

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ ИЗ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ПОРОД РАЗНОГО ГЕОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ

Л.Ф. КАЛЁНОВА, А.М. СУББОТИН, А.С. БАЖИН

*Тюменский научный центр СО РАН, 625026 г. Тюмень, ул. Малыгина, д. 86.*

**Аннотация.** Микроорганизмы из многолетнемерзлых пород разного геологического возраста оказывают на структурно-функциональные параметры иммунной системы мышей разное воздействие. 3 штамма микроорганизмов из проб мерзлоты плейстоцен-голоценового периода (*Bacillus megaterium*, *Acinetobacter sp.* и *Enterobacter sp.*) вызвали повышение функциональной активности гуморального иммунитета в 2,5-4 раза, а 2 штамма микроорганизмов (*Bacillus sp.* и *Alcaligenaceae bacterium*) из проб вечной мерзлоты позднего неогена – на 26-34%.

**Ключевые слова:** микроорганизмы мерзлоты, иммунная система.

INFLUENCE OF BACTERIA FROM PERENNIAL FROZEN SPECIES OF DIFFERENT GEOLOGICAL AGE ON THE IMMUNE SYSTEM

L.F.KALENOVA, A.M.SUBBOTIN, A.S.BAZHIN

*Tyumen Scientific Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Tyumen.*

**Abstract.** Microorganisms from perennial frozen species of different geological age have different effects on the structural and functional parameters of the immune system in the mice. 3 strains of microorganisms from samples of permafrost Pleistocene-Holocene period (*Bacillus megaterium*, *Acinetobacter sp.* and *Enterobacter sp.*) caused increase of functional activity of humoral immunity in 2.5-4 times, and 2 strains of microorganisms (*Bacillus sp.* and *Alcaligenaceae bacterium*) of the samples permafrost late Neogene – by 26-34%.

**Key words:** perennial frozen microorganisms, immune system.

Разработанный как компонент стратегической безопасности в России Системный экологический мониторинг предусматривает установление причинно-следственных связей между внешними воздействиями, здоровьем и качеством жизни людей; прогнозирование неблагоприятных явлений и процессов; предупреждение, минимизацию или ликвидацию негативных природных и техногенных воздействий. В перспективе – поиск новых подходов к лечению заболеваний, восстановление «защитной» стратегии вместо «лечебной». В последнее десятилетие получило свое развитие новое научное направление – геомедицина, одной из задач которой является поиск средств адаптации человека к современным условиям, связанным с вариациями погоды и климата, загрязнением окружающей среды, длительными полетами и погружениями и т.д. [1, 5, 7].

Доминирующее место среди негативных внешних воздействий, способствующих сокращению продолжительности жизни, занимает агрессия микроорганизмов [9]. При этом функцию защиты организма от антигенной агрессии и сохранения здоровья обеспечивает иммунная система. Для сохранения жизни в условиях «многополярности» окружающего микромира иммунная система выработала многочисленные специфические и неспецифические механизмы. На инфицирование патогенными микроорганизмами развивается естественный иммунный ответ с формированием клеток иммунологической памяти. Результатом этих реакций является ликвидация инфекта и восстановление нарушенного здоровья [10]. Данный механизм является затратным и приводит к потере части материи и энергии у макроорганизма. На вакцинные штаммы микроорганизмов развивается искусственный иммунный ответ с формированием клеток иммунологической памяти. Результатом этих реакций является повышение устойчивости к данному виду микроорганизмов или формирование специфической толерантности [2]. Этот механизм является более экономичным и в значительной степени способствует сохранению структуры и энергии. Наиболее адекватными мерами для восстановления «защитной» стратегии и построения эффективной системы адаптации к условиям окружающей среды могут служить микроорганизмы-пробиотики. Микроорганизмы-пробиотики активируют преимущественно неспецифические реакции в макроорганизме, оказывают перекрестное действие, которое заключается, с одной стороны – в повышении резистентности иммунной системы к инфекциям, с другой – в повышении устойчивости к неблагоприятным факторам внешней среды. В настоящее время активно изучаются возможности использования в медицине и ветеринарии сапрофитных микроорганизмов в качестве пробиотиков [3, 8]. Примером медицинского использования микроорганизмов-пробиотиков можно привести лекарственный препарат «Бактисубтил» (Франция), действующим началом которого является *B.cereus* JP 5832.

