging experiences from the human cell and tissue legal framework. *FEMS Microbiol.* 363(4): pii: fnv241. doi 10.1093/femsle/fnv241. Epub 2015 Dec 16.
176. Virgin HW. (2014). The virome in mammalian physiology and disease. *Cell*. 157: 142–150. doi 10.1016/j.cell.2014.02.032.
177. Virgin HW, Wherry EJ, Ahmed R. (2009). Redefining chronic viral infection. *Cell*. 138: 30–50. doi 10.1016/j.cell.2009.06.036.
178. Viruses Flourish in Guts of Healthy Babies. (2015). Materials provided by Washington University School of Medicine. doi 10.1038/nm.3950.
179. Wang W, Jovel J, Halloran B et al. (2015). Metagenomic analysis of microbiome in colon tissue from subjects with inflammatory bowel diseases reveals interplay of viruses and bacteria. *Inflamm. Bowel Dis.* 21: 1419–1427. doi 10.1097/MIB.0000000000000344.
180. Weber-Dabrowska B, Mulczyk M, Gorski A. (2003). Bacteriophages as an efficient therapy for antibiotic-resistant septicemia in man. *Transplant. Proc.* 35: 1385–1386. PMID:12826166.
181. Weinbauer MG. (2004). Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiol. Rev.* 28: 127–181. doi 10.1016/j.femsre.2003.08.001.
182. White DW, Beard RS, Barton ES. (2013). Immune modulation during latent herpesvirus infection. *Immunol. Reviews*. 245(1): 189–208. doi 10.1111/j.1600-065X.2011.01074.x.
183. White DW, Keppel CR, Schneider SE, Reese TA, Coder J, Payton JE, Ley TJ, Virgin HW, Fehniger TA. (2010). Latent herpesvirus infection arms NK cells. *Blood*. 115: 4377–4383. doi 10.1182/blood-2009-09-245464. Epub 2010 Feb 4.
184. Willner D, Furlan M, Haynes M et al. (2009). Metagenomic analysis of respiratory tract DNA viral communities in cystic fibrosis and non-cystic fibrosis individuals. *PLoS ONE*. 4: e7370. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007370>.
185. Woolhouse M, Scott F, Hudson Z, Howey R, Chase-Topping M. (2012). Human viruses: discovery and emergence. *Philos Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 367: 2864–2871. doi 10.1098/rstb.2011.0354.
186. Wylie KM, Weinstock GM, Storch GA. (2013). Virome genomics: a tool for defining the human virome. *Curr. Opin. Microbiol.* 16: 479–484. doi 10.1016/j.mib.2013.04.006. Epub 2013 May 23.
187. Zhang T, Breitbart M, Lee WH et al. (2006). RNA viral community in human feces: prevalence of plant pathogenic viruses. *PLoS Biol.* 4: e3. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040003>.
188. Zhang X, McDaniel AD, Wolf LE, Keusch GT, Waldor MK, Acheson DW. (2000). Quinolone antibiotics induce Shiga toxin-encoding bacteriophages, toxin production, and death in mice. *J. Infect. Dis.* 181: 664–670. doi 10.1086/315239.
189. Zhang XX, Zhang T, Fang HH. (2009). Antibiotic resistance genes in water environment. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82: 397–414. doi 10.1007/s00253-008-1829-z. Epub 2009 Jan 8.
190. Zhao G, Vatanen T, Droit L, Park A, Kotic AD, Poon TW, Vlamakis H, Siljander H, Harkonen T, Hamalainen AM, Peet A, Tillmann V, Ilonen J, Wang D, Knip M, Xavier RJ, Virgin HW. (2017). Intestinal virome changes precede autoimmunity in type 1 diabetes-susceptible children. *PNAS*. 114(30): 6166–6175. doi 10.1073/pnas.1706359114. Epub 2017 Jul 10.
191. Zhong X, Guidoni B, Jacas L, Jacquet S. (2015). Structure and diversity of ssDNA Microviridae viruses in two peri-alpine lakes (Annecy and Bourget, France). *Res. Microbiol.* 166: 644–654. doi 10.1016/j.resmic.2015.07.003. Epub 2015 Jul 27.
192. Zuo T, Wong SH, Lam K et al. (2017). Bacteriophage transfer during faecal microbiota transplantation in *Clostridium difficile* infection is associated with treatment outcome. *Gut*. 67(4): 634–643. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-313952>.
193. Yang JY, Kim MS, Kim E et al. (2016). Enteric viruses ameliorate gut inflammation via Toll-like receptor 3 and Toll-like receptor 7-mediated interferon- β production. *Immunity*. 44: 889–900. doi 10.1016/j.immuni.2016.03.009. Epub 2016 Apr 12.
194. Young R, Gill JJ. (2015). Phage therapy redux – what is to be done? *Science*. 350: 1163–1164. doi 10.1126/science.aad6791.

Сведения об авторах:

Янковский Дмитрий Станиславович — д.биол.н., проф., Ген. директор НПК «О.Д. Пролисок». Адрес: Киевская обл., Васильковский р-н, ул Софиевская, 17а; тел. (044) 331-49-61.
Дымент Галина Семеновна — к.тех.н., директор научного центра НПК «О.Д. Пролисок». Адрес: Киевская обл., Васильковский р-н, ул Софиевская, 17а; тел. (044) 331-49-63.
Бережной Вячеслав Владимирович — д.мед.н., проф. каф. педиатрии № 2 НМАПО имени П.Л. Шупика. Адрес: г. Киев, ул. Боготырская, 30; тел. (044) 412-16-70.
Китам Владимир Олегович — н.с. научного центра НПК «О.Д. Пролисок». Адрес: Киевская обл., Васильковский р-н, ул Софиевская, 17а; тел. (044) 331-49-63.
Химич Николай Васильевич — н.с. научного центра НПК «О.Д. Пролисок». Адрес: Киевская обл., Васильковский р-н, ул Софиевская, 17а; тел. (044) 331-49-63.

Статья поступила в редакцию 03.11.2018 г.; принята в печать 08.02.2019 г.