



# Микробиом

«The microbiome is the sum of our experiences throughout our lives: the genes we inherited, the drugs we took, the food we ate, the hands we shook. »

**By Ed Yong**



- **Многочисленные разнообразные ассоциации микроорганизмов, населяющие пищеварительный тракт человека, в значительной степени определяют духовное и физическое здоровье человека.**

**И.И. Мечников /1901г./**



**Микробиоценоз кишечника (микробиота) здорового человека представляет собой эволюционно сложившуюся сложную микроэкологическую систему, в которой полезная симбионтная микрофлора находится в состоянии динамического равновесия и соответствует понятию нормофлоры /Циммерман Я.С., 2000/.**



**Микробы-симбионты, входящие в состав различных экосистем макроорганизма, не только формируют нормальный состав микрофлоры человека, но и принимают непосредственной участие в поддержание и регуляции гомеостаза. Состояние равновесия в микроэкологических биоценозах макроорганизма характерно для полного здоровья /Бондаренко В.М., Грачева Н.М., Мацулевич Т.В. , 2003/.**



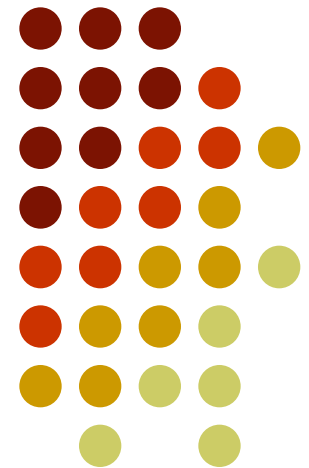
До 90% составляет облигатно-анаэробных (бифидобактерии, лактобактерии, пептострептококки).

5% - 10% совокупность аэробной микрофлоры: эшерихии, различные виды условно-патогенных энтеробактерий (протей, энтеробактер, цитробактер, серрации и другие), энтерококки (фекальные стрептококки), стафилококки, дрожжеподобные грибы и другие.

совокупность бактерий  
бактероиды,  
вейлонеллы,



# Единая экологическая система:



# Микробиота – невидимый орган человеческого организма.



- **Микробиота** (син.: микробиоценоз, нормальная микрофлора, нормофлора, аутофлора, резидентная флора) - **совокупность живых микроорганизмов** (бактерий, вирусов, простейших и др.) **в организме человека и имеет чрезвычайно важное общебиологическое значение.**

Сформировано представление, согласно которому микробиоценоз представляет собой **своеобразный «орган»**, высокоорганизованную систему, реагирующую качественными и количественными сдвигами на динамическое состояние организма человека в различных условиях жизнедеятельности, здоровья и болезни.



- На рубеже XXI века сформировалось представление о микрофлоре организма человека как о еще одном органе, покрывающим в виде чулка кишечную стенку, другие слизистые оболочки и кожу человека.
- Оставаясь невидимым, этот «орган» весит около двух килограммов и насчитывает порядка  $10^{14}$  клеток (сто миллиардов) клеток микроорганизмов. Это число в десять раз превышает число собственных клеток организма-хозяина, то есть - человеческих.

Общая поверхность:

- ЖКТ составляет около 300 м<sup>2</sup>,
- системы дыхания - 80 м<sup>2</sup>,
- кожи - 2 м<sup>2</sup>



# Структура микробиоценоза



- Резидентная (постоянная) - 90%
- Факультативная - около 9,5%
- Транзиторная (случайная) – не превышает 0,5%  
(В.Бондаренко, 2007).