Возможными кандидатами на эту роль могут быть микроорганизмы в вечной мерзлоте, как естественном хранилище наиболее древних сообществ микроорганизмов. Экспериментальное исследование одного штамма микроорганизмов из реликтовой мерзлоты позднего неогена позволило установить его способность оказывать позитивное влияние на иммунную и другие физиологические системы и, таким образом, повышать адаптационный потенциал лабораторных животных, качество и продолжительность их жизни [6, 11, 12]. Представляется актуальным поиск новых видов *микроорганизмов в многолетнемерзлых породах* (МО ММП), способных оказывать позитивное влияние на иммунную систему современных организмов. Актуальность подобного роста исследований ассоциируется также с важностью проблемы создания новых иммуномодуляторов, адаптогенов и пробиотиков.

**Цель исследования** – изучить влияние микроорганизмов из многолетнемерзлых пород разного геологического возраста на структурно-функциональные параметры иммунной системы в эксперименте на лабораторных животных.

**Материалы и методы исследования.** В качестве объектов исследования выбраны сообщества МО, выделенные из ММП различного геологического возраста. 1 – ММП плейстоцен-голоценового периода (возраст пород 35-40 тыс. лет, район Тарко-Сале Западной Сибири), которые подвергались воздействию морских трансгрессий, деградировали в межледниковья и оптимум голоцена. 2 – реликтовые ММП позднего неогена на опорном разрезе Мамонтова гора в Центральной Якутии, «изолированные» от трансграничного переноса сплошной криолитозоной [4]. Результаты магнитостратиграфических исследований подтверждают возраст мерзлых отложений, установленный на основании палинологии и палеоклиматических реконструкций. Пробы мерзлоты выделяли в стерильные контейнеры с соблюдением мер предосторожности от контаминации, хранили и транспортировали в холодильнике при  $-5^{\circ}\text{C}$ . (Образцы кернов получены сотрудниками кафедры криологии Тюменского нефтегазового университета.) Из привезенных образцов мерзлоты нами было выделено и генетически идентифицировано методом сиквенса по 16S рибосомальной ДНК 70 штаммов различных видов МО, из которых более 10 являются новыми видами. «Возраст» самих микроорганизмов может не соответствовать возрасту пород, так как сложность и многокомпонентность структурной организации мерзлоты не исключает разных механизмов попадания в нее микроорганизмов. Возможны, как минимум два пути их проникновения из верхних слоев почвы в мерзлые породы. 1 – «консервация» бактерий в породе при промерзании почвы. В этом случае «возраст» бактерий может соответствовать возрасту образования многолетнемерзлых пород. 2 – более позднее проникновение микроорганизмов в породы при их миграции в прослойках сегрегационного льда под действием градиента температуры и/или вязком течении льда с содержащимися в нем микроорганизмами сквозь поровое пространство грунта. В этом случае «возраст» бактерий может значительно отличаться от возраста образования самих многолетнемерзлых пород. При любом варианте их происхождения сами многолетнемерзлые породы можно рассматривать как некую криомембрану, способную осуществлять селекцию видов микроорганизмов с особыми биологическими свойствами. В данном исследовании из проб ММП плейстоцен-голоценового периода использовали 3 штамма бактерий – 8/75 (*Bacillus megaterium*), 4/25 (*Acinetobacter sp.*) и 2/05 (*Enterobacter sp.*), из проб ММП позднего неогена использовали 2 штамма – М3 (*Bacillus sp.*) и F2 (*Alcaligenaceae bacterium*).

