

Лекция № 3

Экосистема, биоценоз. Микробиота (микробиом) человека



2020

д.м.н. Таран Татьяна Викторовна

1

- **Экология микробов** – микроэкология – изучает взаимоотношения микробов друг с другом и с окружающей средой.
- Положение о постоянной (аутохтонной) и непостоянной (аллохтонной) микрофлоре в **конкретной экологической нише** является универсальным для всех микробных сообществ: водоемов, почв, воздуха, растительных и животных организмов – С.Н. Виноградский



Виноградский С.Н.

- В.И. Вернадский (1863-1945) впервые сформулировал идею о **биосфере** как наивысшем уровне экологической интеграции, об экологической микробиологии

■ Экологическая микробиология

изучает

отношения внутри микробных сообществ, а также взаимоотношения

микро- и макроорганизмов,

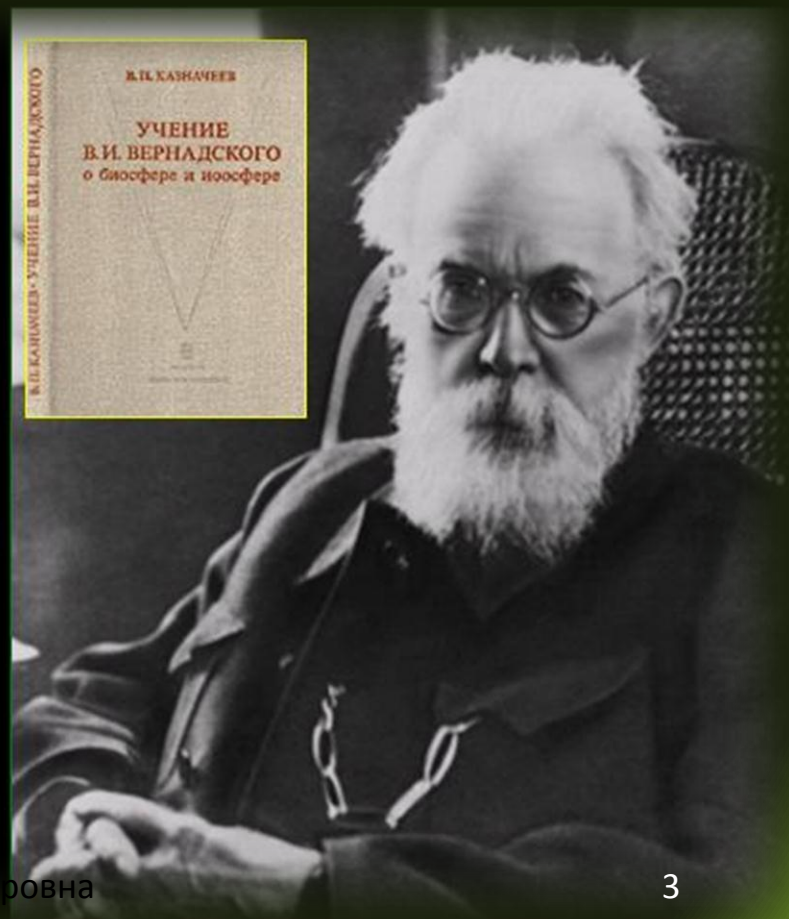
совместно обитающих в

общих биотопах.

В 20е гг XX века выдающийся русский ученый академик **Владимир Иванович Вернадский** (1853-1945) разработал «Учение о биосфере» – оболочке Земли, населенной живыми организмами.

«...На земной поверхности нет химической силы более постоянно действующей, а поэтому более могущественной по своим конечным последствиям, чем живые организмы, взятые в целом».

В.И. Вернадский на Викторовна



Терминология

- **Экосистема** – система, состоящая из биотопа и биоценоза
- **Биотоп** – территориально ограниченный участок биосферы с относительно однородными условиями жизни
- **Популяция** – совокупность особей одного вида, обитающих в пределах одного биотопа
- **Микробиоценоз** – сообщество популяций микробов в определенном биотопе
- **Биосфера** – живая оболочка планеты, общая сумма всех экосистем



Биотопы (компоненты) биосферы



Основные типы отношений

Экологические связи в микробиоценозах:

Симбиоз – взаимное сосуществование, взаимная польза.

Нейтрализм – форма межвидовых отношений, при которой обитающие в одном биотопе и едином биоценозе популяции не оказывают друг на друга ни стимулирующего, ни подавляющего действия.

Конкуренция – микробы одного или разных видов вынуждены соревноваться за одни и те же ресурсы среды обитания при недостаточности последних.

Мутуализм (от лат. *mutual* «взаимный») — широко распространённая форма взаимопользительства, когда присутствие партнёра становится обязательным условием существования каждого из них; один из типов симбиоза — сосуществования различных биологических видов. Но симбиоз может быть и не выгоден одному из партнёров, например, в случае комменсализма.



Микрофлора почвы

- Почва является местом обитания огромного количества различных микроорганизмов (бактерии, грибы, простейшие)
- Непатогенные бациллы (*B. megaterium*, *B. subtilis* и др.) наряду с псевдомонадами, протеем и другими бактериями составляют группу гнилостных бактерий, которые осуществляют минерализацию органических веществ.
- Патогенные спорообразующие палочки родов ***Bacillus*** и ***Clostridium*** (возбудители сибирской язвы, ботулизма, столбняка, газовой гангрены) способны длительно сохраняться (десятки лет), а некоторые – даже размножаться в почве.



Кишечные бактерии в почве



- В чистых почвах кишечная **кишечные бактерии** не встречаются;
- кишечные бактерии (различные виды семейства **Enterobacteriaceae**) попадают в почву с фекалиями, однако в почве отсутствуют условия для их размножения, и они постепенно отмирают.
- обнаружение кишечных бактерий в почве является показателем загрязнения почвы фекалиями человека и животных и свидетельствует об ее **санитарно-эпидемиологическом неблагополучии** в плане возможной передачи возбудителей кишечных инфекций.



Длительность загрязнения санитарно-показательными бактериями

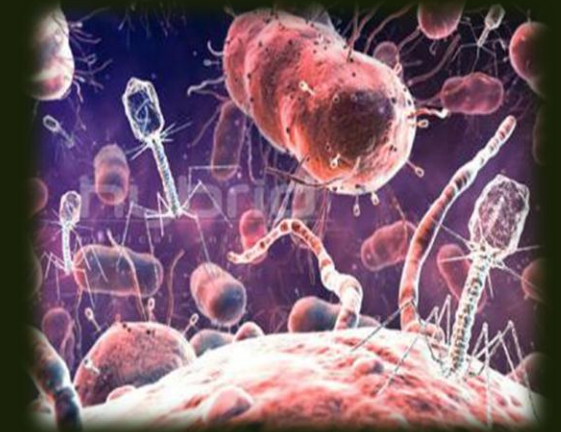
Свежее
загрязнение

● *E. coli*
● *S. faecalis*



Несвежее
загрязнение

● *Enterobacter*
● *Citrobacter*
● *Klebsiella*



Давнее
загрязнение

● *Clostridium*
● *B. anthracis*



Распространение бактерий в воде (гидросфера)



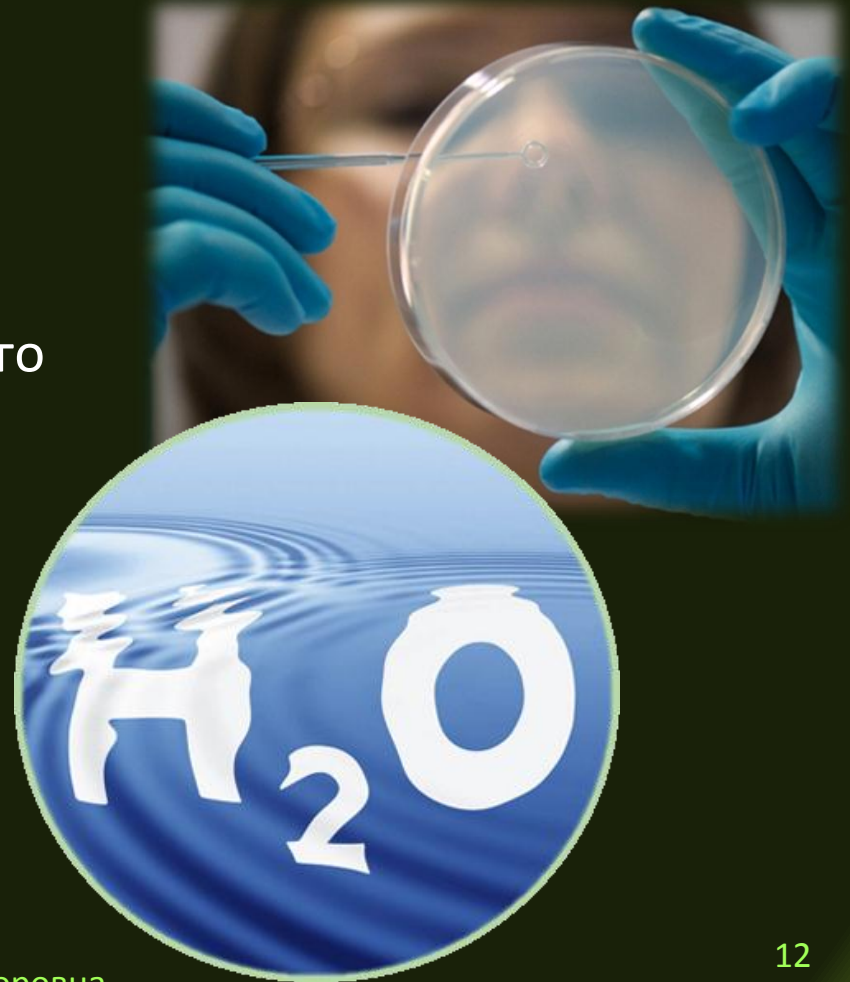
- Микрофлора воды отражает микробный пейзаж почвы, так как микроорганизмы в основном попадают в воду с частичками почвы.
- Вместе с тем в воде формируются определенные биоценозы с преобладанием микробов, адаптировавшихся к условиям местонахождения.
- Микрофлора воды исполняет роль активного фактора в процессе самоочищения от органических отходов, которые утилизируются микроорганизмами.
- В то же время вода загрязненных водоемов является фактором передачи возбудителей многих инфекций (холера, легионеллез, лептоспироз и др.)

Санитарно-микробиологическое исследование ВОДЫ

Проводится с целью текущего надзора, т.е. в плановом порядке, а также по специальным эпидемиологическим показаниям.

Основные объекты исследования:

- питьевая вода централизованного водоснабжения (водопроводная),
- питьевая вода нецентрализованного водоснабжения,
- вода поверхностных и подземных источников,
- сточные воды,
- вода прибрежных зон морей,
- вода плавательных бассейнов.



Основные регламентированные показатели санитарно-микробиологического состояния **ВОДЫ**

- **Общее микробное число (ОМЧ)** – количество мезофильных бактерий в 1 мл (см^3) воды,
- **Индекс бактерий группы кишечной палочки (БГКП)** (бывший «коли-индекс») – количество БГКП в 1 л воды.

Согласно ГОСТ-2874-82 в России в питьевой водопроводной воде допускается **ОМЧ** в 1см^3 не более 100, индекс **БГКП** не более 3 в 1 л воды.

Раньше использовали показатель фекального загрязнения – «**коли-титр**» – наименьший объем воды, в котором обнаруживается хоть одна особь бактерий группы кишечных палочек (БГКП).

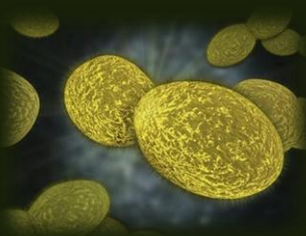
Санитарно-микробиологические показатели различных объектов (общее микробное число - ОМЧ)

- **Вода питьевая**
 - Не более 50/мл
- **Вода плавательных бассейнов**
 - Не более 1000/мл
- **Почва чистая**
 - 100-1000/г
- **Воздух в операционной**
 - не более 100/куб.м
- **Воздух в процедурной**
 - Не более 50/куб.м

Микрофлора воздуха

- Санитарно-показательные бактерии воздуха – это **золотистый стафилококк** и **стрептококк**, так как они являются представителями микрофлоры верхних дыхательных путей и имеют общий путь выделения с патогенными микробами, передающимися воздушно-капельным путем.

- Санитарно-гигиеническое состояние воздуха (особенно в больничных и детских учреждениях) отражается в количестве организмов в 1 м^3 воздуха (так называемое микробное число или **обсемененность** воздуха).



Споры
сибирязвенного
микроба под ЭМ

Микрофлора продуктов питания

- Прижизненное (первичное) обсеменение тканей больного животного собственной условно-патогенной или патогенной микрофлорой.
- В случае **вторичного** обсеменения микробами пищевых продуктов источником загрязнения являются окружающая среда и люди – больные и бактерионосители.
- Пищевые продукты, загрязненные микробами, могут вызвать **пищевые токсикоинфекции**





Бактериальные биоплёнки

Микробиота человека

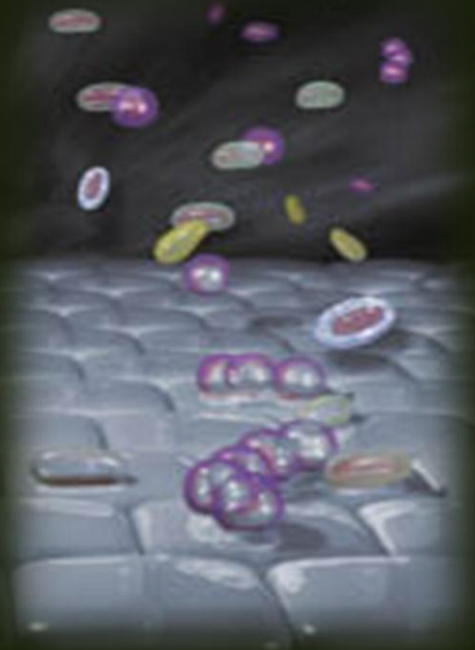
Распространение микроорганизмов и их изучение

- Микроорганизмы составляют более 50 % биомассы на Земле.
- Менее, чем 1 % из них – культивируемые.
- Каждый экологический образец содержит изобилие разновидностей, которые мы никогда не видели прежде – и которые мы никогда, возможно, не увидим.
- У более 900 прокариот полностью расшифрованы геномы, и более 100 в стадии завершения.
- Но полностью не изучена даже *E. coli*.

Биоплёнки

- Вплоть до конца XX века микробиология развивалась главным образом на основе **исследований чистых культур** микроорганизмов.
- Теперь доказано, что большинство микроорганизмов (более 99 %) в естественных и искусственно созданных окружающих средах существует в виде специальных **биологических структур** – **биопленок**, значительно повышающих жизненный потенциал сообщества.
- Согласно этой теории, бактерии основную часть времени развития и размножения находятся в **матриксе биопленки**, и эти прикрепленные клетки отличаются по физиологическим свойствам от клеток того же штамма, находящихся во **взвешенном** в среде состоянии (англ. *planktonic state*) – **планктонном**.
- Жизнедеятельность бактериальных биопленок подчинена некоторым общим **закономерностям**. Установлено, что бактериальная биопленка проходит три основных этапа своего развития

Три основных этапа развития биопленок



I стадия – адгезия планктонных форм бактерий к поверхности



II стадия – формирование матрикса и организация биопленки



III стадия – отделение новых планктонных бактерий



Биопленки составляют лишь 5-35 % массы биопленки, остальная часть – это **внеклеточный матрикс**.

Биоплёнка – обладающее пространственной и метаболической структурой сообщество микроорганизмов, расположенных на поверхности раздела сред и погружённых во внеклеточный полимерный **матрикс (слизь)**. Обычно биоплёнки образуются в контакте с жидкостями при наличии необходимых для роста веществ.

Способность формировать **биопленки** является составной частью жизненного цикла большинства микроорганизмов и **успешной стратегией защиты бактерий от неблагоприятных факторов среды**. Такие сообщества называют **консорциумами микроорганизмов**. Практика показала многократное увеличение эффективности работы микроорганизмов при такой организации.

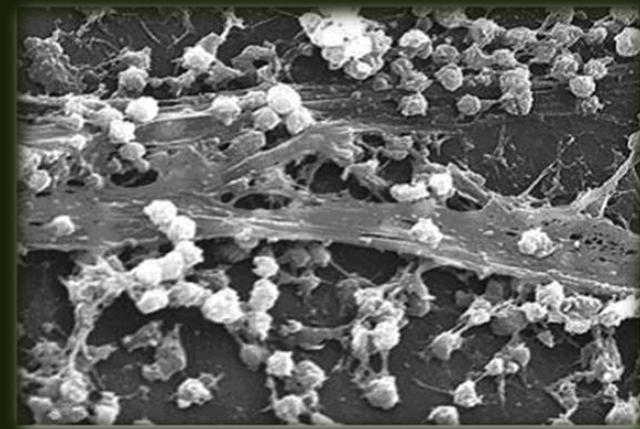
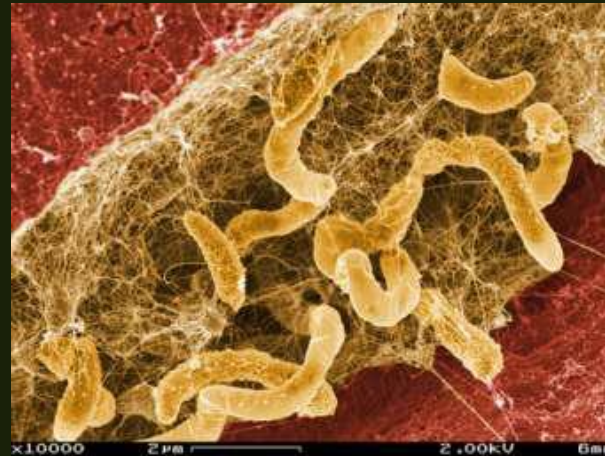
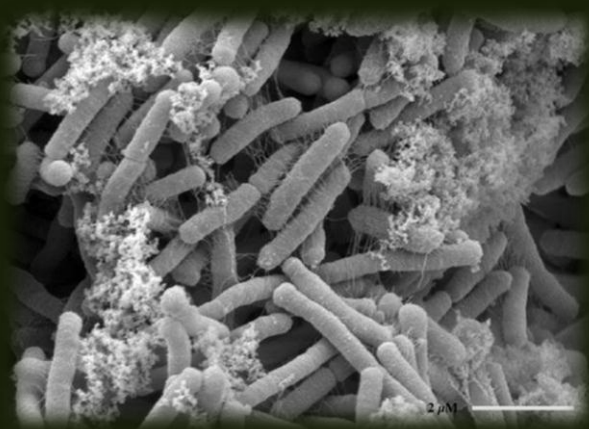
Считается, что **планктонную стадию** можно рассматривать лишь как способ перемещения микробной клетки от одной поверхности к другой, то есть это кратковременное состояние в жизни бактерий.

