

# Микробиом человека в приложении к клинической практике

В.Т. Ивашкин<sup>1,2</sup>, К.В. Ивашкин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет» им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет) Минздрава России, г. Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет» им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет) Минздрава России, НИО инновационной терапии научно-технологического парка биомедицины, г. Москва, Российская Федерация

## Human microbiome, applied to clinical practice

V.T. Ivashkin<sup>1,2</sup>, K.V. Ivashkin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

**Цель обзора.** Проект «Микробиом человека» был создан для идентификации и характеристики совокупности микроорганизмов человека, а также для изучения механизмов влияния изменений в микробиоме на здоровье человека, и явился логичным продолжением проекта «Геном человека». Проект «Геном человека» предполагает: создание каталога человеческих геномных вариаций (HapMap; Human Variome Project), расшифровку различий человеческих фенотипов (Encyclopedia Of DNA Elements), моделирование человеческого феномена (RECON), расшифровку эпигенетических вариантов и наследственных изменений в фенотипических проявлениях.

**Основные положения.** Человеческий микробиом представляет собой разнообразие микробных видов с различающимися метаболическими активностями. Главные характеристики человеческого микробиома включают: огромное разнообразие на уровне родов и на уровне видов, варьирующие схемы диверсификации в рамках образцов, вариабельность микробиома отдельного индивидуума значительно меньше по сравнению с межиндивидуальной вариабельностью, метаболические пути остаются устойчивыми до тех пор, пока субъект сохраняет здоровье, а также отсутствие патогенных бактерий в здоровых микробиомах служит доказательством изменения микробиоты при развитии различных патологических процессов в организме.

**The aim of review.** The Human microbiome project was designed for identification and characterization of set of human microorganisms as well as for studying the changes in the human health due to microbiome changes. The Human Genome Project assumes: development of the human genome variations database (HapMap; Human Variome Project), interpretation of human phenotype differences (Encyclopedia Of DNA Elements), modeling of human phenomenon (RECON), interpretation of epigenetic variants and hereditary changes in phenotypical manifestations. The Human Microbiome Project became the sequel of The Human Genome Project.

**Summary.** The human microbiome represents a variety of microbial species with the differing metabolic activity. The main features of human microbiome include: great variety at the level of genus and at the level of species, varying modes of diversification within samples, variability of microbiome of separate individuals is much less in comparison to interindividual variability, metabolic pathways remain unchanged until the patient is healthy, the lack of pathogenic bacteria in healthy microbiomes serves as microbiota alteration evidence in the state of disease. Identification of «microbial core» in microbial taxon remains a fundamental problem. There is a need to study of possible effects of altered microbiome on drug interactions and the immune status. The model of bacterial involvement in colorectal cancer progres-

**Ивашкин Владимир Трофимович** — академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет), директор НИО инновационной терапинануочно-технологического парка биомедицины. Контактная информация: kont07@yandex.ru; 119991, г. Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1

**Ivashkin Vladimir T.** — MD, PhD, academician of the Russian Academy of Sciences, professor, head of the Chair of internal diseases propedeutics, medical faculty, Sechenov University, director of Scientific and research department of innovative therapy. Contact information: kont07@yandex.ru; 119991, Moscow, Pogodinskaya Str., 1, bld. 1

Поступила: 15.09.2017 / Received: 15.09.2017

Фундаментальной проблемой остается идентификация «микробного ядра» в микробном таксоне. Также существует необходимость изучения возможных влияний измененного микробиома на лекарственные взаимодействия и иммунный статус. Изучается модель участия бактерий в развитии колоректального рака. Кроме того, все большее внимание врачей и исследователей привлекает проблема влияния антибиотиков на кишечную микрофлору.

**Заключение.** Проект «Микробиом человека» реализуется в рамках идентификации и характеристики микроорганизмов, ассоциированных с человеком в его различных анатомических областях. В задачи проекта входит изучение внутри- и межиндивидуальных нарушений микробиома и их возможных влияний на здоровье людей. Теория и практика микробиома создает большой потенциал для обоснования здоровых стереотипов питания, поведения и развития новых терапевтических агентов.

**Ключевые слова:** микробиом человека, проект человеческого генома, микробиота, колоректальный рак, антибиотикотерапия, пробиотики, пребиотики.

sion is under study. Besides, the increasing attention of doctors and scientists is attracted to the issue intestinal microflora changes at antibiotic treatment.

**Conclusion.** «The Human microbiome project» is implemented within identification and characterization of the microorganisms associated to the different anatomical regions of the human body tasks of the project include the study of in- and interindividual microbiome disorders and their possible effect on the human health. The theory and practice of microbiome causes high potential for justification of the pattern of healthy nutritional pattern, behavior and development of new therapeutic agents.

**Key words:** human microbiome, the Human Genome Project, microbiota, colorectal cancer, antibiotic treatment, probiotics, prebiotics.

