



Кишечный микробиом как индикатор патологических процессов в организме человека

Анастасия Сидоренко,
завлабораторией «Коллекция микроорганизмов»
Института микробиологии НАН Беларуси,
кандидат биологических наук, доцент

Екатерина Охремчук,
научный сотрудник лаборатории «Центр
аналитических и гено-инженерных
исследований» Института микробиологии
НАН Беларуси, магистр

Леонид Валентович,
завлабораторией «Центр аналитических
и гено-инженерных исследований»
Института микробиологии НАН Беларуси,
кандидат биологических наук, доцент

Екатерина Скоповец,
младший научный сотрудник лаборатории
молекулярно-генетических исследований РНПЦ
детской онкологии, гематологии и иммунологии,
магистр

Наталья Кирсанова,
врач-гематолог отделения трансплантации РНПЦ
детской онкологии, гематологии и иммунологии,
кандидат медицинских наук

В последние десятилетия исследование микробиоты кишечника человека стало одним из приоритетных направлений биологии и медицины. Человек начал рассматриваться как «суперорганизм», в котором микробная составляющая преобладает над человеческой, а микробиота – как особый «экстракорпоральный орган», выполняющий широкий спектр жизненно важных локальных и системных функций. Оставаясь невидимым, этот «орган» весит около 2–3 кг и насчитывает порядка 10^{14} клеток микроорганизмов, что примерно равно количеству собственных клеток в организме человека. Количество микробных генов в 150–360 раз превышает количество генов человеческого генома [1].

Таксономический состав микробиоты крайне разнообразен. В организме человека обитает более 10 тыс. видов микроорганизмов, включая бактерии, археи, грибы и простейшие. Только в кишечнике обнаруживается свыше 500 видов бак-

терий, среди которых доминируют *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, составляющие около 95% бактериального компонента микробиоты. Отдел *Firmicutes* включает более 200 родов бактерий, среди которых численно преобладают *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus* и *Ruminococcus*. Доминирующими представителями отдела *Bacteroidetes* являются роды *Bacteroides* и *Prevotella*, отдела *Actinobacteria* – род *Bifidobacterium* [2]. Археи представлены преимущественно продуцентами метана (метаногенные археи), относящимися к порядкам *Methanobacteriales* и *Methanomassiliococcales* (включает семейство *Methanomethylophilaceae*) [3]. Не менее важные, хотя пока еще слабо изученные «обитатели» кишечника – вирусы. Виром, на долю которого приходится около 5% суммарного кишечного метагенома, включает вирусы бактерий, архей, грибов, простейших, человека, а также поступающие с пищей [4].

В зависимости от локализации микроорганизмов – в просвете кишечника или пристеночной слизи – выделяют полостную и пристеночную (мукозную) микробиоту. Эти микробные популяции различаются между собой (например, бактерии рода *Bacteroides* содержат преимущественно в просвете кишечника, а кластер *Clostridium XIVa* – в пристеночном слое слизи), однако тесно взаимосвязаны: между ними происходит постоянный обмен микроорганизмами, в результате чего формируется индивидуальный вариант микробиоты. Имеются сведения, что бактерии, присутствующие в слизи, по-разному пролиферируют и используют ресурсы по сравнению с теми же видами, обитающими в просвете кишечника [5].

Микробиота играет важную роль в поддержании здоровья человека: обеспечивает колонизационную резистентность кишечника; участвует в расщеплении компонентов пищи, не перевариваемых организмом хозяина (например, сложных углеводов); продуцирует биологически активные соединения (витамины, гормоны, короткоцепочечные жирные кислоты и др.); оказывает иммуномодулирующее действие [6]. В процессе длительной коэволюции человека и микроорганизмов сформировались механизмы поддержания качественного и количественного состава микробиоты на уровне, наиболее благоприятном для совместного существования. Если равновесие «хозяин – микробиота» по каким-либо причинам нарушается, могут развиваться патологические состояния как в пищеваритель-

ном тракте (язвенный колит, кишечные инфекции и др.), так и в иных системах организма (ожирение, аллергии, иммунные расстройства) [7].