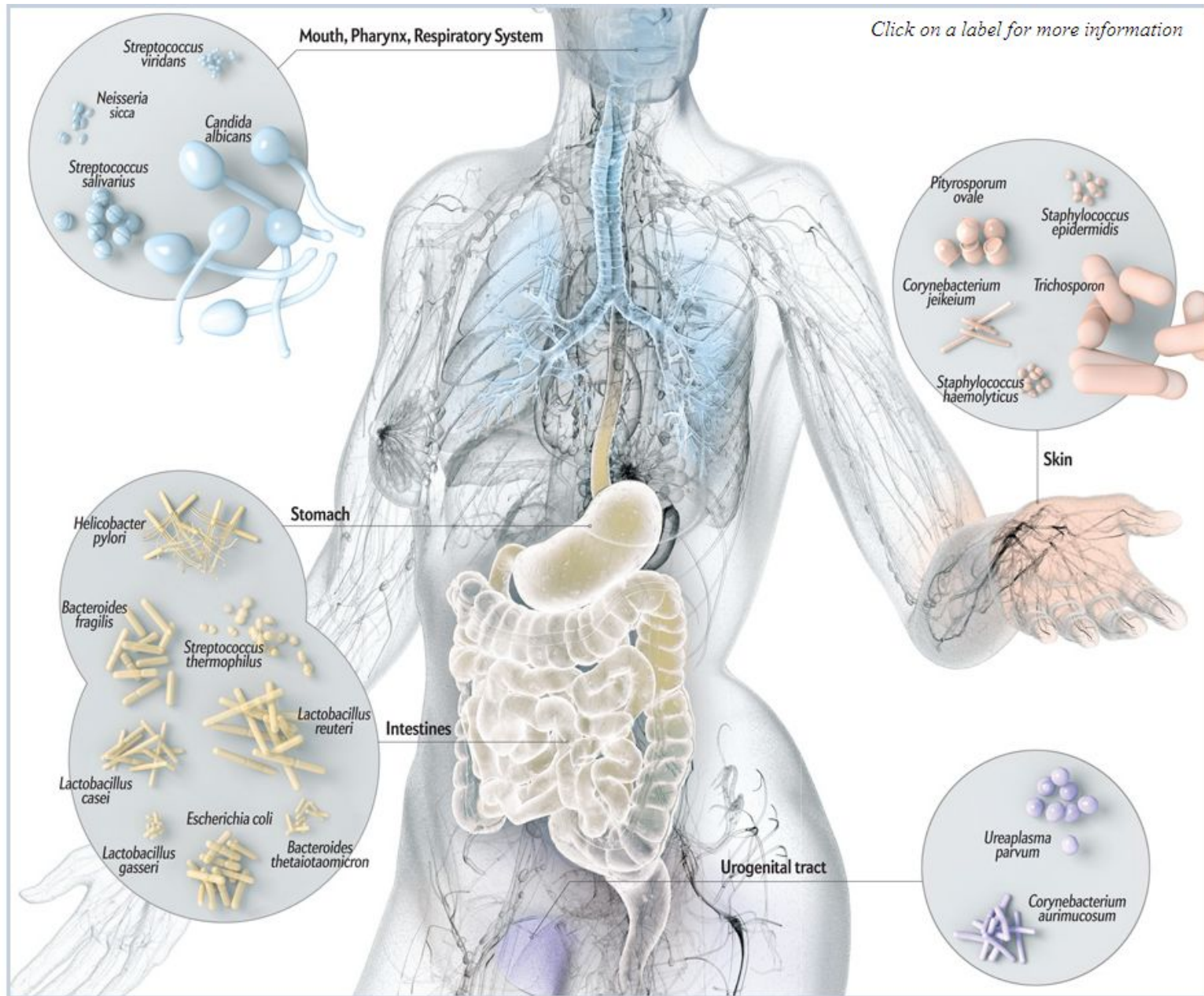
Распределение в организме человека этого огромного количества микробов неравномерно.

Выделяют несколько **БИОТОПОВ**

(мест жизни) наибольшего скопления бактерий:

- до 60% всей микрофлоры – биотоп ЖКХ, особенно толстая кишка,
- 15 - 16% приходится на верхние дыхательные пути,
- 15-20 % микробов заселяют кожные покровы,
- 9-10 % микроорганизмов содержится в вагинальном биотопе у женщин

(Д.С.Янковский, Г.С.Дымент, 2005).



# Инфраструктура микробного центра макроорганизма



- Общее число микроорганизмов составляет более 600 видов микробов (некоторые авторы указывают цифру более 1000).
- К основным микроорганизмам по своей патогенетической сущности следует отнести род бифидобактерий и семейство бактероидов.
- Отношение анаэробов к аэробам в норме постоянно и составляет 10:1, в зависимости от биотопа.



*М.Д. Ардатская, (2006, 2010)*

# Микробиом- совокупность генов микроорганизмов



- **Микробиом человека – «новая эра» в понимании значения микрофлоры**
- Установлено, что доля человеческих генов в совокупном геноме человека и микроорганизмов составляет не более **1%**

(Steven R. Gill et al., 2006; Gill S.R., Pop M., DeBoy R.T. et al., 2006).