Микробиота биопленок оказалась очень устойчивы к воздействию УФО, дегидратации и вирусам, а/б и факторам иммунной защиты.

Фактором устойчивости биопленок оказывается **слизисто-полимерный слой**, вырабатываемый сразу после адгезии, и **включающий липополисахариды, протеогликаны, гликопротеиды, эндополисахариды, аналогичные веществу клеточной стенки, гликокаликса и капсул бактерий.**

Примером защитной функции полимерной пленки является выживание ***Salmonella, Legionella*** при хлорировании, что доказывает устойчивость биопленки к данному способу дезинфекции.

Наблюдаемые в микроскоп бактерии в биопленке распределены неравномерно. Они сгруппированы в микроколонии, окруженные обволакивающим межмикробным матриксом:



Биопленки, образованные бактериями синегнойной палочки (слева), кишечной палочки и стафилококком золотистым (справа)

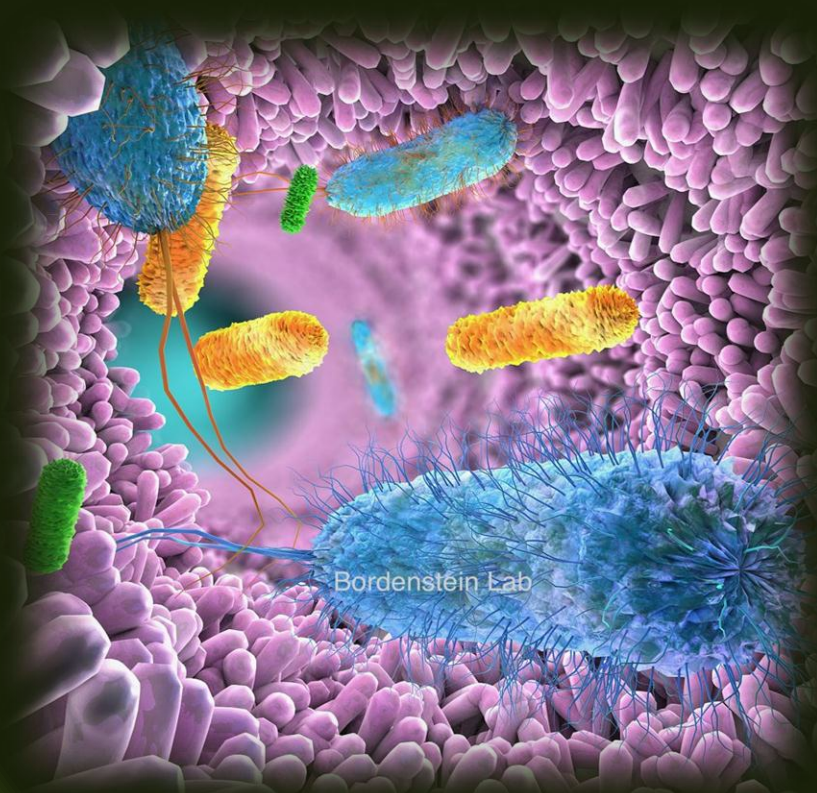
- Сложная архитектура биопленок обеспечивает возможность **метаболической кооперации** клеток внутри пространственно хорошо организованных систем, создает условия, благоприятствующие установлению **симбиотических взаимоотношений** между бактериями разных видов, передаче сигналов, влияющих на **экспрессию генов** в популяции бактерий.
- В связи с этим **биопленки** бактерий часто рассматриваются как **функциональный аналог многоклеточного организма**.



Среди отдельных популяций в составе биоплёнки идет интенсивный **обмен генетической информацией** – напр., ген. изменённый холерный вибрион O1 (горизонтальный перенос генов путем трансформации).

Чувство кворума (**Quorum Sensing**) в биоплёнке

- В биоплёнке клетка меняет своё поведение, что обуславливается регуляцией экспрессии генов. Чувство кворума (**Quorum Sensing**) — способность некоторых бактерий координировать своё поведение за счёт секреции молекулярных сигналов.



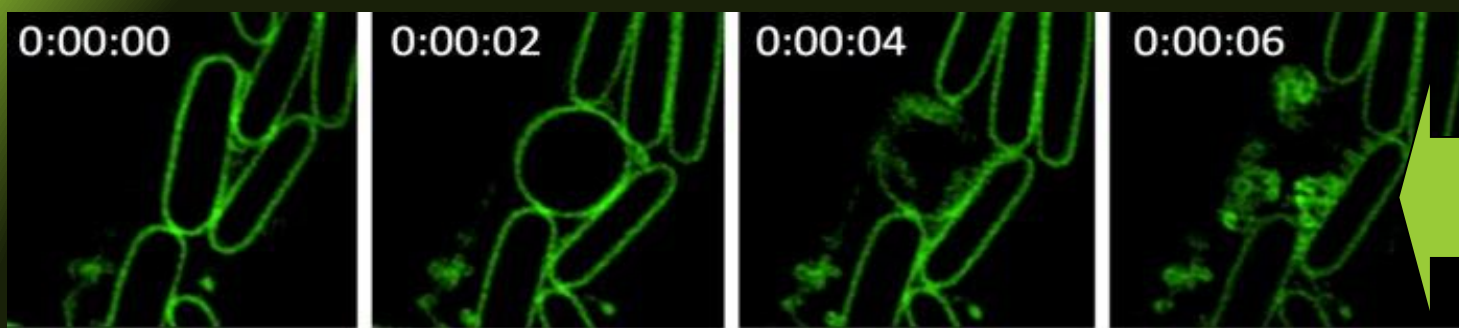


Фото из Технолог. Универ.,
Австралия



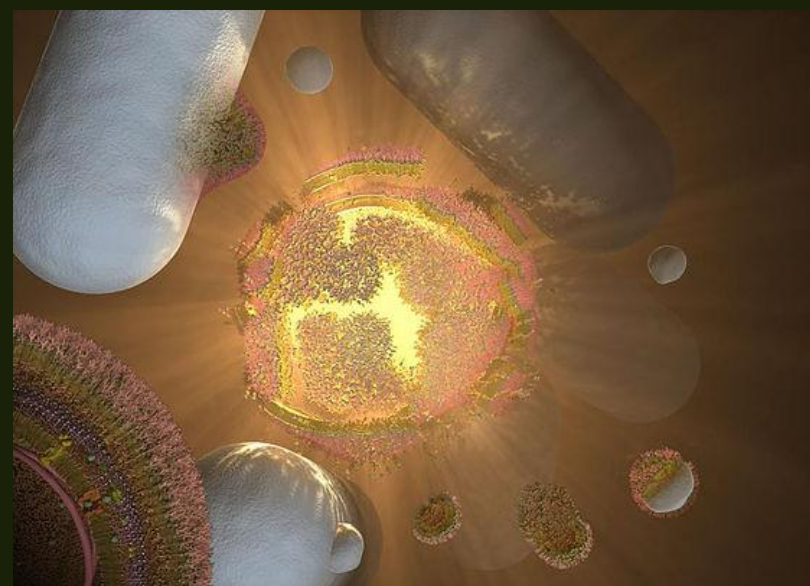
Quorum Sensing — дистанционное межмикробное взаимодействие в биоплёнках

Биопленка состоит из бактерий, а также свободно плавающих в окружающей слизи ДНК, РНК, белков, ЛПС и др. структур, которые, как предполагалось, попадали в матрикс после гибели бактериальных клеток.

Оказалось, что некоторые бактерии в течение 5–10 сек. **округлялись** и взрывались, эффективно выбрасывая клеточное содержимое, чтобы «поделиться» им с остальными бактериями».

Взрывы «берет на себя» **ген Lys** умеренного фага, присутствующий в геноме бактерий в «спящем» состоянии

По мнению учёных, взрыв бактерии быстро наполняет слизь биоплёнки молекулами ДНК, гликопротеинов и фрагментами клеточных мембран, дополнительно усиливая её

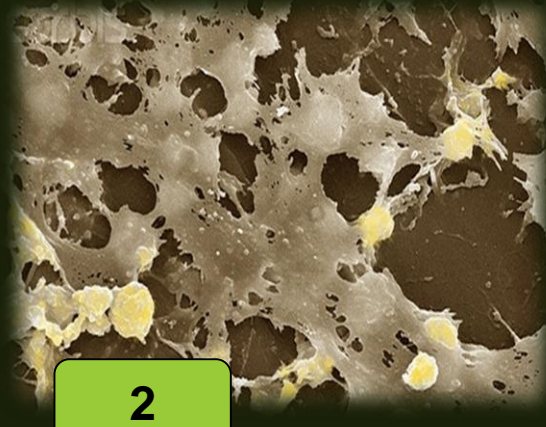


Клетки синегнойной палочки и фрагменты «взорвавшейся» клетки

Представления о биопленках, подтвержденные с помощью современных методов визуализации, изменили взгляды на инфекционные заболевания. Все новые данные свидетельствуют о том, что **хронические инфекции** принципиально отличаются от острых образованием **биоплёнок**, а фагоциты неспособны поглощать биоплёнки в отличие от отдельных бактериальных клеток [например, поражения мочевыводящих путей). Это требует совершенно новых подходов к их диагностике и лечению.



1



2

1 – биопленка стафилококка;
2 - биопленка *Streptococcus mutans* в кооперации с другими микроорганизмами на поверхности зубов

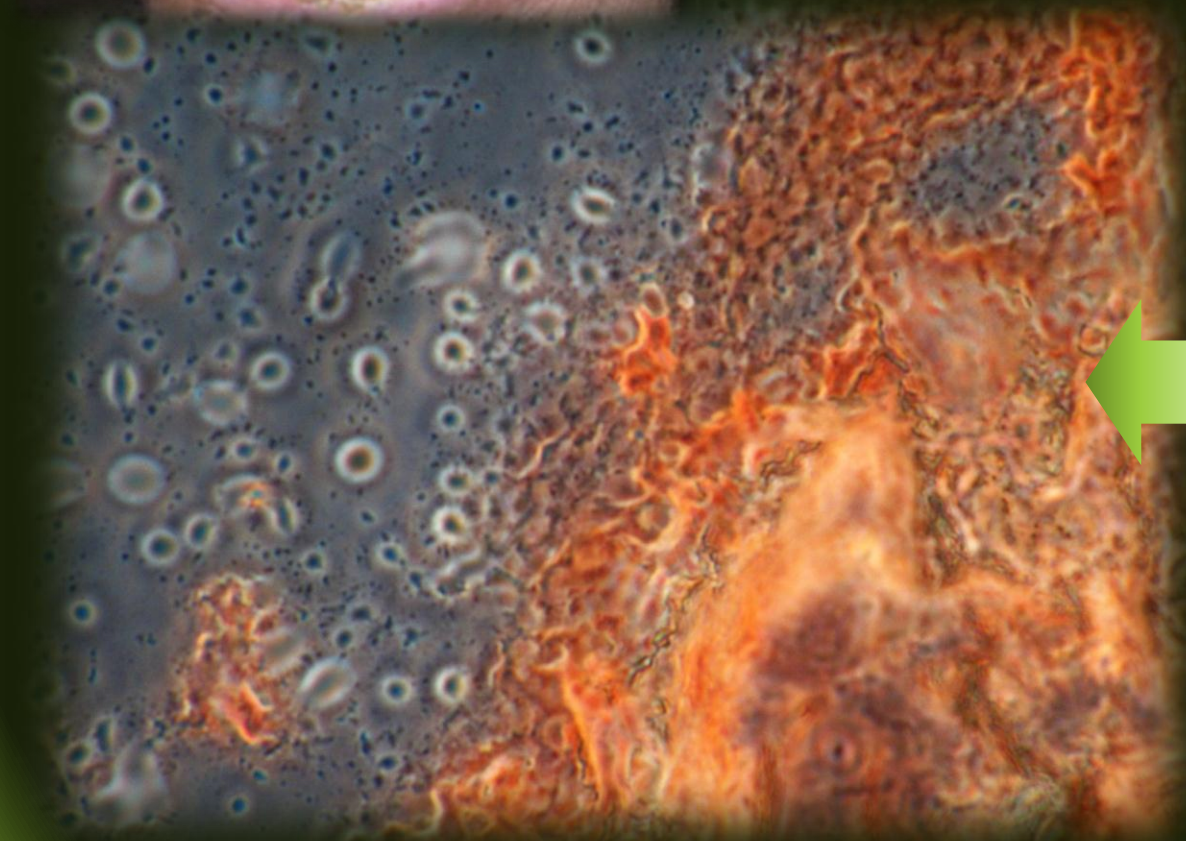
Микроорганизмы образуют биоплёнку под влиянием ряда факторов, включая **клеточное распознавание** мест прикрепления к поверхности и наличие питательных или агрессивных веществ, кислорода и т. д.

Хронические инфекции и биоплёнки

- Среди всех хронических инфекций **65-80 %** вызываются бактериями, формирующими биопленки. Способность бактерий формировать биопленки рассматривается в настоящее время как **фактор их патогенности**.
- Образование биопленок патогенными бактериями способствует хроническим инфекционным поражениям большинства **органов** (верхних дыхательных путей, легких, сердца, почек, кожи, костей, системы пищеварения) и практически всех искусственных **имплантатов**.
- Находясь в составе биопленок, бактерии защищены от повреждающих факторов внешней среды (а/б, антител, сывороточных факторов) в организме хозяина при инфекции.
- **Лечение хронических инфекций уже не может основываться на традиционной концепции микробиологии**. Новые представления о биопленках требуют изменения подходов к диагностике и лечению инфекций в самых различных областях медицины.
- **Задача** – поиск и изучение веществ, которые могут **подавлять образование биопленок и убивать бактерии внутри биопленок**.



Фотография. Гнойная рана области локтевого сустава. Видны темные участки раны (желто-коричневого цвета), после биопсии с которых микроскопически выявлены биопленки.



Микрофотография. Патологический материал из гнойной раны В правом нижнем углу - **биоплёнка** больших размеров, содержащая колонии бактерий (*P. aeruginosa*). Окраска конго красным, фазово-контрастная иммерсионная микроскопия, $\times 1000$.

Микробиота (микробиом) человека

- Не многие области биомедицины могут похвастаться таким быстрым прорывом в знаниях, как те, что связаны с **микробиомной революцией** — изучением микробиома кишечника
- Микробиом человеческого кишечника представляет собой **уникальную совокупность микроорганизмов**. Его незримое присутствие опосредует целый ряд важных процессов: от метаболических и иммунных до когнитивных, а отклонение его состава от нормы приводит к развитию разнообразных патологических состояний: аллергических и аутоиммунных заболеваний, сахарного диабета, ожирения и др.
- В организме человека проживает **10^{12} - 10^{13} бактерий**, т.е. бактериальных клеток приблизительно столько же, **сколько клеток самого организма**, при этом до сих пор знаем мы о микроорганизмах и их роли в физиологии человека постыдно мало.

Микробиота человека

- **Микробиота** колонизирует поверхность тела и полости, сообщаясь с окружающей средой – приэпителиальные биопленки. В норме микро-организмы отсутствуют в легких, матке и во всех внутренних органах.
- Результаты, полученные с помощью новейших методов, позволили **уточнить и пересмотреть** качественный и количественный **состав** кишечной нормофлоры.
- Наиболее крупным микробиомом нашего тела является, несомненно, **кишечный**. Он состоит из **сотен видов** различных микроорганизмов, но у взрослого человека преобладают бактерии двух типов: *Firmicutes* и *Bacteroidetes*.

Микробиота организма человека

Основные биотопы

Кожа

Ротовая полость

Верхние дых. пути

Кишечник

Мочеполовая система

Микробиом распределен в нашем организме неравномерно, по его топографии и видовому составу принято различать микробиом кожи, полости рта, дыхательных путей, урогенитального тракта и кишечника



THE HUMAN

MICROBIOME

Bacteria, fungi, and viruses outnumber human cells in the body by a factor of 10 to one. The microbes synthesize key nutrients, fend off pathogens and impact everything from weight gain to perhaps even brain development. The Human Microbiome Project is doing a census of the microbes and sequencing the genomes of many. The total body count is not in but it's believed over 1,000 different species live in and on the body.