**Для цитирования:** Ивашкин В.Т., Ивашкин К.В. Микробиом человека в приложении к клинической практике. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2017; 27(6):4-13  
DOI: 10.22416/1382-4376-2017-27-6-4-13

**For citation:** Ivashkin V.T., Ivashkin K.V. Human microbiome, applied to clinical practice. Ross z gastroenterol gepatol koloproktol 2017; 27(6):4-13  
DOI: 10.22416/1382-4376-2017-27-6-4-13

## Введение

Проект «Микробиом человека» представляет собой сложную технологию, создаваемую: для идентификации и характеристики совокупности микроорганизмов человека, обнаруживаемых в различных анатомических областях (кожа, легкие, полости рта и носа, кишечник, влагалище); для изучения механизмов влияния индивидуальных и межиндивидуальных изменений в микробиоме на здоровье человека, состояние иммунитета и развитие различных заболеваний.

Каждый новый научный прорыв, будь то основополагающее открытие (например, открытие микробов как этиологических агентов инфекционных болезней или ДНК как генетического материала), смена концептуальной парадигмы (например, теория эволюции Дарвина или трехдомное дерево жизни Воза) или методические новации (например, полимеразная цепная реакция или высокопроизводительное секвенирование ДНК), приводит к возникновению прикладных научных направлений и технологических приложений, некоторые из которых приобретают долгую жизнь и расцвет, тогда как другие увядают и распадаются.

С одним из таких научных прорывов, «Проектом Человеческого Генома», связано возникновение различных геномных научных направлений и технологий. Первый вариант проекта последо-

вательности человеческого генома сопровождался появлением комплекса новых областей научных интересов и аналитических подходов, объединенных стремлением разгадать загадку механизма, посредством которого относительно небольшое число генов создает все наблюдаемые людские фенотипические вариации. В дальнейшем исследователи наполнили «Проект Человеческого Генома» огромным количеством функциональной информации и экспериментальных данных о генетических вариациях между индивидуумами, сообществами и расами в попытках объяснить теперь уже спектр различий между человеческими фенотипами.

Усилия по интерпретации человеческого генома трансформировались в четыре главных направления:

- создание каталога человеческих геномных вариаций для понимания их влияния на здоровье, возникновение болезней и ответы на лечение (Map; Human Variome Project);
- расшифровка различий человеческих фенотипов посредством вычленения функциональных единиц человеческого генома, их регуляторных элементов и вариаций в регуляции этих функциональных единиц (Encyclopedia Of DNA Elements);
- моделирование человеческого феномена на основании генетических данных о реконструкции метаболизма человека (RECON) или построение моделей на системном уровне;

- расшифровка эпигенетических вариантов и наследственных изменений в фенотипических проявлениях и значения окружающей среды в наследуемых эпигенетических модификациях.

Вместе с тем становится очевидным, что ни генетические, ни эпигенетические, ни регуляторные вариации недостаточны для объяснения сложности и разнообразия человеческих фенотипов. Сотни триллионов микробов и вирусов – резидентов каждого человеческого тела – намного превосходят по численности клетки макроорганизма и несут в себе, по меньшей мере, в 200 раз больше генов, чем число генов человеческого генома. Этот микромир обладает бесконечно большим потенциалом наличия межиндивидуальных генетических вариаций, который до настоящего времени недооценен и фактически не исследован. Таким образом, естественным продолжением «Проекта Человеческого Генома» стал «Проект Человеческого Микробиома», который получил по наследству выдающиеся достижения технологий секвенирования, метагеномики и биоинформационного анализа.

### Уровни микробиомных вариаций и фармакотерапия

С момента представления «Проекта Человеческого Микробиома» в 2007 г. больших успехов ожидали добиться в области изучения влияния микробиома на предрасположенность к развитию заболеваний, например ожирения или воспалительных заболеваний кишечника, нежели в направлении исследований его влияния на эффективность терапевтических воздействий. В центре внимания совершенно закономерно оказались пребиотики, пробиотики и, в значительно меньшей мере, фармакологические агенты.

Вместе с тем к тому времени научная литература была наполнена сведениями об участии кишечных бактерий в биотрансформации ксенобиоти-

ков. Эта ценная информация касалась преимущественно трансформации лекарственных препаратов неизвестными кишечными бактериями, и лишь в немногих работах были представлены данные о различиях в метаболизме лекарств (например, дигоксина и ацетаминофена), зависящих от межиндивидуальных вариаций микробиома.

Человеческий микробиом представляет собой разнообразие микробных видов (species) с различающимися метаболическими активностями (табл. 1). Помимо центральных метаболических путей, которые могут быть общими для гетеротрофных бактерий и людей, существуют сотни дополнительных метаболических реакций, значительно расширяющих известный человеческий метаболический реактом и превращающих организм человека в структуру, функционирующую как целостная экосистема или как супраорганизм (рис. 1).

