Микробиом

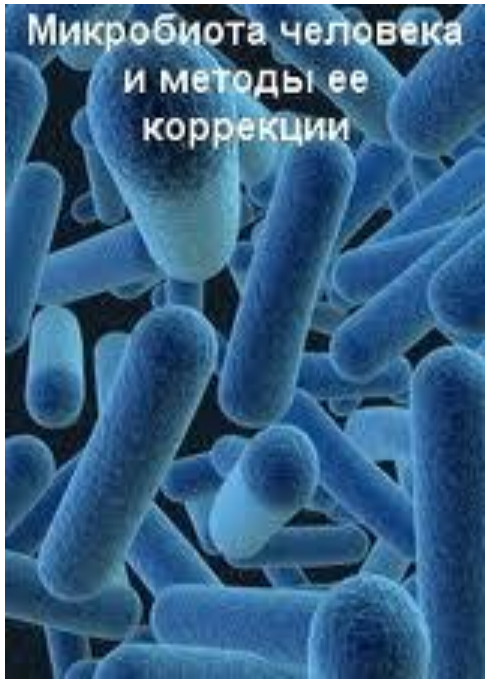
«The microbiome is the sum of our experiences throughout our lives: the genes we inherited, the drugs we took, the food we ate, the hands we shook. »

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 совокупность облигатно-анаэробных бактерий (бифидобактерии, бактероиды, лактобактерии, вейлонеллы, 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.

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 биллионов) клеток микроорганизмов. Это число в десять раз превышает число собственных клеток организма-хозяина, то есть - человеческих.

Общая поверхность:

- **ЖКТсоставляет около 300 м2,**
- **системы дыхания - 80 м2,**
- **кожи - 2 м2**

Стуктура микробиоценоза

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

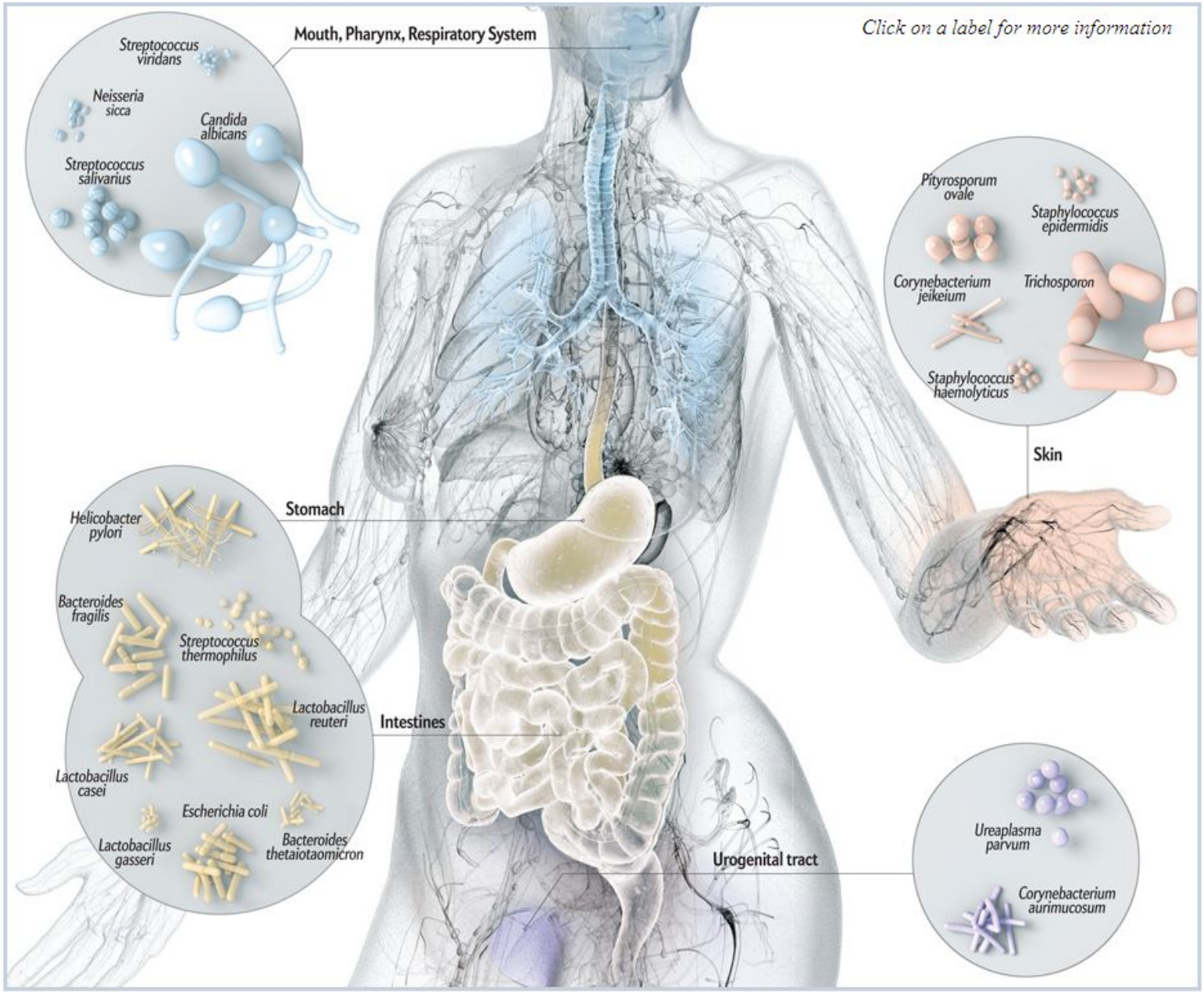
(В.Бондаренко, 2007).