**Ното sapiens – это  
«суперорганизм»,  
в котором сосуществует**



**большое количество различных  
организмов .**

[ Goodacre R. Metabolomics of a  
superorganism. J Nutr 2007 ].

- Согласно данным Национального института **здоровья** США, только 10% клеток, которые входят в состав человеческого организма, являются собственно человеческими клетками. Остальные 90% принадлежат бактериям, населяющим различные биотопы **человека**

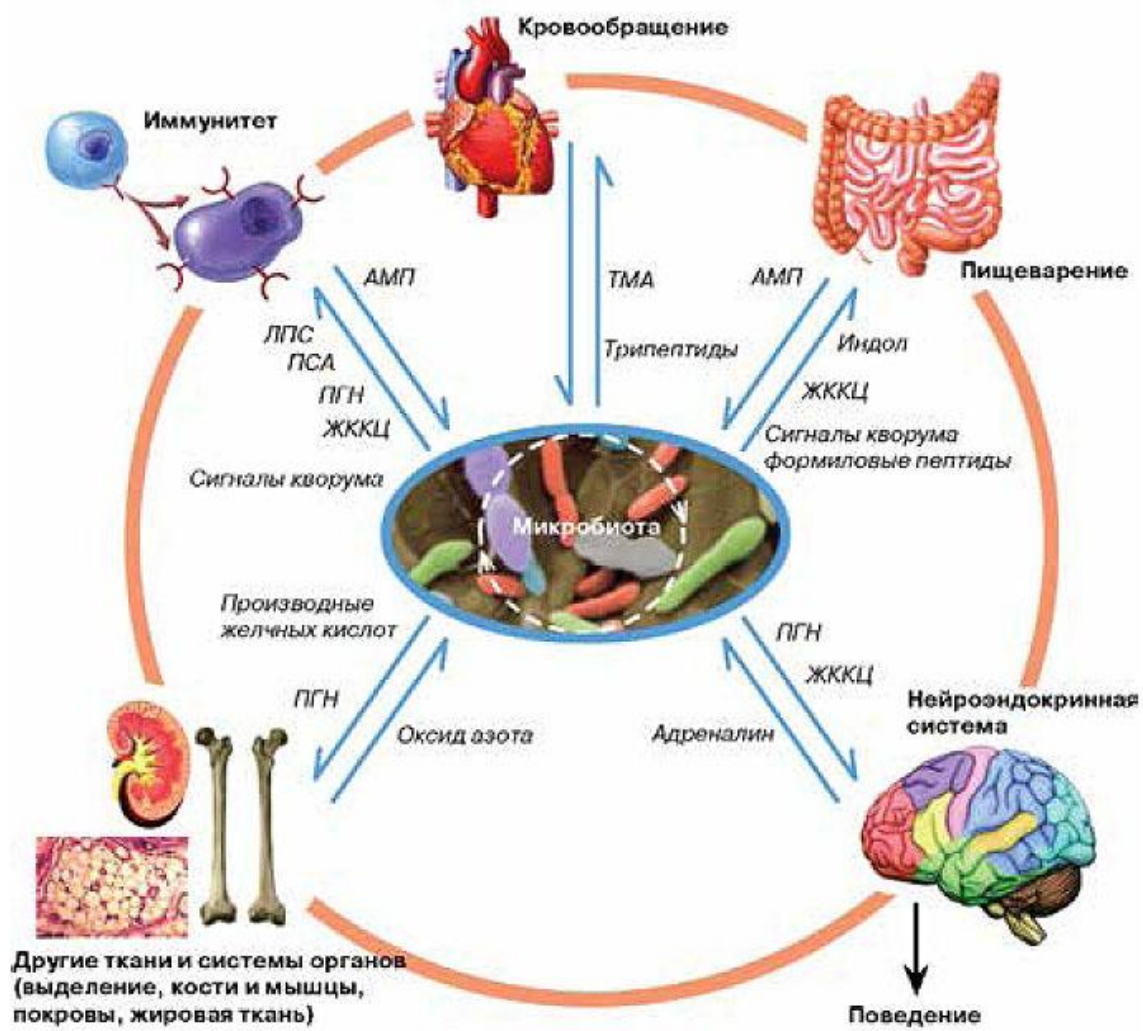
[Turnbaugh PJ,. The human microbiome project. Nature 2007.