В эксперименте использовали 48 инбредных мышей ♂ весом 20-22 г, разделенные на 6 равных групп. МО культивировали при температуре  $+26^{\circ}\text{C}$  на питательном агаре (ГРМ-агар, г. Оболенск) в течение 24 часов. Предварительно была определена доза микроорганизмов, нетоксичная для организма (отсутствие гибели животных и гемолиза эритроцитов) и на которую иммунная система отвечает регистрируемыми реакциями при внутрибрюшинном введении живых бактерий всех штаммов. Это доза в  $50 \cdot 10^3 \pm 2,3 \cdot 10^3$  микробных клеток/мышь (м.кл.). Полученные взвеси живых бактерий вводили мышам внутрибрюшинно однократно в дозе  $50 \cdot 10^3 \pm 2,3 \cdot 10^3$  м.кл. в 100 мкл физиологического раствора. Контрольным животным вводили 100 мкл физиологического раствора. Концентрацию микроорганизмов определяли культуральным методом по числу КОЕ на чашках Петри. Иммунофизиологические исследования проводились на 14 сутки после введения МО. У животных определяли индексы тимуса, селезенки, печени и надпочечников – процентное отношение веса органа к весу тела. В периферической крови определяли уровни эритроцитов, лейкоцитов и их популяционный состав на гематологическом анализаторе PCE-90Vet (High Technology, USA). Активность факторов неспецифической иммунорезистентности оценивали по способности макрофагов селезенки, адгезированных на стекле, к поглощению (ФП, %) инактивированных дрожжевых клеток и метаболизму радикалов кислорода в спонтанном варианте НСТ-теста (НСТ, %). Активность системного гуморального иммунитета оценивали методом Cunningham по числу антителообразующих клеток в  $1 \times 10^6$  лимфоцитов селезенки (АОК/1 млн. ЛФ) и во всей селезенке (АОК/сел.), клеточного иммунитета – в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ, %) *in vivo* по Crowle. Подсчет лимфоцитов в селезенке (ЛФ/сел.) проводили на гематологическом анализаторе PCE-90Vet. Исследования проведены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Пр. МЗ ССР от 12.08.1977 г. №755) и «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных» от 18.03.1986.

Достоверность различий между группами оценивали по *t* критерию Стьюдента в программе «SPSS 11,5 for Windows». Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

**Результаты и их обсуждение.** Показатели периферической крови, индексы внутренних органов и состояние функциональной активности иммунной системы в определенной степени отражают долевое участие клеточных элементов в адапционном ответе на введение бактерий.

Результаты исследования содержания эритроцитов и лейкоцитов в периферической крови представлены в табл. 1.

*Таблица 1*

**Уровень лейкоцитов в периферической крови**

	Контроль	Штамм М 3	Штамм F 2	Штамм 8\75	Штамм 4\25	Штамм 2\05
Лейкоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ )	5,86±0,39	5,64±0,33	5,37±0,41	5,2±0,45	6,42±0,49	6,6±0,48
Нейтрофилы ( $\cdot 10^9/\text{л}$ )	1,72±0,21	1,83±0,19	1,86±0,21	1,2±0,17**	1,37±0,19	1,49±0,17
Лимфоциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ )	3,87±0,43	4,12±0,37	3,23±0,44	3,64±0,35	4,83±0,54*	4,85±0,56*
Моноциты ( $\cdot 10^9/\text{л}$ )	0,27±0,021	0,26±0,022	0,26±0,021	0,15±0,022**	0,22±0,018	0,26±0,017
Эритроциты ( $\cdot 10^{12}/\text{л}$ )	9,14±0,081	9,12±0,079	9,19±0,077	8,37±0,083	8,65±0,074	9,25±0,082

Примечание: достоверность отличия показателей в опытной группе от контрольного уровня  
 \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$

Под влиянием всех изученных штаммов МО содержание эритроцитов и гемоглобина в периферической крови сохранилось на контрольном уровне, что может свидетельствовать об отсутствии явной гемолитической активности у данных штаммов бактерий. Штаммы М3 и F2 не оказали явного влияния на общий уровень и клеточный состав циркулирующих лейкоцитов. При воздействии штаммов 4/25 и 2/03 отмечается увеличение содержания лимфоцитов ( $p < 0,05$  в обоих случаях). Наиболее значимые изменения в показателях крови отмечаются под влиянием штамма 8/75 – снижение количества нейтрофильных гранулоцитов ( $p < 0,01$ ) и моноцитов ( $p < 0,01$ ).

