

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	4
Список сокращений и условных обозначений	5
Глава 1. Современное состояние вопроса о микробиоценозе кишечника	7
1.1. Терминологические аспекты, связанные с изменением микробиоты, и методы оценки ее состояния	24
1.2. Роль микробиоты в поддержании здоровья и развитии патологии	37
Глава 2. Эволюция средств для коррекции нарушений микробиоценоза	81
Глава 3. Пробиотики	92
Глава 4. Пребиотики	134
Глава 5. Метабиотики	161
Глава 6. Клиническая эффективность препаратов, модулирующих кишечный микробиоценоз, с позиций доказательной медицины	181
6.1. Антибиотики	181
6.2. Пробиотики	191
6.3. Пребиотики	230
6.4. Метабиотики	243
Заключение	259

ГЛАВА 1

Современное состояние вопроса о микробиоценозе кишечника

И.И. Мечников писал: «...Многочисленные и разнообразные ассоциации микроорганизмов, населяющие пищеварительный тракт человека, в значительной степени определяют физическое и духовное здоровье...» (1908) [1]. Так великий ученый в своих работах, посвященных проблеме взаимовлияния макро- и микроорганизмов, на десятилетия вперед предопределил стратегические направления развития медицинской науки.

На протяжении XX в. воззрения на роль микроорганизмов претерпели кардинальные изменения: от исключительно негативного мнения, согласно которому совокупное воздействие токсинов бактерий пищеварительного тракта на организм человека вызывает старение, развитие многих заболеваний и в итоге сокращает продолжительность жизни, до резко позитивной позиции, согласно которой человек получает огромную пользу от совместного существования с микроорганизмами.

Ученые А. Nissle, И.И. Мечников, Л.Г. Перетц, Н.Ф. Гамалея, Г.Н. Габричевский проводили исследования по обнаружению и идентификации микроорганизмов в различных биотопах, а также начали изучение не только агрессивного, но и защитного влияния отдельных видов на организм человека и животных.

Начиная с 80-х гг. XX в. широкое использование методов культивирования облигатно-анаэробных бактерий и принципов гнотобиологии позволило прицельно изучать роль нормальной микрофлоры и ее отдельных представителей в поддержании гомеостаза человеческого организма, а также в возникновении некоторых патологических состояний (О.В. Чахава, А.О. Тамм, Б.А. Шендеров и др.). В дальнейшем изучение молекулярных и биохимических механизмов, управляющих связью микробиоты и организма-хозяина (И.В. Домарадский, В.Н. Бабин, А.В. Дубинин, О.Н. Минушкин, М.Д. Ардатская и др.), позволило констатировать масштаб той пользы, которую получает человек от симбиоза с микрофлорой, и выяснить возможные причины перехода от «благополучного сосуществования» к взаимной агрессии.

В последнее время в научно-исследовательской деятельности и клинической практике все большее применение находят разнообразные молекулярно-генетические технологии, способствующие получению комплексной объективной картины состояния различных физиологических систем организма человека и его симбиотической микробиоты, их потенциальных возможностей, что,

в свою очередь, служит основой для разработки научно обоснованных подходов к снижению риска заболеваний, к достижению максимальной продолжительности и наивысшего качества жизни [2, 3].

По данным Р.М. Valencia и соавт. (2017), 85% инвестиций в данной области нацелены на изучение роли микробиотического баланса в здоровье и питании. Изучаемые терапевтические направления включают: трансплантацию микробиома, пробиотики, пребиотики и контрабиотики (метабиотики), пути взаимодействия хозяин–микробиом, антибиотики новых поколений [4].

С учетом позиций современной микробиологии для обозначения микроорганизмов, обитающих в организме человека, приняты такие термины, как «микробиота», «микробиоценоз». Они являются более точными, так как позволяют говорить о микроорганизмах, не попадающих под определение «микробиоценоз» (вирусах, грибах, простейших и т.д.), но живущих в человеческом организме. Термин «микробиота» описывает совокупность микробиоценозов отдельных органов и систем организма человека, генетического материала и взаимоотношений внутри экологической ниши в определенный период на определенной географической территории [5, 6]. В свою очередь, микробиоценоз — это биологическое равновесие между человеческим организмом и микробиотой, сложившееся в результате эволюции. Геном микробиоты обозначается термином «микробиом», который используется для описания сущности микробных признаков (функций), кодируемых микробиотой [7]. В составе микробиома выделяют бактериом (совокупный генофонд бактерий), микобиом (совокупный генофонд грибковой флоры) и виром (совокупный генофонд вирусов) [8]. В целом микробиота описывается как единый организм, обладающий индивидуальными генетическими признаками.