- В 2008 г. был запущен глобальный проект «Микробиом человека»; (HMP), ставивший своей целью расшифровку генома бактерий, населяющих организм **человека**. Термин «микробиом» был впервые внедрен в 2001 г. для обозначения коллективных геномов микробиоты.



Расшифровкой генома бактерий, населяющих ЖКТ, занимается Европейский консорциум MetaHIT. Уже расшифровано около 3 млн генов, что примерно в 150 раз больше набора генов человека

По версии журнала Science, расшифровка метагенома человека входит в число величайших **открытий** последнего десятилетия.





# Основные эффекты микробиоты для человека







- В настоящее время **отмечается** повсеместное возрождение интереса к **кишечной микрофлоре** и ее **влиянию** на **здоровье** и болезни человека.
- Появились новые факты, свидетельствующие о связи **кишечного** биоценоза с заболеваниями не только желудочно–кишечного тракта (ЖКТ), но и сердечно–сосудистой системы, ожирением, сахарным диабетом, злокачественными новообразованиями , аллергическими и аутоиммунными болезнями и др.

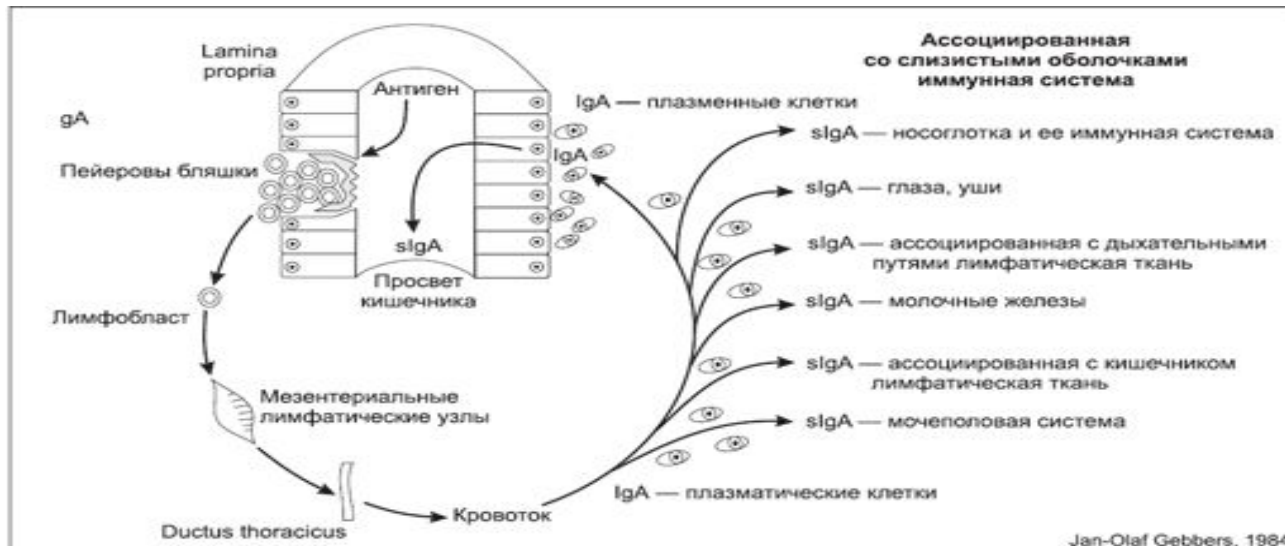


Рисунок 4. Основной механизм действия нормальной микрофлоры на иммунную систему организма — хоминг-эффект



- Последние исследования «пошатнули» стандартные представления о **патогенезе** многих заболеваний и послужили пусковым фактором к углубленному изучению микробиоты **человека**. Тому способствовало и развитие **новых молекулярно–генетических технологий**, позволяющих идентифицировать многочисленные виды бактерий, не поддающиеся культивированию.
- **в среднем культивируемыми являются не более 20% микроорганизмов любого местообитания.**
- **по сравнению с молекулярно-генетическими методами оказывается, что определение 60-80% их микробиоценоза не доступно для культуральных методов.**

# Биопленка



- Микробы, во-первых, предпочитают жить, будучи прикрепленными к твердой поверхности, но не свободно плавающими – как в водной среде рек и океана, в воздухе.
- Во-вторых, они организованы в так называемые биопленки, сбалансированные по видовому составу и функциональному распределению членов сообщества – как муравьи в муравейнике.