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).


Click on a label for more information
Mouth, Pharynx, Respiratory System
Streptococcus viridans
Neisseria sicca
Candida albicans
Streptococcus salivarius
Pityrosporum ovale
Staphylococcus epidermidis
Corynebacterium jeikeium
Trichosporon
Staphylococcus haemolyticus
Skin
Stomach
Helicobacter pylori
Bacteroides fragilis
Streptococcus thermophilus
Lactobacillus reuteri
Intestines
Lactobacillus casei
Escherichia coli
Lactobacillus gasseri
Bacteroides thetaiotaomicron
Urogenital tract
Ureaplasma parvum
Corynebacterium aurimucosum

Инфраструктура микробного цен 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).

Homo sapiens – это «суперорганизм», в котором сосуществует большое количество различных организмов .

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

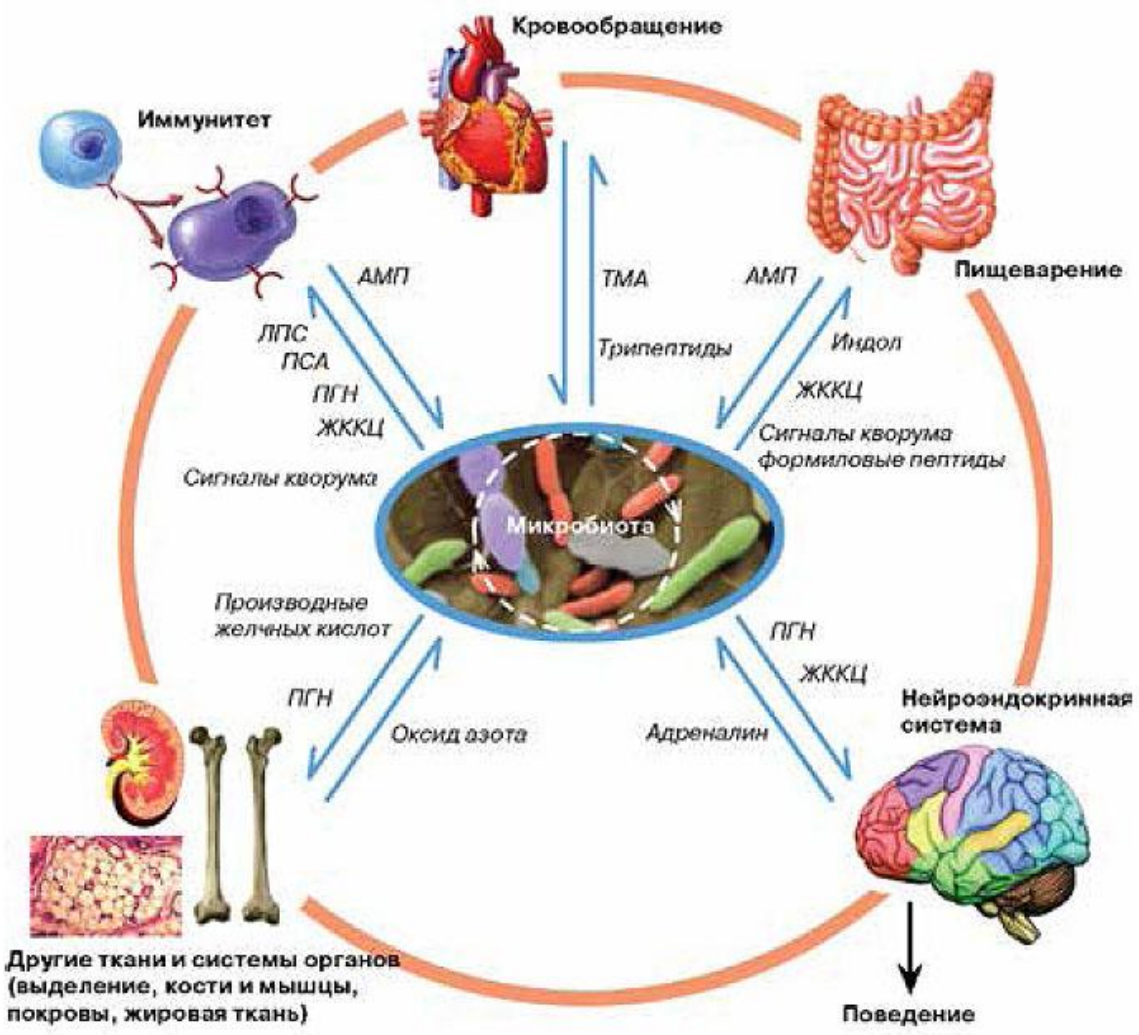
- Согласно данным Национального института **здоровья** США, только 10% клеток, которые входят в состав человеческого организма, являются собственно человеческими клетками. Остальные 90% принадлежат бактериям, населяющим различные биотопы **человека**

