

И.О. СТОМА

МИКРОБИОМ В МЕДИЦИНЕ

РУКОВОДСТВО ДЛЯ ВРАЧЕЙ



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2020

СОДЕРЖАНИЕ

Об авторе	6
Предисловие	8
Список сокращений и условных обозначений	9
1. Десять вопросов автору по теме микробиома	11
2. Введение	13
3. Проект микробиома человека	17
4. Современные методы исследования микробиома в медицине	19
Биосенсоры и лаборатории на чипе	25
5. Структура и характеристики микробиома	27
Микробиом кишечника	27
Анатомическое распределение микробиома	30
Возрастная динамика микробиома у детей	30
Ключевая информация раздела	37
Энтеральная нервная система	38
Респираторный микробиом	42
Микробиом женской репродуктивной системы	48
Микробиом кожи	55
6. Роль микробиома в физиологии человека	61
Физиология нового поколения для изучения микробиома	62
7. Функция микробиома с позиций метаболомики	64
8. Иммунная система и микробиом	66
9. Резистом человека	70
10. Механизмы защиты микробиома	74
Устойчивость к колонизации патогенами	74
Механизмы устойчивости микробиома	
к колонизации патогенами	80
Косвенные механизмы устойчивости к колонизации	84
Механизмы селекции высокоустойчивых патогенов в составе	
микробиома	85
11. Пробиотики, пребиотики и синбиотики	87
Доказательная основа применения пробиотиков	89
Влияние пробиотиков и пребиотиков	
на вагинальный микробиом	93
12. Микробиом-ассоциированная фармакология	96
Влияние микробиома на фармакокинетику и фармакодинамику	
лекарств	97

Типирование микробиомного метаболизма лекарств в клинической практике	107
Влияние антибиотиков на состав и характеристики микробиома	107
Ассоциация микробиома и эффективности противоопухолевых лекарственных средств	112
13. Транслокация бактериальных токсинов	114
14. Микробиом и инфекционные заболевания	120
<i>C. difficile</i> -ассоциированная инфекция в контексте кишечного микробиома	120
Микробиом и пневмонии	123
Переоценка взглядов на патогенез ботулизма	125
Инфекции мочевыделительной системы и микробиом	128
15. Трансплантация фекальной микробиоты	129
Трансплантация фекальной микробиоты в лечении <i>C. difficile</i> - ассоциированной инфекции	129
Трансплантация фекальной микробиоты для восстановления устойчивости к колонизации патогенами	131
16. Микробиом у особых категорий пациентов	133
Пациенты с иммуносупрессией	133
Генерализованные инфекции, происходящие из кишечника	139
Антибактериальная профилактика у пациентов на фоне химиотерапии с позиции кишечного микробиома	145
Роль стерильной внешней среды у пациентов с иммуносупрессией	147
Реакция «трансплантат против хозяина» и микробиом	149
Микробиом у пациентов с ВИЧ-инфекцией	150
17. Микробиом и неинфекционные заболевания	152
Метаболический синдром	153
Микробиом в современной эндокринологии	155
Микробиом и заболевания щитовидной железы	164
Микробиом и остеопороз	165
Микробиом в дерматологии	167
Микробиом в неврологии и психиатрии	170
Микробиом в гепатологии и гастроэнтерологии	181
Микробиом в онкологии	186
Микробиом в хирургии	188
Микробиом в трансплантологии	189
Микробиом в акушерстве и гинекологии	190

Микробиом в ревматологии	197
Микробиом в пульмонологии	200
Микробиом в патогенезе атопического дерматита	201
Микробиом в нутрициологии и диетологии	203
Микробиом в судебной медицине и криминалистике	211
18. Перспективные методы коррекции микробиома	215
Микробные коктейли	215
Бактериальные лиганды	215
Малые молекулы	216
Таргетная антибактериальная терапия	217
CRISPR-CAS9 методы генной инженерии	217
19. За пределами «просто бактерий»: микобиом, виром и археом	219
Микобиом в медицине	219
Виром в медицине	222
Археом в медицине	224
20. Краткий конспект клинициста	225
21. Заключительные вопросы и ответы по теме микробиома	226
Послесловие	227
Глоссарий	228
Библиография	242
Приложения	301
Приложение 1	301
Приложение 2	312
Приложение 3	319

5. СТРУКТУРА И ХАРАКТЕРИСТИКИ МИКРОБИОМА

МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА

Эволюция микроорганизмов продолжалась в кишечнике животных длительное время, что привело к формированию сложной и богатой экосистемы. Кишечник млекопитающих густо заселен триллионами бактерий, принадлежащих к нескольким сотням различных видов [34]. Выделяют два вида разнообразия микробиоты человека: α -разнообразие (в пределах одного образца) и β -разнообразие (между отдельными образцами). Несмотря на значительное разнообразие видов микроорганизмов в составе микробиоты, большинство представителей принадлежат только к четырем типам в современной биологической систематике: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. Типы *Firmicutes* и *Bacteroidetes* составляют более 90% бактериальной популяции в толстой кишке, где плотность микробиоты наибольшая. При этом представители типов *Actinobacteria* и *Proteobacteria* практически всегда присутствуют в составе микробиоты в относительно невысоком содержании [3, 35]. Ниже мы охарактеризуем более подробно представителей наиболее распространенных таксономических типов в составе микробиома человека.

Bacteroidetes

Тип *Bacteroidetes* представлен как анаэробными, так и аэробными неспорообразующими грамотрицательными бактериями, которые колонизируют практически все отделы кишечника. Род *Bacteroides* является одной из наиболее преобладающих групп в кишечнике в составе данного таксономического типа. Эти бактерии эффективно разлагают сложные полисахариды, устойчивые к пищеварительным ферментам человека. Биодegradация этих сложных углеводов дает на выходе набор короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), а именно ацетат, пропионат и бутират, которые реабсорбируются организмом хозяина и вовлекаются в биохимические энергетические процессы. Кроме того, КЦЖК участвуют в регулировке дифференциации эпителиальных клеток кишечника [36], созревании и стимуляции иммунной системы [37], а также ряда других важных биологических процессов.

Несмотря на то, что представители рода *Bacteroides* вносят важный вклад в метаболические процессы человека и в целом поддерживают комменсальные отношения с хозяином, некоторые представители обладают потенциалом патогенности при резком повышении

их относительной плотности в просвете кишечника. Примером является *Bacteroides fragilis*, который обычно локализуется в нижних отделах кишечника и, как было ранее показано, оказывает благоприятное воздействие на организм человека, такое как стимулирование развития иммунной системы [38]. Однако в то же время *Bacteroides fragilis* является одним из наиболее частых облигатных анаэробов, вызывающих инфекционные осложнения. Наиболее частой клинической формой в таких ситуациях являются интраабдоминальные абсцессы и инфекции кровотока, особенно у пациентов с нарушением барьерной функции слизистой оболочки кишечника или ее перфорацией.

Большинство представителей рода *Bacteroides*, колонизирующих кишечник, не являются этиологическими факторами кишечных инфекций за одним исключением: энтеротоксигенные штаммы *B. fragilis* продуцируют токсин *B. fragilis*, который вызывает колит, а также ранее ассоциировался с риском развития опухолей толстой кишки [39, 40]. Кроме того, у представителей рода *Bacteroides spp.* отмечено наличие целого ряда механизмов антибиотикорезистентности и регистрируются наиболее высокие уровни устойчивости к антибиотикам среди всех облигатных анаэробов [41].

Firmicutes

Тип *Firmicutes* представлен как облигатными, так и факультативными анаэробными бактериями. Большинство представителей типа являются грамположительными бактериями и способны формировать эндоспоры, обеспечивая экологическое преимущество для выживания в неблагоприятных условиях. В форме эндоспор данные бактерии могут выживать при отсутствии питательных веществ, являются чрезвычайно устойчивыми к воздействию кислорода, ультрафиолетовому излучению, высыханию, экстремальным температурам и дезинфицирующим средствам. Данные формы позволяют представителям типа *Firmicutes* длительное время находиться в состоянии покоя и возвращаться к метаболически активному состоянию в благоприятных условиях.

Один из наиболее клинически значимых классов в составе типа *Firmicutes* — это класс *Clostridia*, который в связи с высокой гетерогенностью дополнительно разделен на кластеры. Именно среди представителей кластеров *Clostridium XIVa* и *IV* были выявлены полезные микроорганизмы, принимающие участие в функциях ЖКТ человека. Показано, что данные бактерии концентрируются в складках слизистой оболочки кишечника, поддерживая и регулируя функции кишечного эпителия [42]. Виды в составе данных кластеров так же, как и представители *Bacteroides spp.*, продуцируют КЦЖК (бутират) в результате процессов ферментации, что

способствует поддержанию функции кишечного эпителия. К тому же было показано, что представители этих кластеров поддерживают локальный иммунный гомеостаз кишечника посредством привлечения регуляторных Т-лимфоцитов толстого кишечника [43].

Стоит подчеркнуть, что другие кластеры класса *Clostridia* включают важные патогены, которые могут вызывать инфекционные заболевания человека, а именно: представители кластера I — *C. perfringens* и *C. tetani*, а также кластера XI — *C. difficile* [44]. Наконец, еще один клинически значимый класс в составе типа *Firmicutes* — класс *Bacilli*. Известными представителями этого класса являются кислородоустойчивые бактерии *Enterococcus spp.* и *Streptococcus spp.*, которые обычно определяются в кишечнике в низком относительном содержании, но обладают потенциалом к избыточному росту при различных патологических состояниях [45].

Actinobacteria

Тип *Actinobacteria* состоит как из аэробных, так и из анаэробных грамположительных бактерий, однако отличается от типа *Firmicutes* более высоким содержанием гуанина и цитозина в структуре ДНК. *Bifidobacteria spp.* являются наиболее распространенными обитателями ЖКТ в рамках данного типа [34]. Ранее было показано, что отдельные виды в пределах этого рода, в том числе *B. longum*, имеют пробиотические функции. В частности, данные микроорганизмы обеспечивали защиту от кишечных патогенов с помощью ряда процессов, а именно: прямой конкуренции, активности гидролазы желчных кислот, модуляции локального иммунного ответа и способности создавать высокую пристеночную концентрацию вблизи кишечного эпителия [2, 46].

Proteobacteria

Тип *Proteobacteria* включает широкий спектр грамотрицательных микроорганизмов. В то время как основную массу бактерий ЖКТ составляют облигатные анаэробы, представители типа *Proteobacteria* являются факультативными анаэробами. Несмотря на то, что протеобактерии являются естественными обитателями ЖКТ человека, как правило, они составляют меньшинство в структуре здорового, дифференцированного микробиома. В составе типа стоит отметить семейство *Enterobacteriaceae* (класс *Gamma**proteobacteria*), в котором находятся многие возбудители инфекционных осложнений, а именно *Escherichia coli* и *Klebsiella spp.*, которые обычно регистрируются в микробиоме ЖКТ в малом количестве, но имеют потенциал для чрезмерного роста и кишечного доминирования на фоне антибиотикотерапии и отдельных заболеваний [21, 45].

АНАТОМИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОБИОМА

С точки зрения расположения микроорганизмов и условий локального биоценоза ЖКТ человека состоит из желудка, тонкой кишки, слепой кишки, ободочной кишки и прямой кишки. Имеется несколько важных показателей, претерпевающих изменения в среде вдоль этого тракта. Например, pH и концентрация кислорода значительно меняют свои уровни, начинаясь от кислой среды и аэробных условий желудка и перетекая в нейтральную и анаэробную среду толстой кишки. Кроме того, источники питательных веществ для колонизирующих микроорганизмов меняются на протяжении всей длины ЖКТ [47]. В частности, наиболее простые углеводы всасываются в терминальной подвздошной кишке и, следовательно, в отделах ЖКТ ниже илеоцекального клапана бактерии усваивают не переваренные хозяином углеводы, сложные молекулы, а также мукопротеины. В результате комбинации вышеописанных факторов бактерии имеют специфическое распределение в кишечнике человека. Общая плотность бактерий больше в толстой кишке, чем в тонком кишечнике. В целом в составе микробиома тонкой кишки преобладают представители *Lactobacillales* или *Proteobacteria*. Однако в толстом кишечнике уже *Bacteroides* и *Clostridiales* становятся доминирующими в составе микробиома [48].

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА МИКРОБИОМА У ДЕТЕЙ

Эволюция и созревание кишечного микробиома на ранних стадиях жизни являются важными факторами здоровья, а нарушения на ранних этапах формирования микробного сообщества у ребенка предрасполагает к развитию заболеваний как в младенчестве, так и в зрелом возрасте, что наиболее изучено в контексте аллергических заболеваний и метаболических синдромов.

Очень интересно то, что после родов естественным путем микробиота новорожденных заселяется бактериями родового канала матери, а у новорожденных после выполнения кесарева сечения микробиота заселяется в основном бактериями, населяющими кожу взрослого человека, при этом стрептококки становятся доминирующим видом в составе микробиоты у таких детей [49]. Было также высказано предположение, что это может служить фактором, предрасполагающим к последующим инфекциям в детском возрасте [49]. Весьма значимы результаты исследования, в котором авторы после кесарева сечения выполняли обработку кожных покровов новорожденных тампоном, смоченным в содержимом влагилица матери, что приводило к формированию адекватного состава микробиоты, сходного с характеристиками микробиоты детей после родов через естественные родовые пути [50].

Исследования, включающие тысячи детей, выявили ассоциацию между использованием антибиотиков в течение первого года жизни и риском развития бронхиальной астмы к 6–7 годам [51–54]. Более того, отдельные авторы демонстрировали данные о повышении риска развития бронхиальной астмы у детей дошкольного возраста, чьи матери получали антибиотики в III триместре беременности [55, 56]. Финскими исследователями было показано, что назначение макролидов у детей младшего возраста приводит к формированию особого профиля микробиоты, характеризующегося потерей представителей *Actinobacteria* и увеличением плотности *Bacteroidetes* и *Proteobacteria*, индукцией генов антибиотикорезистентности и снижением активности гидролаз желчных кислот. При этом данный профиль микробиоты положительно коррелировал либо с развитием впоследствии бронхиальной астмы, либо с увеличением индекса массы тела [57]. Ассоциация применения антибиотиков в первый год жизни и повышение индекса массы тела у мальчиков в возрасте 5–8 лет впоследствии было также показано в исследовании из Великобритании, где авторы подчеркивают роль микробиома в регуляции массы тела [58].

В дополнение к обсервационным исследованиям с участием людей имеются экспериментальные исследования о влиянии антибиотиков на микробиоту и заболевания у мышей. В частности, исследователями было показано, что введение антибиотиков новорожденным мышам приводило к выраженным изменениям состава микробиома и к развитию впоследствии осложненных астматических эпизодов после интраназальной нагрузки овальбумином, чего, однако, не наблюдалось при введении антибиотиков уже взрослым особям [59]. Важность вертикальной передачи микробиоты во время беременности подчеркивает публикация работы о наибольшем отрицательном эффекте введения малых доз пенициллина на состав микробиома именно в ранние сроки гестации [60]. Авторы в эксперименте на мышах показали, что у животных, получивших малые дозы пенициллина во время гестации, отмечалось впоследствии увеличение массы тела, повышение содержания жировой ткани в организме, а экспрессия генов, кодирующих отдельные важные белки (RegIIIγ, β-дефензины и ИЛ-17), была снижена.

Интересным примером со стороны животного мира является инстинкт употребления новорожденными жеребятами экскрементов матери, при этом данный инстинкт проявляется независимо от породы животных и географической зоны обитания (рис. 7). Долгое время в ветеринарии выдвигались предложения о восполнении таким образом дефицита отдельных нутриентов, однако в связи с внедрением молекулярно-генетических методов исследования сейчас вполне ясно, что это инстинктивный метод заселения микробиома кишечника и стимуляции иммунной

системы, которая отмечается незрелостью механизмов у доношенных жеребят [61].



Рис. 7. Инстинкт употребления экскрементов матери новорожденными жеребятами

Таким образом, воздействие антибиотиков даже на короткие промежутки времени, особенно во время беременности и детского возраста, оказывает долговременное воздействие на микробиом, что может повышать риск развития целого ряда заболеваний впоследствии. Это, очевидно, имеет огромное значение для общественного здравоохранения и стратегии назначения антибиотиков в акушерстве и гинекологии, а также педиатрии.

Нормальная хронология созревания и заселения микробиоты кишечника у детей представлена на рис. 8–11 (пояснения в тексте). На первом этапе постнатального заселения бактериями (дни 3–84) микробиом кишечника у детей содержит ограниченный набор представителей типа *Firmicutes*. Второму этапу заселения предшествует увеличение количества представителей *Proteobacteria* (дни 92–100), что часто совпадает с ранее необъяснимыми эпизодами лихорадки у детей. Количество *Actinobacteria* и *Proteobacteria* увеличивается на втором этапе, а видовой состав *Firmicutes* на данном этапе выражено отличается от первоначального. На третьем этапе формирования микробиома введение детского питания в дополнение к грудному молоку и приобщение к «взрослому» столу ассоциируется с увеличением количества *Bacteroidetes* (дни 172–297), что также продолжается и на четвертом этапе (дни 454–838), однако конкретные представители типа *Bacteroidetes* в микробиоме отличаются между этими двумя этапами.

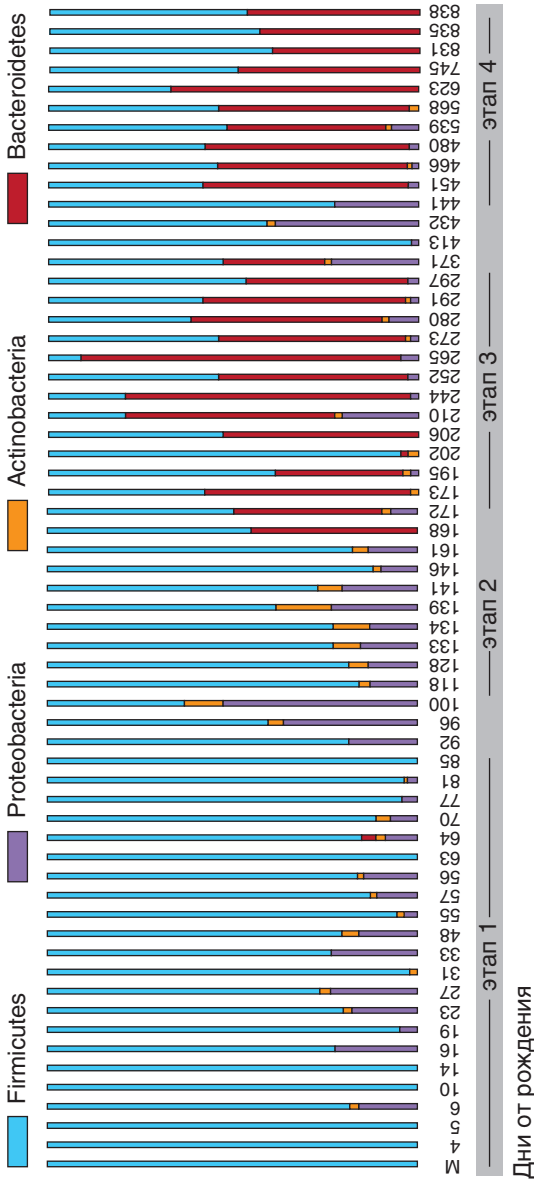


Рис. 8. Состав микробиома кишечника в динамике у ребенка: анализ микробиома на уровне таксономических типов микроорганизмов (адаптировано автором из Koenig J.E. и соавт. [62])

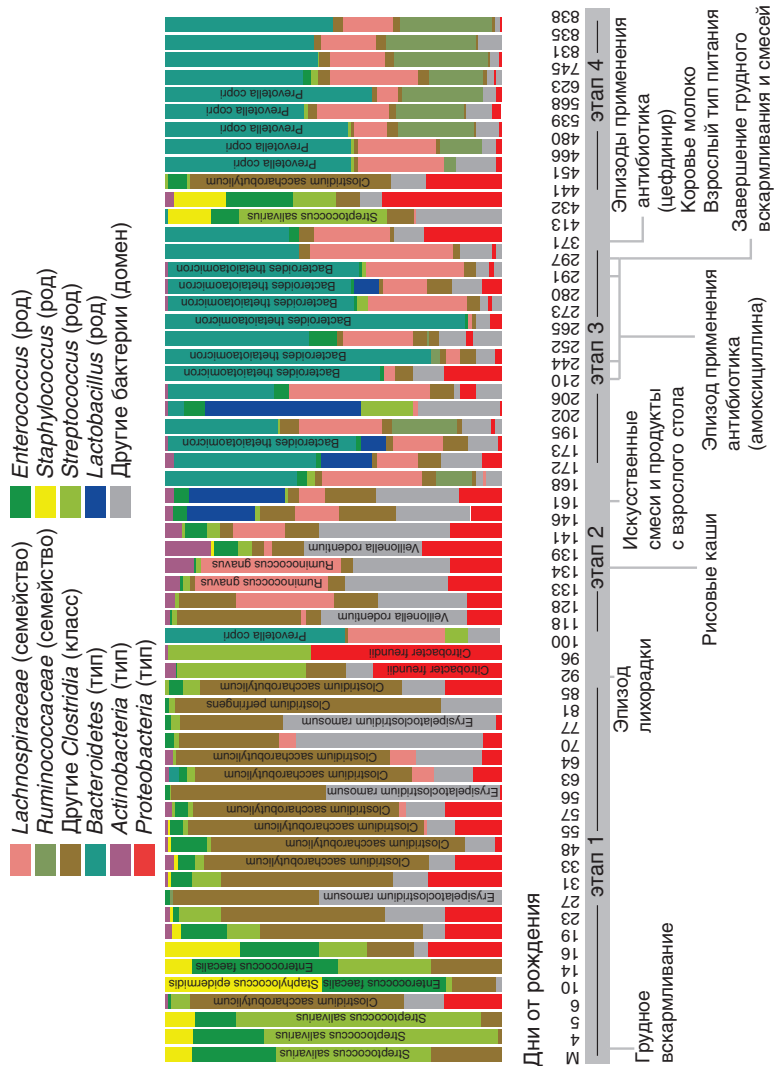


Рис. 9. Состав микробиома кишечника в динамике у ребенка: анализ микробиома на уровне семейств микроорганизмов (адаптировано У. Тауг из Koenig J.E. и соавт. [62])