В 2012 г. опубликовано полное описание состава и разнообразия микробиомов пяти локализаций человеческого организма (кишечник, кожа, носовая полость, полость рта, влагалище) в дополнение к быстро увеличивающемуся числу статей, посвященных более специфическим микробиом-ассоциированным проектам (Human Microbiome Project Consortium, 2012).

Главные характеристики опубликованной последовательности человеческого микробиома включают:

- огромное разнообразие как на уровне родов (genus), так и на уровне видов (species) с дополнительной вариабельностью среди тесно сопряженных штаммов (strains), создаваемых фагами и другими геномными островками;
- варьирующие схемы диверсификации в рамках образцов с наличием наиболее диверсифицированного микробного спектра в образцах из полости рта и дистальной части кишечника и с наименьшей диверсификацией образцов вагинального микробиома;

Таблица 1

Филогенетические и функциональные различия трех человеческих энтеротипов (Agumugam M. и др., 2011)

Энтеротип	Филогенетические различия		Функциональные различия	
	главные представители	сосуществующий род (genus)	образование энергии	основной продуцируемый витамин
1	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Parabacteroidetes</i>	Ферментация углеводов и белков	Биотин (витамин B <sub>7</sub> )
2	<i>Prevotella</i>	<i>Desulfovibrio</i>	Расщепление муцина гликопротеинов в слое слизи	Тиамин (витамин B <sub>1</sub> )
3	<i>Ruminococcus</i> ( <i>Sanger sequencing-based metagenomics</i> ) <i>Clostridiales</i> ( <i>Illumina sequencing-based metagenomics</i> )	<i>Akkermansia</i>	Расщепление муцина	Гем (участвует в биосинтезе витамина B <sub>12</sub> )