# Биопленка



- Микроорганизмы, в количестве  $10^{11}$  клеток/см<sup>3</sup> распределены в пристеночном слое муцина – относительно прочного геля, состоящего из пептидогликана, продуцируемого бокаловидными клетками эпителия кишечной слизистой оболочки.
- Биопленка по химической природе близка полисахаридной защитной капсуле, которой окружают себя многие микробы. Т.е. в муцине они должны себя «чувствовать» как рыба в воде.
- Такое расположение должно обеспечивать контакт с диффундирующим в муцин химусом и клетками между собой для быстрого обмена продуктами метаболизма. Оно должно отвечать представлению о биопленке, как о псевдоцитологической структуре

# Quorum sensing



- Это социальное поведение микроорганизмов - quorum sensing.
- Сообщество организует единую генетическую систему в виде плазмид – кольцевых ДНК, несущих поведенческий код для членов биопленки, определяющих их пищевые (трофические), энергетические и другие связи между собой и внешним миром.
- Реакция микроорганизмов на изменение условий окружающей среды в биопленке существенно отличается от реакции каждого отдельного вида в монокультуре.
- Специальные исследования показали, что в биопленке по иному, в сравнении с чистыми культурами бактерий, происходят их многочисленные физиологические процессы, в том числе продукция метаболитов и биологически активных веществ.

# QS Кворум сенсинг



- Кворум сенсинг, «чувствование (ощущение) достаточности» (quorum sensing) [лат. *quorum (praesentia sufficit)* —(достаточно); англ. *sence* — чувство, ощущение] — **способность некоторых микробных процессов реализовываться только при наличии достаточной плотности микроорганизмов (кворума) в биопленках и** обеспечивает координированное коллективное поведение популяции этих микроорганизмов.
- QS основан на сигнальном механизме, который осуществляется с помощью выделения бактериями при высокой плотности популяции специфических химических веществ – **аутоиндукторов(сигнальные молекулы)**, взаимодействующих с рецепторными регуляторными белками.



- QS посредством соответствующих генных регуляторов играет ключевую роль в регуляции многих метаболических процессов у микроорганизмов; напр., биолюминисценции у морских бактерий, формирования клеток-швермеров у бактерий родов Proteus и Serratia, споруляции у бацилл и актиномицетов, стимуляции роста стрептококков, синтеза антибиотиков и др.
- Впервые система К.с. была описана А. Эберхардом с соавт. в 1981 г. у морской бактерии Pfotobacterium fisheri.

## Бактерии способны:

- чувствовать и реагировать на факторы среды (рН, температура, наличие нутриентов и т.д). Это жизненно важной для их выживаемости.
- бактерии могут также чувствовать и реагировать на сигналы, происходящие от других бактерий.



**quorum sensing** это регуляция на геномном уровне в ответ на клеточную плотность и широко используется Gram (+) и Gram (-) бактериями для регуляции различных физиологических функций.

Продукция и детекция внеклеточных сигналов осуществляется **аутоиндуцерами** (autoinducers = **сигнальные молекулы**)





- **Сообщества микроорганизмов (микробиоценоз, микробиота) называют консорциумами**
- **В сообществе определены количественные и функциональные отношения –должны быть стабильными и постоянными.**
- **Как в биотехнологии - срыв производственного процесса (скажем, кефира или пива) не допустим**



- **У человека его биореактор (кишечник) должен работать всю жизнь.**
- **Поэтому природа постаралась так организовать микробное сообщество, что оно сохраняется в течение всей жизни при максимальной колебании в концентрации отдельных микробов. Независимо от применения антибиотиков.**

**По данным молекулярно-генетических исследований состав микрофлоры генетически связан внутри сообщества и специфичен на штаммовом уровне для индивидуума.**