За последние двадцать лет в рамках крупных международных и национальных проектов [Human Microbiome Project (США), MetaHIT (Европа), Научное сообщество по содействию клиническому изучению микробиома человека (Россия)] сделан ряд важнейших открытий в отношении состава, свойств микробиоты, а также эффектов, оказываемых микроорганизмами и продуктами их жизнедеятельности на организм человека, что принципиально изменило представления научного сообщества о биологии человека и человеческих болезнях. Теория одного микроорганизма утратила свою актуальность, что произвело поистине революцию в учении о микробиоте. Биоразнообразии — главный фактор, обеспечивающий устойчивость микробных сообществ в отношении различного рода экологических факторов, как абиотических, так и биотических, включая антропогенные. И для понимания патогенеза любого заболевания разница в соотношении количества и баланс разнообразных микроорганизмов стали важнее, чем появление отдельного патогенного микроба [9].

Новейшие исследования микробиоты ведутся с применением разнообразных так называемых «омик»-технологий, которые, в отличие от традиционных методов, основаны на применении современных технологических платформ (секвенирования нуклеиновых кислот, масс-спектрометрии, хроматографии, биоинформационного анализа и др.), что позволяет получать информацию об организме человека как о единой интегрированной системе. Для анализа получаемых данных используют современные методы статистической оценки, новейшие компьютерные программы с большой разрешающей способностью [3].

Геномика — одна из наиболее разработанных и практически используемых среди многочисленных «омик»-технологий. Геномика позволяет идентифицировать все гены человека и его симбиотической микробиоты, получить информацию о количестве, локализации и функции генов, их эволюции, метаболических и сигнальных путях, участвующих в реализации экспрессии генов, выявить нарушения в геноме и микробиоме и связанные с ними наследственно обусловленные заболевания. Метагеномика является одним из разделов геномики, нацеленных на изучение суммарного генетического материала (метагенома), определение видового состава и метаболических взаимосвязей между представителями микробиоценоза исследуемого образца. Важнейшим преимуществом метагеномного подхода является учет некультивируемых микроорганизмов наряду с культивируемыми благодаря отсутствию необходимости выделения и культивирования микроорганизмов и возможности индикации и идентификации широкого спектра бактерий, вирусов, грибов и простейших [10].

Транскриптомика, в свою очередь, устанавливает интенсивность синтеза всех молекул рибонуклеиновой кислоты (РНК) (транскриптов), продуцируемых в эукариотических и прокариотических клетках организма в определенном его физиологическом состоянии, в конкретный период времени и в определенных условиях среды, в том числе и при возникновении и развитии заболеваний. Если геномика и метагеномика только свидетельствуют о потенциальных возможностях организма, то транскриптомика количественно измеряет динамическую экспрессию молекул РНК хозяина, его микрофлоры и/или всего надорганизма в целом (метатранскриптомика). Совокупные задачи метагеномики и транскриптомики:

- определить таксономическое (филогенетическое) положение микроорганизмов, то есть ответить на вопрос «Кто они?»;
- определить функциональное состояние микробиоты, как микроорганизмы осуществляют взаимодействие друг с другом и организмом человека, то есть ответить на вопрос «Что делают?».

Наряду с геномикой, транскриптомикой огромное значение для изучения микробиоты имеет еще одно направление — метаболомика.

Метаболомика занимается изучением метаболома, то есть совокупности низкомолекулярных соединений (не более 1–1,5 кДа), представляющих собой метаболиты микробиоты в клетке, ткани, органе, биологической жидкости и являющихся промежуточными или конечными продуктами обмена веществ [11].

И если ранее господствовало мнение о том, что продукты микробного метаболизма являются не востребуемыми соединениями, образующимися в избытке из-за несбалансированности внутриклеточных биосинтетических процессов, то сейчас значение метаболитов микробиоты установлено экспериментально [12]. В метаболомике применяются методы спектроскопии, протонного ядерного магнитного резонанса, хроматографии и другие в целях идентификации и количественной оценки метаболитов в сыворотке крови, моче и других физиологических жидкостях организма человека. Эти приемы позволяют устанавливать как исходные субстраты, так и конечные метаболиты, участвующие в метаболизме дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), ДНК-репарации, регуляции экспрессии генов, посттрансляционной

модификации генных продуктов, в метаболических реакциях в клетках и во всем организме в целом [3, 13].