Один из ключевых факторов возникновения воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) – снижение количества облигатно анаэробных бактерий *Faecalibacterium prausnitzii* [8]. Они продуцируют бутират, который играет важную роль в обеспечении колоноцитов энергией, поддержании барьерной функции кишечного эпителия, подавлении синтеза провоспалительных цитокинов. У пациентов с ВЗК существенно снижается количество представителей отдела *Firmicutes*, в первую очередь родов *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Lachnospira*, *Roseburia*, *Eubacterium*, *Coprococcus*, *Dorea*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Anaerofilum*, объединенных в кластеры *Clostridium XIVa* и *IV*. При этом происходит увеличение численности потенциально патогенных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, включающего роды *Escherichia*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Salmonella*, а также *Ruminococcus torques*, *Ruminococcus gnavus* и *Bacteroides fragilis*. Отмечается более высокий уровень сульфатредуцирующих бактерий, таких как *Bilophila wadsworthia*, которые выделяют сероводород, разрушающий эпителиальную ткань кишечника, что способствует размножению в поврежденной ткани патогенных микроорганизмов и развитию воспаления [9].

Обнаружены существенные отличия кишечной микробиоты здоровых людей и пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (СД 2). У последних выявлено

снижение *Bacteroidetes* и увеличение количества бактерий рода *Lactobacillus*, относящихся к отделу *Firmicutes*. Однако соотношение *Bacteroidetes* / *Firmicutes*, ранее предложенное в качестве маркера метаболических заболеваний, не показало достоверной связи с развитием СД 2. В то же время диабет ассоциировался с уменьшением численности бутират-продуцирующих бактерий *Roseburia* и *F. prausnitzii*, комменсальных бактерий *Bifidobacterium*, *Bacteroides* и *Akkermansia* и повышением уровня *Ruminococcus*, *Fusobacterium* и *Blautia*. Выделяют несколько механизмов, связывающих кишечную микробиоту с развитием диабета. Среди них: более эффективное извлечение энергии из пищи и модуляция энергетического обмена в организме; нарушение метаболизма жирных кислот в жировой ткани и печени; модуляция секреции гастроинтестинальных пептидных гормонов; нарушение проницаемости кишечного эпителия и повышение уровня циркулирующих в крови липополисахаридов (ЛПС, компонентов клеточной стенки грамотрицательных бактерий), индуцирующее хроническое неспецифическое воспаление [10].

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) часто сопутствует сахарному диабету 2-го типа. Данное заболевание сопровождается увеличением численности бактерий отдела *Proteobacteria*, семейства *Enterobacteriaceae*, родов *Collinsella*, *Escherichia*, *Dorea* и уменьшением количества *Coprococcus*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium* и *Prevotella*. На функциональном уровне

отмечается повышение активности бактерий, участвующих в деконъюгации желчных кислот (например, *Lactobacillales*, *Collinsella*) при снижении активности трансформации первичных желчных кислот во вторичные, осуществляемой представителями семейств *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*. Нарушение метаболизма желчных кислот способствует развитию воспаления, инсулинорезистентности и накоплению жиров в клетках печени. Еще одним фактором, приводящим к системному воспалению и повреждению гепатоцитов, является высокая концентрация бактериальных ЛПС, циркулирующих в крови пациентов с НАЖБП [11].

У лиц с хронической болезнью почек (ХБП) детектировалось достоверное снижение микробного разнообразия, уменьшение численности *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillaceae*, *Bacteroidaceae*, *Akkermansia*, *Prevotellaceae* при увеличении количества *Enterobacteriaceae* (в частности родов *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*), *Enterococcus* и *Clostridium perfringens*. Снижение представленности *Akkermansia muciniphilla* отрицательно коррелировало с содержанием в крови провоспалительного интерлейкина-10 (IL-10), развитием хронического системного воспаления и ХБП. Отмечалось изменение метаболической активности микробиоты в сторону увеличения количества протеолитических бактерий, способных метаболизировать аминокислоты (фенилаланин, тирозин и триптофан) с образованием предшественников уремических токсинов, которые индуцируют воспали-

ние и усиливают окислительный стресс, провоцируя гломерулярный склероз и интерстициальный фиброз, усугубляя дисфункцию почек [11].