**25
SPECIES**

in the **stomach** include:

- *Helicobacter pylori*
- *Streptococcus thermophilus*

**500-
1,000
SPECIES**

in the **intestines** include:

- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus reuteri*
- *Lactobacillus gasseri*
- *Escherichia coli*
- *Bacteroides fragilis*
- *Bacteroides thetaiotaomicron*
- *Lactobacillus rhamnosus*
- *Clostridium difficile*

**600+
SPECIES**

in the **mouth, pharynx and respiratory system** include:

- *Streptococcus viridans*
- *Neisseria sicca*
- *Candida albicans*
- *Streptococcus salivarius*

**1,000
SPECIES**

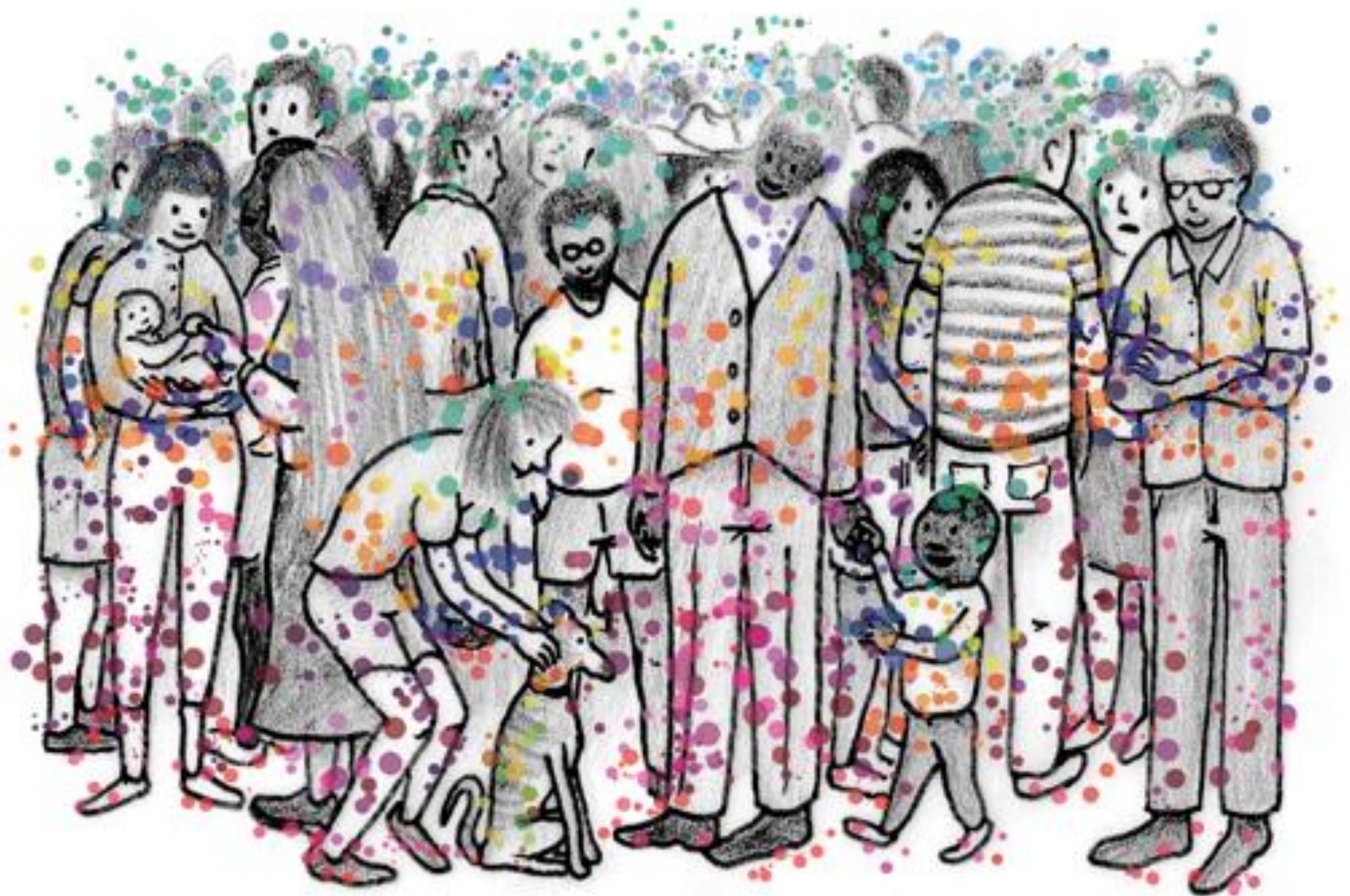
in the **skin** include:

- *Pityrosporum ovale*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Corynebacterium jeikeium*
- *Trichosporon*
- *Staphylococcus haemolyticus*

**60
SPECIES**

in the **urogenital tract** include:

- *Ureaplasma parvum*
- *Corynebacterium aurimucosum*



АУТИЗМ, ДЕПРЕССИИ И ТРЕВОЖНЫЕ РАССТРОЙСТВА

АСТМА/АТОПИЯ

врожденные нарушения иммунного ответа, нарушения Т-иммунитета, **снижение** Бифидобактерий, **повышение** Клостридий

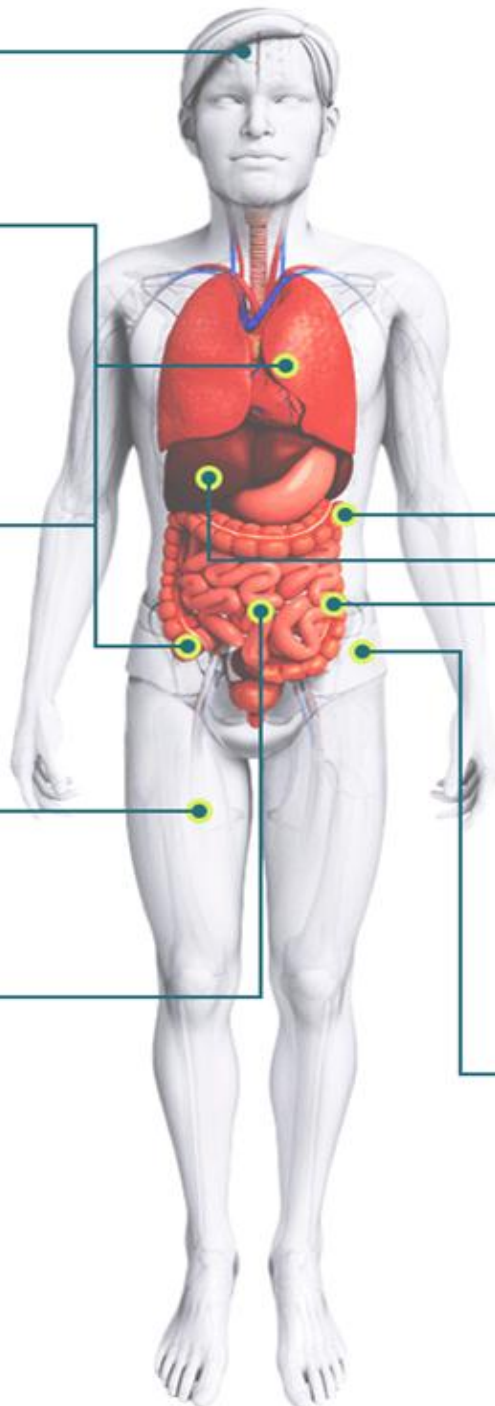
ГИПЕРТОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ, ИШЕМИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ СЕРДЦА

ЗАБОЛЕВАНИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СОСУДОВ

Метаболический синдром — нарушение липидного обмена.

ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ КИШЕЧНИКА

Гигиена (режим стула), TLR-иммунные реакции, снижение разнообразия микрофлоры, СИБР.



РАК КИШЕЧНИКА

Проблемы питания (красное мясо, животные жиры), снижение КЦЖК/бутирата.

Снижение абсорбции витаминов, повышение 7 α дегидроксилирующих бактерий: холевая кислота — дезоксихолевая кислота (карциногены), снижение H₂S метаболизирующих бактерий.

ЗАБОЛЕВАНИЯ ЖЕЛЧНЫХ ПУТЕЙ

Изменение внутрипеченочной циркуляции желчи.

НАРУШЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА КСЕНОБИОТИКОВ/ЛЕКАРСТВ

Например: метаболизм парацетамола и др.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ/ОЖИРЕНИЕ

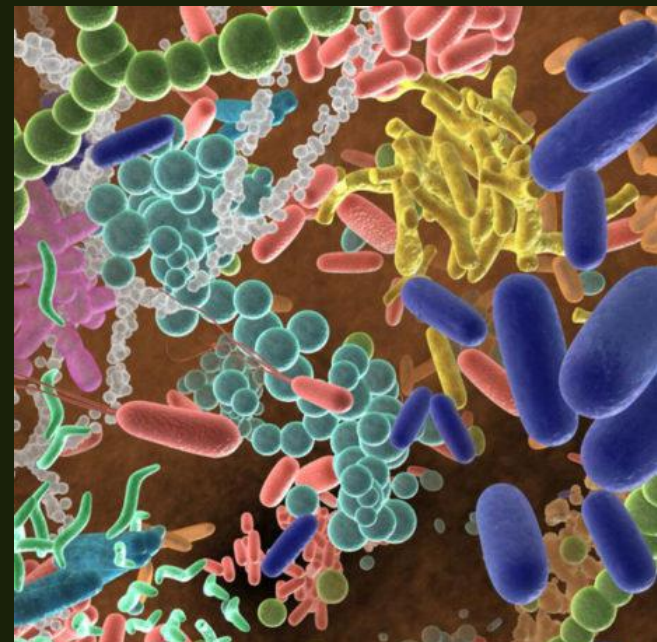
Снижение Bacteroides, **повышение** Actinobacteria, нарушение метаболизма липидов, TLR опосредованные реакции

- **Микробиота** кишечника является неотъемлемой частью каждого индивидуума.
- Она характеризуется сложной иерархической структурой, различными межвидовыми соотношениями.
- Микрофлора кишечника выполняет ряд жизненно важных функций, обеспечивая гомеостаз организма.
- Анализ цитируемых работ показал, что изменение количественного и видового состава микробиоты может приводить к возникновению различных **патологических состояний** (воспалительные заболевания кишечника, атеросклероз, метаболический синдром, ожирение, сахарный диабет 2-го типа).



2020

д.м.н. Таран Татьяна Викторовна



A vibrant, abstract visualization of a microbiome. The background is a deep, dark blue. In the center, a large, dense cluster of small, glowing yellow and orange particles, resembling bacteria or viruses, forms a roughly circular shape. Scattered around this central cluster are various other glowing elements: some are bright green, some are orange, and some are blue. The overall effect is that of a microscopic world teeming with life, captured in a stylized, digital manner.

МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА

МИР
ВНУТРИ
НАС

2020

д.м.н. Таран Татьяна
Викторовна

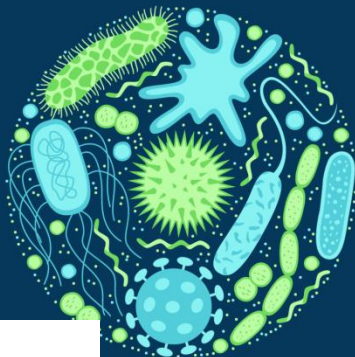
MEDACH.PRO

- В организме млекопитающих микроорганизмы получают **оптимальные условия существования**, доступ к широкому спектру питательных веществ и даже, что немаловажно, возможность расселяться.
- В ходе **эволюции** происходил постепенный отбор наиболее адекватных и важных для макроорганизма штаммов.
- В настоящее время **микробиота** кишечника рассматривается как дополнительный (виртуальный) **многоклеточный метаболически активный «орган»**, **самовосстанавливающийся** при изменениях, вызванных внешними факторами.
- **Защитный матрикс (муцин)** в сотни и даже тысячи раз снижает степень воздействия а/б, антисептиков и др. на микробиоту в составе биоплёнок.



Symposium: Microbiome in Human Disease

October 3, 2018 | 9:00am-12:30pm
Joseph B. Martin Conference Center
Harvard Medical School



Translating Microbiome Science

IHMHC 2018

7th International Human Microbiome Consortium meeting
26th - 28th June, Killarney, Ireland



Vogue

ACSM's 65th Annual Meeting

May 29-June 2, 2018 • Minneapolis, Minnesota USA

9th World Congress on Exercise is Medicine®

World Congress on The Basic Science of Muscle Hypertrophy and Atrophy

EXPLORING HUMAN HOST-MICROBIOME INTERACTIONS IN HEALTH AND DISEASE



5-7 December 2018
Wellcome Genome Campus, UK

Join leading scientists and clinicians from microbiology, gastroenterology, neuroscience, cancer and public health to discuss the latest developments in this fast-moving field.

Now in its 7th year, this well-established conference will include sessions on the brain-gut access and the influence of microbiome on cancer.

KEY SCIENTIFIC TOPICS

- Gut-brain access
- Microbiota based interventions
- Translation between model organisms and humans
- Cancer and the microbiome
- Data analysis approaches
- Microbiome and drug interactions

KEYNOTE SPEAKERS

- Jack Gilbert - University of Chicago, USA
- Julie Segre - National Institutes of Health, USA
- John Cryan - University College Cork, Ireland

CONFIRMED SPEAKERS

- Trida Hallenius - Lund University, Sweden
- Rochella Högst - Karolinska Institute, Sweden
- Lesley Inyale - Imperial College London, UK
- Susan Joyce - APC Microbiome, Ireland
- James Kinross - Imperial College London, UK
- Sarah Lebeer - University of Antwerp, Belgium
- Arthur Lenz - LMU Munich, Germany
- Debbie Shawcross - King's College London, UK
- Claire Shew - King's College London, UK
- Nasso Tzipori - EMBL Heidelberg, Germany
- Paul Wilmes - University of Luxembourg, Luxembourg
- Moran Yassour - The Hebrew University of Jerusalem, Israel
- Laurence Zitvogel - INSERM, France

COMMITTEE MEMBERS

- Patricia Hibberd - Boston University, USA
- Colin Hill - University College Cork, Ireland
- Julian Marchesi - Cardiff University, UK
- Cath O'Neill - University of Manchester, UK

DEADLINES

- Early bird: 11 September
- Abstract: 25 September
- Abstract: 9 October
- Registrations: 6 November

More info and register:
<http://bit.ly/Microbiome2018>

MEMBER
of ACSC events

WELLCOME GENOME CAMPUS
CONNECTING
SCIENCE

30th ACSC
1988 2018

ADVANCED
COURSES +
SCIENTIFIC
CONFERENCES

THE NATIONAL MICROBIOME INITIATIVE

аран Татьяна Викторовна

СОСТАВ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА

Более 100 000 миллиардов микроорганизмов населяют наш кишечник!

Редкие виды:



Streptococcus



Escherichia coli



Enterobacteriaceae

Доминирующие виды:

Clostridium



Eubacterium



Faecalibacterium



Bacteroides



Bifidodacterium



Транзиторные виды:



Дрожжи, лактобактерии

К настоящему времени установлено, что самая населенная часть тела – **пищеварительный тракт**, где обитает 75-78 % микроорганизмов – в основном бактерий (*Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria* и *Proteobacteria*).

Около 15 % микробиоты кишечника составляют **археи**. Правда, об их функциональном значении в микробиоценозе ЖКТ известно пока совсем немного, а о содержании **вирусов** — еще меньше. Однако считается, что вирусная составляющая микробиоты (**вириом**) крайне разнообразна и также может влиять на здоровье человека.



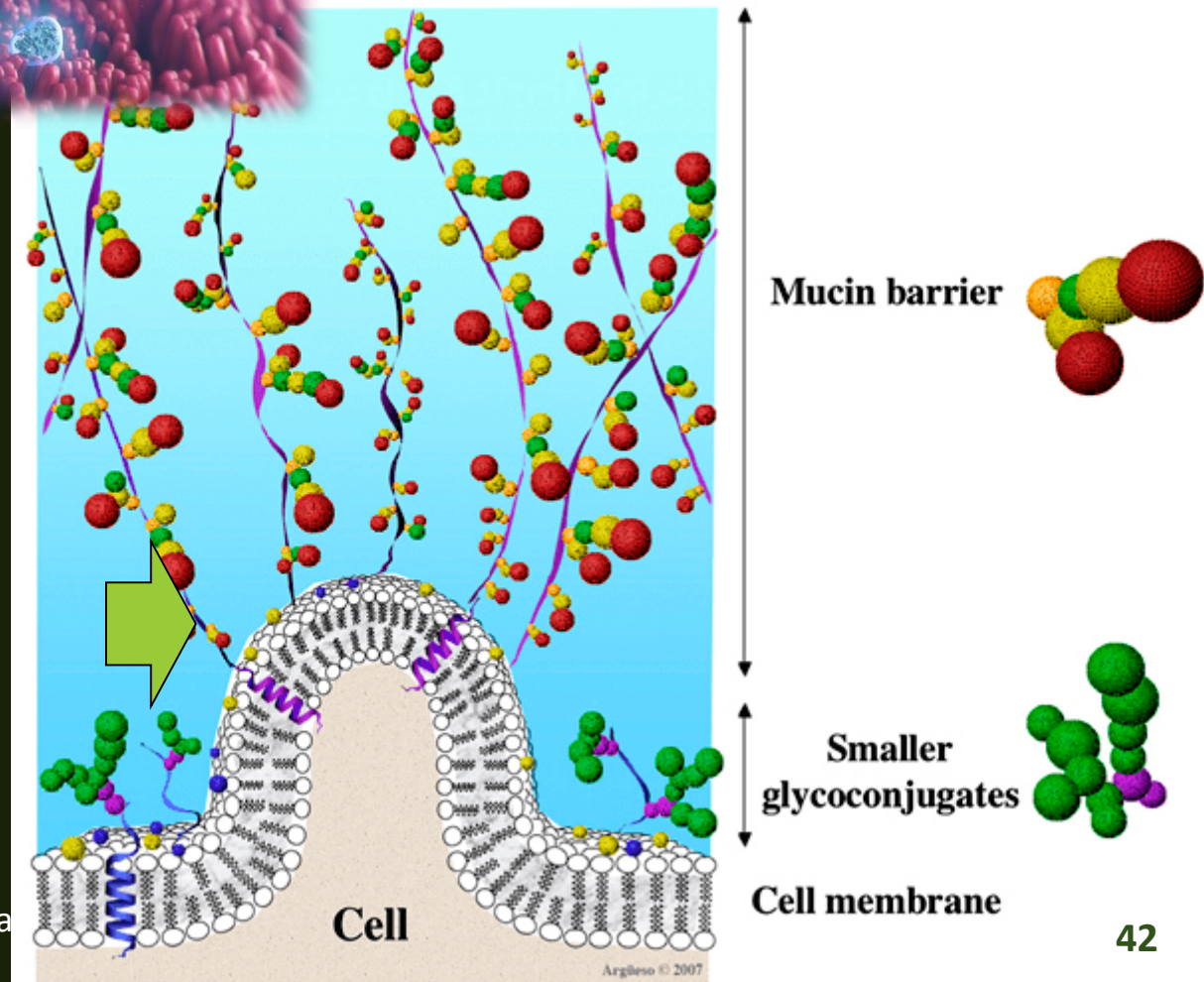
- До начала XXI века существовал некий консерватизм взглядов на микробиоту как систему примитивно устроенных одноклеточных организмов, населяющих биотопы организма в форме планктона.
- В конце XX века сформировалось **представление об особой форме организации микробиоты** организма человека – хорошо организованном взаимодействующем сообществе микроорганизмов, покрывающих поверхности кишечной стенки, других слизистых оболочек, кожи и зубов человека в виде **биоплёнки**.

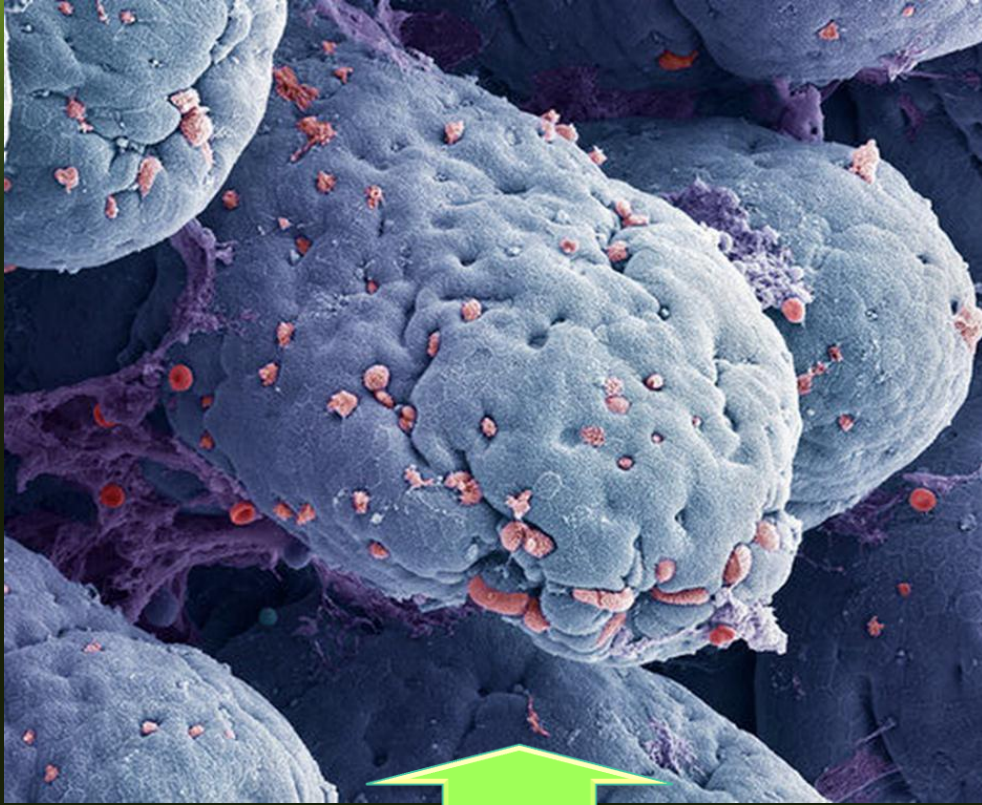


Микроорганизмы, в количестве 10^9-10^{11} клеток/см³ распределены в **пристеночном слизистом слое** – прочном геле, состоящем из **муцина**, продуцируемого бокаловидными клетками эпителия кишечной слизистой оболочки.