Результаты исследования морфофизиологической активности внутренних органов (индексы органов) представлены в табл. 2.

*Таблица 2*

**Индексы внутренних органов**

	Контроль	Штамм М 3	Штамм F 2	Штамм 8\75	Штамм 4\25	Штамм 2\05
Индекс селезенки, %	0,901±0,084	0,937±0,096	1,181±0,097*	0,717±0,095*	0,844±0,093	0,717±0,093
Индекс тимуса, %	0,198±0,02	0,19±0,017	0,131±0,019**	0,28±0,033**	0,158±0,015*	0,244±0,029
Индекс надпочечников, %	0,028±0,002	0,029±0,002	0,044±0,003**	0,039±0,003**	0,046±0,004**	0,04±0,004**
Индекс печени, %	5,5±0,05	5,17±0,04	5,55±0,05	5,71±0,05	5,59±0,05	5,05±0,04

Примечание: достоверность отличия по казателей в опытной группе от контрольного уровня  
 \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$

Штамм М3 не оказал значимого влияния на морфофизиологические показатели всех внутренних органов. Остальные штаммы не оказали особого влияния на индексы печени, в то же время способствовали увеличению индекса надпочечников ( $p < 0,01$  во всех случаях). На морфофункциональную активность иммунокомпетентных органов (тимуса и селезенки) разные штаммы оказали различное влияние. Не оказал на них особого влияния штамм 2/05. Штамм 4/25 вызвал умеренное снижение индекса тимуса ( $p < 0,05$ ) и не оказал влияния на индекс селезенки ( $p > 0,05$ ). Наиболее выраженное влияние на органы иммунной системы оказали штаммы F2 и 8/75, причем прямо противоположное – под влиянием штамма F2 индекс селезенки увеличивается ( $p < 0,05$ ), а тимуса уменьшается ( $p < 0,01$ ), а под влиянием штамма 8/75, наоборот, индекс селезенки уменьшается ( $p < 0,05$ ), а тимуса увеличивается ( $p < 0,01$ ).

Для оценки влияния бактерий на функциональное состояние иммунной системы исследовались показатели фагоцитарной активности макрофагов селезенки, реакций клеточного и гуморального иммунитета. результаты исследования отражены на рисунке. Для удобства демонстрации все изученные показатели были переведены в проценты, а показатели в контрольной группе приняты за 100%.