Изменения в таксономическом составе и метаболической активности кишечной микробиоты рассматриваются как фактор риска заболеваний сердечно-сосудистой системы. Так, у лиц с артериальной гипертензией отмечено снижение численности бактерий отдела *Firmicutes*, рода *Lactobacillus*. Развитие атеросклероза связано с микробным метаболизмом фосфатидилхолина, холина и *L*-карнитина, присутствующих в молочных и мясных продуктах, с образованием триметиламина. Данное соединение в печени превращается в триметиламин-*N*-оксид (ТМАО), проатерогенный эффект которого обусловлен неблагоприятным воздействием на транспорт холестерина, активацией провоспалительных реакций в гладкомышечных клетках и клетках эндотелия сосудов, а также усилением агрегации тромбоцитов. Наблюдалась позитивная корреляция концентрации ТМАО в крови с повышением численности бактерий отделов *Firmicutes* и *Proteobacteria*, видов *Anaerococcus hydrogenalis*, *Enterocloster asparagiformis*, *Hungatella hathewayi*, *Clostridium sporogenes*, *Escherichia fergusonii*, *Proteus penneri*, *Providencia rettgeri*, *Edwardsiella tarda*, расщепляющих холин, а также представителей отделов *Proteobacteria*, *Bacteroides* и семейства *Prevotellaceae*, трансформирующих *L*-карнитин. В свою очередь синтезируемые микробиотой короткоцепочечные жирные кислоты

(ацетат, пропионат, бутират) и некоторые продукты метаболизма ароматических аминокислот (например, индолэтанол, индолпропионовая кислота) обладают противовоспалительным действием и, наоборот, препятствуют развитию атеросклероза и других сердечно-сосудистых заболеваний. Кроме того, короткоцепочечные жирные кислоты микробного происхождения способны снижать артериальное давление, взаимодействуя с рецепторами, сопряженными с G-белком [11].

В ряде исследований выявлена связь между изменениями численности и видового состава бактерий *Clostridia*, *Bacteroides*, *Desulfovibrio*, *B. fragilis*, *Subdoligranulum*, *Lactobacillus* и аутизмом; *Prevotellaceae*, *Enterobacteriaceae* – болезнью Паркинсона; *Clostridia*, *Bacteroides*, *Verrucomicrobia* – болезнью Альцгеймера. Показано, что для лиц с аутизмом характерно повышенное содержание в кишечнике короткоцепочечных жирных кислот (в первую очередь пропионата), обусловленное метаболической активностью *Clostridium spp.* и *Sutterella wadsworthensis*. Болезнь Паркинсона связывают с гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга и, как следствие, недостаточной выработкой дофамина. Микробиота продуцирует данный нейромедиатор из пищевых субстратов и, вероятно, может влиять на его уровень в мозге. Наоборот, системное хроническое воспаление, обусловленное высокой концентрацией бактериальных ЛПС в крови лиц с болезнью Паркинсона, может способствовать прогрессу заболевания. В частности, разруше-

нию дофаминэргических нейронов предшествует накопление в них телец Леви, состоящих из агрегированного альфа-синуклеина, которое усиливается при воспалительных процессах в организме, и особенно в нейроглии. Более того, существует гипотеза, что аномальное количество альфа-синуклеина инициируется в кишечнике, а затем распространяется через блуждающий нерв в мозг. Нейровоспалительные реакции, вызванные бактериальными ЛПС, нейроактивными соединениями и некоторыми другими метаболитами, способствуют отложению бета-амилоида в головном мозге и могут вносить свой вклад в патогенез болезни Альцгеймера [11, 12].

Активно изучается роль кишечной микробиоты в развитии аутоиммунных заболеваний. В модельных опытах показано, что у гнотобиотных (безмикробных) мышей ревматоидный артрит (РА) не развивается, что указывает на участие микробиоты в его патогенезе. У пациентов с РА отмечено снижение таксономического разнообразия микробиоты, позитивно коррелирующее с уровнем аутоантител и продолжительностью болезни, а также увеличение количества бактерий родов *Prevotella* (в первую очередь *Prevotella copri*) и *Collinsella* при снижении относительной численности *Faecalibacterium*. Показано, что некоторые виды *Collinsella* индуцируют синтез *IL-17* – ключевого цитокина, вовлеченного в патогенез РА, а также способствуют повышению проницаемости кишечного эпителия и развитию системного воспаления. Микробиом кишечника пациентов с атопическим дер-

матитом характеризовался увеличением численности бактерий *Clostridium* (*C. difficile*), *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, уменьшением количества *Bacteroidetes* и *Bifidobacterium*. Предполагается, что обилие в кишечнике условно-патогенных микроорганизмов может приводить к снижению индукции регуляторных T-клеток (*Treg*), потере иммунной толерантности, повышенной проницаемости кишечника и эозинофильному воспалению, способствующими развитию атопического дерматита. В то же время в образцах кала пациентов с данным заболеванием снижено содержание бутирата и пропионата, обладающих противовоспалительным действием, а у лиц с легкой формой атопического дерматита детектируется более высокое количество бутират-продуцирующих бактерий (например, *Coprococcus eutactus*) [11].