Этот муцин близок по химической природе **полисахаридной защитной капсуле**, которой окружают себя многие микробы, в составе биопленки он представляет **экзополисахаридно-муциновый матрикс**.

Ворсинка кишечника и ее пристеночный муциновый слой. Видно, как волокна полимера радиально устремляются в просвет органа. Их разветвленное строение помогает задерживать непереваренные частицы пищи, обеспечивая ростовым субстратом жителей кишечника.





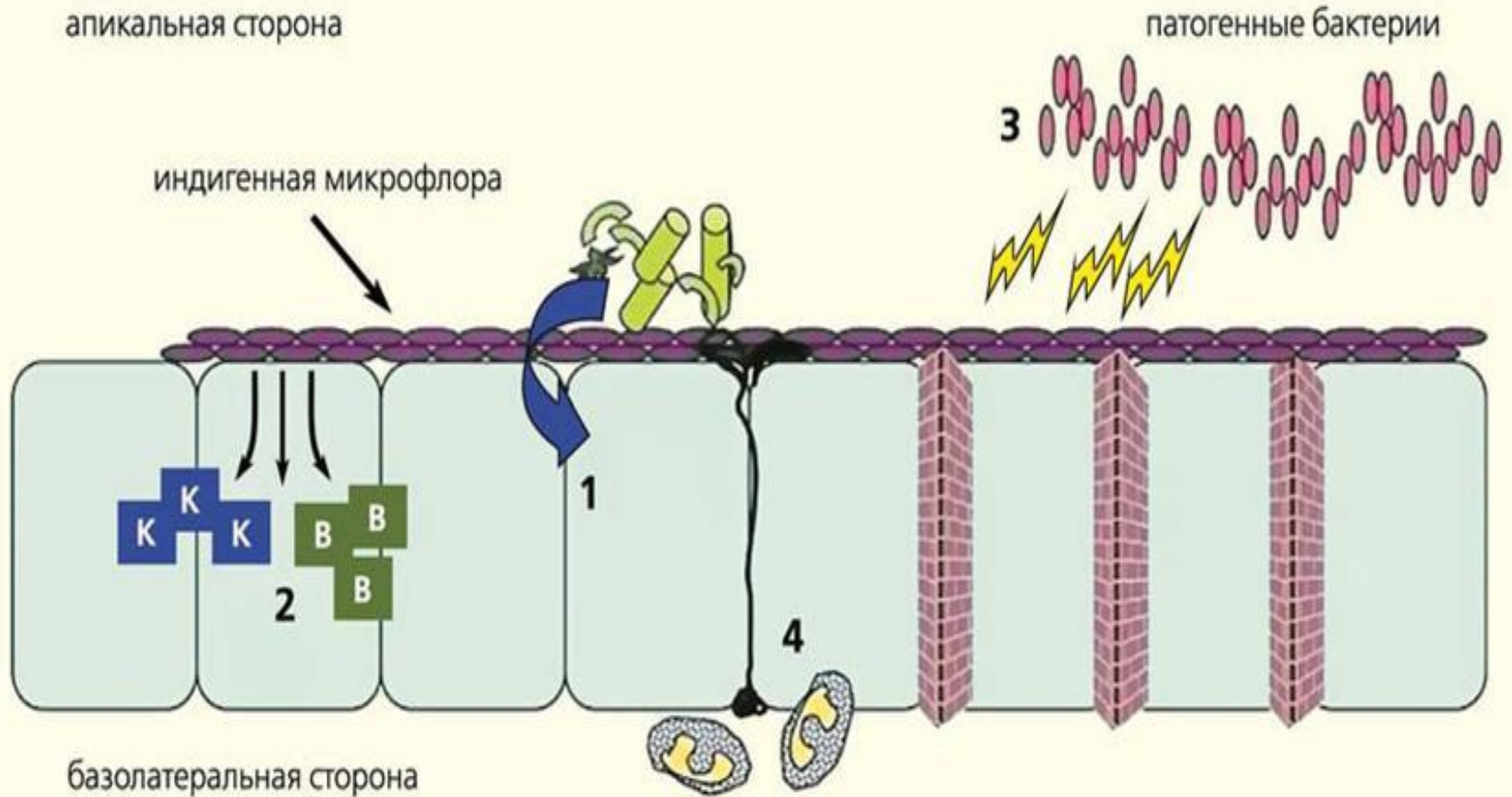
Ворсинка кишечного эпителия; красные точки — бокаловидные клетки, выделяющие слизь, которая защищает эпителий кишечника. (Фото Steve Gschmeissner.)

Внутренняя поверхность кишечника человека в разрезе под электронным микроскопом



Слизь, или *мукус*, — это своеобразный раствор из высокомолекулярных гликопротеинов, вязкий и содержащий молекулы самого разного назначения. Т.о., формируется гелеобразная среда, которая защищает клетки ЖКТ от разнородных агрессоров, в которой микробам вполне уютно, а они также, в свою очередь защищены муцином

Основные функции микробиоты



1 – переваривание белков, жиров и углеводов пищи и синтез летучих жирных кислот,

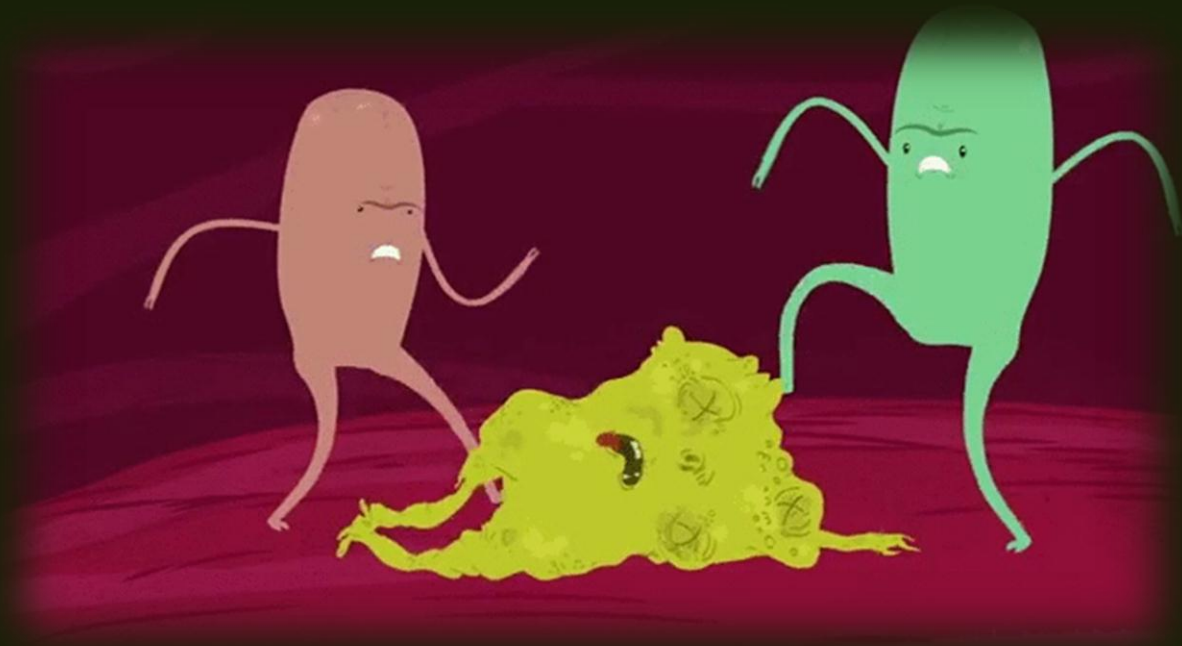
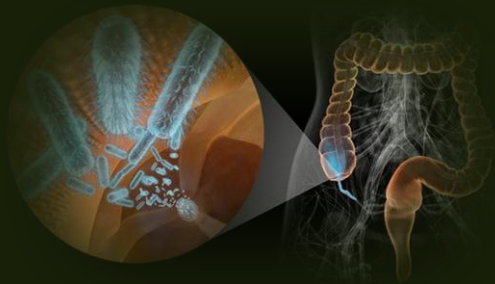
2 – синтез витаминов (К, В и др.),

3 – устойчивость к колонизации патогенными бактериями,

4 – стимуляция иммунной системы.

Колонизационная резистентность

- это совокупность конкурентных, антагонистических и других свойств микробиоты (в основном анаэробов), придающих стабильность микробиоте и предотвращающих колонизацию слизистых оболочек посторонними, в том числе патогенными микроорганизмами.



- При всей сложности и многообразии обменных механизмов, с которыми связана микробиота, следует выделить способность бактерий расщеплять те вещества, которые наш организм гидролизовать не в состоянии, и синтезировать те, которые мы сами продуцировать не можем.
- Так, бактерии обеспечивают питанием клетки слизистого эпителия толстого кишечника, вырабатывая **короткоцепочечные (летучие) жирные кислоты**, из которых наиболее важен бутират.
- Кишечная микробиота является **антагонистом гнилостной микрофлоры**, так как продуцирует молочную и уксусную кислоты, а/б и др.
- Известна ее роль в водно-солевом обмене, регуляции газового состава кишечника, обмене белков, углеводов, жирных кислот, холестерина и нуклеиновых кислот, а также в продукции биологически активных соединений – а/б, витаминов, токсинов и др.
- К примеру, только бифидобактерии могут синтезировать В1, В2, В6, В12, С, никотиновую, фолиевую кислоты и биотин, кишечная палочка синтезирует 8 **витаминов**, в том числе – незаменимые.

Энтеротипы

- Предложено выделить определенные энтеротипы по составу микрофлоры.
- Всех людей можно разделить на **три энтеротипа**, каждый из которых включает множество видов бактерий, вне зависимости от места проживания, состояния здоровья или возраста.
- Исследователи объединили популяции бактерий в **кластеры**, названные согласно доминирующим в них родам.

Первый тип — *Bacteroides*. Он отличается активностью в отношении разложения углеводов, способствует выработке витаминов С, В2, В5, Н. Предполагают, что этот энтеротип будет реже страдать атеросклерозом или он проявится в более поздние сроки.

Второй тип — *Ruminococcus*. Данные бактерии повышают эффективность всасывания углеводов, а также уровень сахара в крови. Представители этого энтеротипа синтезируют фолиевую кислоту и витамин В1.

Третий тип — *Prevotella*. Микроорганизмы в процессе жизнедеятельности разрушают защитный слизистый покров, что, вероятно, предрасполагает к дефектам слизистой оболочки кишечника.

Идентификация определенного энтеротипа позволяет учитывать особенности обмена веществ и выявлять склонность к тем или иным заболеваниям.

Так, например, при **метаболическом синдроме** происходят существенные изменения в составе кишечного микробиома: увеличивается соотношение *Firmicutes/Bacteroides*, снижается количество бактерий рода *Bifidobacterium*.

При этом необходимо учитывать, что микрофлора кишечника каждого человека индивидуальна и постоянна .

В целом, микробиота является **высокостабильной экосистемой в отсутствие серьезных внешних факторов**.

- Микробиота человека** — метаболический «орган», который не только участвует в переваривании пищи, но и:
- выделяет различные биологически активные вещества,
 - стимулирует функции врожденного и приобретенного иммунитета,
 - препятствует инвазии патогенных микроорганизмов,
 - выполняет детоксикационную, антиканцерогенную, синтетическую функции и др.

Предрасположенность к ряду хронических заболеваний во взрослом возрасте закладывается **в период первичной колонизации ЖКТ**, от которой во многом зависит функционирование иммунной системы и в первые годы жизни, и в старшем возрасте.

- **Традиционно** считалось, что колонизация ЖКТ микроорганизмами происходит **после рождения**.
- Исследования последних лет показали, что **микроорганизмы присутствуют в плаценте, амниотической жидкости, пуповинной крови, меконии** [а также в грудном молоке, кот-е ранее считалось стерильным].
- Неправильное питание матери во время беременности или ребенка в раннем детском возрасте может привести к обеднению и **дефекту микробиоты** кишечника.
- Предполагают, что окончательное становление так называемого **энтеротипа** или **фекотипа** начинается с 18 мес. Примерно к **2-3 годам** микрофлора претерпевает последние изменения, формируется «взрослая» микробиота, 60-70 % которой будет мало варьировать на протяжении всей жизни [4].

Гигиеническая гипотеза

- В развитых странах растет заболеваемость аллергией и аутоиммунными заболеваниями, причем гораздо сильнее в городах, чем в сельской местности как в условиях одной и той же страны, так и в мире.
- Например, несмотря на то, что **российские** и **финские карелы** имеют одинаковый генетический профиль, распространенность множества **аутоиммунных** заболеваний на финской стороне гораздо выше. Среди финских карелов **диабет** встречается в **6** раз чаще, **целиакия** – в **5** раз чаще, **аутоиммунные** заболевания щитовидной железы – в **6** раз чаще, а также наблюдается более высокий уровень заболеваемости различными **аллергиями**, чем среди российских карелов.
- Согласно «гигиенической теории», **для нормального становления иммунной системы ребенку необходимо в первые годы жизни контактировать с максимальным количеством микроорганизмов, включая те, которые относят к условно патогенным**. Иными словами, иммунитет по мере его становления «обучается» оптимальным образом взаимодействовать с микроорганизмами, что позволяет макроорганизму и его микроокружению совместно решать необходимые задачи метаболизма.
- Формирование ИС начинается еще на **7 нед** развития плода. Пещера, шкура, грязь, паразиты и т.д.

Выдержки из книги микробиолога Роба Найта «Смотри, что у тебя внутри» (США, 2015)

«В частности, мы узнали, что кишечные микробные сообщества, отличающиеся низким разнообразием, связаны с ожирением, воспалительными заболеваниями кишечника и ревматоидным артритом».

«Я не устаю повторять: **сила – в микробном разнообразии**. Наш организм терпит поражение, если он не сталкивался с разнообразием микробов».

«Возможно, что у столетних людей особенно здоровые и разнообразные микробиомы, которые и позволяют им дожить до такого преклонного возраста»

«Учитывая ту роль, которую микроорганизмы играют в химии нашего тела, можно предположить, что они влияют и на формирование нашего разума. В этом плане особый интерес представляет аутизм. В некоторых работах сообщается, что кишечные микробиомы детей с синдромом аутизма отличаются от микробиомов обычных детей (часто братьев и сестер)»

Выдержки из книги микробиолога Роба Найта «Смотри, что у тебя внутри» (США, 2017)

«Люди, которые в детстве контактировали с разнообразными микробными сообществами – благодаря братьям и сестрам, домашним животным, жизни на ферме, – как правило, имеют более здоровую иммунную систему по сравнению с городскими жителями».

«Когда наша ИС в детстве «простаивает», не подвергаясь атаке бактерий и вирусов, которые миллионы лет коэволюционировали вместе с человеком, то потом она чересчур остро реагирует на малейшие раздражители.

Современная гигиеническая гипотеза утверждает, что контакт с непатогенными микробами в грязи и в пыли и общение с самыми разными здоровыми людьми и животными может быть хорошей профилактической мерой».

Как снизить риск аллергии?

- ☀ Заведите собаку или кошку
- ☀ Живите в деревне (или почаще вывозите ребенка на природу, где ребенок будет контактировать с соломой и коровами)
- ☀ Избегайте антибиотиков в первые годы жизни ребенка
- ☀ Используйте пробиотики, пребиотики и грудное вскармливание

Микробиота и иммунная система

- Микробиота кишечника оказывает значительное влияние на формирование и поддержание **иммунитета**. В кишечнике содержится около 1,5 кг микроорганизмов, антигены которых стимулируют иммунную систему. Естественным неспецифическим стимулятором иммуногенеза является **мурамилдипептид**, образующийся из пептидогликана микробиоты под влиянием лизоцима и других литических ферментов, которые находятся в кишечнике.
- Иммунная система при рождении все еще недоразвита – в первую очередь из-за отсутствия контакта с необходимым количеством микробных антигенов.
- Система иммунитета (и врожденного, и приобретенного) у ребенка «созревает» постепенно, что проявляется в изменении соотношения про- и противовоспалительных Т-Лф. При нормальном развитии ребенка это происходит **параллельно с формированием микробиоты**.

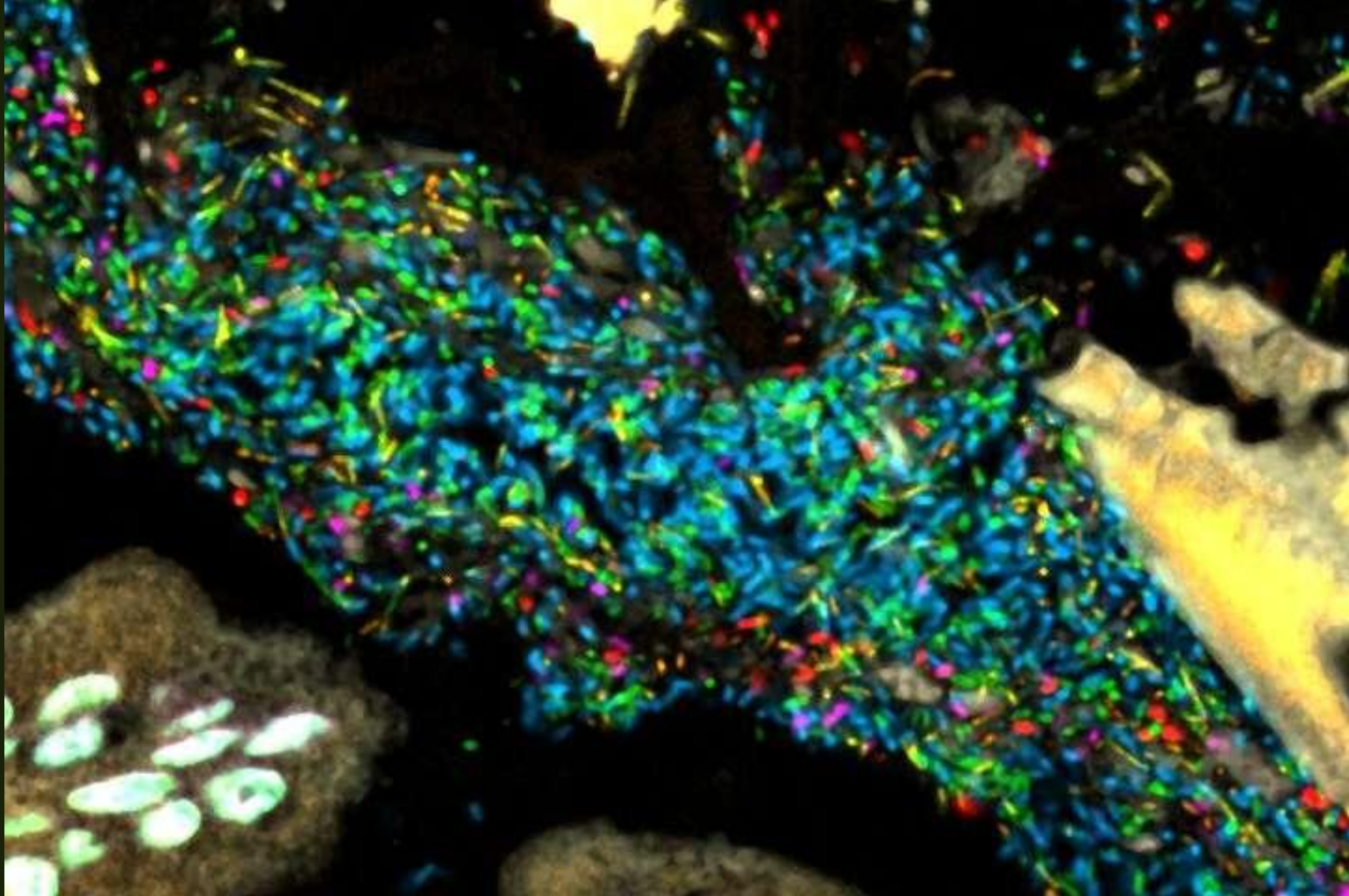
Гнотобионт – макроорганизм с известной исследователю микробиотой или «безмикробный».