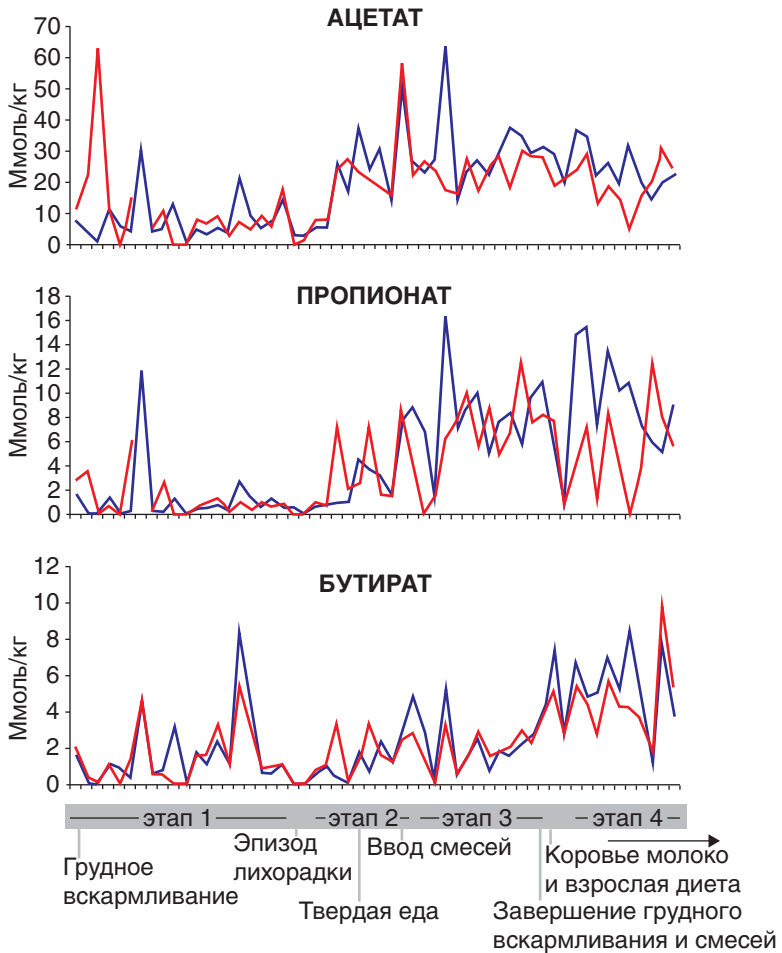


Рис. 10. Динамика концентрации короткоцепочечных жирных кислот в кишечнике в период созревания микробиома у ребенка (адаптировано автором из Koelzig J.E. и соавт. [62])

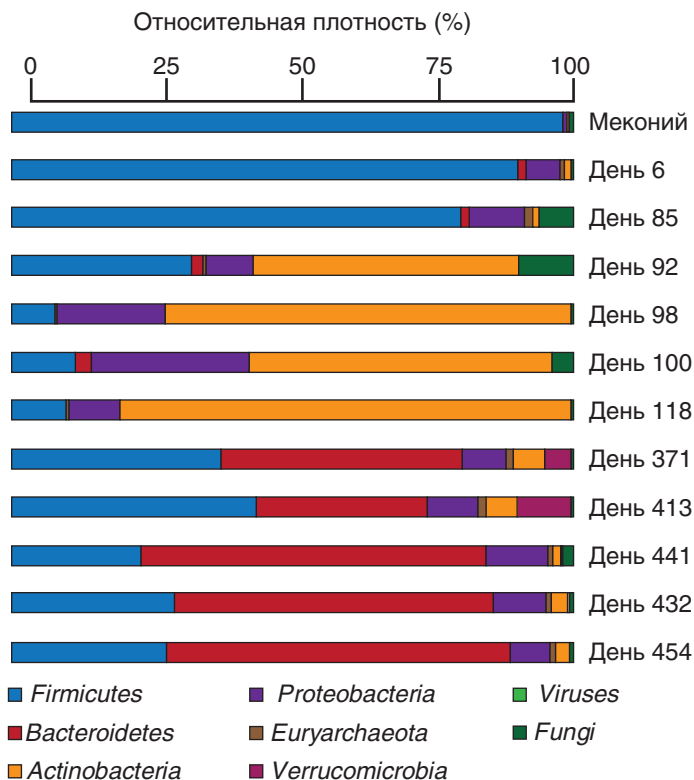


Рис. 11. Возрастная динамика кишечного микробиома у детей раннего возраста (адаптировано автором из Paliy O. и соавт. [67])

Период выраженного перехода в структуре микробиома между третьим и четвертым этапами (дни 371–441) может быть обусловлен рядом факторов внешней среды, имеющих влияние на ребенка, например первым контактом с антибиотиками, исключением грудного молока и питательных смесей из рациона питания, введением коровьего молока и полноценной взрослой диеты. Интересно, что микробиом переходного периода, предшествующий четвертому этапу, содержит микроорганизмы, типичные для уже завершеного первого этапа, которые можно трактовать как следы неонатального микробиома.

Стоит отметить, что видовой состав микробиома у ребенка относительно стабилен на четвертом этапе: данная стабильность, подтвержденная

анализом более 400 образцов [62], является показателем того, что кишечный микробиом ребенка достигает стабильного состояния именно на четвертом этапе. Введение в рацион питания продуктов с взрослого стола приводит к выраженному сдвигу в типовом составе микробиома, а также увеличивает абсолютное количество бактерий и КЦЖК в кишечнике ребенка. Резкое и устойчивое повышение уровня бактерий типа *Bacteroidetes* после начала регулярного прикорма ребенка вполне объяснимо: именно данные бактерии специализируются на ферментации сложных растительных полисахаридов [63], а в экспериментальных работах на мышах добавление растительных углеводов в состав схемы питания незамедлительно повышало уровень *Bacteroidetes* в составе кишечного микробиома [64]. В то же время высокая метаболическая активность данных бактерий прямо или косвенно приводит к увеличению продукции КЦЖК (ацетата, пропионата, бутирата) в кишечнике. Более того, было продемонстрировано, что низкое содержание *Bacteroidetes* в кишечном микробиоме ассоциируется с ожирением, что само по себе может наблюдаться на фоне диеты, бедной сложными растительными полисахаридами [65, 66]. Таким образом, вместе эти результаты подтверждают мнение о том, что диета с высоким содержанием продуктов растительного происхождения способствует созданию разнообразного и полноценного микробного сообщества кишечника, в том числе и у детей, а также адекватному производству энергетических субстратов и метаболитов, необходимых организму человека.

КЛЮЧЕВАЯ ИНФОРМАЦИЯ РАЗДЕЛА

Микробиом кишечника человека состоит из приблизительно 100 триллионов бактерий, принадлежащих нескольким сотням различных видов [34]. Микробиом включает четыре основных типа бактерий, охватывающих более 90% общей популяции микроорганизмов, а именно *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, а также ряд более редких типов (*Verrucomicrobia* и *Fusobacteria*). Соотношение и состав данных типов бактерий значительно варьирует вдоль ЖКТ, а также изменяется под влиянием различных факторов внешней среды и доступности питательных веществ [3]. Эволюция и созревание микробиома у детей проходит в четыре этапа и характеризуется как количественным, так и качественным изменением состава бактерий кишечника, происходящим под влиянием перемены рациона питания и внешних факторов.

ЭНТЕРАЛЬНАЯ НЕРВНАЯ СИСТЕМА

Энтеральная нервная система как «второй мозг» человека

То, что ранее считалось простым набором нервных ганглиев в кишечнике, теперь признано сложным, интегративным мозгом в рамках энтеральной нервной системы (ЭНС).

Структурно и химически ЭНС — сложная сеть нервных микросвязей, управляемая большим количеством нейротрансмиттеров и нейромодуляторов, чем можно найти где-либо еще в периферической нервной системе. Это позволяет ЭНС выполнять многие из своих задач при отсутствии контроля со стороны ЦНС, что и определяет ее уникальность.

Сегодня уже признана важность изучения ЭНС в разработке эффективных методов лечения функциональных расстройств кишечника. Представьте, что кишечник — это «новое окно» в мозг человека, и станет понятно, почему изучение ЭНС определяет взгляды врачей как в неврологии, так и в гастроэнтерологии.

Структура энтеральной нервной системы

ЭНС удивительно похожа на наш мозг как структурно, так и функционально. Ее нейронные элементы представлены не шванновскими клетками и коллагеном, как в остальной периферической нервной системе, а клетками нейроглии, которые напоминают астроциты ЦНС. Эти глиальные клетки не обертывают отдельные аксоны, скорее, целые пучки аксонов встраиваются в инвагинации кишечных глиальных клеток. Таким образом, аксоны прилегают друг к другу так же, как и, например, в обонятельном нерве.

Структуры ЭНС также восприимчивы к тому, что обычно считается признаком поражения головного мозга, например тельца Леви, ассоциированные с болезнью Паркинсона, или амилоидные бляшки и нейрофибрилярные клубки, ассоциированные с болезнью Альцгеймера, были найдены и в кишечнике пациентов с этими заболеваниями. Более того, возможно, что болезнь Альцгеймера, которую так трудно диагностировать, когда-нибудь будет подтверждаться при биопсии кишечника.

В дополнение к нейронам и глиальным клеткам ЭНС, стенка кишки содержит интерстициальные клетки Кахала (ИКК), которые не содержат нейронные и глиальные маркеры, такие как нейрофиламенты

или глиальные фибриллярные белки, и поэтому считается, что они представляют собой особый тип клеток.