Исследования последних лет свидетельствуют о взаимосвязи микробиоты кишечника и канцерогенеза. Обсуждаются три основных пути влияния микроорганизмов на образование злокачественных опухолей: продукция веществ, действующих как канцерогены; стимуляция хронического воспаления (воспалительные медиаторы, секретируемые при этом процессе, способствуют пролиферации клеток, активации онкогенов и ангиогенеза); воздействие на пролиферацию клеток (через активацию *NF-kB* и ингибирование клеточного апоптоза) [13].

Инфицирование бактериями *Helicobacter pylori*, отнесенными Международным агентством по изучению рака к канцерогенным агентам, ассоциировано с высоким риском развития рака пищевода, желудка и под-

желудочной железы. Повышенное содержание в фекальном материале *Desulfovibrio*, *Escherichia*, *Faecalibacterium* и *Oscillospira* предложено использовать в качестве прогностического маркера рака желудка, бактерий семейства *Lachnospiraceae* – рака пищевода, *E. coli* – рака печени [13, 14]. В модельных опытах показано, что онкогенное действие бактерий рода *Desulfovibrio* связано с продукцией ими сероводорода, индуцирующего образование монооксида азота, *IL-1β* и *IL-18*, которые являются медиаторами хронического воспаления. Выявлена связь между отдельными представителями кишечной микробиоты и колоректальным раком. У пациентов с данным заболеванием снижено количество *Eubacterium rectale* и *F. prausnitzii*, повышен уровень *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum* и *B. fragilis*. Показано, что *F. nucleatum* может способствовать прогрессии опухоли с вовлечением как прямых, так и опосредованных через воспаление механизмов. Высокое содержание ДНК бактерий данного вида в опухолевой ткани связано с худшим прогнозом заболевания. Онкогенное действие отдельных штаммов *E. coli* обусловлено продукцией генотоксических факторов патогенности, в частности колибактина и цитолетального растягивающего токсина. Они индуцируют разрывы ДНК, приводят к остановке клеточного цикла либо гибели клеток, влияют на физиологические процессы в инфицированных клетках (воспаление, модуляция иммунного ответа, др.). Энтеротоксин фрагилизин, продуцируемый некоторыми штаммами

V. fragilis, способствует высвобождению β-катенина, перемещение которого в ядро приводит к синтезу протоонкогена *C-myc* и усилению пролиферации опухолевых клеток.

Инфицирование *Chlamydia spp.*, *H. pylori* и сопутствующее воспаление рассматривается как потенциальный триггер развития онкогематологических заболеваний. Доклинические исследования показали, что *Prevotella heparinolytica* может стимулировать в кишечнике Т-хелперы

17 (*Th17*), которые мигрируют в костный мозг и способствуют прогрессированию множественной миеломы. У пациентов с данным заболеванием наблюдался дисбиоз, отмечалось увеличение численности бактерий отдела *Proteobacteria*, родов *Bacterioides*, *Faecalibacterium*, *Roseburia* на фоне снижения количества *Actinobacteria*. Сообщалось как об увеличении, так и об уменьшении представленности бактерий семейства *Clostridiaceae* у детей

с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), а также отдела *Firmicutes* у взрослых пациентов с опухолевыми заболеваниями крови (ОЗК). Микробиом пациентов с ОЛЛ характеризовался повышенным содержанием *Bacteroides clarus*, *E. faecalis*, *Streptococcus spp.* и семейства *Staphylococcaceae*, в то время как лейкоз сопровождался снижением численности бактерий рода *Blautia*. При всех типах ОЗК диагностировалось значительное уменьшение так-