Оказалось, что безмикробные животные не только отстают в развитии и подвержены опасности погибнуть от любой безобидной для обычных животных инфекции.

У гнотобионтов не формируются ни нормальная система пищеварения, ни иммунитет, ни даже характерное для конкретного вида животных поведение (аутизм), да и сама ЦНС.

Так, у гнотобионтных мышей наблюдается гиперактивность, отсутствует чувство страха, сбивы ритмы день–ночь.

Одним из важнейших свойств **микробиоты** является её непосредственное участие в **становлении ИС**, как кишечника, так и всего организма. Микробная колонизация пищеварительного тракта приводит к формированию ассоциированной с кишечником лимфоидной ткани (GALT), которая **увеличивается в объеме** в десять раз к **концу первого года** жизни.

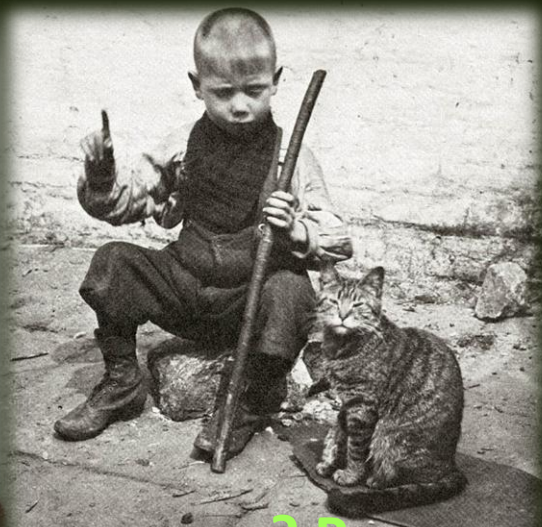


Бактерии в модельном микробиоме кишечника человека, созданного у мышей-гнотобионтов. Каждый вид бактерий отмечен разноцветным зондом, создавая карту пространственной организации сообщества.

- Заселяющиеся в кишечник микроорганизмы вызывают экспрессию и активацию паттерн-распознающих рецепторов (**ПРР**) в эпителии, что привлекает в субэпителиальный слой клетки врождённого иммунитета.
- Это является началом **первичного физиологического воспаления**. В процессе его развития происходит образование лимфоидной ткани, включая и пейеровы бляшки. К концу первого года жизни ребёнка эта лимфоидная ткань **GALT** становится в несколько раз больше остальных лимфоидных образований тела.
- Взаимодействие **GALT** и **микробиоты** с самых первых дней жизни – необходимое условие для правильного комплексного развития **мукозального** и **системного** иммунитета. В отсутствии бактерий на поверхности эпителия **B** и **T-Лф** не **заселяют** собственную пластинку слизистой оболочки, и не происходит секреция **IgA**.

Почему ИС задействует факторы врожденного и адаптивного иммунитета для уничтожения и элиминации патогенов и не реагирует на собственную микробиоту?

- Взаимодействие лигандов микробиоты (**PAMP**) с **TLR-3** и **TLR-4 ДК** приводит к привлечению наивных Т-Лф в кишечник. Формируется популяция **регуляторных Т-Лф T-reg**, которые принимают активное участие в формировании иммунологической **толерантности** за счет продукции ими противовоспалительных цитокинов – **ИЛ-10**. Т.о., поддерживается толерантность к собственной микрофлоре и секреция **IgA**.
- Подтверждением этого являются данные последних лет - **грудное молоко** содержит **ИЛ-10**, который снижает риск развития аллергии и способствуют формированию у ребенка **пищевой толерантности** и **толерантности к микробиоте**.
- При чем формирование толерантности происходит **на штаммовом уровне** для индивидуума. Это очень прочная система, туда нельзя внедрить чужеродный штамм (что противоречит утверждениям производителей пробиотиков о приживаемости их в организме) – как пересадка, например, печёночных клеток.



Гигиеническая гипотеза

Домашние животные

Обследовано 3143 финских ребенка 0–1 года.

Результат – снижение риска развития аллергии, астмы, диабета I и II типа.)

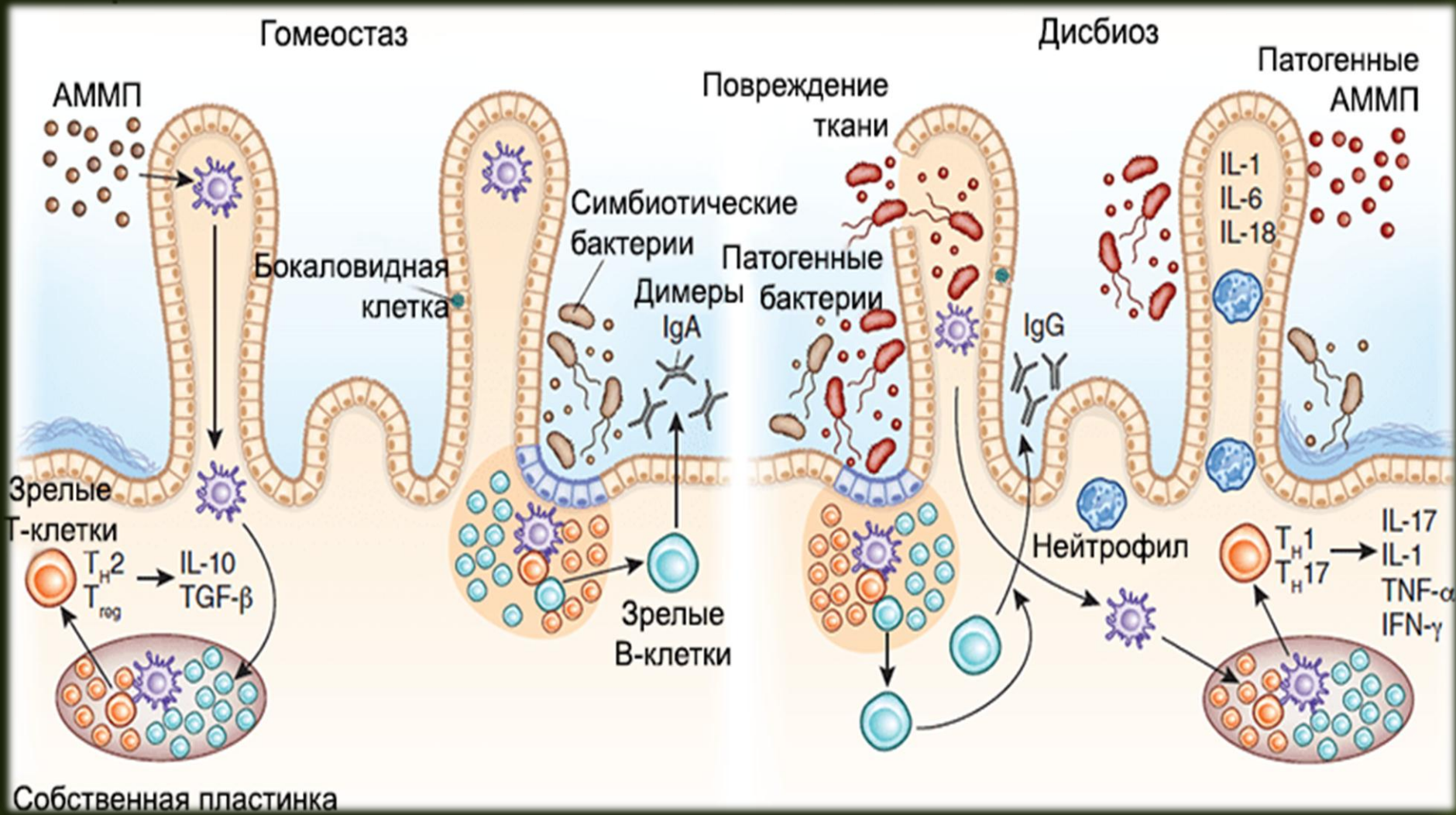
Хотите ребенка без аллергии? Рекомендации:

Держите дома пять блохастых кошек, большую слюнявую мохнатую собаку, и пусть они лижут малышу руки, и пусть попадает шерсть на его кроватку и одежду, особенно в первый год жизни.

А еще лучше переселиться с ребенком за город, хотя бы на первые три года. Там он и земли в любом случае попробует, и травки, по которой кто только не ползал, и мухи по нему тоже побегают, и ветром в окошко занесет все нужные его иммунной системе гадости, о которых чистоплотному человеку и думать не хочется.

Вся эта благодать попадает к малышу, и его иммунной системе есть чем заняться! Она тренируется правильным механизмам ответа на инфекцию и на безобидные вещества, оттачивает нужные реакции на поступившем материале, а не ищет врагов там, где их нет.

Толерантность к микробиоте



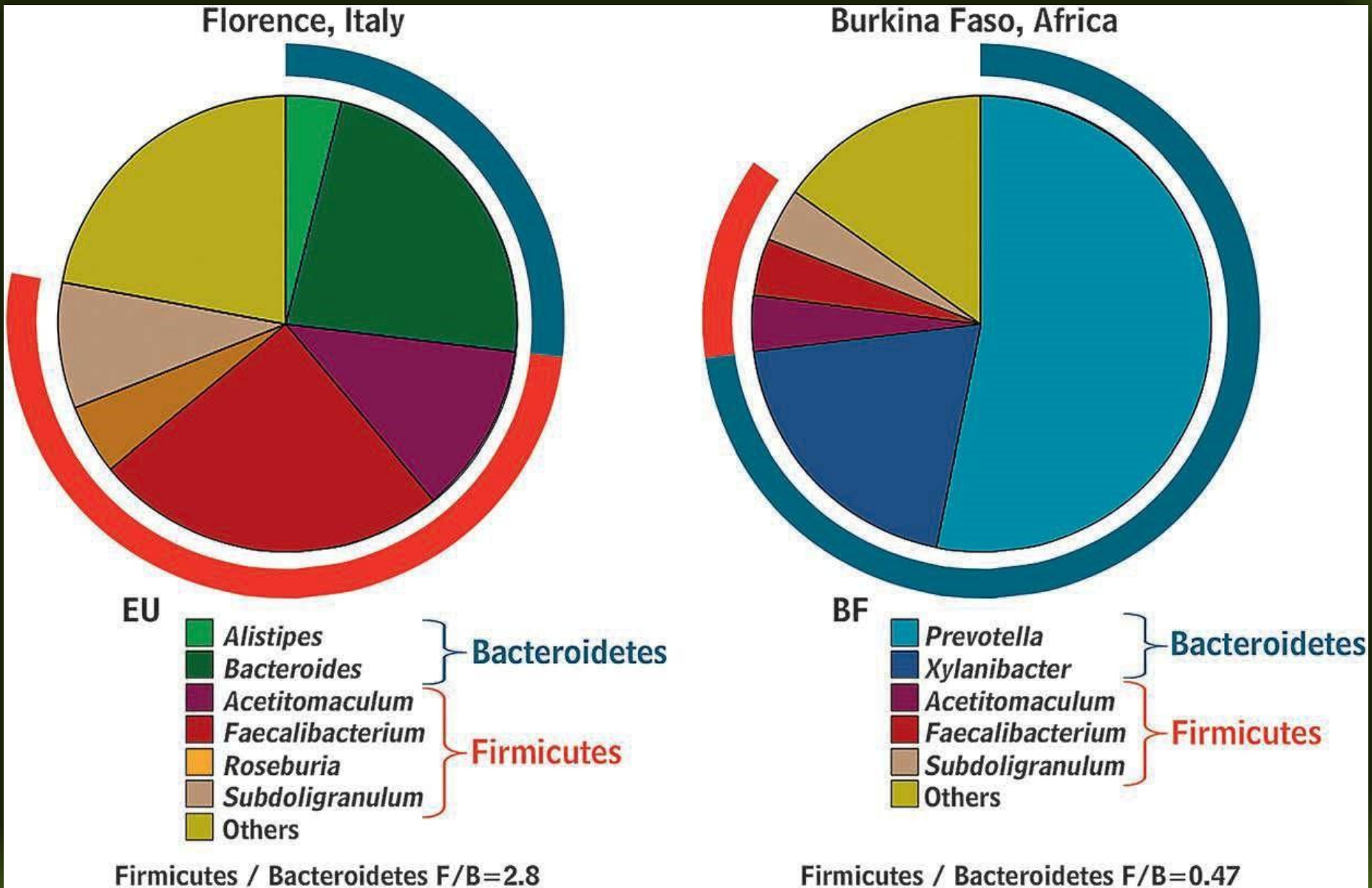
д.м.н. Таран Татьяна
Викторовна

Качественный и количественный состав микробиома

- Мировая наука в настоящее время переживает необычайный всплеск интереса к микробиоте человека.
- Разработаны достаточно информативные методы определения состава **пристеночной** микробиоты из биоптата кишечника (методы масс-спектрометрии, секвенирование генома, анализ уникальной последовательности рибосомной 16S РНК перспективный и активно развивающийся метод «MALDI-TOF» и др. и др.), а не микробиоты **фекалий**.
- Результаты, полученные с помощью новейших методов, позволили **уточнить и пересмотреть качественный и количественный состав кишечной микробиоты**. Приведу только некоторые положения.
- С помощью молекулярно-генетических методов исследования доказано, что в состав микробиоты толстого кишечника входит **не менее 160 видов** бактерий, бóльшая часть которых – **некультивируемые**.
- К настоящему времени достоверно установлено, что истинный состав микробиоты кишечника существенно отличается от указанного в **стандартах**.

- В ходе **эволюции** происходил отбор наиболее адекватных и важных для макроорганизма штаммов в соответствии с пищевыми потребностями и особенностями диеты.
- Так, обнаружены довольно четкие отличия в микробном составе - у **европейских** детей доминировали **фирмикуты**, а разнообразие микробиоты существенно ниже, чем у **африканцев**, у которых преобладали **бактероиды**.
- По сравнению с европейскими, дети из Африки в меньшей степени страдают от **ожирения** даже в материально благополучных семьях.
- Было выяснено, что с ожирением коррелирует **уменьшение биоразнообразия** микробиоты.
- Та же зависимость прослежена при изучении микробиоты **близнецов** с избыточным весом
- Поскольку **бактероиды** способны ферментировать растительные полисахариды с образованием **летучих жирных кислот**, которые легко усваиваются организмом человека, нетрудно предположить, что дополнительные метаболические возможности стали эволюционно важным фактором выживания человека в Африке.

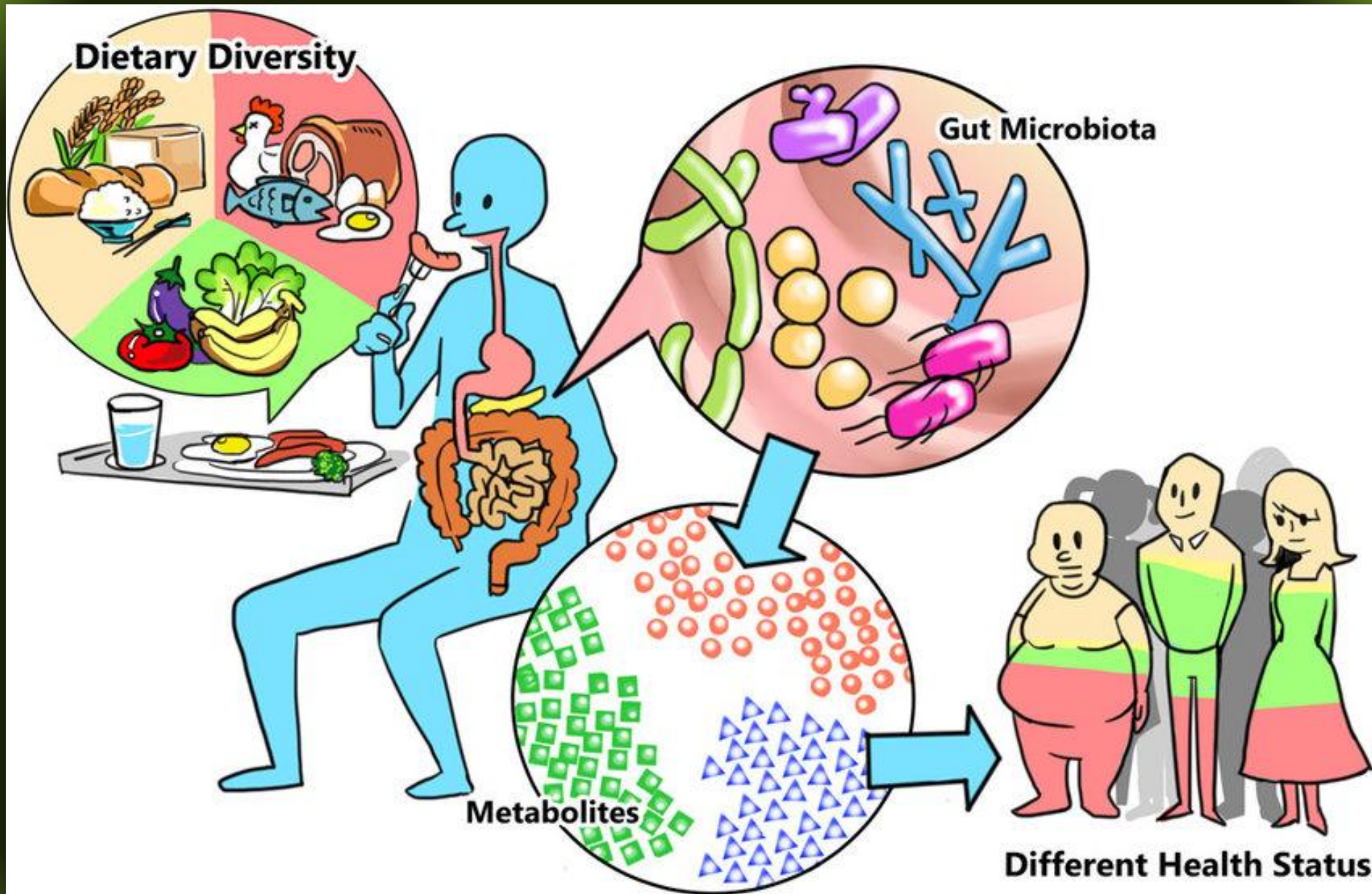
Микробиота детей, проживающих в Западной Европе и Африке (2016 г.)