На основе метагеномных, метатранскриптомных, метапротеомных и метаболомных исследований, связавших функциональную активность микробиоты и метаболизм человека, разработана концепция, согласно которой организм человека рассматривается как своеобразный «сверхорганизм» («суперорганизм», «метаорганизм», «макроорганизм»). Геном макроорганизма представлен его собственным геномом и микробиомом, находящимися в тесной взаимосвязи. Общая численность микроорганизмов, населяющих различные органы и системы человеческого организма, составляет 10^{15} , что превышает на два порядка количество собственных клеток взрослого человека. Популяционный состав микробиоты тщательно изучается, и в настоящее время идентифицировано более 10 тыс. видов и до 70 тыс. штаммов. Установлено, что у каждого человека свой уникальный состав микробиоты, который изменяется и развивается на протяжении всей жизни. В хромосомах человека, по разным данным, до 25 000 генов, микрогеном составляют до 10 млн генов [14, 15]. Для замены всех эукариотических клеток необходимо 20–25 лет. За такой продолжительный период времени все симбиотические микроорганизмы заменяются до пяти-шести раз. С точки зрения химии «макроорганизм» человека является в большей степени сообществом прокариотических, чем эукариотических клеток: 80% необходимой для его жизнедеятельности энергии образуется в митохондриях эукариотических клеток; 20% всей энергии производит кишечная микробиота, а 90% энергии, требующейся для функционирования клеток желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), дают именно кишечные микроорганизмы [16]. Все необходимые пластические, энергетические, метаболические и сигнальные регуляторные соединения высвобождаются из пищевых продуктов за счет полостного, мембранного, внутриклеточного пищеварения, а также их синтеза кишечными микроорганизмами. Регуляторные вещества (так называемые экзогормоны) могут присутствовать в пище или образовываться из нее под действием пищеварительных ферментов макроорганизма и множества энзимов разнообразных бактерий, колонизирующих его кожу и слизистые. Экзогормоны необходимы для функционирования не только пищеварительной системы, но и организма в целом [17]. Взаимодействие между микробиотой и макроорганизмом представляет собой наиболее совершенную форму симбиоза, поскольку оно приносит пользу обеим сторонам.

Плотность микробной колонизации в организме хозяина неоднородна в зависимости от биотопа (участка слизистой оболочки, кожи или органа макроорганизма с однотипными условиями существования микроорганизмов): около 15–16% микроорганизмов населяют ротоглотку, урогенитальный тракт — 9%, исключая слабо заселенный вагинальный отдел (2%), кожные покровы — 12%.

На долю ЖКТ приходится основная часть (60–70%) микробиоты [18–20]. Однако и в пищеварительном тракте состав и численность микроорганизмов варьирует в зависимости от уровня. Традиционно считалось, что пищевод стерилен. Однако, по последним данным, в верхних отделах ЖКТ обнаруживается достаточно разнообразный микробный пейзаж. При нормальной слизистой пищевода микробиоценоз представлен в основном грамположительными бактериями типа *Firmicutes*, в частности рода *Streptococcus*. При различных

патологических состояниях (например, при рефлюкс-эзофагите) в микробиоценозе пищевода могут преобладать грамотрицательные анаэробы типа *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и *Spirochaete* [21]. В желудке в основном представлены *Lactobacillus*, *Stomatococcus* и *Sarcina*, всего примерно около 20 видов бактерий [не более 10^3 колониеобразующих единиц (КОЕ/мл)]; тонкая кишка заселена плотнее — от 10^{3-4} КОЕ/мл в проксимальных отделах до 10^7 КОЕ/мл — в дистальных (примечательно, что в проксимальных отделах тонкой кишки обнаруживаются преимущественно грамположительные аэробные бактерии, в дистальных — грамотрицательные энтеробактерии и анаэробы, то есть постепенно нарастают количественные и качественные характеристики толстокишечной микрофлоры); толстый кишечник содержит 10^{12-14} микроорганизмов в 1 мл, а анаэробные микроорганизмы доминируют над популяциями аэробной флоры в 1000 раз.

Желудочно-кишечный биотоп образуют микробиотопы — полостной и пристеночный. Гистадгезивность микроорганизмов, то есть способность к аппликации в пристеночном микробиотопе и колонизации ткани, определяет их индигенность/резидентность или транзиторность. Индигенная микробиота образует микроколонии, так называемую пристеночную флору, функционирующую в тесной взаимосвязи с кишечной стенкой. Индигенные анаэробы находятся в непосредственном контакте с эпителием, далее располагаются аэротолерантные анаэробы, еще выше — факультативные анаэробы, а затем — аэробы. Между колониями микроорганизмов и кишечной стенкой имеется тесная взаимосвязь, что позволяет объединять их в единый микробно-тканевой комплекс, который образуют микроколонии бактерий и продуцируемые ими метаболиты, слизь (муцин), эпителиальные клетки слизистой оболочки и их гликокаликс, а также клетки стромы слизистой оболочки (фибробласты, лейкоциты, лимфоциты, нейроэндокринные клетки, клетки микроциркуляторного русла и др.). В просвете кишки обитают основные представители фекальной микрофлоры, составляющие около 5% от всей микробной популяции, они не взаимодействуют со слизистой оболочкой. Неперевариваемые пищевые волокна служат субстратом для их жизнедеятельности. Состав именно полостного сообщества микроорганизмов крайне непостоянен и зависит от множества факторов, в частности от поступления пищевых веществ. В фекальной микрофлоре доминируют полостные микроорганизмы, что обращает на себя внимание при оценке изменений в различных микробных популяциях, выявляемых при бактериологическом исследовании кала.