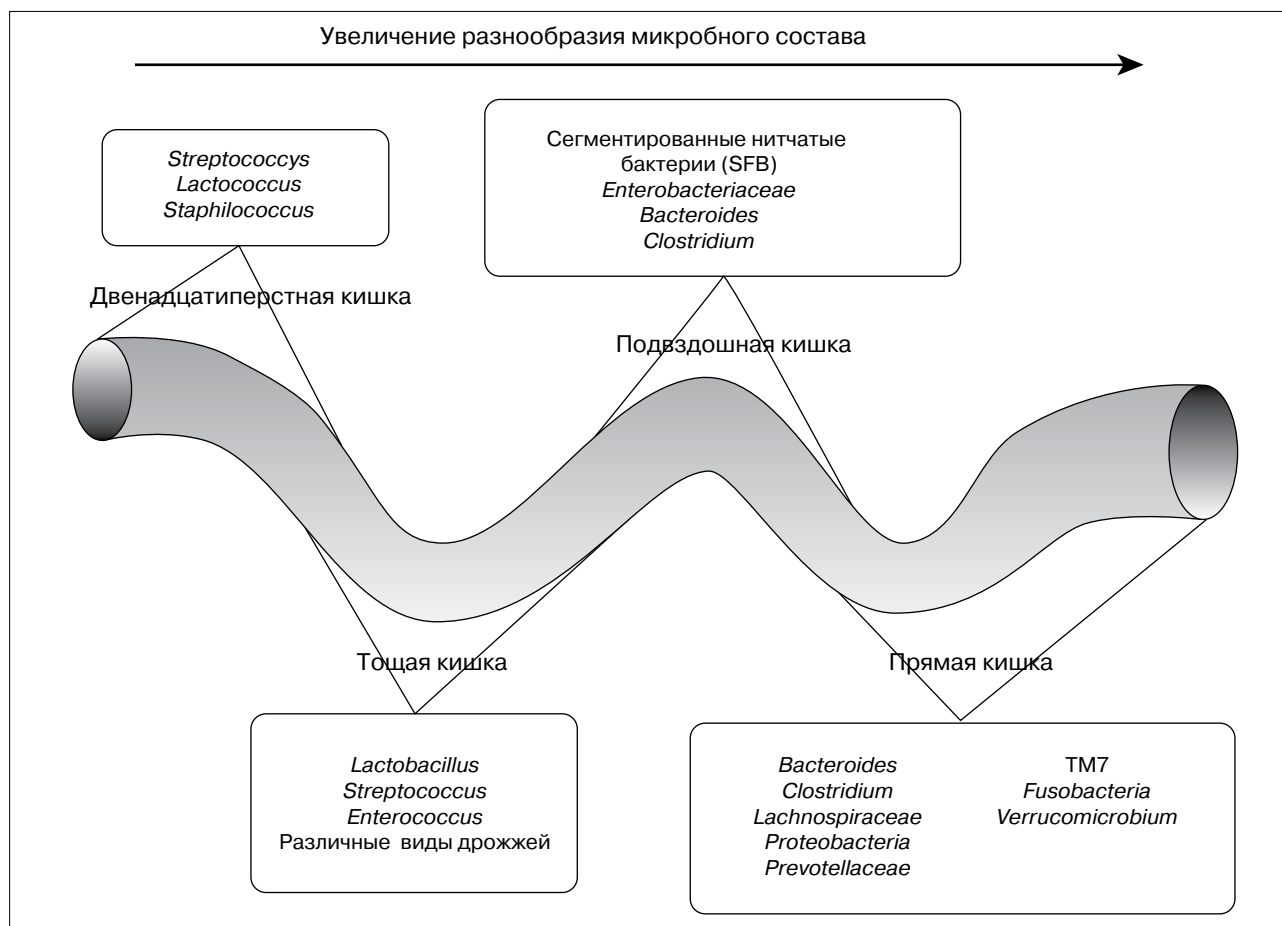


Рис. 1. Микробная флора кишечника человека  
Кишечная микробиота — микроорганизмы, населяющие пищеварительный тракт. Она состоит из 100 млрд бактерий более чем 500 различных видов. Метагеном бактериального состава кала человека включает 9,9 млн микробных генов. Кишечный микробиом содержит примерно в 150 раз больше генов, чем геном человека.

Fig. 1. Human microbiome pattern

Intestinal microbiota - microorganisms that inhabit gastrointestinal tract. It consists of 100 billion bacteria of more than 500 different species. The bacterial metagenome of human feces includes 9,9 million microbial genes. The intestinal microbiome contains approximately 150 times more genes, than human genome

- вариабельность микробиома отдельного индивидуума значительно меньше по сравнению с межиндивидуальной вариабельностью по ее влиянию как на структурно-функциональную композицию организма, так и на его метаболические функции. Среди исследованных образцов наибольшим разнообразием характеризуются образцы, взятые с поверхности кожи, возможно, вследствие постоянной экспозиции кожи к быстро изменяющейся окружающей среде;

- хотя вариабельность микробных типов (phylums) велика настолько, что не найден универсальный токсин, который был бы представлен во всех местах обитания всех индивидуумов, тем не менее метаболические пути остаются устойчивыми до тех пор, пока субъект сохраняет здоровье;

- отсутствие патогенных (болезнетворных) бактерий в здоровых микробиомах служит дока-

зательством правоты гипотезы, согласно которой микробиота претерпевает патологические изменения в болезненных состояниях.

### Разнообразие микробиома

Микробиом не только расширяет человеческий генный пул, но и демонстрирует значительно большую пластичность или текучесть по сравнению с человеческим геномом. Это означает, что индивидуумассоциированная микробиота может частично или полностью изменяться и быстро адаптироваться на фоне постоянного контакта с человеческими механизмами иммунной защиты, протозойных инфекций, агрессии со стороны фагов, меняющихся диетических ингредиентов, ксенобиотиков, антибиотиков и различных токсинов бактериального, протозойного и человеческого происхождения. Исходя из изложенного,

человеческий супраорганизм можно рассматривать с позиций двух его составляющих: (1) как относительно стабильный наследуемый человеческий генный пул, обычно устойчивый в течение жизни человека, за исключением состояний, обусловленных появлением некорректируемых мутаций, геномного импринтинга и рака; (2) как некое облако меняющегося генного пула, создаваемого резистентной микробиотой, приобретаемой после рождения, состав которой меняется в зависимости от времени, пространства, здоровья и гормонального статуса (см. рис. 1).

Микробная колонизация новорожденного начинается в первые минуты процесса родов и в значительной мере определяется способом рождения. Разнообразие кишечного микробного сообщества увеличивается с возрастом; в конце первой недели жизни кишечный микробиом становится более комплексным, чем при рождении, и в конце первого года жизни приобретает характеристики, близкие к таковым микробиома взрослых. При естественных родах младенцы получают во всех нестерильных анатомических областях бактериальные сообщества, имеющие характеристики вагинальных микробиот их матерей. Эти бактериальные сообщества обогащены *Lactobacillus*, *Prevotella* или *Sneathia spp.* При родах посредством кесарева сечения в микробиоте младенца доминируют бактериальные сообщества, обитающие на поверхности кожи матери, в которых преобладают *Staphylococcus*, *Corynebacterium* и *Propionibacterium spp.*

Первые микробные сообщества, приобретенные при родах, в дальнейшем в значительной мере определяют траекторию в направлении взрослого бактериального комплекса и его устойчивой конфигурации. В частности, кишечная колонизация видами *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и *Bacteroides* у младенцев, рожденных посредством кесарева сечения, в основном запаздывает. Более того, трансвагинально переданная микробиота может служить первой линией защиты новорожденных от колонизации определенными патогенами. Так, было показано, что от 64 до 82% случаев кожных инфекций метициллинрезистентным золотистым стафилококком регистрируют у младенцев, рожденных посредством кесарева сечения. Такие дети более восприимчивы также к аллергии и астме, и частота аллергии может снижаться у них при введении пробиотиков в период от рождения до 6-месячного возраста. Такого эффекта пробиотиков не наблюдается у детей, рожденных естественным путем.