[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.


Кровообращение
Иммунитет
Пищеварение
АМП
ЛПС
ПСА
ПГН
ЖККЦ
Сигналы кворума
ТМА
Трипептиды
АМП
Индол
ЖККЦ
Сигналы кворума
формиловые пептиды
Микробиота
Производные
желчных кислот
ПГН
Оксид азота
ПГН
ЖККЦ
Адреналин
Нейроэндокринная
система
Другие ткани и системы органов
(выделение, кости и мышцы,
покровы, жировая ткань)
Поведение

Основные эффекты микробиоты для человека

Все виды обмена веществ (белковый, жировой, углеводный)

Пищеварение (участие в усвоении пищи, синтез витаминов)

Детоксикация (выведение токсинов, канцерогенов, аллергенов)

МИКРОБИОТА

Интеллект

Психоэмоциональные функции

Иммунитет (защита от инфекций)

Качество жизни

Продолжительность жизни

MyShared

- 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.
-

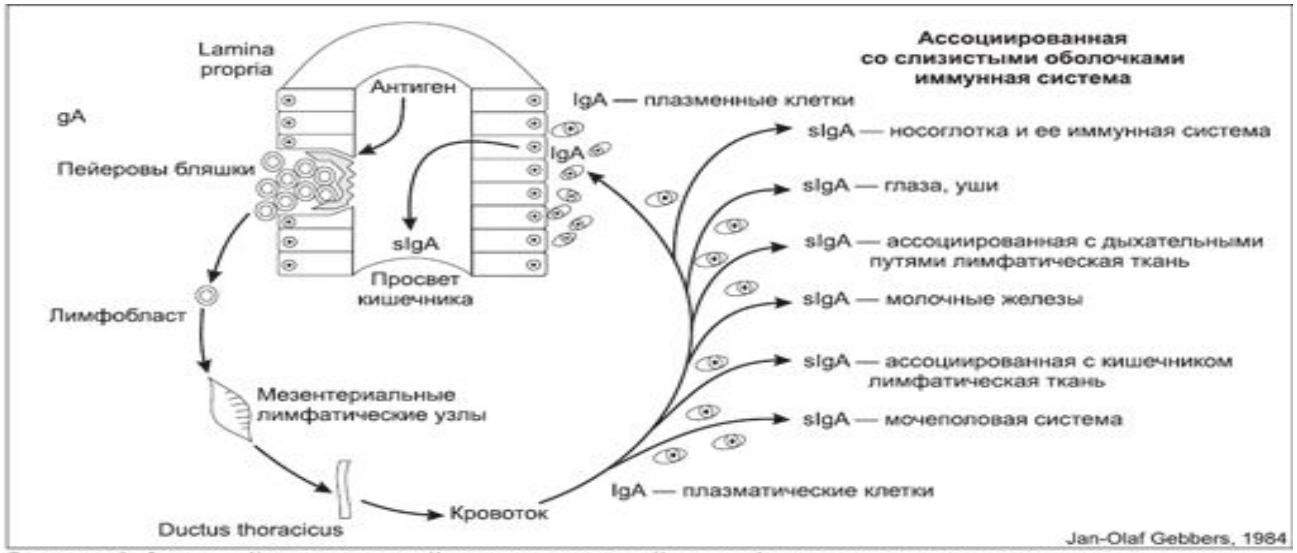


Рисунок 4. Основной механизм действия нормальной микрофлоры на иммунную систему организма — хоминг-эффект