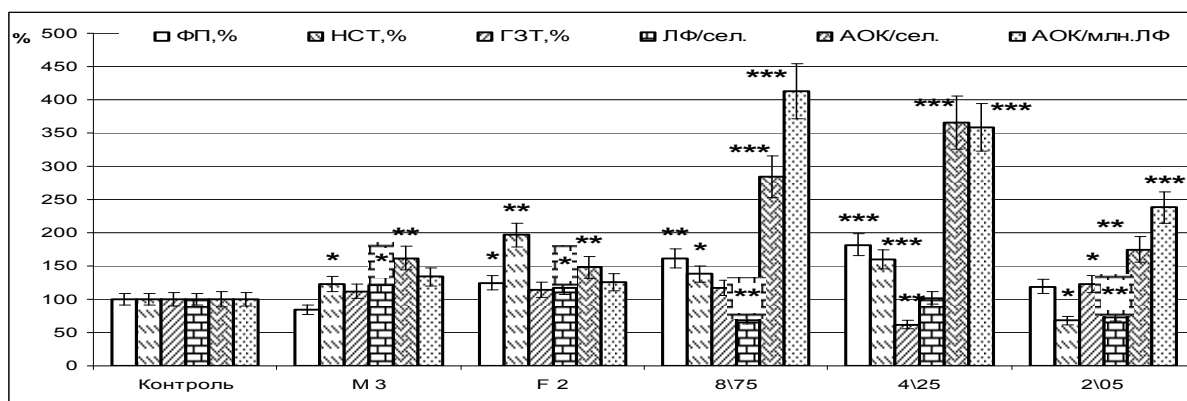


Рис. Функциональная активность иммунной системы

Установлено, что иммунная система отреагировала на парентеральное введение всех штаммов МО в указанной дозе изменением функциональной активности различных своих звеньев. Стимуляцию функциональной активности макрофагов селезенки (клеточные факторы «палеоиммунитета»), вызвали три штамма МО – F2, 8/75 и 4/25. Под влиянием этих штаммов у макрофагов увеличилась и поглотительная (ФП, %) и метаболическая (НСТ, %) активность. Штаммы M3 и 2/05 оказали влияние только на метаболическую активность макрофагов, причем прямо противоположное: штамм M3 способствовал ее увеличению ( $p < 0,05$ ), а штамм 2/05 – уменьшению ( $p < 0,01$ ). На функциональную активность Т-клеточных факторов «неоиммунитета» (по уровню реакции ГЗТ, %) оказали влияние два штамма МО – 4/25 и 2/05. Причем под влиянием штамма 4/25 уровень ГЗТ достоверно снизился ( $p < 0,01$ ), а под влиянием штамма 2/05 – несколько повысился ( $p < 0,05$ ). На общую численность АОК в селезенке оказали влияние практически все штаммы МО. Минимальное стимулирующее влияние на содержание АОК в селезенке оказали штаммы M3 и F2 ( $p < 0,05$  в обоих случаях). Причем это увеличение обусловлено, главным образом, увеличением численности лимфоцитов в селезенке (ЛФ/сел.,  $p < 0,05$ ). Учитывая известный факт о том, что при развитии иммунного ответа на бактериальные антигены функциональная активность гуморального иммунитета должна увеличиваться в геометрической прогрессии, можно считать, что на антигены штаммов M3 и F2 «палеобактерий» в данной дозе В-клеточные факторы «неоиммунитета» (АОК в 1 млн. лимфоцитов), практически не отвечают. Штаммы 8/75, 4/25 и 2/05 оказали выраженное стимулирующее влияние на функциональную активность В-лимфоцитов как внутри гуморального звена иммунной системы (АОК в 1 млн. лимфоцитов селезенки,  $p < 0,01$ ), так и на уровне организма (АОК во всей селезенке,  $p < 0,001$ ). При сопоставлении полученных данных между собой обращает на себя внимание действие двух штаммов 4/25 и 2/05. Под влиянием штамма 4/25 отмечается разнонаправленность иммунного ответа – снижение активности клеточного и увеличение активности гуморального иммунитета, а под влиянием штамма 2/05 – одновременное увеличение активности и клеточного (ГЗТ) и гуморального (АОК) иммунитета.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют, что изученные штаммы бактерий из ММП разного геологического возраста и не принимавшие активного участия в формировании современных биоценозов, во-первых, не представляют явной угрозы для современных млекопитающих, во-вторых, иммунная система отвечает на антигены палеобактерий реакциями, которые проявляются на относительно небольшую дозу МО – 50 000 м.т.

Сравнительный анализ полученных данных позволил оценить особенности влияния бактерий из микробных сообществ ММП разного геологического возраста на иммунофизиологические показатели современных млекопитающих и выявить как общие черты, так и отличительные особенности. Общность реакций иммунной системы на введение всех 5 штаммов МО в дозе  $50 \cdot 10^3$  м.кл./мышь проявилась только в увеличении уровня АОК в селезенке, что является характерной особенностью реагирования иммунной системы на бактериальные антигены.