Возрастные влияния на микробиом наблюдаются не только у новорожденных. Так, у лиц старше 65 лет, длительно находившихся в медицинских учреждениях, в кишечной микробиоте доминировали *Bacteroidetes*, тогда как у физически активных пожилых людей преобладали *Firmicutes*.

С целью определения модели изменения микробного сообщества были предложены так называемые преобладающие ассоциации родов (co-abundance associations of genera; CAGs). Идентифицировано шесть CAGs. Среди них отчетливо доминирующие CAGs при изменении состояния здоровья от физически активных здоровых субъектов к больным, которым требуется медицинский уход, были представлены соответственно *Prevotella* CAG и *Ruminococcus* CAG (внебольничные CAGs), *Alistipes* CAG и *Oscillibacter* CAG (стационарассоциированные CAGs). Кроме того, у лиц со стационарассоциированными CAGs микробиота была менее диверсифицированной, нежели у лиц с внебольничными CAGs. На основании этих данных был сделан вывод, что утрата внебольничноассоциированной микробиоты коррелирует с увеличением степени выраженности функциональной недостаточности организма.

Другие микробиомные вариации у индивидуумов могут быть связаны с изменениями в диете и гормональном статусе, воздействием инфекций и лекарственных препаратов, в том числе антибиотиков.

### Межиндивидуальные различия

Известно, что более 90% резистентных кишечных бактерий у здоровых лиц представлены двумя типами (phyla) — *Bacteroides* и *Firmicutes*, и подавляющее большинство человеческой популяции имеет схожие пропорции каждого из этих типов. Кроме того, идентифицированы три различных кластера бактерий, различающиеся на уровне одной из трех бактериальных генераций, обитающих в кишечнике (см. табл. 1). Эти бактериальные кластеры названы «энтеротипами». Избыточность (превалирование) одного из родов коррелирует с таковой каждого из двух других родов, т.е. дифференцируемые роды или сосуществуют, или «аннулируют» друг друга. Обнаруженные энтеротипы не имеют континентальной или национальной специфичности [1].

Вместе с тем устойчивые традиционные или семейные диеты в значительной степени определяют характер энтеротипов, обнаруживаемых у обследуемых лиц [17]. Пища, богатая белком и животными жирами, ассоциирует с энтеротипом *Bacteroides*, тогда как превалирование в рационе углеводов и простых сахаров — с энтеротипом *Prevotella*. Энтеротип *Ruminococcus* не коррелирует с каким-либо рационом питания. Результаты изучения микробиома у детей из Европы (Италия) и одной из сельских местностей Африки подтвердили наличие корреляции между характером рационов и бактериальными энтеротипами: у детей из Европы с западным типом питания микробиом был обогащен бактериальным так-

Таблица 2

## Расшифрованные лекарственно-микробные взаимодействия

Лекарство (PubChem ID)	Микроб (Tax ID)	Последовательность/реакция	Ген(ы)	Форма взаимодействий	Авторы
Ацетаминофен (1983)	Неизвестен	О-сульфонация	Неизвестен	Некоторые кишечные микробы могут повышать токсичность ацетаминофена вследствие продукции <i>p</i> -крезола, который конкурирует с ацетаминофеном в метаболических реакциях	T.A. Clayton et al., 2009
Дигоксин (2724385)	<i>Eggerthella</i> (84112)	Оперон, кодирующий цитохром	Сердечные гликозид-редуктазы <i>cgr1</i> , <i>cgr2</i>	Продукты гена <i>cgr1</i> , гомологичные бактериальным цитохромам, восстанавливают дигоксин, используя его как альтернативный акцептор	H.J. Haiser et al., 2013
Циклофосфамид (2907)	<i>Firmicutes</i> (1239)	Иммунная модуляция	Неизвестен	Циклофосфамид транслоцирует <i>Firmicutes</i> и тем самым изменяет Th1-иммунный ответ, что сопровождается синергичной противораковой активностью	S. Viaud et al., 2013

соном, принадлежащим к энтеротипу *Bacteroides*, тогда как у африканских детей, в рационе которых преобладают продукты растительного происхождения, в микробиоме превалировал энтеротип *Prevotella*.

В 2012 г. был введен термин «биомные типы» [9]. Биомный тип представляет собой градиент и определяется в точке, где отношение бактериальных родов превышает единицу. Биомные типы позволяют различить лишь две из трех групп (*Bacteroides/Clostridiales* и *Prevotella*) на основании градиента комбинации трех доминирующих таксонов человеческого микробиома с количественно совпадающими сообществами *Bacteroides* и *Clostridiales*.