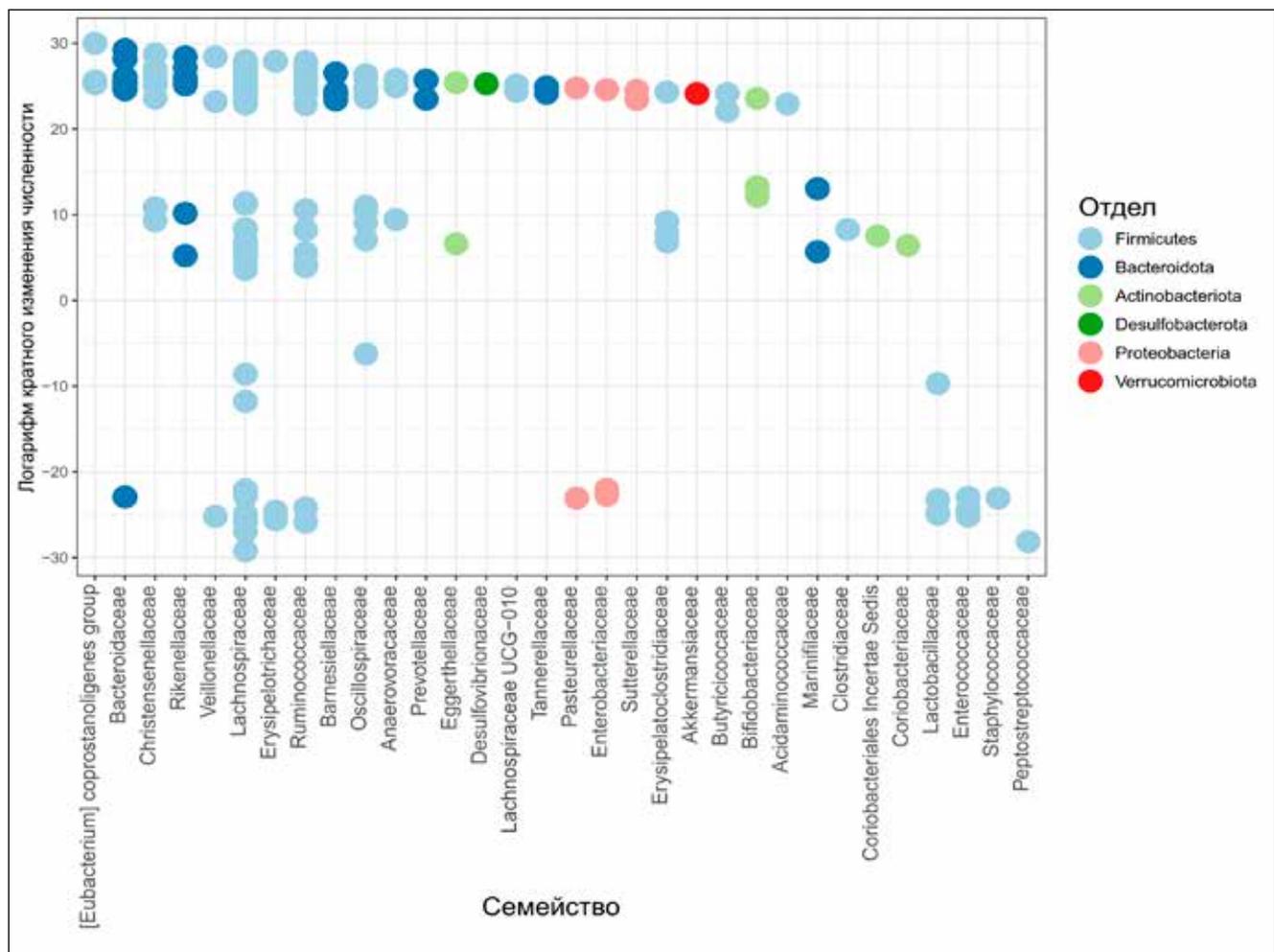


Рисунок. Таксоны, численность которых статистически значимо отличалась у здоровых лиц и группы пациентов с онкогематологическими заболеваниями на основе установленных значений логарифма кратного изменения (log2FoldChange). Положительные значения логарифма отражают таксоны, встречающиеся в большем относительном количестве в сравнении с пациентами. Соответственно, отрицательные значения отражают таксоны, более представленные у пациентов. Источник: [15]

сономического разнообразия микробиоты, вероятно, вызванное приемом антибиотиков и интенсивной химиотерапией.

Исследования, направленные на выявление изменений микробиоты, ассоциированных с различными патологиями, начаты и в нашей стране. В частности, Институтом микробиологии НАН Беларуси совместно с РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии проведен метагеномный анализ микробиоты пациентов с онкогематологическими заболеваниями и здоровых лиц [15]. Показано, что у первых наблюдается достоверное снижение таксономического разнообразия микробиоты, а ее состав более вариабелен по сравнению со здоровыми людьми. На уровне отдельных таксонов отмечено существенное увеличение представленности семейств *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae* и *Streptococcaceae*, среди которых много патогенов и условных патогенов. Повышенное содержание бактерий названных семейств может рассматриваться как признак дисбиоза, вызванного химио- и / или антибиотикотерапией, и указывать на риск инфекционных осложнений. Кроме того, микробиота пациентов с ОЗК отличалась от микробиоты здоровых людей по видовому и родовому составу отдельных семейств (рисунок). Доминирующим видом семейства *Bacteroidaceae* в группе пациентов был *Bacteroides vulgatus*, увеличение численности которого, вероятно, связано с приемом блокаторов протонной помпы (омепразола или пантопрозола), в то время как другие виды бактероидов практически не детектировались. Отмечалось досто-