Поскольку ИКК, как правило, расположены между нервными окончаниями и гладкомышечными клетками, Сантьяго Рамон-и-Кахаль считал, что они являются посредниками, которые передают сигналы от нервных волокон к клеткам гладких мышц. На какое-то время от этой концепции отказались, потому что было принято считать, что никакие посредники для этого процесса не требуются. Теперь, однако, концепция Кахали пересматривается.

Считается также, что ИКК выступают в качестве пейсмейкера (водителя ритма), устанавливая ритм кишечных сокращений посредством их влияния на электрическую медленноволновую активность. Это предположение подтверждается следующими фактами:

- а) ИКК расположены в зонах гладкой мускулатуры, где именно и генерируются медленные электрические волны;
- б) спонтанной пейсмейкерной активностью ИКК в условиях их изоляции от кишки;
- в) исчезновением или нарушением медленноволновой активности кишечника при удалении ИКК или их отсечении от кишечных гладких мышц.

Вся структура ЭНС организована в два ганглионарных сплетения (рис. 12). Более крупное, Ауэрбахово сплетение, или межмышечное нервное сплетение (лат. *plexus myentericus*), содержит нейроны, ответственные за моторику кишки, и опосредует таким образом экскрецию ферментов из смежных внутренних органов. Несколько меньшее, Мейсснерово сплетение, или подслизистое нервное сплетение (лат. *plexus submucosus*), содержит сенсорные клетки, которые взаимодействуют с нейронами межмышечного сплетения, а также двигательные волокна, которые стимулируют секрецию из эпителиальных клеток кишечных крипт (Либеркюновых желез) в просвет кишки. Подслизистое сплетение содержит меньше нейронов и более тонкие межганглионарные связи, а также имеет меньше нейронов на один ганглий. Электрические связи между гладкомышечными клетками позволяют нервным сигналам быстро изменять мембранный потенциал даже тех клеток, которые не имеют прямого контакта с нейронами, и это гарантирует то, что большие области кишечника, а не небольшие группы мышечных клеток, будут реагировать на нервную стимуляцию.

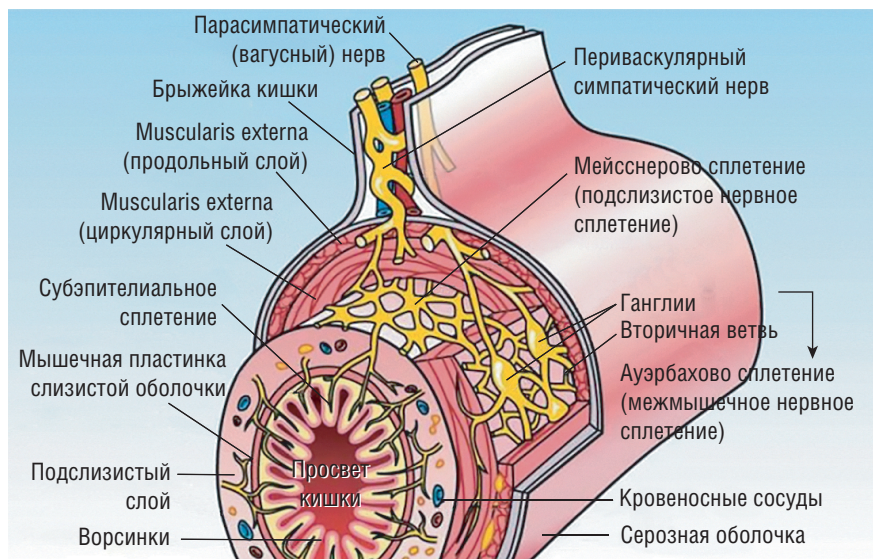


Рис. 12. Строение ганглионарных сплетений энтеральной нервной системы (адаптировано автором из M. Gershon [68])

Стоит отметить, что энтерохромаффинные клетки желудочно-кишечного эпителия (клетки Кульчицкого) содержат более 95% всего серотонина в организме. Небольшое количество серотонина также выделяется интернейронами ЭНС. Серотонин в энтерохромаффинных клетках хранится в субклеточных гранулах, которые самопроизвольно высвобождают этот биогенный амин в прилежащую *lamina propria* слизистой оболочки. В ней же имеется по крайней мере 15 различных подтипов серотониновых рецепторов. Дополнительное количество серотонина выделяется, когда клетки стимулируются повышением внутрипросветного давления в кишечнике, вагусной стимуляцией, анафилактическими реакциями, закислением среды просвета двенадцатиперстной кишки или под воздействием норадреналина, ацетилхолина, холерного токсина и ряда других химических веществ. Например, у пациентов, получающих лучевую терапию в онкологии, избыток серотонина, высвобожденного из энтерохромаффинных клеток, активирует рецептор подтипа 5-НТ₃ (мембранный рецептор 5-гидрокси-триптамина), расположенный на внешних нервах, что быстро приводит к тошноте и рвоте. Эти симптомы могут быть заблокированы при назначении антагонистов, таких как ондансетрон, который является

специфическим для 5-HT₃ рецепторов. Антагонист при этом не мешает другим серотонин-опосредованным функциям, таким как перистальтика, потому что они нуждаются в других подтипах 5-HT рецепторов.

Серотонинергические нейроны ЭНС достаточно быстро инактивируют биогенные амины. Процесс обратного захвата (reuptake) аналогичен описанному для ЦНС. При этом обратный захват серотонина может блокироваться как в ЭНС, так и в ЦНС антидепрессантами, такими как хлоропирамин, флуоксетин, пароксетин, сертралин, эсциталопрам, которые имеют родство к транспортному белку серотонина. При отсутствии обратного захвата серотонин продолжает выделяться в направлении соседних нервных клеток, которые по очереди возбуждаются. В конце концов, однако, происходит десенсibilизация, и этот процесс останавливается. В экспериментах на животных было показано, что введение низкой дозы флуоксетина ускоряло перистальтические движения кишки, в то время как в более высоких дозах рецепторы 5-HT становились десенсibilизированными, кишечная моторика замедлялась и в конце концов останавливалась.

Очевидно, что эти данные имеют большое значение для врачей, которые регулярно назначают лекарства для коррекции настроения пациентов. Поскольку нейротрансмиттеры и нейромодуляторы, присутствующие в мозге, почти всегда присутствуют в кишечнике, препараты, предназначенные для воздействия на центральные синапсы, скорее всего, будут иметь и кишечные эффекты. Известно, что в начале курса приема антидепрессантов около 25% пациентов сообщают о тошноте или диарее. При более высоких дозировках или большей продолжительности терапии серотониновые рецепторы становятся десенсibilизированными, и может возникнуть запор. Эти эффекты являются предсказуемыми последствиями блокады транспортных белков, и если их не предвидеть и не объяснить тщательно пациенту, то они могут снизить приверженность и эффективность лечения [68].

С другой стороны, те же лекарства могут быть выбором для пациентов с функциональным расстройством кишечника. Более того, поскольку ЭНС быстро реагирует на изменения в доступности серотонина, пациенты с функциональным расстройством кишечника часто отмечают положительный эффект при дозировках намного ниже тех, которые используются в терапии депрессивных состояний.

Ось «кишечник–центральная нервная система»

При условии, что блуждающий нерв (*nervus vagus*) не поврежден, постоянный поток нервных импульсов сообщает мозг и кишечник.

Мы все испытываем ситуации, в которых наш мозг может заставить наш кишечник работать не вполне ожидаемо. Но на самом деле сообщения, которые приходят в мозг из кишечника, превосходят по объему встречный трафик в соотношении девять к одному. Чувство сытости, тошноты, рвоты, боли в животе — все это способы предупредить мозг об опасности от проглоченной пищи или инфекционных патогенов. И если в норме мозг быстро реагирует в соответствии с поступающими сигналами, то сама ЭНС может вступать в действие при необходимости, например когда связь утрачена (вагусный нерв поврежден).

Естественно, баланс сил между этими двумя нервными системами (ЦНС и ЭНС) является темой значительного научного интереса, а полный механизм взаимодействия между двумя системами все еще не до конца ясен [68].

Ясно, что многое было установлено с тех пор, как ЭНС считалась всего лишь набором ретрансляционных ганглиев. Хотя мы до сих пор не можем полностью связать такие сложные процессы, как моторика кишечника и секреция с отдельными нейронами, научная работа в этой области очень активна. Наконец, кажется неизбежным, что фундаментальные знания об ЭНС будут сопровождаться соответствующими клиническими предложениями.

РЕСПИРАТОРНЫЙ МИКРОБИОМ

За последнее десятилетие мы стали свидетелями экспоненциального увеличения количества исследований, связанных с микробиомом человека, начиная с цифры в районе 300 в 2006 г. до почти 8000 опубликованных исследований в 2016 г. Разработка некультуральных методов идентификации микроорганизмов и снижение затрат на платформы секвенирования позволило интенсифицировать исследования в этой захватывающей области, получить практические выводы и расширить наше представление о многих заболеваниях человека [69].

Однако даже в описанном нами ранее проекте микробиома человека изучение микробного сообщества дыхательной системы осталось несколько в стороне от активных исследований. Это произошло частично из-за проблем в методологии сбора образцов материала из нижних ДП, но также потому, что легкие традиционно считались стерильной средой, свободной от микробов. Наиболее актуальные исследования, однако, показали, что нижние ДП содержат достаточно

плотное микробное сообщество, которое выявляется как у здоровых, так и у больных индивидуумов, что и привело к активизации ученых в контексте изучения микробиома легких человека [70, 71].

Характеристики микробиома дыхательных путей человека

С точки зрения экологии микробиома, дыхательная система человека — это последовательность ниш от ноздрей и рта к легким, в которых проживают различные бактериальные сообщества.

В 2010 г., в связи с широким внедрением некультуральных методов исследования микроорганизмов, произошла смена парадигмы «микробы — дыхательная система». Догма «здоровые легкие свободны от микробов» ушла в прошлое. На сегодняшний день постулаты знаний о респираторном микробиоме следующие:

- а) здоровые нижние ДП содержат бактерии, отличающиеся от бактерий верхних ДП;
- б) ДП пациентов с респираторными заболеваниями содержат микробные сообщества, отличающиеся от таковых у здоровых людей.

Большинство исследований микробиома основаны на определении последовательности гена, кодирующего 16S субъединицу рибосомальной РНК (16S рРНК) микроорганизмов. Этот ген повсеместно присутствует в бактериях, при этом отсутствуя у млекопитающих, и содержит гипервариабельные области, что позволяет идентифицировать различные бактерии.