**Это очень прочная система. Туда нельзя внедрить чужеродный штамм.**

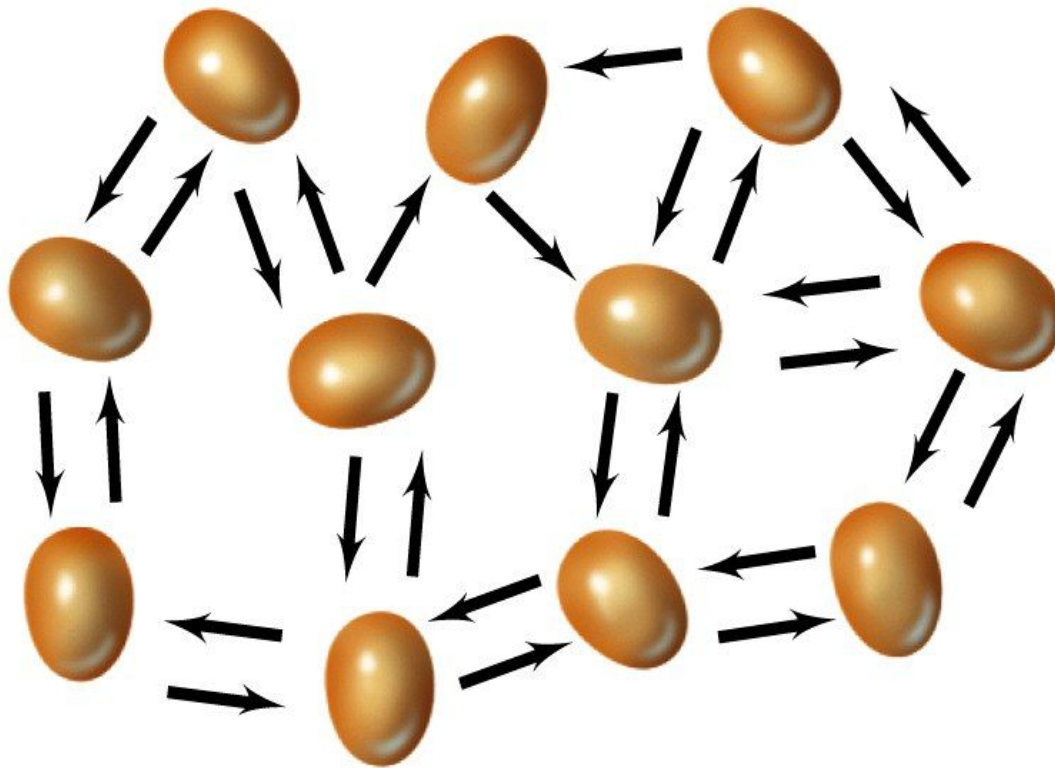
# Обеспечение гомеостаза



- микробиоты кишечника сохраняют стабильность в условиях разнородных химических и корпускулярных потоков, пронизывающих муцин вдоль и поперек.
- Такая организация обеспечивает ее физиологическую и функциональную стабильность и, следовательно, является залогом конкурентного выживания в экологической нише.

## Коммуникации

Клетки взаимодействуют между собой с помощью химических веществ, которые высвобождаются клетками, поступают в среду и через специфические рецепторы действуют на соседние клетки



# Природа микробиоценоза кишечника



- **Это пристеночная кишечная микробиота**, а не микрофлора фекалий, как это принято повсеместно.
- Именно в мукозном слое, облегающем слизистую оболочку кишечника происходит усвоение пищевого химуса, поступающего из желудка, усвоение необходимых питательных веществ клетками эпителия кишечной стенки и дополнительная продукция микроорганизмами большого числа биологически активных веществ: ферментов, витаминов, антибиотиков, иммуностимуляторов, а также токсинов и метаболитов, вредных для человека.

До недавнего времени ученые придерживались мнения, что микрофлора толстого кишечника насчитывает 17 семейств, 45 родов и более 500 видов.

С помощью молекулярно-генетических методов и газожидкостной хромато-масс-спектрометрии Eskburg P.V. с соавторами (2005) доказали, что пристеночная и просветная микрофлора включает 395 филогенетически обособленных групп (филотипов) микроорганизмов, из которых 244 (62%) являются абсолютно новыми.