Кишечные бактерии-фирмикуты участвуют в жировом обмене и усиливают всасывание жира?

- Большинство бактерий, живущих в кишечнике человека и млекопитающих, относятся к двум группам – **фирмикутам** и **бактероидам**.
- При анализе состава кишечной микробиоты людей, страдающих ожирением и людей с нормальным весом, было установлено, что в кишечнике у полных обитает на 20 % больше фирмикутов и почти на 90 % меньше бактериоидов по сравнению со здоровыми и стройными людьми.
- Это может быть связано с тем, что некоторые разновидности бактерий-фирмикутов способны перерабатывать в питательные углеводы клетчатку, которая в их отсутствие оставалась бы непереваренной. В результате организм получает значительно больше калорий, которые и формируют избыточные жировые отложения. У толстых мышей также в кишечнике преобладают бактерии из группы **Firmicutes**, а у худых — **Bacteroidetes**





Кишечный микробиом состоит из сотен видов различных микроорганизмов, но у взрослого человека преобладают бактерии двух кластеров: **бактероиды** (*Bacteroidetes*) и **фирмикуты** (*Firmicutes*), каждый из которых состоит из множества родов и видов.

Бактероиды – группа анаэробных грам (–) бактерий трех классов (*Bacteroidetes*, *Flavobacteria* и *Sphingobacteria*), объединяющих множество родов и видов.

Фирмикуты – грам(+) бактерии двух основных классов (бацилл и клебсиелл). К ним относятся и хорошо знакомые бактериологам стрептококки, стафилококки, лактобациллы, энтерококки, и менее известные, но более многочисленные вейлонеллы, руминококки, зубактерии, пептострептококки. Самые же распространенные фирмикуты – кlostридии (в том числе *C. perfringens*), – противоречие с ОСТом.

Данные масс-спектрометрии коррелируют с генетическими исследованиями и одинаково показывают, что **зубактерий, бактероидов и кlostридий вместе и по отдельности на порядок больше, чем бифидобактерий.**

Следует отметить филогенетическое родство зубактерий и кlostридий. В определителе Берджи 9-го издания прямо сказано, что род *Eubacterium* создан для удобства, чтобы поместить в него **слабо спорообразующие кlostридии.**

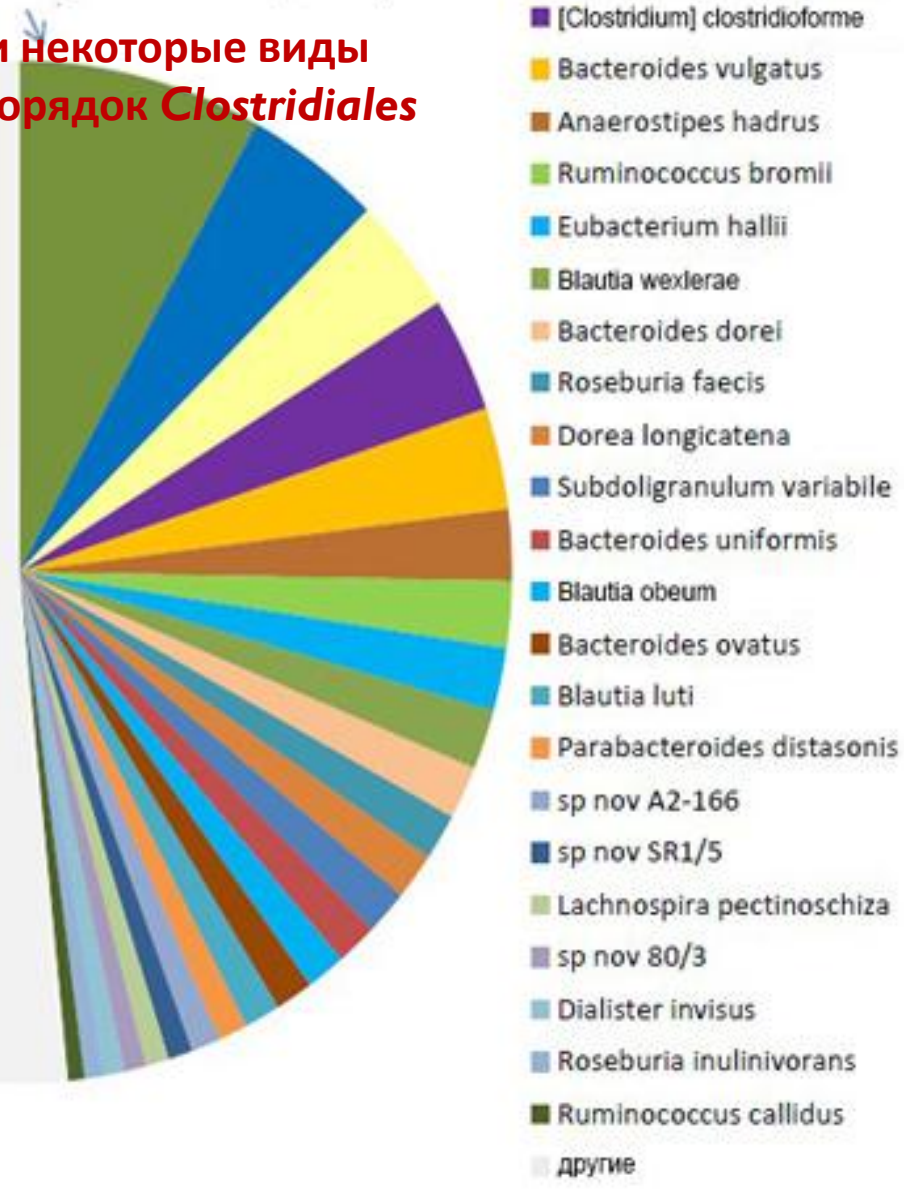
Доминирующие виды бактерий толстой кишки человека

Около 50 % от числа всех бактерий - представители 25 культивированных видов (использовался анализ гена 16S рПНК)

В процессе пересмотра классификации некоторые виды порядка *Eubacteriales* переведены в порядок *Clostridiales*

Остальные 50% бактерий относятся к 295 филотипам, 72 % которых не культивированы

Как показано на рисунке, эубактерии видов *Eubacterium rectale* и *E. hallii* присутствуют в заметном количестве среди других доминантных видов толстой кишки человека (данное исследование относится к английской популяции, но и в других популяциях наблюдается аналогичная картина).



Бактероиды

Важная роль **бактероидов**, являющихся доминирующим компонентом кишечного микробиома.

Род *Bacteroides* включает более 60 видов бактерий, достаточно гетерогенных по морфологии, биохимическим свойствам и физиологии. Отмечена их уникальная способность расщеплять в дистальных отделах кишечника различные виды растительных полисахаридов, непереваренных гликопротеинов и белков. Доказано (2018), что **макрофаги**, дифференцированные в присутствии **бактериального метаболита бутирата**, проявляют повышенную **антимикробную активность**.

Особо выделены *B. thetaiotaomicron* и *B. ovatus*, каждый из которых в состоянии специфически связывать и расщеплять практически все сложные классы гликанов, содержащиеся в растительных и животных клетках.

Каждый из видов **эволюционировал**, чтобы расщеплять **уникальное подмножество** гликанов.

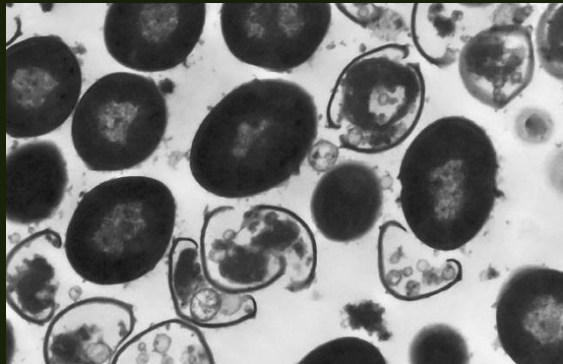
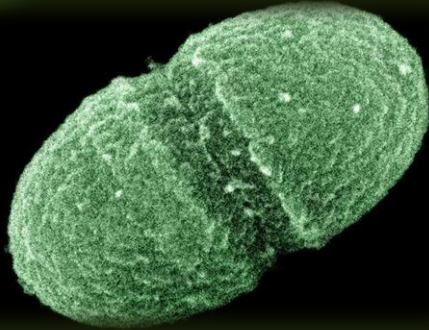


2020

д.м.н. Таран Татьяна Викторовна

Семейство **Bacteroidaceae** включает более десятка родов, из которых в медицинской микробиологии наиболее известны представители *Bacteroides*, *Fusobacterium* и *Leptotrichia*. Недавно утверждены новые родовые таксоны: *Porphyromonas*, *Previtella*, *Seletonas*, *Wolinella*.

Энтерококки



- Электронные микрофотографии **энтерококка** (<http://www.genome.gov>) и лизиса **патогенных стрептококков группы А** под действием бактериоцинов штамма ***E. faecium* L3**

- Энтерококки - один из представителей кишечной микробиоты человека и животных и часто используется в качестве **пробиотика**.
- Именно этот род бактерий в последнее время все чаще становится причиной тяжелых внутрибольничных инфекций, преимущественно эндокардита и инфекций мочевыводящих путей.
- Особого внимания заслуживает ***E. faecium***, состоящий из двух отдельных субпопуляций: вне и внутрибольничной (а/б R).
- Имеют филогенетическое родство с **лактококками**

О дієтетическомъ значеніи
КИСЛАГО МОЛОКА

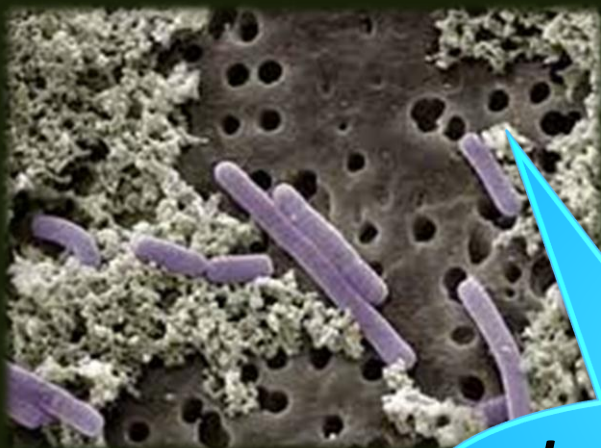
проф. Мечникова.

Клиническія наблюденія изъ С.П.Б. Морского Госпиталя,
доктора мед. Г. А. МАКАРОВА.

С.-ПЕТЕРБУРГЪ.
Изданіе К. Л. РИККЕРА.
Невскій пр., 14. #
1907.

Лактобациллы

- Многочисленные функции **лактобацилл**, которые являются неотъемлемыми составляющими микробиома человека: способность бактерий рода *Lactobacillus* улучшать состояние кишечного барьера, ингибировать патогены, регулировать массу тела и стимулировать иммунную систему.



*Lactobacillus
bulgaricus*

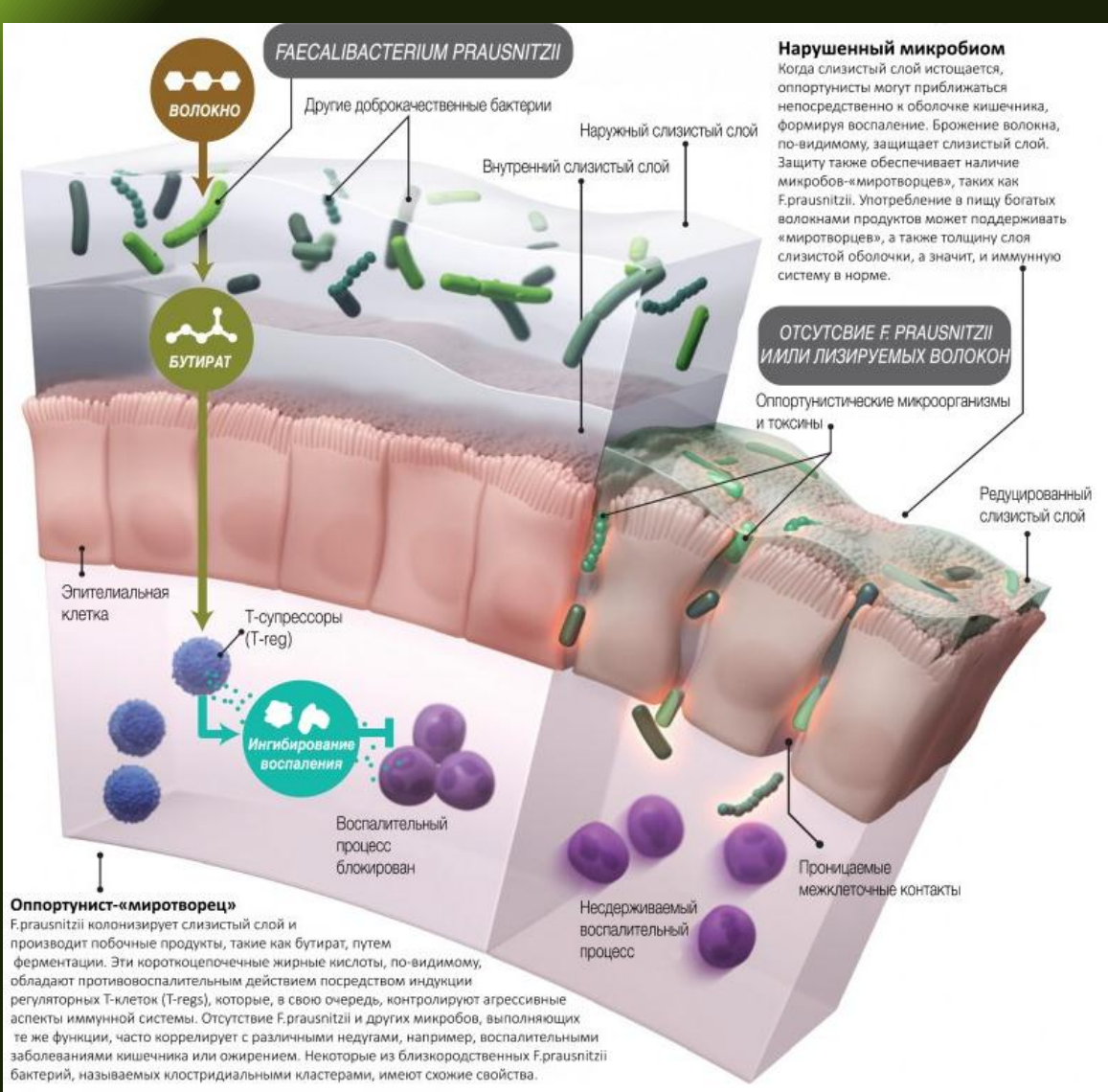
Актиномицеты

Неожиданным результатом, несомненно, является обнаружение значительного количества аэробных **актиномицетов**.

Они повышают значимость микробиоты кишечника для организма хозяина, так как актиномицеты превосходят все прочие микроорганизмы по продукции **а/б, витаминов** и обладают мощным **ферментативным** аппаратом.

- Высокая степень колонизации кишечника актиномицетами не выглядит необычным явлением, если иметь в виду, что они **широко распространены в окружающей среде** – почве, воде, воздухе; их обитание в организме человека при таких обстоятельствах выглядит естественным
- Актиномицеты **филогенетически** близки бифидобактериям

Колония аэробного актиномицета *Nocardiosis dassonvilley*, выделенного из пристеночного слоя толстого кишечника



Независимые исследователи по всему миру определили **группу микробов**, которые представляются важными для поддержания здоровья кишечника и ИС. Они принадлежат к **нескольким кластерным отраслям группы кластридий**.

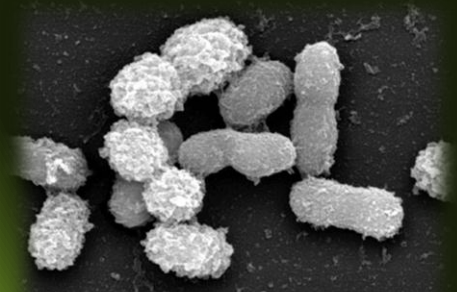
Faecalibacterium prausnitzii – отмечено низкое содержание у пациентов с воспалениями кишечника (Sokol, Париж)

Проведенные in vitro и in vivo исследования подтвердили мощный противовоспалительный эффект, присущий данному виду человеческой микрофлоры

В 2010-14 гг. ученые также обнаружили истощение колоний **F. prausnitzii** у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника.

Akkermansia muciniphila

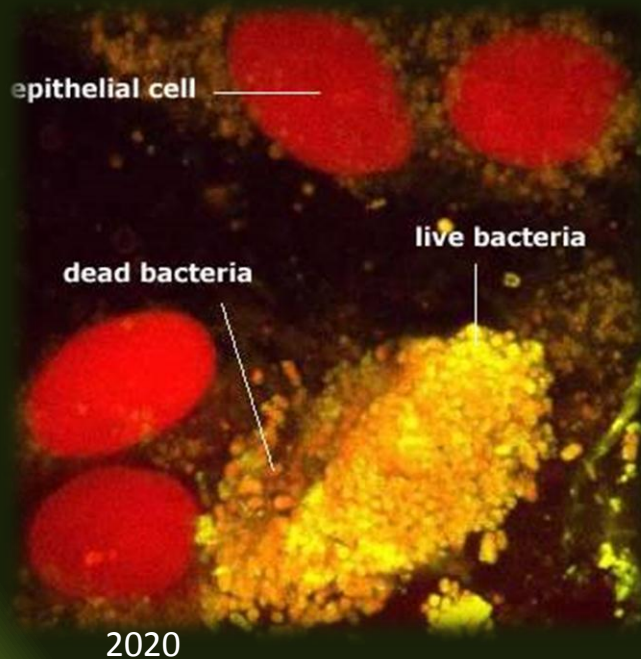
- В ЖКТ присутствуют неоднозначные постоянльцы — **муцин-деградирующие бактерии**. С одной стороны, — эти бактерии разрушают муцин. С другой же стороны, образующиеся **олиго- и мономеры** служат пищей для тех микроорганизмов, которые сами не могут усваивать крупные молекулы, зато **формируют колонизационную резистентность**. Кроме того, разложение муцинового слоя стимулирует синтез его компонентов клетками кишечника.
- К этой группе обитателей кишечника относится облигатный анаэроб ***Akkermansia muciniphila***, который считается противовоспалительным агентом и ассоциируется с противовоспалительным цитокиновым профилем. Ее недостаток связан с гипертрофией адипоцитов, а такие клетки склонны выделять больше провоспалительных цитокинов. В дальнейшем адипоциты, как и другие клетки, приобретают инсулинорезистентность — так развивается сахарный диабет II типа.