В недавней публикации исследователи продемонстрировали потенциальные эффекты процесса колонизации плода микроорганизмами, начиная с эмбрионального периода [56], а также интенсификацию этого процесса заселения микробами сразу после рождения, в основном за счет материнских бактерий, среди которых преобладают представители влагилищной и кишечной микробиоты. Более того, мы уже ранее отмечали, что данный процесс заселения резко различается у детей, рожденных естественным путем и с помощью кесарева сечения [49–50].

Состав микробиома легких определяется балансом трех факторов: микробной иммиграции в ДП, элиминации микробов из дыхательных путей и состояния местного роста воспроизводства представителей микробного сообщества, определяемых местными условиями. Характеристики экологических ниш микробиома ДП представлены в табл. 2.

Таблица 2

Характеристика экологических ниш микробиома дыхательных путей

Уровень ДП	pH	Площадь, см ²	Влажность, %	Температура, °С	Плотность микробиома, ед. ⁻¹
Внешняя среда	–	–	45	23	10 ⁻¹
Полость носа	6,3	150	90	–	10 ³
Носоглотка	7,0	9	90	34	10 ³
Ротоглотка	7,2	8	90	–	10 ⁵
Легкие	7,5	7×10 ⁵	100	37	10 ²

Полость носа заселена относительно простым набором бактерий с небольшими различиями в составе между детьми и взрослыми. Представители *Corynebacterium*, *Propionibacterium* и *Staphylococcus spp.* являются первичными колонизаторами полости носа и сохраняют свое доминирование до взрослого возраста, когда к ним часто присоединяется род *Moraxella*. Профили микробиоты носа у детей сильно варьируют в зависимости от сезона, причем осенью/зимой часто преобладают *Proteobacteria* и *Fusobacteria*.

Микробиом носоглотки — динамичная экосистема, претерпевающая изменения и дифференцировку в процессе взросления, что может продолжаться до 2 лет, резко отличаясь от микробиома взрослых. Первоначально носоглотка заселяется представителями *Corynebacterium* и *Staphylococcus spp.*, а впоследствии дополняется родом грамположительных бактерий *Dolosigranulum* (в особенности у детей на грудном вскармливании), родами *Alloiococcus* и *Moraxella*. У взрослых же разнообразие видов микробиома носоглотки обычно снижается, и *Corynebacterium* становится обычно доминирующим родом.

Ротоглотка является анатомическим барьером между ДП и ЖКТ, что приводит к наличию в ней наиболее вариабельной бактериальной экосистемы. В ротоглотке у здоровых взрослых описаны: *Streptococcus spp.* (в том числе *S. pneumoniae* и *S. pyogenes*), *Haemophilus spp.*, *Neisseria spp.*, *Prevotella spp.*, *Veillonella spp.* и *Leptotrichia spp.*

Состав микробиома *нижних ДП* у здоровых взрослых значительно коррелирует с аналогичным составом верхних ДП, особенно ротоглотки, но отличается гораздо более низкой плотностью бактерий.

Плотность бактерий меняется от 10^5 бактерий на 1 мл в ротоглотке до 10^1 – 10^2 бактерий в 1 мл бронхоальвеолярного лаважа. У детей, однако, дополнительно к снижению плотности отмечался больший вклад бактерий микробиома носоглотки в композицию микробиома легких.

Верхние ДП — экологическая ниша для патобионтов: *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *S. aureus*. До 93% детей до 2 лет колонизированы одним из патобионтов на уровне верхних ДП даже при оценке «классическими» культуральными методами. Таким образом, это фактически резидентные участники микробиома верхних ДП. Двойственная роль патобионтов в развитии респираторных заболеваний заключается в следующем:

- с одной стороны, колонизация патобионтом — фактор риска инфекции;
- с другой стороны, колонизация патобионтами необязательно приводит к инфекции, и даже предполагается, что она обеспечивает устойчивость к приобретению новых патогенных штаммов.

Показано, что у *пациентов с пневмонией* отмечается более высокая плотность бактерий в нижних ДП в сочетании с меньшим разнообразием и равномерностью распределения видов. Как правило, резко доминирует один таксон с наибольшей частотой доминирования: *Streptococcus spp.*, *Haemophilus spp.* или *Moraxella spp.*

У пациентов с более высоким содержанием в микробиоме кишечника бактерий, продуцирующих бутират (ингибиторная КЦЖК), снижен риск развития *вирусных инфекций нижних ДП*.

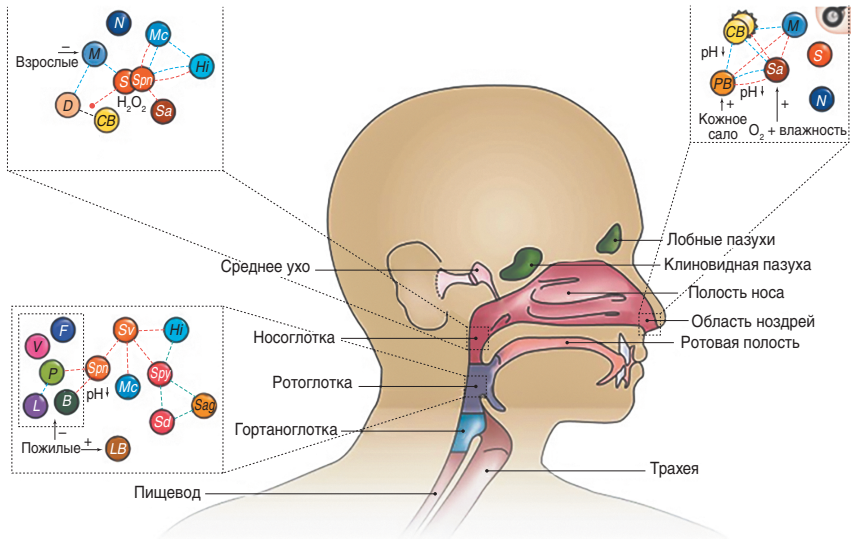
Подобно тому, как это происходит с микробиомом кишечника и кожи, ранняя колонизация микробами верхних ДП ребенка играет важную роль в созревании иммунной системы и калибровке иммунного ответа, что было отражено в исследованиях, где у стерильных мышей наблюдались высокий уровень эозинофилии в ДП и накопление инвариантных НК-клеток (натуральных киллеров), что не встречалось у колонизированных микробами мышей [289–291]. Стоит вспомнить, что инвариантные естественные киллеры (iNKT), также известные как классические НКТ-клетки, или НКТ I типа — это популяция Т-лимфоцитов, которые экспрессируют инвариантный $\alpha\beta$ Т-клеточный рецептор и определенные молекулы, общие с НК-клетками. Хотя iNKT редко встречаются в периферической крови, составляя всего 0,01–1% мононуклеарных клеток крови, они

являются важными иммунорегулирующими элементами, производящими большие количества цитокинов, влияющих на все остальные клетки иммунной системы.

Перейдем в микробиому нижних ДП. Опубликованные исследования показали, что состав микробиома нижних ДП у здоровых взрослых значительно коррелирует с аналогичным составом верхних ДП, особенно ротоглотки, но отличается гораздо более низкой плотностью бактерий. Плотность бактерий меняется от 10^5 бактерий на мл в носоглотке до 10^1 – 10^2 бактерий в мл бронхоальвеолярного лаважа [72]. У детей, однако, дополнительно к снижению плотности отмечался больший вклад бактерий микробиома носоглотки в композицию микробиома легких [72]. Интересные данные были опубликованы о наличии двух разных пневмотипов на основе образцов бронхоальвеолярного лаважа: первый пневмотип, обогащенный бактериями из верхних ДП и встречающийся у 45% участников исследования, и второй пневмотип из фоновых бактерий [71–72]. Первый пневмотип был ассоциирован с субклиническим воспалительным процессом в легких, с повышенным ответом Т-хелперов-17, и может быть полезен для хозяина, что основано на экспериментах с животными моделями пневмонии, вызванной *Staphylococcus aureus* [71–72].

Антагонистические и мутуалистические взаимоотношения в составе респираторного микробиома представляют собой следующие взаимосвязи (рис. 13):

- а) *S. viridans* versus *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis* и *H. influenzae*;
- б) в микробиоме с высокой плотностью *Corynebacterium* и *Dolosigranulum spp.* отсутствуют *H. influenzae* и *S. pneumoniae*, что можно оценивать как устойчивость к колонизации патобионтами;
- в) строгая видоспецифичность мутуализма: *Corynebacterium accolens* и *S. aureus* взаимно индуцируют друг друга;
- г) антагонистические отношения между *S. aureus* и *S. pneumoniae*;
- д) колонизация *S. aureus* сдерживается активностью сериновой протеазы *S. epidermidis* и продукцией лугдунина *Staphylococcus lugdunensis* (природный антибиотик) [72–73].



Примечание. *Firmicutes*: красные/коричневые, *Actinobacteria*: желтые, Bacteroidetes: зеленые, *Proteobacteria*: синие и *Fusobacteria*: фиолетовые. Пунктирные синие и красные линии соответственно представляют положительные и отрицательные ассоциации.

Sv: *Streptococcus spp.*; Spn: *S. pneumoniae*; Sv: *S. salivarius*; Spy: *S. pyogenes*; Sd: *S. dysgalactiae*; Sag: *S. agalactiae*; Sa: *S. aureus*; V: *Veillonella spp.*; D: *Dolosigranulum spp.*; LB: *Lactobacillus spp.*; CB: *Corynebacterium spp.*; PB: *Propionibacterium spp.*; B: *Bacteroidetes*; P: *Prevotella spp.*; M: *Moraxella spp.*; Mc: *M. catarrhalis*; Hi: *H. influenzae*; N: *Neisseria spp.*; L: *Leptotrichia spp.* и F: *Fusobacterium spp.*

Рис. 13. Антагонистические и мутуалистические взаимоотношения бактерий в респираторном микробиоме (схема) (по данным de Steenhuijsen Piters W.A. и соавт. [71])

Итак, состав микробного сообщества в ДП в раннем детстве связан с последствиями для здоровья ДП в более позднем возрасте. Понимание процессов, которые приводят к нарушениям респираторного микробиома и, как следствие, к повышенной восприимчивости и тяжелому течению заболеваний органов дыхания, будет способствовать разработке новых терапевтических средств. До этого момента имеющиеся данные могли бы помочь нам стратифицировать потенциальные вмешательства, то есть нацелить наши действия на людей с более высоким риском респираторных заболеваний на ранних стадиях.

МИКРОБИОМ ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

Известно, что характеристики микробиома влагалища во многом определяют женское репродуктивное здоровье. При этом эмпирическое понимание этого имелось у практикующих врачей еще до появления адекватных методов исследования, в том числе молекулярно-генетических. И сегодня оценка микробиоты как в физиологии женщин, так и при патологических состояниях открывает внушительные перспективы для новых методов лечения и профилактики [74].