Общими чертами для штаммов из ММП позднего неогена M3 (*Bacillus sp.*) и F2 (*Alcaligenaceae bacterium*) можно считать их умеренное позитивное влияние на метаболическую активность макрофагов и структурно-функциональные параметры гуморального иммунитета. Штаммы M3 и F2 различаются между собой: а) по характеру влияния на морфофизиологическую активность внутренних органов; б) по влиянию на функциональную активность клеточных факторов «палеоиммунитета» – макрофагов. В отличие от M3 штамм F2 способствовал увеличению структурных показателей селезенки и надпочечников на фоне уменьшения индекса тимуса, а также поглотительной активности макрофагов. Одновременное снижение индекса тимуса и увеличение индекса надпочечников может свидетельствовать о возможном развитии у подопытных животных стрессорной реакции на штамм F2.

Общей чертой для штаммов МО ММП плейстоцен-голоценового периода можно считать выраженное повышение функциональной активности гуморального иммунитета. Штаммы 8/75, 4/25 и 2/05 различаются



между собой по нескольким параметрам: а) по влиянию на популяционный состав лейкоцитов периферической крови; б) по влиянию на морфофизиологическую активность внутренних органов; в) по влиянию на функциональную активность различных звеньев иммунной системы. Под влиянием штамма 8/75 (*Bacillus megaterium*) отмечается повышение функциональной активности отдельных клеточных элементов селезенки – макрофагов (поглотительная и метаболическая активность) и лимфоцитов (численность активных В-лимфоцитов, участвующих в Т-зависимом антителообразовании) на фоне уменьшения ее структурной компоненты (индекс органа). Под влиянием штамма 4/25 (*Acinetobacter sp.*) отмечено умеренное увеличение численности лимфоцитов в системной циркуляции, значимое повышение функциональной активности макрофагов и антителообразования в селезенке на фоне сниженной активности клеточного (по уровню реакции ГЗТ) иммунитета. Под влиянием данного штамма отмечено одновременное снижение индекса тимуса и увеличение индекса надпочечников, что может свидетельствовать о развитии у подопытных животных стрессорной реакции. Под влиянием штамма 2/05 (*Enterobacter sp.*) отмечено умеренное увеличение численности циркулирующих лимфоцитов и функциональной активности системного клеточного и гуморального иммунитета, снижение метаболической активности макрофагов в селезенке.

Спектр используемых в данном исследовании методов не позволил выявить однозначных различий в реакциях иммунной системы современных млекопитающих на микроорганизмы из многолетнемерзлых пород позднего неогена (штаммы М3 и F2) и плейстоцен-голоценового периода (штаммы 8/75, 4/25 и 2/05). Тем не менее, некоторые различия наблюдаются: под влиянием микроорганизмов из более «молодых» пород (плейстоцен-голоценовый период) уровень гуморального иммунитета (АОК в селезенке) повышается прогрессивно – в 2,5-4 раза, а под влиянием бактерий из более «древних» пород (поздний неоген) – только на 26-34%. Причем эти повышения обусловлены разными механизмами: под влиянием бактерий из пород плейстоцен-голоценового возраста увеличение уровня АОК в селезенке обусловлено увеличением функциональной составляющей (АОК в 1 млн. лимфоцитов), а под влиянием микроорганизмов из пород позднего неогена – умеренным повышением как структурной (ЛФ/сел.), так и функциональной (АОК в 1 млн. лимфоцитов селезенки) компоненты. То есть, штаммы М3 и F2 «палеобактерий» в используемой дозе не вызывают избыточной активации эффекторных клеток «неоиммунитета» (Т- и В-лимфоцитов), а действуют в режиме, близком к физиологической норме. По-нашему мнению так могут действовать физиологические биорегуляторы клеточных функций иммунной системы. Представляется перспективным проведение дальнейших исследований по изучению биологического потенциала микроорганизмов из многолетнемерзлых пород и поиску среди них штаммов со свойствами иммуномодуляторов, адаптогенов и геропротекторов.