Содержание бактерий (КОЕ/мл) и количество видов в толстом кишечнике сугубо индивидуальны и могут различаться у конкретных людей в 12–2200 раз [22–25]. Но при всем таком разнообразии достоверно доказано, что 57 видов бактерий встречаются у большинства людей [26]. Таким образом, большая часть микробиома в организме человека сконцентрирована в кишечнике. Следовательно, микробиоценозу кишечника, функционирующему как единая экосистема, как полноправный «экстракорпоральный», «метаболический» орган, принадлежит ключевая роль в поддержании гомеостаза макроорганизма [27, 28].

Состав бактериома кишки меняется на протяжении жизни (рис. 1.1) [29]. Микробиота человека начинает формироваться сразу после рождения

и развивается как динамичная экосистема, зависящая от способа родоразрешения, типа вскармливания, возраста введения прикорма, и стабилизируется приблизительно к концу третьего года жизни. В течение жизни бактериальный состав увеличивается и в количественном, и в видовом отношении, достигая наивысшей сложности у взрослого человека, и остается относительно стабильным в течение большей части жизни здорового взрослого индивидуума. На поздних стадиях жизни состав микробиоты снова становится менее разнообразным и более изменчивым [30–34].

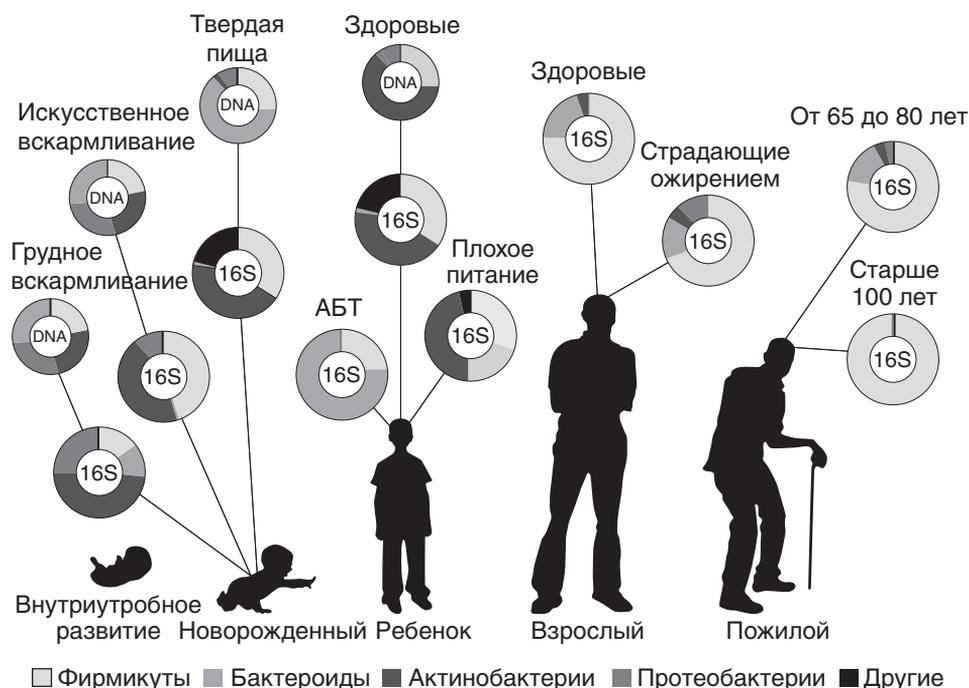


Рис. 1.1. Формирование и развитие бактериального состава микробиоты человека (по Ottman N., 2012)

Основанные на современных генетических (культурально-независимых) методах (флюоресцентной гибридизации *in situ*, полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и др.) исследования показали, что доминирующими бактериальными группами являются *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, определяя состав 80–99% микробиоты кишечника здоровых людей [35, 36]. При этом соотношение *Firmicutes/Bacteroidetes* в составе микробиоты толстой кишки во взрослой популяции постоянно и составляет 4:6 [37]. Экспериментально доказано, что колебания данного соотношения могут служить релевантными маркерами микробиологических нарушений и патологических процессов в организме. Например, уменьшение соотношения *Firmicutes/Bacteroidetes* наблюдается при воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК), особенно у пациентов с активным процессом, а при избыточном весе и ожирении оно увеличивается за счет уменьшения доли бактероидов [38–42]. Изменение