В течение многих лет активных исследований с помощью традиционных микробиологических методов, а именно культивирования на питательных средах и микроскопии, изучали микробиоту влагалища. На основе этих ранних работ состав микробиоты оценивали как «здоровый», когда в нем преобладали перекись-продуцирующие *Lactobacillus spp.*, и среди них с наибольшим вкладом *Lactobacillus crispatus* или комплекса *Lactobacillus acidophilus*. Внедрение молекулярно-генетических методов исследования за последнее десятилетие значительно углубило понимание структуры и вариаций микробиоты влагалища в норме и при патологии. Теперь ясно, что разнообразие бактериальных видов в ее составе намного сложнее, чем признавали в более ранних публикациях [74]. Среди функций микробиома влагалища достаточно давно известно поддержание низкого значения рН среды в районе 3,8–4,4, в том числе за счет выработки КЦЖК, которые покрывают слизистую оболочку влагалища практически сплошным слоем и препятствуют колонизации патогенами. Липотейхоевая кислота обеспечивает высокую адгезивную способность лактобактерий, пептидогликан клеточной стенки обладает иммуностимулирующими свойствами, а выработка лизоцима, ряда бактериоцинов и стимуляция фагоцитарной активности и образования интерферона завершает комплекс защитных свойств лактобактерий. При этом выработка перекиси водорода долгое время считалась одним из основных конкурентных механизмов противодействия другим микроорганизмам во влагалище. Стоит однако отметить, что бактерицидное действие лактобактерий микробиоты на другие бактерии связано преимущественно с молочной кислотой [75]. Устойчивость к колонизации патогенами определяется для лактобактерий как эстрогензависимая адгезия на влагалищном эпителии, в том числе с формированием биопленок (рис. 14).

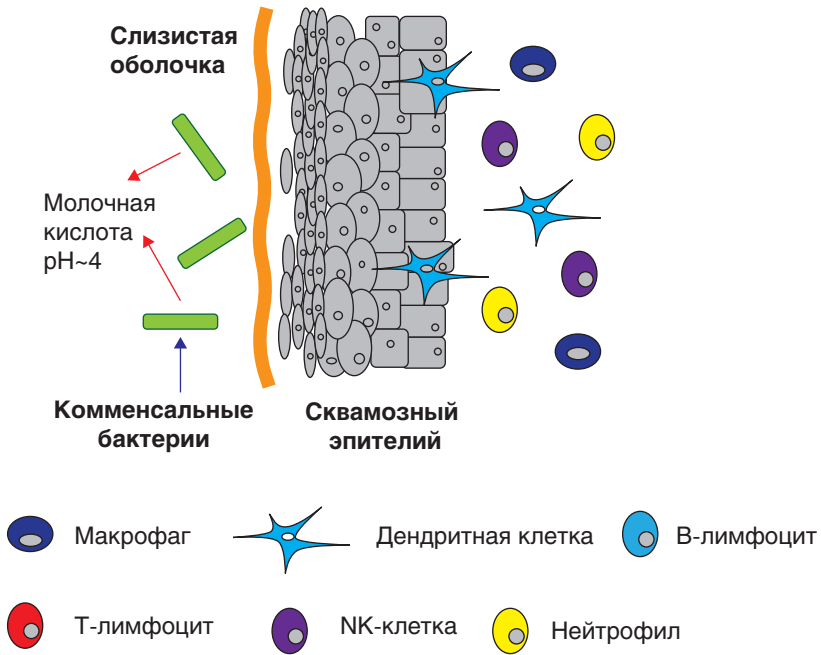


Рис. 14. Колонизационная устойчивость женских нижних половых путей (адаптировано автором из Hickey D.K. и соавт. [76])

Установлено, что микробиота влагалища в норме весьма индивидуальна и определяется рядом внешних и внутренних факторов женщины, в том числе этнической принадлежностью, возрастом, фазой менструального цикла, характером питания, образа жизни, особенностями гигиены и половой жизни, беременностью и сроком гестации. Известно, что влагалище женщин в репродуктивном возрасте заселено в основном лактобактериями, при этом определено их более 20 видов, но у основной массы женщин отмечается доминирование одного вида лактобактерий, и лишь у 8%, по данным R.F. Lamont и соавт., регистрируется большее разнообразие видов этих микроорганизмов [77].

Ведущая исследовательская группа из Хьюстона (США) и ряд других ученых доказали, что состав влагалищного микробиома индивидуально варьирует во время беременности [78–80], что способно влиять на плод и течение беременности. Достаточно давно было высказано

предположение о том, что внутриутробные инфекции, такие как хориоамнионит, являются следствием восхождения микробиоты из урогенитального тракта [81], а развитие опасных для новорожденного состояний, таких как неонатальный сепсис и некротизирующий энтероколит, ассоциировано с перемещением бактериальной флоры матери к новорожденному [82, 83]. Однако в наступающую эпоху микробиом-ассоциированной медицины эти догмы ставятся под сомнение, и начинают понимать, что многие так называемые «стерильные» ниши, особенно в женской репродуктивной системе (например, плацента), могут являться и в норме низкоактивными экологическими нишами для микроорганизмов, которые несут на себе ряд важных для человека функций [78].

Поразительно, что, например, доминирование лактобацилл в составе микробиома влагалища уникально для людей: в то время как относительное количество лактобактерий во влагалище у женщин обычно составляет >70%, у других млекопитающих лактобациллы редко составляют более 1% влагалищного микробиома [84]. Было предложено несколько гипотез, объясняющих такой уникальный влагалищный микробиом человека, включая его роль в репродуктивной физиологии, высокий риск развития заболеваний, передающихся половым путем, и высокий риск возникновения инфекционных осложнений, связанных с беременностью и родами.

В процессе исследования динамики состава микробиома влагалища во время нормально протекающей беременности исследователи из Великобритании показали, что к шестой неделе после родоразрешения доминирование *Lactobacillus spp.* снижалось, а разнообразие других видов микроорганизмов увеличивалось [85]. При дальнейшем изучении влагалищного микробиома у небеременных здоровых женщин репродуктивного возраста исследователи выделили пять бактериальных типов пейзажа микробиома [86] (рис. 15). Четыре из них характеризуются доминированием видов *Lactobacillus spp.*, включая *L. crispatus* (тип I), *L. gasseri* (тип II), *L. iners* (тип III) и *L. jensenii* (тип V). В IV типе влагалищного микробиома отмечена низкая относительная плотность *Lactobacillus spp.*, при этом выявлено высокое разнообразие видов анаэробных бактерий: *Prevotella*, *Dialister*, *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis*, *Megasphaera*, *Peptoniphilus*, *Sneathia*, *Finnegoldia*, и *Mobiluncus* (рис. 16). Последние из обозначенных видов микроорганизмов часто ассоциированы с клиническими симптомами бактериального вагиноза (БВ) — состояния с наличием неприятного

запаха и влагалищного отделяемого у женщин, что к тому же было связано с риском развития преждевременных родов [87, 88] и гистологически подтвержденного хориоамнионита [89, 90]. Исследования, проведенные в США, показали, что в микробиоме влагалища у женщин азиатского происхождения и женщин европеоидной расы чаще преобладали *Lactobacillus spp.* (типы I, II, III и V), тогда как среди темнокожих и латиноамериканских женщин чаще встречали высокообразный микробиом (тип IV), что связывают с генетическими различиями женщин, влияющими на его состав [86, 91]. Интересно также то, что отмечено незначительное повышение уровня pH влагалища у женщин латиноамериканского происхождения и темнокожих в сравнении с европейской и азиатской группами, что, однако, не вкладывается в идею о том, что pH влагалища здоровой женщины должно быть менее 4,5; вероятно, все-таки границы этого показателя более широкие в отдельных популяциях.

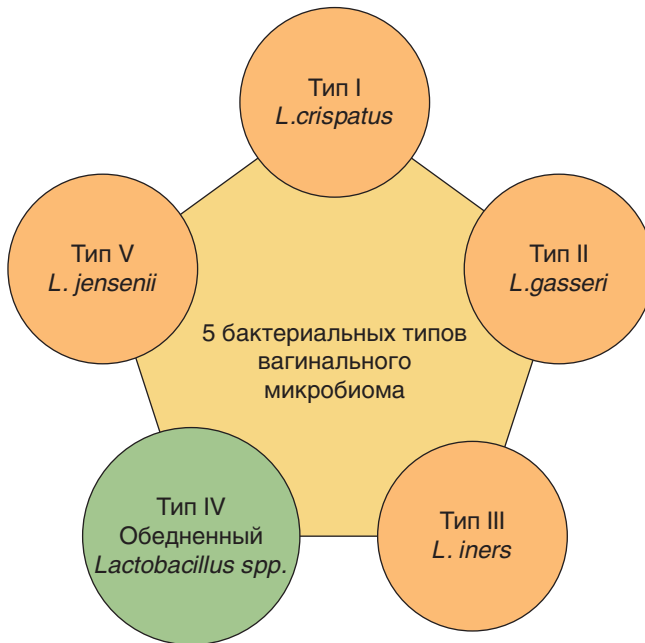


Рис. 15. Бактериальные типы вагинального микробиома у женщин репродуктивного возраста

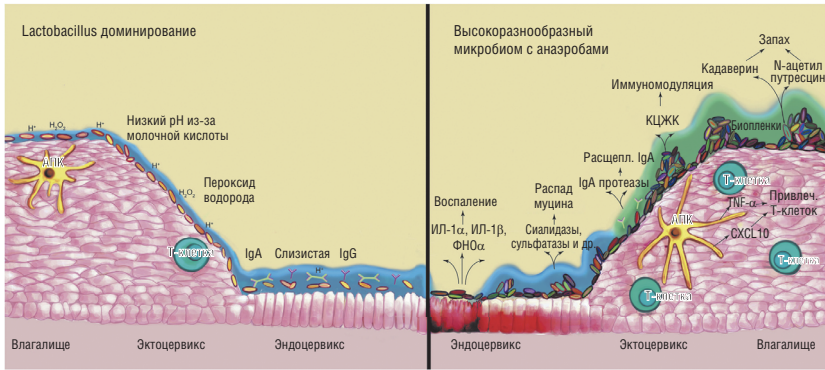


Рис. 16. Эффекты бактериальных типов пейзажа микробиома влагалища: слева — доминирование *Lactobacillus spp.*, справа — высокоразнообразный влагалищный микробиом с анаэробами (тип IV) (адаптировано автором из Anahtar M.N. и соавт. [92])

III бактериальный тип представляет интерес по причине наличия в нем доминирования вида *L. iners*, касательно которого имеются весьма дискуссионные научные данные. Известно, что *L. iners* не продуцирует перексид водорода, а также способен адаптироваться к повышенным значениям pH влагалищной среды [93]. И это тот пример, когда при микроскопии мазка влагалищного отделяемого нахождения лактобактерий без их типирования может быть недостаточно для клинических выводов о нормальном микробиоме влагалища. Более того, были описаны факторы патогенности *L. iners*, а именно тиолзависимый гемолизин (инеролизин), а за последние годы появились клинические данные об ассоциации данной лактобактерии с преждевременными родами и преждевременным разрывом плодных оболочек [94, 95]. Известно, что *Lactobacillus iners* по своему геному значительно отличается от других лактобактерий, а продуцируемый им инеролизин, цитотоксин, подобен аналогичному у *Gardnerella vaginalis* (вагинолизину) [96]. Таким образом, считается, что вид *L. iners* не способен адекватно защищать среду влагалища от колонизации потенциальными патогенами.