Особое внимание сейчас уделяют изучению роли этой бактерии в предотвращении **онкозаболеваний** и модуляции эффективности терапии опухолей. А еще на основе веществ, которые производит аккермансия, ученые пытаются разрабатывать **пребиотики**

Многообразие и индивидуальность

На уровне видов и штаммов различие в микробной культуре между людьми очень высоко: каждый человек обладает четкой схемой бактериальной среды, частично обусловленной генотипом хозяина и первичной инициализацией при рождении, обусловленной вертикальной передачей от матери к ребенку («первородный грех»).



Микроколонию бактерий в биоптате прямой кишки расположены вокруг эпителиальных клеток или в виде отдельных агрегатов (заимствовано с сайта *University of Dundee, Scotland*)

- Коллективный иммунитет биопленки практически сводит на нет хорошую идею коррекцию дисбактериозов с помощью **пробиотиков** – препаратов живых культур ключевых микроорганизмов кишечника – бифидобактерий, лактобацилл, энтеробактерий и других.
- Микробы, выращенные искусственно, являются инородными, как инородны пересаживаемые человеку органы и ткани других людей (трансплантаты) – доноров, или животных.
- Они отторгаются вследствие биологической несовместимости. Биотехнологические пробиотики не имеют «пароля» для входа микробов внутрь биопленки кишечника, и поэтому пребывают в нем транзиторно, как микробиота пищи.



Причины неэффективности пробиотиков

- **Чужеродность** для конкретного человека
- **Транзиторный** характер эффекта
- Наличие **осложнений** (лактодемии у грудных детей, аутоиммунные заболевания, аллергические проявления, оппортунистические инфекции и т.д.).
- Должна быть пересмотрена концепция пробиотикотерапии (кроме **аутопробиотиков** – Шендеров), которая в основном базируется на представлении о доминирующей роли бифидобактерий в микробиоте кишечника.
- **Отсутствие приживаемости** чужеродных микробов подобного вида есть косвенное доказательство существования микробиоты человека как **самостоятельного органа**.

Новые направления и приемы коррекции микробиоты

- Пробиотики на основе аутоштаммов и аутоассоциаций (индивидуальные криогенные банки микробиоты);
- Геномодифицированные пробиотики (с генами IL-10, TFF-фактора и других регуляторных протеинов) – микроэкологическая инженерия;
- **Трансплантация фекалий здорового донора.** (Образцы для пересадки берут у здоровых лиц с похожим составом кишечной микрофлоры (родственников больного) и вводят в его желудочно-кишечный тракт с помощью эндоскопа). Эти методики малоэстетичны, но оказались весьма эффективными при лечении таких очень тяжелых патологических состояний как псевдомембранозный колит, вызванный *Clostridium difficile*, синдром раздраженного кишечника и других (когда самые мощные антибиотики бессильны).

- Недавние исследования разведали стойкий **миф о ценности классических пробиотиков**, основанных на высокой концентрации живых пробиотических бактерий в препарате, в том числе и об исключительной эффективности аутопробиотиков.
- Оказалось, что **до толстой кишки доходит ничтожный процент** от употребленных per os живых микробов.
- Доказано, что главный фактор поддержания стабильности и резистентности нормобиоты – это **микробные аутометаболиты!**
- Поэтому наиболее перспективным направлением пробиотической биотехнологии в настоящее время является **разработка метаболитных пробиотиков** (метабиотиков), а также указанных пробиотиков в комплексе с пребиотиками (**синбиотиков**).

- Взаимная адаптация нашего кишечника и его микробиоты происходит сразу же после рождения.
- Первые бактериальные поселенцы модулируют экспрессию генов кишечного эпителия так, чтобы сформировать условия обитания под себя, а созданная таким образом экосистема становится непригодной для колонизации бактериями, проникающими в кишечник в последующем.

Априори понятно, что влияние на иммунитет собственной микробиоты всегда на порядок превосходит эффект от бактерий пробиотиков.

- Во-первых, пришельцы не делают ничего такого, на что не способна наша собственная флора (изначально они получены из кишечника таких же, как мы, людей).
- Во-вторых, масса бактерий в дозе пробиотика – **капля в море** по сравнению с количеством и разнообразием микроорганизмов, населяющих кишечник, причем даже длительные курсы а/б, как правило, не меняют это соотношение.
- Таким образом, коммерческие интересы фармакологических и молочных компаний не должны застить разум грамотного врача.

Пребиотики

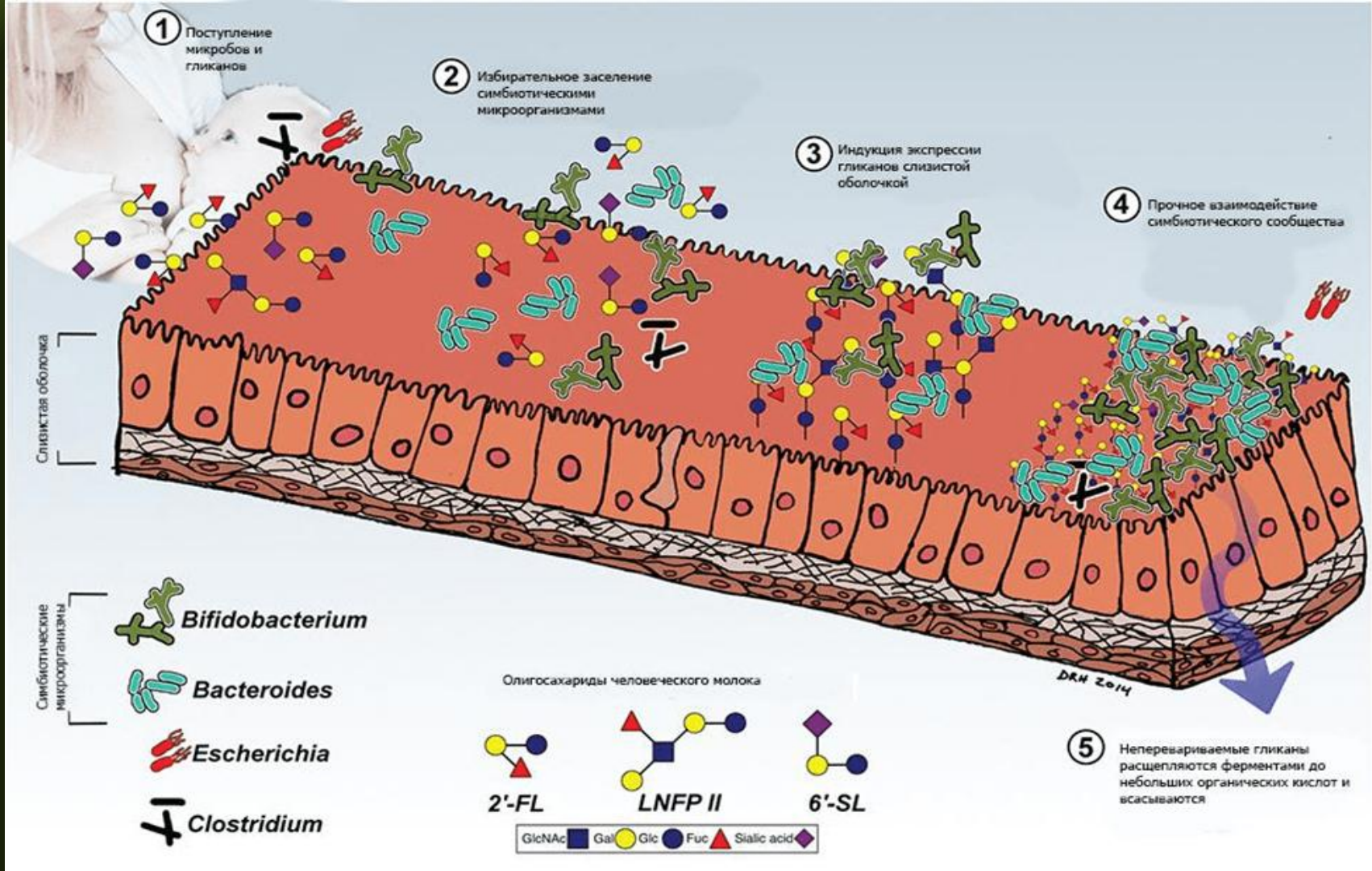
- **Преби́отики** – это компоненты пищи, которые не перевариваются и не усваиваются в верхних отделах ЖКТ, но ферментируются микробиотой толстого кишечника человека и **стимулируют её рост и жизнедеятельность.**
- **Пребиотики** – это препараты немикробного происхождения, способные оказывать позитивный эффект на организм хозяина через **селективную стимуляцию роста** или усиления метаболической активности нормальной микробиоты кишечника.
- В эту группу входят препараты, относящиеся к различным фармакотерапевтическим группам, но обладающие общим свойством – **стимулировать рост и развитие нормальной микробиоты кишечника.**



Группа	Ростстимулирующее вещество
Моносахариды, спирты	Ксилит, мелибиоза, ксилобиоза, раффиноза, сорбит и др.
Олигосахариды	Лактулоза , лацитол, соевый олигосахарид, латитололигосахарид, фруктоолигосахарид, галактоолигосахарид, изомальтоолигосахарид, диксилоолигосахарид и др.
Полисахариды	Пектины, декстрин, инулин , хитозан, пуллулан, и др.
Ферменты	Микробные галактозидазы, протеазы сахаромецетов и др.
Пептиды	Соевые, молочные и др.
Аминокислоты	Валин, аргинин, глутаминовая кислота и др.
Антиоксиданты, витамины	Витамины А, С, Е, α -, β -каротины, другие каротиноиды, глутатион, убихинол, соли селена и др.
Ненасыщенные жирные кислоты	Эйкозопентатеновая кислота и др.
Органические кислоты	Пропионовая, уксусная, лимонная и др.
Растительные экстракты	Морковь, картофель, топинамбур, кукурузна, рис, тыква, чеснок, лук, дрожжевой экстракт и др.
Другие	Лецитин, парааминометилбензойная кислота, лизоцим, лактоферрин, глюконовая кислота, крахмальная патока, микробные экстракты и др.

Наиболее известные пребиотики:

- ☀ Олигофруктоза (фруктаны, фруктогликаны)
- ☀ Лактулоза
- ☀ Инулин, пектин
- ☀ Галакто-олигосахариды
- ☀ **Олигосахариды молока человека (ОМЧ)** – в составе женского молока около 8 % отведено неперевариваемым ОМЧ — пребиотикам, поддерживающим рост *Bifidobacterium longum subsp. infantis* и бактероидов. При этом профиль ОМЧ у каждой женщины уникален, что обеспечивает, в свою очередь, индивидуальность младенческого микробиома



- **ОМЧ обладают пребиотической, антиадгезионной и противовоспалительной активностью, облегчают экспансию симбионтов — в особенности *Bacteroides* и *Bifidobacterium* — и ингибируют рост и адгезию оппортунистических и облигатных патогенов**

Пребиотики – **лактuloза**



Лактулоза – синтетический дисахарид, не встречающийся в природе, в котором каждая молекула галактозы связана с молекулой фруктозы. Поскольку данный дисахарид не встречается в природе, у человека отсутствует дисахаридаза, способная расщеплять его до соответствующих моносахаридов.

Лактулоза – это идеальный пребиотик, то есть, вещество **избирательно стимулирующее рост и активность** кисломолочной и бифидо-микробиоты кишечника.

Скорость бактериальной ферментации лактулозы, то есть ее усвояемость кисломолочными бактериями и минимальная энергозатратность этой ферментации обеспечивают **быстрый рост нормофлоры кишечника** и, следовательно, высокую терапевтическую и профилактическую эффективность продуктов, обогащенных минимальным количеством лактулозы.



- Регулярное потребление продуктов с **лактозой** стало частью здорового образа жизни во многих странах. Классический пример – **Япония**, вышедшая на первое место в мире по продолжительности жизни, где до **30 % различных продуктов питания**, вплоть до **конфет и мороженого**, обогащают лактулозой.
- Японское Министерство здоровья и благосостояния еще в 1992 г. рассмотрело и идентифицировало **12 классов** пищевых продуктов, способствующих улучшению здоровья нации. Включение **лактозы** в этот "золотой список", разумеется, активизировало производителей.
- С 2000 г. лактулозосодержащие пищевые продукты появились и в России – сейчас свыше 70 молочных заводов производят продукцию, обогащенную лактулозой: простота технологического процесса и клинически доказанные профилактические свойства этих продуктов создали в короткий срок **новый рынок «продуктов для здоровья»**.



Пребиотики – инулин



Было показано, что инулин помимо стимуляции роста и активности микробиоты, повышает всасывание кальция в толстом кишечнике, т. е. снижает риск **остеопороза**, влияет на метаболизм липидов, уменьшая риск **атеросклеротических** изменений в сердечно-сосудистой системе и, возможно, предотвращая развитие сахарного **диабета II** типа, имеются предварительные данные о его **антиканцерогенном** эффекте.

- **Инулин** содержится в луке, чесноке, цикории, топинамбуре, но лидером по содержанию этого **пребиотика** является **плод африканского баобаба**.

Результативность бак. анализа на дисбактериоз

- До самого последнего времени в сообществе врачей распространена следующая информация: в кишечнике присутствует **индигенная** (резидентная) и **транзиторная** (случайная) микрофлора.
- Индигенных микроорганизмов разделяют на **облигатных** (главных) и **факультативных**, которых меньшинство.
- К **облигатным** относят **бифидобактерий, бактероидов, пептострептококков**, а к **факультативным** – **лактобацилл, кишечных палочек и энтерококков**.
- «Случайными» считаются **клебсиеллы, клостридии, протей, стафилококки**, грибы рода **Candida**, многие из которых попадают в разряд так называемых условно патогенных микроорганизмов.
- На этих представлениях основаны **руководства и стандарты** для практикующих врачей.
- В частности, в **ОСТ 91500.11.0004-2003** определены границы нормальных концентраций бактерий в образцах кала взрослых и детей.

Таблица 1

Стандарт, определяющий количественные показатели микроорганизмов в кале

Группы микроорганизмов <i>Всего 14 позиций!</i>	Возраст, годы		
	<1	1–60	>60
Бифидобактерии	$10^{10}–10^{11}$	$10^9–10^{10}$	$10^8–10^9$
<u>Лактобактерии</u> <i>lactic acids bacteria?</i> - 11 родов	$10^6–10^7$	$10^7–10^8$	$10^6–10^7$
Бактероиды <i>гораздо ></i>	$10^7–10^8$	$10^9–10^{10}$	$10^{10}–10^{11}$
<u>Энтерококки</u>	$10^5–10^7$	$10^5–10^8$	$10^6–10^7$
Фузобактерии	$<10^6$	$10^8–10^9$	$10^8–10^9$
Эубактерии	$10^6–10^7$	$10^9–10^{10}$	$10^9–10^{10}$
Пептострептококки	$<10^5$	$10^9–10^{10}$	10^{10}
Клостридии <i>В неск. раз >, чем бифидо!</i>	$\leq 10^3$	$\leq 10^5$	$\leq 10^6$
<i>E.coli</i> типичные	$10^7–10^8$	$10^7–10^8$	$10^7–10^8$
<i>E.coli</i> лактозонегативные	$<10^5$	$<10^5$	$<10^5$
<i>E.coli</i> гемолитические	0	0	0
Другие условно патогенные энтеробактерии	$<10^4$	$<10^4$	$<10^4$
<u>Стафилококк золотистый</u>	0	0	0
Стафилококки (сапрофитный, эпидермальный)	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$
Дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i>	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$
Неферментирующие бактерии	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$

Таблица 2

Критерии бактериологической диагностики дисбактериоза согласно методическим рекомендациям Министерства здравоохранения СССР от 14.04.86. 10-11/31

Дисбактериоз	Характеристика
I степень (латентная, компенсированная форма)	Незначительные изменения в аэробной части микробиоценоза (увеличение или уменьшение количества кишечной палочки), бифидо- и лактофлора не изменены. Кишечные дисфункции, как правило, не регистрируются
II степень (субкомпенсированная форма)	Незначительное снижение количественного содержания бифидобактерий, количественные и качественные изменения кишечной палочки или других условно патогенных микроорганизмов
III степень	Значительное снижение уровня бифидофлоры (10^5 – 10^7 КОЕ/г) в сочетании со снижением лактофлоры и резким изменением уровня кишечных палочек. Вслед за снижением бифидофлоры нарушаются соотношения в составе кишечной микрофлоры, создаются условия для проявления патогенных свойств условно патогенных микроорганизмов. Как правило, возникают кишечные дисфункции
IV степень	Отсутствие бифидофлоры, значительное уменьшение лактофлоры и изменение количества кишечной палочки (снижение или увеличение), возрастание как облигатных, так и факультативных и нехарактерных для здорового человека видов условно патогенных микроорганизмов в ассоциациях

- **Новые технологии**, прежде всего молекулярно-генетические, создали благоприятные предпосылки к появлению принципиально новых направлений в изучении как самих микробных популяций, так и особенностей межмикробных взаимоотношений и взаимовлияния микро- и макроорганизмов.
- Но только с разработкой и внедрением в широкую практику **методов высокопроизводительного параллельного секвенирования** появилась реальная возможность перейти к осуществлению метагеномных исследований с достаточной для системного подхода глубиной.
- Использование **генетических платформ** типа GS FLX (Roche), HiSeq 2000 (Illumina), SOLiD™ 4 System (Applied Biosystems) позволяет проводить глубокие метагеномные исследования не только на основании анализа генов 16S рРНК, но и по результатам полного секвенирования генов микроорганизмов, их плазмид и вирусов, что существенно облегчает создание целостной картины взаимодействия организма человека с кишечным микробиоценозом в целом за счет полной метаболической реконструкции взаимодействий внутри рассматриваемой системы.