верное повышение представленности в микробиоме пациентов бактерий рода *Veillonella* (семейство *Veillonellaceae*), *Tuzzerella* и *Sellimonas* (семейство *Lachnospiraceae*), *R. torques* (семейство *Ruminococcaceae*), увеличение численности которых наблюдалось другими исследователями у лиц с раком легкого, прямой кишки и ВЗК. В то же время микробные таксоны, которые могли бы рассматриваться в качестве потенциальных прогностических маркеров онкогематологических заболеваний, выявлены не были. Это может быть связано с различной этиологией опухолевых заболеваний крови и относительно небольшой группой пациентов, включенных в исследование.

Несмотря на значительный прогресс в области изучения микробиоты кишеч-

ника человека, молекулярные механизмы ее участия в патогенезе различных заболеваний до сих пор плохо охарактеризованы. Сведения об изменениях качественного и количественного состава микробиома при одной и той же патологии, полученные разными исследователями, зачастую противоречивы. Остается актуальным вопрос, является ли дисбиоз причиной или следствием определенного заболевания. Поэтому требуются дальнейшие исследования для выявления взаимосвязи между таксономическим составом и функциональной активностью микробиоты и развитием заболеваний человека, а также возможности направленной коррекции кишечного микробиоценоза для профилактики и лечения различных патологий. ■

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. E. Thursby. Introduction to the human gut microbiota / E. Thursby, N. Juge // *Biochem. J.* 2017. Vol. 474, №11. P. 1823–1836.
2. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases / E. Rinninella [et al.] // *Microorganisms.* 2019. Vol. 7, №1. Art. 14.
3. Archaea and the human gut: new beginning of an old story / N. Gaci [et al.] // *World J. Gastroenterol.* 2014. Vol. 20. P. 16062–16078.
4. Liang G. The human virome: assembly, composition and host interactions / G. Liang, F.D. Bushman // *Nat. Rev. Microbiol.* 2021. Vol. 19. P. 514–527.
5. С.Г. Макарова. Кишечная микробиота и использование пробиотиков в практике педиатра. Что нового? / С.Г. Макарова, Л.С. Намазова-Баранова // *Педиатрическая фармакология.* 2015. Т. 12, №1. С. 38–45.
6. Role of the normal gut microbiota / S.M. Jandhyala [et al.] // *World J. Gastroenterol.* 2015. Vol. 21, №29. P. 8787–8803.
7. Y. Chen. Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease / Y. Chen, J. Zhou, L. Wang // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021. Vol. 11. Art. 625913.
8. Y. Ca. Association between *Faecalibacterium prausnitzii* reduction and inflammatory bowel disease: a meta-analysis and systematic review of the literature / Y. Ca, J. Shen, Z.H. Ran // *Gastroenterol. Res. Pract.* 2014. Vol. 2014. Art. 872725.
9. Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in *Il10^{-/-}* mice / S. Devkota [et al.] // *Nature.* 2012. Vol. 487. P. 104–108.
10. М.А. Машкова. Роль кишечной микрофлоры в развитии ожирения и сахарного диабета 2 типа / М.А. Машкова, Т.В. Мохорт // *Лечебное дело.* 2016. №5. С. 64–70.
11. A. Vijay. Role of the gut microbiome in chronic diseases: a narrative review / A. Vijay, A.M. Valdes // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2022. Vol. 76, №4. P. 489–501.
12. К.В. Соболев. Роль микробиоты при нейродегенеративных заболеваниях / К.В. Соболев // *Онтогенез.* 2018. Т. 49, №6. С. 333–352.
13. S. Parida. The microbiome and cancer: creating friendly neighborhoods and removing the foes within / S. Parida, D. Sharma // *Cancer Res.* 2021. Vol. 81, №4. P. 790–800.
14. Н.С. Багиров. Микробиом и рак: есть ли связь? Обзор литературы / Н.С. Багиров, И.Н. Петухов, Н.В. Дмитриев, З.В. Григорьевская // *Злокачественные опухоли.* 2018. №3 с1. С. 56–69.
15. Gut microbiome of healthy people and patients with hematological malignancies in Belarus / K.V. Akhremchuk [et al.] // *MIR Journal.* 2022. Vol. 9, №1. P. 18–30.