Энтеротипы и биомные типы рассматривают как филоотипы в ситуациях, когда микробиомы дифференцируют на основе результатов анализа структур микробных сообществ в соответствии с таксономией.

Другой путь изучения микробиомов базируется не на определении их композиций («Что представляют из себя микробы?»), а, скорее, на их функциональных и метаболических характеристиках («Что делают микробы?»). Часто бактерии с идентичным филогенетическим комплексом характеристик содержат функционально полезные, иногда горизонтально передаваемые гены или генные островки. Ярким примером может служить идентификация дигоксинметаболизирующего оперона в некоторых (не во всех) штаммах *Eggerthella lenta* (табл. 2). Следовательно, классификация микробиомов в соответствии с разными метаболическими типами («метаболиты»)

в ряде случаев может дать больше информации о их функциональном содержании, включая раскрытие фармакогеномных ассоциаций.

Фундаментальной проблемой в изучении человеческого микробиома остается идентификация «микробного ядра» в микробном таксоне, которое включено во все человеческие популяции и обнаруживается во всех микробных колониях организма человека, для вычленения микробиомной основы, которая позволила бы дифференцировать состояния здоровья и болезни. Открытие корового микробного сообщества позволило бы создать новые возможности для восстановления здорового гомеостаза в случаях микробного дисбаланса. Ряд исследователей [9] определяют коровый микробиом как совокупность тех операционных таксономических единиц (OTU; operational taxonomic unit), которые обнаруживают в 95% образцов, при этом в полости рта содержится наибольшее число OTU. Далее в порядке уменьшения количества OTU следуют кал и полость носа, кожа и влагалище.

Обсуждается также концепция минорного корового таксона (minor core taxa), предложенная К. Ли и соавт. [13]. На основе этой двухмерной модели было показано, что число коровых таксонов, обнаруживаемых в организме, достаточно мало, что подчеркивает относительно высокую межиндивидуальную вариабельность в пределах популяций. Число коровых родов увеличивается в разных регионах в следующем порядке: влагалище, кожа, кал и полость рта. При повторных анализах микробиоты в указанных микробных резервуарах было обнаружено, что лишь влага-

лице сохраняет постоянство своего микробиома, тогда как микробиомы кожи, кала и полости рта претерпевают значительные изменения.

### Клинические приложения

Модель микробиомного облака и концепция изменчивости индивидуального микробиома могут реализоваться практически в рамках персонализированной медицины. Так, состав кишечной микробиоты может меняться с течением времени и ее разнообразие существенно зависит от внешних факторов, таких как диета, пищевые добавки и состояние здоровья. Более агрессивные факторы, такие как антибиотики и хемотерапевтические агенты, могут радикально нарушать баланс кишечного микробиома. Указанные факторы в совокупности могут влиять на лекарственные превращения, поскольку метаболизм ксенобиотиков находится в значительной мере под контролем кишечных бактерий.

Необходимость изучения возможных влияний со стороны измененного микробиома на лекарственные взаимодействия и иммунный статус возрастает в таких сложных клинических ситуациях, как терапия рака, ВИЧ-инфекции или ведение пациентов с трансплантированными органами.

Представленные данные позволяют утверждать, что в современной клинике у каждого конкретного пациента необходимо мониторировать состав микробиома или, по меньшей мере, биомаркеры микробиомного баланса, такие как: индивидуальный энтеротип; отношение *Bacteroides/Firmicutes* в кишечнике; маркеры биомного типа. Индивидуальный микробиомный профиль, вероятно, в недалеком будущем будут оценивать наряду с результатами индивидуального генотипирования в протоколах клиник персонализированной медицины.

### Кишечный микробиом и колоректальный рак

Основу *колоректального рака* (КРР) составляют быстро пролиферирующие дочерние клетки, происходящие из мутировавших кишечных стволовых клеток, локализующихся в основаниях толстокишечных крипт. Генетические изменения, ведущие к эпителиальной гиперпролиферации, представлены серией стандартных мутаций, наблюдающихся при развитии колоректальных опухолей, включая мутации туморсупрессивных генов и онкогенов. Большинство мутаций, наиболее часто приводящих к развитию КРР, детально изучены, однако факторы, инициирующие их, не расшифрованы.

Накапливающиеся данные свидетельствуют об участии кишечной микробиоты в патогенезе КРР. В частности, высокая бактериальная плот-

ность в толстой кишке ( $\sim 10^{12}$  клеток/мл) в сравнении с этим показателем в тонкой кишке ( $\sim 10^2$  клеток/мл) сочетается с более высокой частотой (в 12 раз) развития КРР в толстой кишке по сравнению с тонкой. Далее, у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (язвенный колит, болезнь Крона) доказаны нарушение структуры и функции кишечного барьера, а также наличие патологической кишечной транслокации бактерий и гиперергической воспалительной реакции на бактерии-комменсалы, что сочетается с увеличивающимся риском (в 5 раз) развития КРР. В эксперименте установлено, что у животных, генетически предрасположенных к развитию КРР, опухоли возникают реже при ранении и дальнейшем пребывании животных в стерильных (безмикробных) условиях. Наконец, в ряде работ показано, что некоторые кишечные бактерии стимулируют рост опухолей посредством продукции высокотоксичных соединений, включая кислородные радикалы, канцерогенные побочные продукты метаболизма и субстанции, которые усиливают воспаление, клеточную пролиферацию и индуцируют повреждение ДНК.