Возвращаясь к теме нормальной влагалищной микробиоты у женщин, стоит обратить внимание на естественную динамику снижения микробного разнообразия в течение беременности с резким его нарастанием после родов (рис. 17), что требует более детальной клинической оценки.

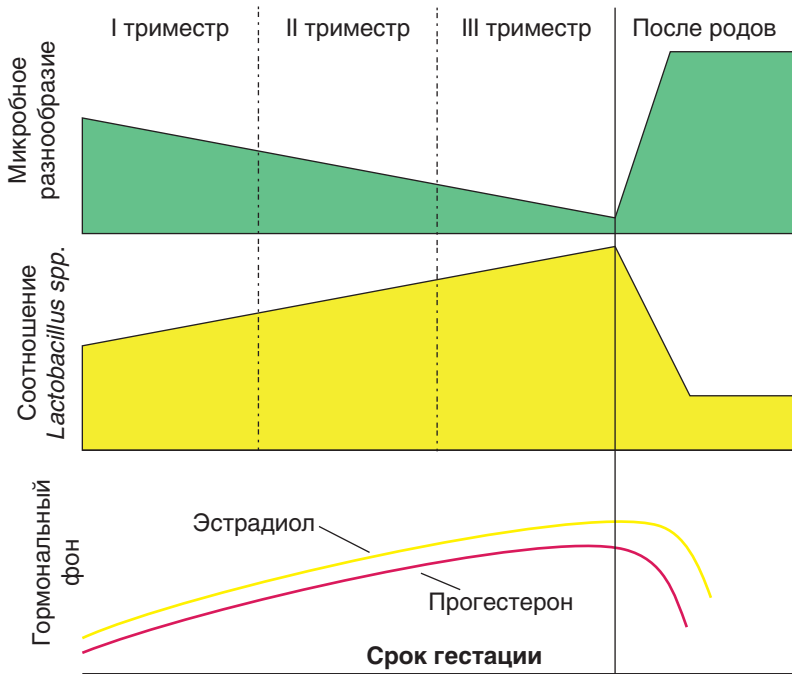


Рис. 17. Динамика уровня разнообразия микробиоты влагалища (схематично) в течение беременности и после родов

Из рис. 17 видно, что микробиота влагалища у женщин уменьшается в разнообразии во время беременности, часто с увеличением относительной численности *Lactobacillus spp.* В послеродовом периоде у женщин отмечена фаза резкого увеличения разнообразия влагалищного микробиома и уменьшения относительной плотности *Lactobacillus spp.* Особенный интерес представляет факт, что обозначенные ранее различия этнического характера в составе влагалищной микробиоты вне беременности отсутствовали в период беременности, что говорит о значимости доминирования лактобактерий во влагалище во время беременности вне зависимости от других индивидуальных факторов женщины [80].

Среди интересных работ, связывающих вагинальный и кишечный микробиом, опубликованы данные о микробиоте искусственно сформированного неовлагалища у транссексуалов, где чаще определялись *L. gasseri* и *L. crispatus*. При отсутствии специфической

клеточной составляющей слизистой оболочки сформированного влагалища источником лактобактерий в этих случаях предполагался кишечный микробиом [97].

Показана возможность использования масс-спектрометрии для оценки микробиоты влагалища, обозначенным методом идентифицировано более 15 видов лактобактерий, и среди них три вида — *L. crispatus*, *L. jensenii* и *L. gasseri* — были доминирующими. При этом анализ видового состава влагалищных лактобактерий, выделенных у беременных с абсолютным нормоценозом, стал основой для вывода о том, что доминирование вида *Lactobacillus crispatus* является показателем стабильности нормы микробиоты влагалища. Авторы этого исследования также опровергли представление о ведущей роли вида *L. acidophilus* в микроэкологии влагалищных лактобактерий [98]. Другое независимое исследование подтверждает, что *L. crispatus* является доминирующим видом вагинального биотопа здоровых женщин, а при дисбиозах часто определяются виды *L. gasseri* и *L. iners* [99].

Среди моделей устойчивости к колонизации патогенами в последнее время активно изучается опосредованная лактобактериями устойчивость к хламидийным инфекциям, а именно к инфекции, вызываемой *Chlamydia trachomatis*. Считается, что понимание теоретических основ барьерной защиты нормальной микробиоты может стать базой для обоснования новых методов профилактики инфекций, передаваемых половым путем. По данным экспериментального клеточного 3D-моделирования V.L. Edwards и соавт., лактобактерии, которые специфически продуцируют D(–) стереоизомер молочной кислоты, ассоциированы с долговременной защитой от инфекции *C. trachomatis*. При этом снижение защитного эффекта показано для *L. iners*, которая не продуцирует этот стереоизомер и ассоциирована со сниженной пролиферацией эпителиальных клеток в экспериментальной модели [100].

Таким образом, можно констатировать, что современные представления о роли комменсалов в акушерской и гинекологической патологии более сложные, чем 10 лет назад. Влагалищный микробиом значительно варьирует у женщин на протяжении всей жизни и ассоциирован с рядом состояний. Даже считавшиеся ранее стерильными органы женской репродуктивной системы содержат определенные количества бактерий, формирующих микробиом. Влияние применения антибактериальных препаратов на микробиом женщины еще предстоит более точно охарактеризовать, а системный анализ микробиома в аспекте репродуктивного здоровья, несомненно, прольет свет на наиболее значимые и запутанные нарушения этой сферы. Эта сложная область

исследований, в сочетании с метагеномными технологиями, в будущем позволит ученым-репродуктологам разгадать тайны не только здоровья и болезней, но и, возможно, коэволюции микробов и людей.

Важно заметить, что методы диагностики, применяемые для оценки микробных сообществ влагалища, все еще являются весьма трудоемкими и требуют наличия высококвалифицированных лабораторий. В связи с этим необходимо внедрение быстрых, портативных, работающих в режиме реального времени, желателен недорогих инструментов оценки микробиоты, предпочтительно локализованных в месте оказания медицинской помощи. Наиболее близки к этому технологии новых поколений биосенсоров и лабораторий на чипе (микросистемы полного анализа) [101–104]. Биосенсор представляет собой аналитическое устройство, которое содержит биораспознающий компонент для отделения биомаркера и физико-химический преобразователь для превращения биологического сигнала в удобную для анализа форму. Благодаря возможности интеграции различных методов исследования, таких как микрогидродинамика (микрофлюидика), биосенсирование, электроника и прочее, на одном чипе, такие платформы могут быть использованы для полного анализа различных заболеваний, связанных с микробиотой влагалища, а также инфекций в акушерстве и гинекологии [33, 104, 105].

МИКРОБИОМ КОЖИ

Структурно кожа состоит из отдельных слоев: эпидермиса, дермы и подкожно-жировой клетчатки. Наружный слой (эпидермис) состоит из слоев дифференцированных кератиноцитов. Верхний, или роговой, слой состоит из окончательно дифференцированных энуклеированных кератиноцитов, которые сшиты химически для формирования защитного барьера кожи (рис. 18). Различные участки тела человека характеризуется разнообразной микроэкологией, которая зависит от воздействия ультрафиолетового света, pH, температуры, влажности, содержания кожного сала и расположения. На основании этих характеристик участки кожи могут быть сгруппированы в более общие категории: сальные (лицо, грудь и спина); влажные (локтевой сгиб, задняя часть колена и паховая область) и сухие (предплечье и ладонь) [106]. Считается, что микробные сообщества кожи у взрослых в основном стабильны во времени, несмотря на постоянные изменения в окружающей среде. У новорожденных же первичная колонизация кожи зависит от типа родоразрешения: дети, рожденные *per vias naturales*,

приобретают бактерии, которые колонизируют влагалище матери, тогда как новорожденные, рожденные посредством кесарева сечения, приобретают микроорганизмы кожного микробиома матери [49]. Относительная плотность микроорганизмов кожи меняется в период полового созревания, когда повышенный уровень гормонов стимулирует функцию сальных желез. Таким образом, среда кожи в постпубертате способствует размножению липофильных микроорганизмов, таких как бактерии *Propionibacterium spp.* и *Corynebacterium spp.* и грибы *Malassezia spp.* В противоположность этому у детей до полового созревания на коже больше распространены *Firmicutes (Streptococcaceae spp.)*, *Bacteroidetes spp.* и *Proteobacteria spp.* [107]. Описанная возрастная динамика микробиома кожи клинически значима, так как многие кожные заболевания имеют возрастные пики распространенности. Например, случаи стафилококкового атопического дерматита снижаются у детей к возрасту половой зрелости, тогда как разноцветный лишай, ассоциированный с видами *Malassezia spp.*, чаще встречается у взрослых.