**195 новых таксонов (80%), выявленных при данном исследовании, относятся к некультивируемым микроорганизмам (даже при выращивании проб в анаэробных условиях). Большинство из предполагаемых новых флотипов микроорганизмов являются представителями родов Firmicutes и Bacteroides. Фил-кластер Firmicutes содержит 301 флотип, основную часть которых можно отнести к классу клостридий. Общее количество видов приближается к 1500 и требует уточнения /Бондаренко В.М , 2007/**



- **Кишечная микробиота представляет собой доминирующий континуум штаммов и видов родов *Clostridium* и *Eubacterium* : эубактерий, бактероидов и клостридий вместе и по отдельности на порядок больше, чем бифидобактерий.**
- Это пищеварительно важная группа пептолитических и целлюлолитических организмов





- То есть фекалии – тот буферный резервуар, в который осуществляется сброс излишней, непропорциональной по отношению к гомеостатичному сообществу кишечной стенки, микрофлоры и не принятых к транспорту через слизистую оболочку кишечника компонент химуса и отработанного мукоза с метаболитами микроорганизмов, не угодных макроорганизму.

# Дисбактериоз — диагноз, которого нет



- **Нарушение баланса в микробиоценозе связано с патологическими проявлениями самого разного характера: кишечные расстройства, кожные заболевания, половые дисфункции и сердечная недостаточность.**
- **Термины : дисбиоз, синдром раздраженной кишки - СРК, синдром избыточного бактериального роста – ИБР**
- **По мнению известного специалиста в области клинической микробиологии проф. А.Н.Маянского исследование дисбактериоза кишечника по фекалиям : *«Фактически это дорогостоящее (тем более, что тестирование рекомендуется делать в динамике), трудоемкое исследование с невысокой (если не с нулевой) отдачей».***

# Дисбактериоз — диагноз, которого нет



- *Поскольку диагноза «дисбактериоз» в МКБ 10-го пересмотра нет, гастроэнтерологи в странах с развитой медициной его не используют.*
- *В России практика широкого использования термина «дисбактериоз» еще в 1999 г. осуждена как порочная,*



# Методы исследования:

- Метод газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (сокращенно – ГХ-МС).
- Молекулярно-генетические методы: на основе ПЦР, биочипные технологии, ПЦР-гель электрофореза в градиенте денатурации (PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), основанный на сиквенс-специфическом разделении, полученных в ПЦР ампликонов гена рРНК,



- Должна быть пересмотрена и концепция антибиотикотерапии. Ее фундамент – микробная моноэтиологичность и резистентность штаммов к антибиотикам в монокультуре *in vitro* – не адекватны форме существования микробного сообщества человека в норме и патологии.
- То же самое относится и к пробиотикотерапии которая в основном базируется на представлении о доминирующей роли бифидобактерий в микробиоте кишечника. В результате из поля зрения микробиолога, врача и биотехнолога выпадают эубактерии, клостридии и актиномицеты, которых в кишечнике по современным оценкам на порядок больше, чем бифидобактерий. Однако такие перемены в умах и традициях требуют времени.



- **«Мы, по сути, совсем не осведомлены о том какие функции обеспечивает микробная экосистема, которая находится внутри нас и как она влияет на наше здоровье»**
- **«Каждая новая информация становится шокирующей для нас, потому что она показывает как много еще нужно работать над тем, чтобы понять тот мир, который существует внутри нас».**

*Доктор Дэвид Рэلمان (Стэнфордский университет), специалист по инфекционным заболеваниям, журнал Nature.*

# Фекальная трансплантация – трансплантация микробиома



- Применяют для лечения инфекций, вызванных *Clostridium difficile*, но кроме и лечения других гастроэнтерологических и колопроктологических заболеваний, таких, как различные колиты (в частности, НЯК, б-нь Крона), хронические запоры, хронические поносы, хронические кишечные инфекции (хронический шигеллёз, хронический сальмонеллёз, иерсиниоз, кампилобактериоз и др.), синдром раздражённого кишечника. На ранних этапах находится также изучение потенциальной эффективности ТФМ при внекишечных заболеваниях, в частности эндокринно-обменных (ожирение, сахарный диабет, метаболический синдром), неврологических (болезнь Паркинсона, рассеянный склероз и др.), психических (аутизм, большая депрессия и др.), гепатологических (печёночная энцефалопатия) и других.