Указанная экспериментальная и клиническая фактология легла в основу исследований по картированию таксонометрического распределения кишечной микробиоты у пациентов с КРР посредством секвенирования ДНК, изолированной из образцов кала, включая секвенирование ампликона 16S рНК и метагеномный анализ (shotgun сиквенс). В результате было установлено, что на поверхности опухоли находится большое количество бактерий одних групп и незначительное — других. Образцы анализировали на уровне родов, и выявленные таксономические ассоциации остаются чрезвычайно сложными для расшифровки. Так, *Fusobacterium* — бактерию, постоянно обнаруживаемую в высоких концентрациях вокруг опухоли, первоначально рассматривали как благоприятный для кишечного эпителия фактор, поскольку она продуцирует короткоцепочечную жирную кислоту бутират, служащий основным источником энергии для колонического эпителия. Однако одновременно было установлено, что *Fusobacteria* обладает провоспалительными и инвазивными характеристиками и ее обнаруживают в метастазах КРР [2].

Не менее интригующим фактом служит обнаруженная способность *F. nucleatum* стимулировать рост КРР посредством запуска цепи событий: связываться с E-кадхерином, активировать сигнальный путь  $\beta$ -катенина и рекрутировать миелоидные клетки, инфильтрирующие опухоль [12, 14]. Другим примером функциональной неоднозначности служат различающиеся таксономические профили *Bacteroides fragilis*, энтеротоксигенные и нетоксигенные штаммы которой генетически