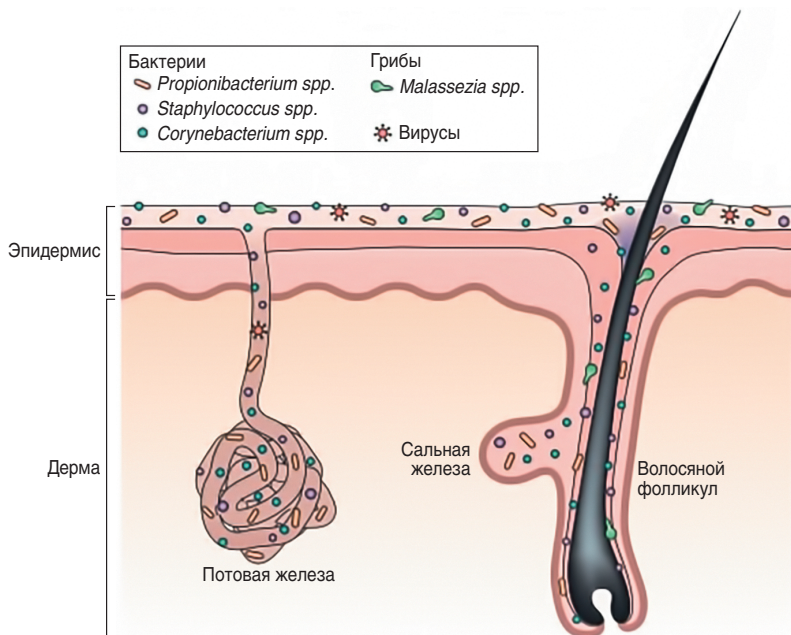


Рис. 18. Распределение представителей микробиома кожи (адаптировано автором из Byrd A.L. и соавт. [22])

На микроэкологию участков кожи влияют функции потовых желез, волосяных фолликулов и сальных желез. Потовые железы, необходимые для терморегуляции, также подкисляют рН кожи, создавая условия, неблагоприятные для роста и колонизации определенных микроорганизмов. Кроме того, пот содержит антимикробные вещества, такие как свободные жирные кислоты и пептиды, которые снижают уровень микробной колонизации [108]. Связанные с волосяными фолликулами сальные железы выделяют богатое липидами кожное сало — гидрофобное покрытие, которое смазывает и обеспечивает антибактериальный щит для волос и кожи. По сравнению с более богатой питательной средой ЖКТ, в микробиоме кожи не хватает многих питательных веществ. Чтобы выжить в такой прохладной, закисленной и сухой микроэкологии, микробиота кожи приспособилась использовать энергетические ресурсы, которые присутствуют в поте, кожном сале и роговом слое эпидермиса. Например, факультативный анаэроб *P. acnes* питается в сальной железе с помощью протеаз, высвобождающих аминокислоту аргинин из белков кожи, и липаз, расщепляющих триглицериды кожного сала; при этом высвобождаются свободные жирные кислоты, способствующие росту и адгезии бактерий [109]. Известно, что уровни кожного сала в коже лица положительно коррелируют с плотностью *Propionibacterium spp.* [110]. Интересно, что у других млекопитающих, таких как мыши, крысы и собаки, у которых в коже вырабатывается гораздо меньше кожного сала, *P. acnes* обнаруживается в более низкой плотности [111]. Другим примером адаптации к микроэкологии кожной среды являются представители грибов *Malassezia spp.* В соответствии с недостатком углеводов и избытком липидов на коже грибы *Malassezia spp.* отличаются избытком генов липазы и снижением количества генов метаболизма углеводов по сравнению с геномами других секвенированных грибов. Таким образом, биохимия может объяснить, почему виды *Malassezia spp.* преобладают в микробиоме кожи взрослого человека [112]. И наконец, стафилококки выработали множество стратегий выживания на коже человека, в том числе способность выдерживать высокое содержание соли в поте и использовать мочевины, которая присутствует в поте, в качестве необходимого источника азота. В дополнение, адгезивные вещества стафилококков способствуют прикреплению к коже, а протеазы высвобождают для них питательные вещества из рогового слоя эпидермиса.

В зависимости от метода, используемого для отбора образцов микробиома кожи (мазок, биопсия, поверхностный соскоб или скотч-тейп),

определяются те группы микроорганизмов, которые находятся на разной глубине слоев кожи [113]. Хотя большинство основных таксономических уровней бактерий идентифицируются одинаково независимо от метода отбора образцов, все же отдельные микроорганизмы отличаются на поверхности кожи и в более глубоких слоях [114]. В целом в большинстве исследований используются методы оценки микроорганизмов в пределах рогового слоя эпидермиса. Стоит отметить, что для качественной оценки микробиома кожи важно использовать данные, полученные одним методом отбора образцов, то есть на одной глубине кожи.

В сальных участках кожи преобладают липофильные виды *Propionibacterium spp.*, тогда как бактерии, которые доминируют во влажных участках, относятся к *Staphylococcus spp.* и *Corynebacterium spp.*. Считается, что по плотности бактериальный микробиом кожи превышает аналогичный грибковый компонент (рис. 19).

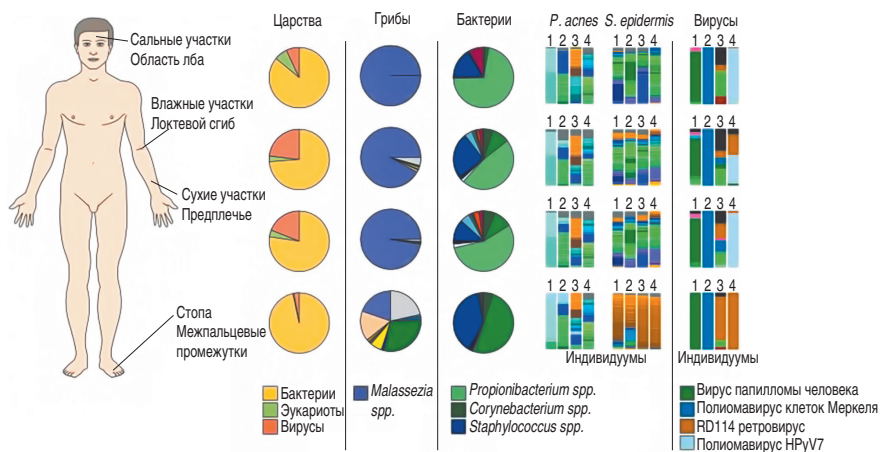


Рис. 19. Структура микробиома, микобиома и вирома кожи по данным полногеномного секвенирования в различных микрoэкологических участках (адаптировано автором из Byrd A.L. и соавт. [22])

В отличие от бактерий, состав грибковых сообществ, как правило, одинаков на различных участках кожи. Представители рода *Malassezia* преобладают в центральных участках тела и на руках, тогда как стопы колонизированы более разнообразной комбинацией видов *Malassezia spp.*, *Aspergillus spp.*, *Cryptococcus spp.*, *Rhodotorula spp.*, *Epicoccum spp.* и др. [115].

Если говорить о вируме кожи, то имеются данные, что колонизация эукариотическими ДНК-вирусами весьма специфическая для каждого индивидуума и не зависит от анатомического участка. Поскольку ни один маркерный ген не является универсальным (общим) для вирусов, разнообразие вирома может быть выявлено только с помощью изучения очищенных вирусоподобных частиц или полногеномного секвенирования. Имеется еще одна сложность изучения вирома — РНК-вирусы могут быть изучены только с помощью РНК-секвенирования. На сегодняшний день нет данных об общих закономерностях вирома кожи индивидуумов, кроме наличия широко распространенных бактериофагов к *Propionibacterium spp.* и *Staphylococcus spp.* [116, 117].

Известно, что, например, *S. aureus* колонизирует кожу носа и слизистой оболочки ноздрей примерно 1/3 населения, а также показано, что его присутствие является фактором риска для последующей инфекции у отдельных категорий пациентов [118]. По некоторым данным, при инфекциях более 80% изолятов золотистого стафилококка из кровотока соответствуют идентифицированным в носу у пациента [119]. Поскольку *S. aureus* часто отличается устойчивостью к антибиотикам, а разработанные вакцины не показали свою эффективность, альтернативные стратегии подавления золотистого стафилококка, в частности с применением комменсальных микроорганизмов, являются перспективной областью медицины [120–122]. В исследовании A. Zippeger и соавт. было выявлено, что *Staphylococcus lugdunensis* ингибировал рост *S. aureus* за счет продукции природного антибиотика лугдунина, циклического пептида. И даже после нескольких поколений *S. aureus* не развивал устойчивость к антимикробному действию лугдунина [123]. Это резко контрастирует с традиционными антибиотиками, против которых организмы быстро развивают устойчивость, и подчеркивает, что новые препараты естественного микробного происхождения могут быть более эффективным средством для ингибирования оппортунистических патогенов. В другом исследовании коагулазонегативные стафилококки, *S. epidermidis* и *S. hominis*, продуцировали новые l-антибиотики, которые совместно с эндогенным антимикробным пептидом (кателицидин LL-37) ингибировали рост *S. aureus* [124]. Также было обнаружено, что некоторые виды *Propionibacterium spp.* могут вызывать агрегацию микробных клеток *S. aureus* и образование биопленки, что зависит от фазы роста бактерий и pH среды [125]. В экспериментах *in vitro* *S. aureus* менял свои свойства от вирулентного до комменсального при воздействии ком-

менсальной бактерии *Corynebacterium striatum* [126] . Эта уникальная способность изменять свойства бактерий, не уничтожая их, открывает терапевтическую возможность модулировать их поведение в пользу человека (рис. 20)!

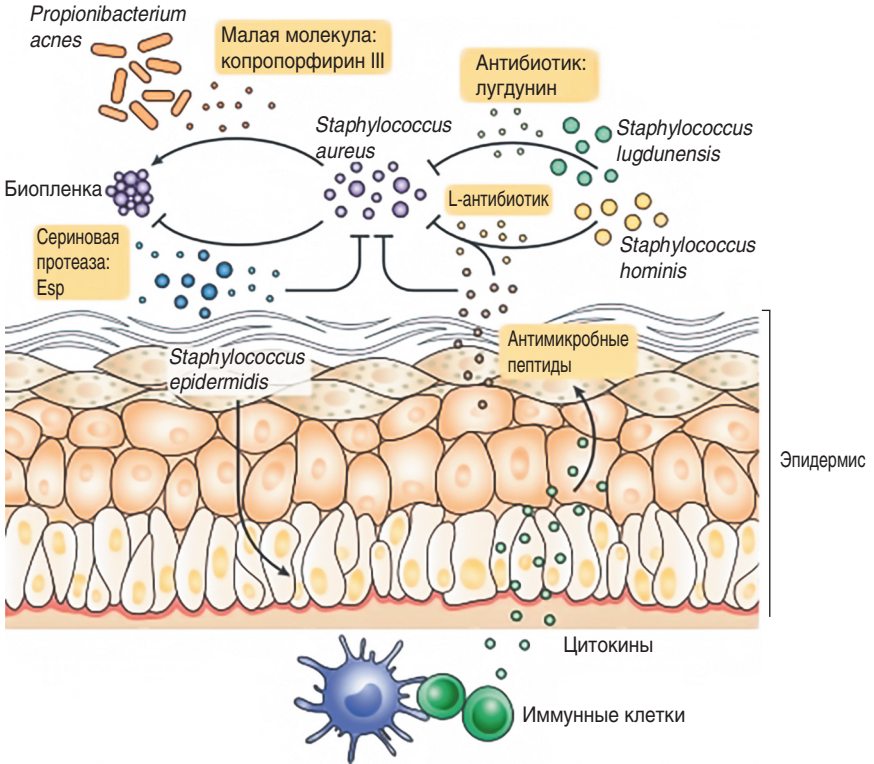


Рис. 20. Взаимодействия *S. aureus* и комменсальных микроорганизмов в рамках кожного микробиома (адаптировано автором из Byrd A.L. и соавт. [22])