**Выводы.** На введение всех штаммов микроорганизмов в дозе 50 000 микробных клеток иммунная система современных млекопитающих отреагировала увеличением функциональной активности гуморального иммунитета. На введение 3 штаммов микроорганизмов (*Bacillus megaterium*, *Acinetobacter sp.* и *Enterobacter sp.*) из проб мерзлоты плейстоцен-голоценового периода иммунная система отреагировала повышением функциональной активности гуморального иммунитета в 2,5-4 раза. На введение 2 штаммов микроорганизмов (*Bacillus sp.* и *Alcaligenaceae bacterium*) из проб мерзлоты позднего неогена иммунная система отреагировала повышением функциональной активности гуморального иммунитета на 26-34%.

### Литература

1. Агаджанян, Н.А. Системный экологический мониторинг как компонент стратегической безопасности / Н.А. Агаджанян, О.И. Аптикаева, Г.А. Гамбурцев, Е.А. Жалковский, Ф.А. Летников, В.Н. Расторгуев, П.И. Сидоров, В.А. Черешнев, Ф.Н. Юдахин // Приложение к журналу “Безопасность жизнедеятельности”. – 2009. – № 9. – С. 1–24.
2. Ада, Г. Вакцины, вакцинация и иммунный ответ / Г. Ада, А. Рамсей. – М.: Медицина, 2002. – 344 с.
3. Бакулина, Л.Ф. Пробиотики на основе спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus* / Л.Ф. Бакулина, Н.Г. Перминова, И.В. Тимофеев // Биотехнология. – 2001. – № 2. – С. 48–56.
4. Брушков, А.В. Биогеохимия мерзлых пород Центральной Якутии / А.В. Брушков, В.П. Мельников, М.В. Щелчкова, Г.И. Грива, В.Е. Репин, Е.В. Бреннер, М. Танака // Криосфера Земли. – 2011. – Т. XV, № 4. – С. 90–100.
5. Григорьев, А. Перспективы геомедицинских исследований / А. Григорьев, А. Макоско, А. Матешева // Наука в России. – 2012. – № 2. – С. 4–10.
6. Калёнова, Л.Ф. Влияние микроорганизмов вечной мерзлоты на морфофункциональную активность иммунной системы в эксперименте / Л.Ф. Калёнова, Ю.Г. Суховой, А.В. Брушков, В.П. Мельников, Т.А. Фишер, И.М. Беседин, М.А. Новикова, Ю.А. Ефимова, А.М. Субботин // Бюл. экспер. биологии и медицины. – 2011. – Т. 151. – № 2. – С. 164–168.
7. Мельников, В.П. Новейшие явления, концепции, инструментарий как фундамент для старта к новым горизонтам криологии / В.П. Мельников. – Криосфера Земли. – 2012. – Том XVI. – № 4. – С. 3–9.
8. Сорокулова, И.Б. Влияние пробиотиков из бацилл на функциональную активность макрофагов / И.Б. Сорокулова // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – № 2. – С. 20–23.

9. Шевченко, Ю.Л. Микроорганизмы и человек. Некоторые особенности их взаимосуществования на современном этапе / Ю.Л. Шевченко, Г.Г. Онищенко // ЖМЭИ.– 2001.– № 2.– С. 94–104.

10. Ярилин, А.А. Основы иммунологии / А.А. Ярилин.– М.: Медицина, 1999.– 606 с.

11. Brouchkov, A.V. Relict Microorganisms of Cryolithozone as Possible Objects of Gerontology / A.V. Brouchkov, V. P. Melnikov, Yu. G. Sukhovei, G.I. Griva, V.E. Repin, L.F. Kalenova, E.V. Brenner, A.M. Subbotin, Y.B. Trofimova, M. Tanaka, T. Katayama, M. Utsumie // Advances in Gerontology.– 2011.– V. 1/– № 1.– P. 39–44.

12. Kalenova, L.F. Effects of permafrost microorganisms on the quality and duration of life of laboratory animals / L.F. Kalenova, Yu.G. Sukhovei, A.V. Brushkov, W.P. Melnikov, T.A. Fisher, I.M. Besedin, M.A. Novikova, Yu.A. Efimova // Neuroscience and Behavioral Physiology.– 2011.– V. 41.– № 5.– P. 484–490.