- 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^3 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 (трфические), 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 (pH, 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 количественые 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 максимальном 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 специфльные рецепторы действуют на соседние клетки

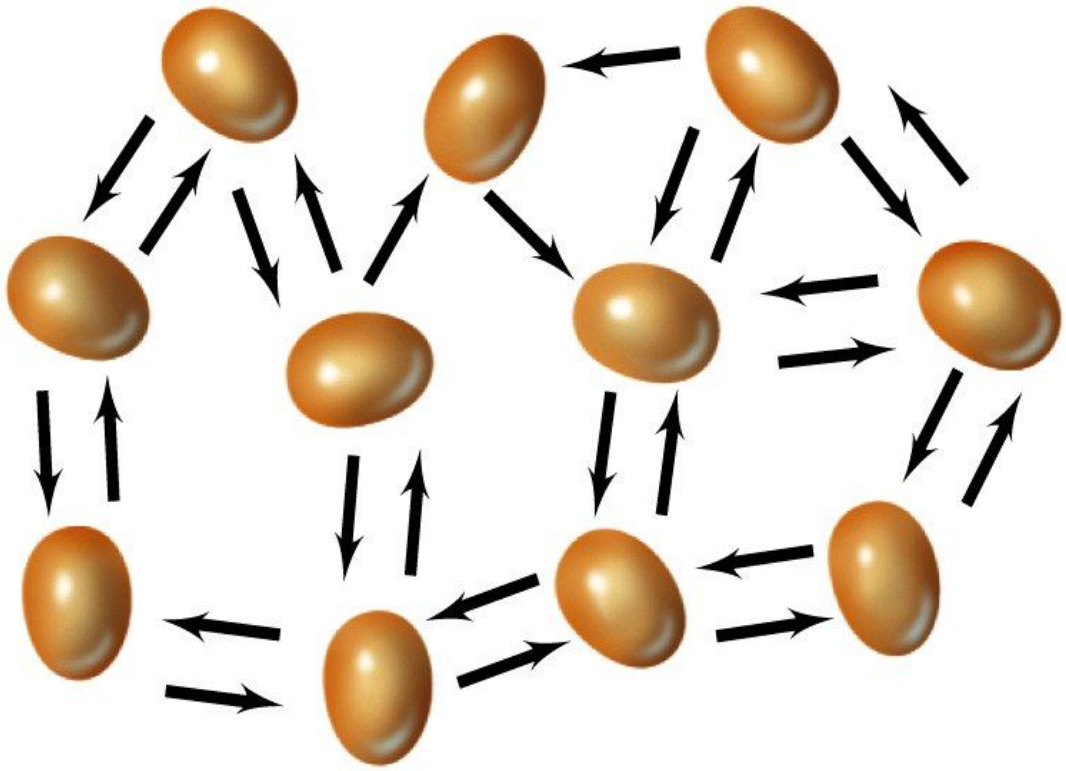


Figure 1-3 part 4 Brock Biology of Microorganisms 11/e

© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

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 Eckburg P.B. 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 филотипов микроорганизмов являются представителями родов Firmicutes и Bacteroides. Фил-кластер Firmicutes содержит 301 филотип, 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 ро ста – 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 резистентость 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 Рэльман (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.*