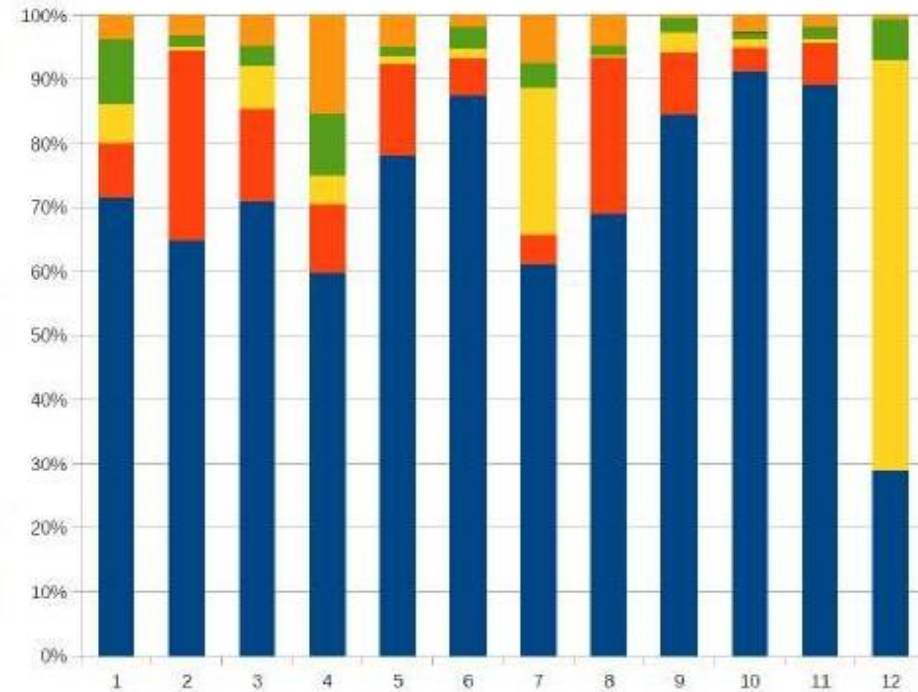
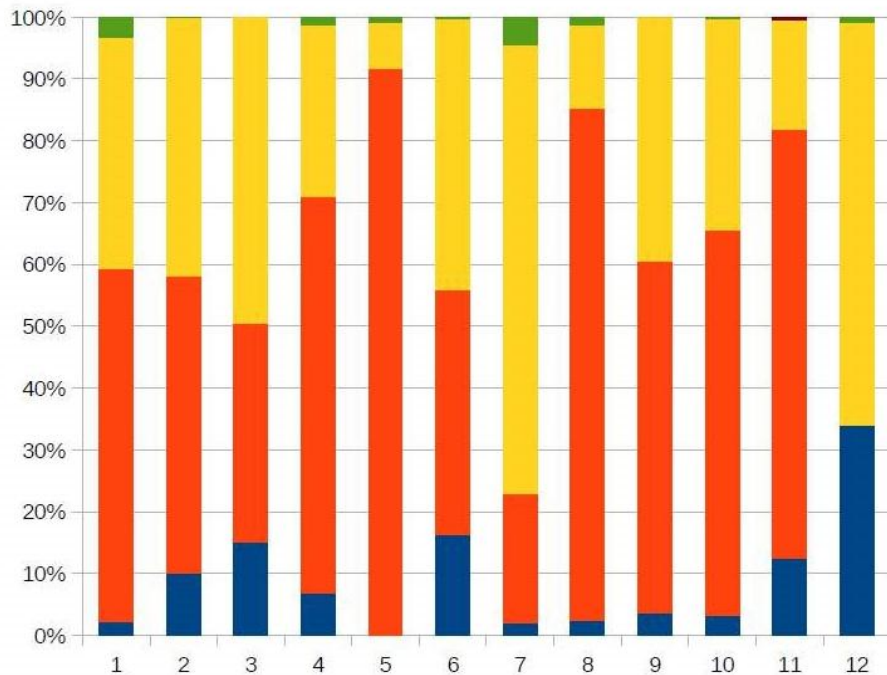
- В традиционном анализе на дисбактериоз (культуральный метод) мы можем увидеть менее 10 % бактерий!



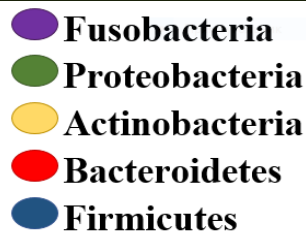
На базе РНИМУ им. Н.И. Пирогова проведено сравнение результатов бактериологического метода и метода секвенирования при исследовании образцов фекалий 12 здоровых добровольцев (2016 г.)

Дизайн исследования

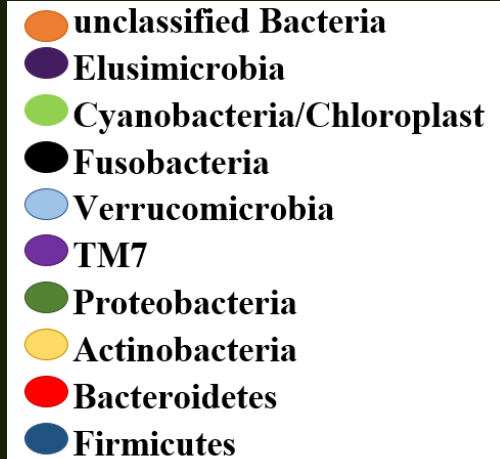




1



2



Таксономическая структура микробного сообщества (на уровне филумов - типов)

1. по данным бактериологического исследования
2. по данным секвенирования

По мнению известного специалиста в области клинической микробиологии проф. **А.Н. Маянского**, **флора фекалий** отражает полостную (свободноживущую, или планктонную), чем пристеночную биопленку, которая более стабильна и физиологична: «Фактически это дорогостоящее (тем более, что тестирование рекомендуется делать в динамике), трудоемкое исследование с крайне невысокой (скорее – с нулевой) отдачей. Попытка определения качественного и количественного состава кишечной микробиоты с помощью анализа фекалий – это как **попытка воссоздать бестселлер известного писателя по содержимому его мусорной корзины**»

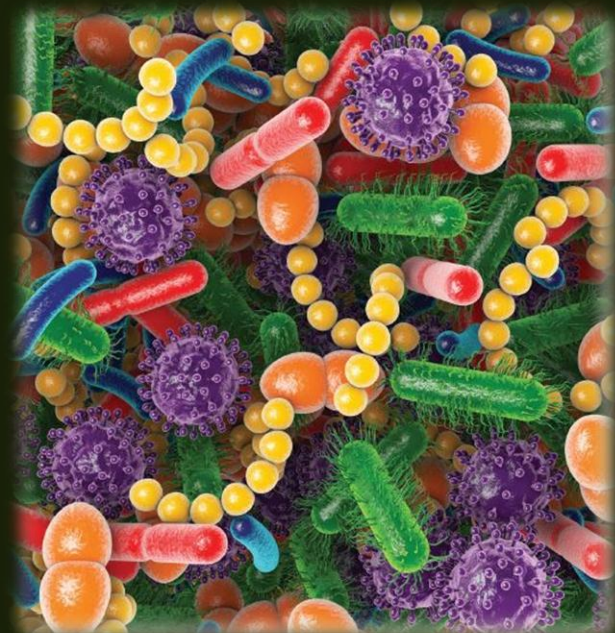
- Для получения реальной картины необходимо исследовать не фекалии, а **биоптат** пристеночного слоя биопленки.
- При всех несуразностях и несоответствиях современным данным **бактериологический анализ** – по-прежнему **основной инструмент российских клиницистов**, который они используют для оценки состояния микробиоты
- Существующие представления о «**главных**» и «**сопутствующих**» видах бактерий кишечника **очень далеки от реальной ситуации**, что привело к искаженному пониманию роли отдельных видов бактерий в работе организма в целом.

- Российская гастроэнтерологическая ассоциация избегает использования термина «дисбактериоз» - используются «синдром раздражённого кишечника», «синдром избыточного роста» (как во всём мире).
- Большинство ведущих российских гастроэнтерологов еще более 20 лет назад осудило практику широкого использования диагноза "дисбактериоз кишечника" как порочную, поскольку это понятие не имеет присущей ему клинической составляющей.
- Диагностика "дисбактериоза", основанная на малоинформативных результатах бактериологического исследования кала, не имеет надлежащей верификации, а все свидетельства о высокой эффективности пробиотиков базируются на субъективной оценке, а не на принципах доказательной медицины.

- Тем не менее, по-прежнему стандарты медосмотров детей включают тестирование кала на "дисбактериоз. В нём результаты определения нескольких видов бактерий в кусочке кала механически экстраполируются на сложнейшую кишечную микробиологическую систему, представленную многочисленными штаммами более чем 500 видов.
- При этом изменению бактериального спектра отводится роль не следствия, но причины различных системных (внекишечных) расстройств. Это, если проводить аналогию, – это жар как причина гриппа.
- То есть нужно воздействовать на причину (лактазная недостаточность, синдром раздраженного кишечника, синдром избыточного бактериального роста в тонкой кишке и др., при которых нередко нарушается баланс кишечной микробиоты), а не на следствие.
- А потому **все заключения о "преобладании патогенной флоры над нормальной" в таком анализе попросту смехотворны.**

Кроме того, длина пищеварительного тракта взрослого человека достигает 6 м, и возникает законный вопрос: не проще ли для заселения нескольких последних десятков сантиметров кишки вводить "полезные бактерии" в клизме, а не через рот, подвергая их воздействию слюны, соляной кислоты желудка, желчи, панкреатического и кишечного соков?

По-видимому, это удобнее (и выгоднее) производителям соответствующих средств.



Д.м.н., проф., зав. каф. педиатрии ГБОУ ВПО РМАНПО МЗ РФ,
главный педиатр ЦАО Захарова И.Н. // Гастроэнтерология. – 2016.
- № 16. – с. 92-97:

«Благодаря современным научным исследованиям в области генетики ученые смогли идентифицировать и определить количество микроорганизмов, живущих в человеческом организме. С помощью новейших научных разработок удалось установить, что существует более 1 100 видов микроорганизмов, большинство которых анаэробы. Ученые имеют много доказательств тому, что чем более разнообразны кишечные микроорганизмы, тем лучше здоровье человека, а низкое разнообразие связано с различными болезнями».....

«А что же происходит на самом деле? По инерции педиатры продолжают рекомендовать проводить культуральные исследования кала, которые перестали делать во многих странах еще 8-10 лет назад! К недостаткам культурального метода исследования фекалий следует отнести дороговизну, длительность и трудоемкость выполнения методики, зависимость результата от техники сбора, вариабельность нормы, низкую разрешающую способность (100 жизнеспособных бактериальных клеток), а главное – большинство микроорганизмов в кале являются некультивируемыми!»

От того, какой станет **микробиота**, насколько разнообразны ее видовой состав и функциональные возможности ее компонентов, зависит развитие ребенка, начиная от скорости прибавки веса и роста и заканчивая особенностями его метаболизма, иммунитета и даже интеллекта.

Очевидно, что старые представления о микробиоте и полезности или вредности для макроорганизма тех или иных бактерий будут претерпевать дальнейшие изменения по мере накопления знаний.

Также очевидно и то, что в недалеком будущем будут обнаружены **новые механизмы участия микробиоты в функционировании целостного надорганизменного консорциума**, имя которому — **человек**.

- ❖ Логические построения «эскулапов», посвященные дисбактериозу, базируются на фундаменте трудоемкого, дорогостоящего и ненужного исследования.
- ❖ Широко распространилась сеть коммерческих лабораторий, которые за немалую плату проводят исследования «на дисбактериоз».
- ❖ Спрос, как известно, рождает предложение.
- ❖ Что касается врачей и **анализов на дисбактериоз**, то "обследования" были доходной статьей еще в **Средние века**. Достаточно вспомнить цитату из произведения гениального доктора **Франсуа Рабле**:



цитата из произведения гениального писателя и врача Франсуа Рабле:

• *Stercus et urina medici sunt prandia prima*

("Кал да моча – хлеб для врача").



- О **микробиоте** надо заботиться, но не бесплодными попытками дополнить ее чуждыми бактериями, а **с помощью сбалансированной диеты** – ведь наша флора питается тем, что съедаем мы сами – **каков стол, таков и стул.**

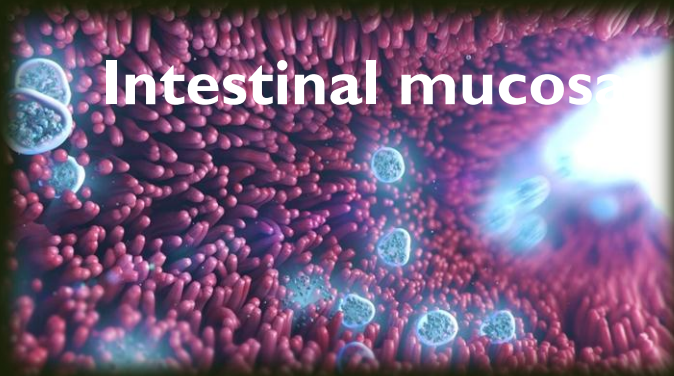


2020 **Благодарю за внимание**

д.м.н. Таран Татьяна Викторовна



О микробиоте надо заботиться, но не бесплодными попытками дополнить ее чуждыми бактериями, а с помощью **сбалансированной диеты** – ведь наша флора питается тем, что съедаем мы сами – **каков стол, таков и стул.**



Intestinal mucosa

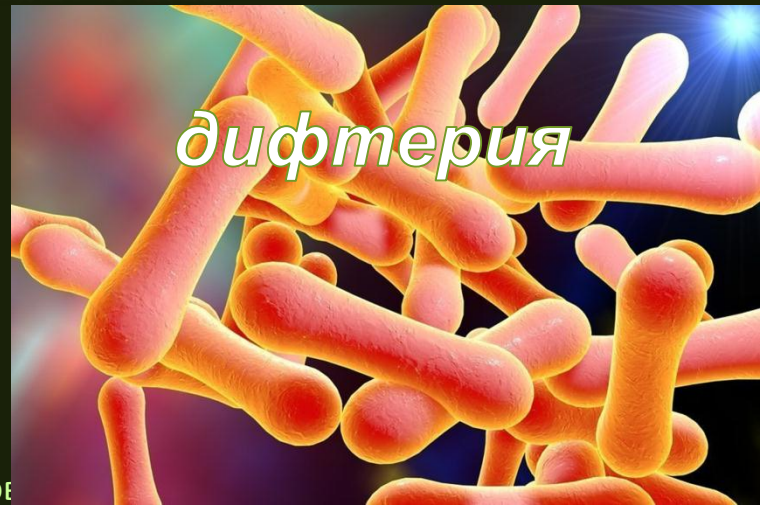


То, что не понял на лекции,
поймешь на экзамене!



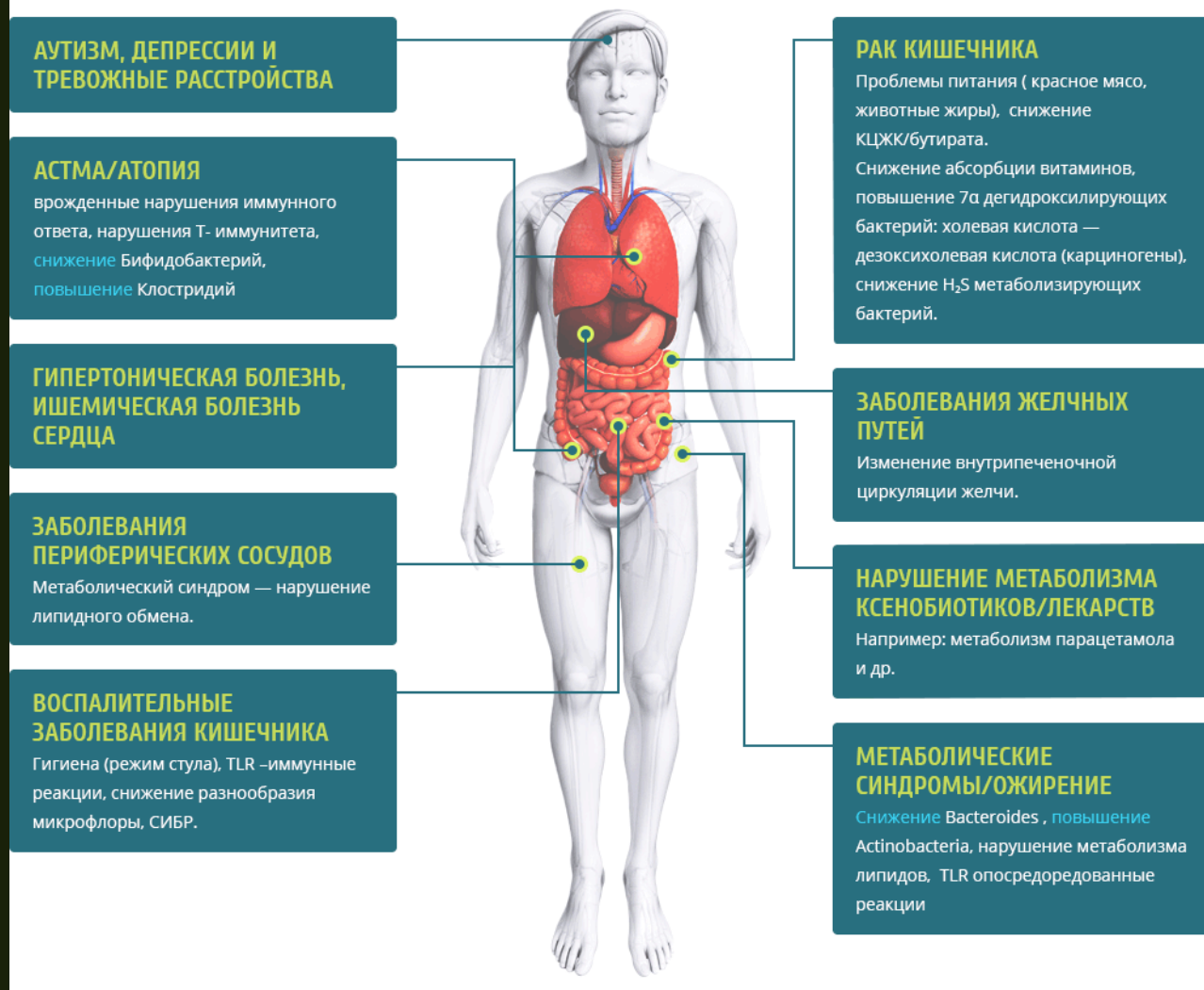
МИКРОБИОМ
КИШЕЧНИКА
МИР
ВНУТРИ
НАС

MEGACH PRO



дифтерия

д.м.н. Таран Татьяна Викторовна



Последние научные исследования, с использованием инновационных методов ДНК диагностики, позволили установить взаимосвязь состава микробиоты с заболеваниями, о которых не подозревали ранее – диабет, ожирение, аутизм, сердечно-сосудистые заболевания и др. Оказалось, что поддержание баланса микрофлоры – один из центральных основополагающих факторов здоровья человека.