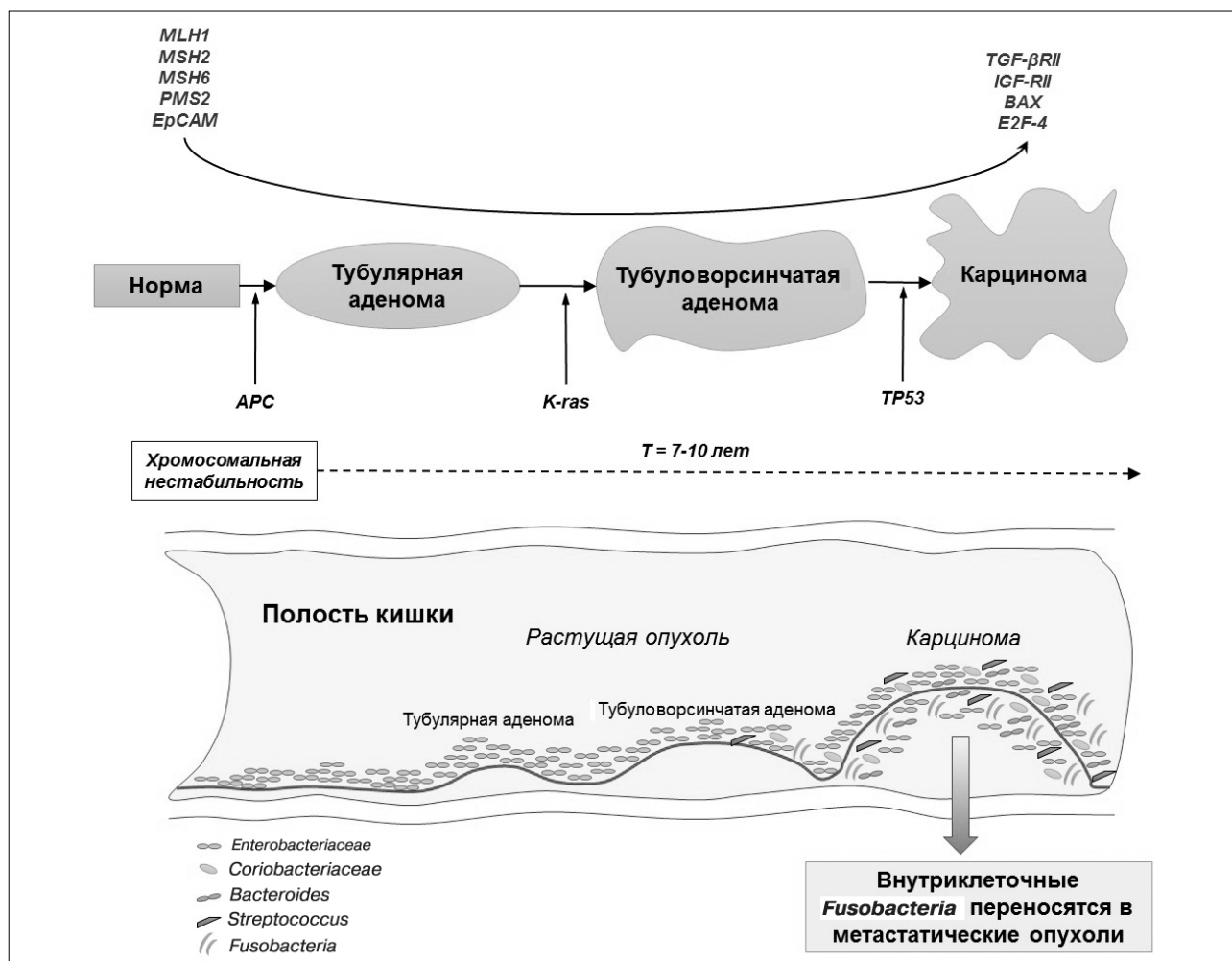


Рис. 2. Предполагаемое участие кишечных бактерий в прогрессии колоректального рака. Ряд бактерий-стимуляторов и бактерий-«пассажира» ассоциируется с разными стадиями опухолевого роста. Итоговая активность бактериальных колоний может сопровождаться как опухолевой прогрессией, так и ингибированием роста опухоли на разных стадиях.

Fig. 2. Proposed involvement of enteric bacteria in colorectal cancer progression. Series of stimulator bacteria and passenger bacteria are associated with different stages of tumor progression. Final activity of bacterial colonies can be followed by both neoplastic progression, and tumor inhibition at different stages

чрезвычайно близки, но существенно различаются по онкогенной активности [18].

Наконец, наиболее концентрированные популяции бактерий, обнаруживаемых на опухоли, включают потенциально пробиотические виды: *Slackia*, *Collinsella*, *Roseburia* и *Faecalibacterium* [7], которые превращают ингредиенты пищи в полезные для человека катаболиты, такие как бутират и антиоксидант иквил (equol). Создается впечатление, что следствием видоспецифической колонизации колоректальных опухолей бактериями-«пассажирами» могут быть как опухолевая прогрессия, так и ингибирование роста опухоли (рис. 2). К этому следует добавить, что гены бактериальных токсинов, известные своей способностью стимулировать рост КРР, не выделялись повышенной экспрессией в окрестностях опухоли по сравнению с генами других типов [5].

Другая модель участия бактерий в развитии КРР была постулирована на основе результатов мета-анализа опубликованных работ [15]. В рамках этой модели нативная микробиота у лиц с высоким риском развития КРР изначально содержит каузальную бактерию, которая вызывает воспаление слизистой оболочки, интенсивную клеточную пролиферацию и/или продукцию «генотоксинов», которые индуцируют мутации и последующие гено- и фенотипические изменения в последовательности аденома — карцинома. Развитие опухоли сопровождается разрушением вовлеченных структур и кровотоками, которые изменяют микроокружение и селективное давление на локальную микробиоту. Каузальные бактерии конкурируют за опухолевую нишу с оппортунистическими патогенами, комменсалами и пробиотическими бактериями.



Эта концепция подтверждается результатами экспериментальных исследований по замещению в микробиоте у мышей бактерий, поддерживающих сохранность эпителиального пласта и иммунного гомеостаза посредством продукции короткоцепочечных жирных кислот на провоспалительные виды бактерий. Такое замещение сопровождается возникновением «патогенного каскада между кишечным микробиомом и хозяином», который сужает микробную диверсификацию и индуцирует продукцию генотоксических реактивных радикалов кислорода и протуморогенных воспалительных медиаторов [19].

### Взаимодействие микробиома и антибиотиков

Влияние антибиотиков на кишечную микрофлору привлекает все большее внимание врачей и исследователей, уже хотя бы исходя из того факта, что в экономически развитых странах распространены инфекции, вызываемой *Clostridium difficile* и смертность больных с этой инфекцией увеличиваются быстрыми темпами. В США от нее умирают около 30000 человек в год. В одной из работ было показано, что введение пациентам антибиотика широкого спектра действия ципрофлоксацина сопровождалось «обеднением» таксономического «богатства» (исчезало до 30% бактериальных таксонов), «разнообразия и гармонии» бактериального сообщества [4]. Через 4 нед после окончания приема антибиотиков состав кишечной микробиоты практически полностью восстанавливался. По мнению исследователей, такая быстрая репопуляция кишечной микробиоты поддерживается благодаря влияниям аппендикса. Вместе с тем масштаб восстановления статуса микробиота, который наблюдался до введения антибиотика, значительно различался индивидуально и для репопуляции ряда таксонов требовалось не менее 6 мес.

Кишечный микробиом может обладать способностью сохранять «память» о предшествующих стрессах. Так, у здоровых добровольцев, которым проводили 2 курса терапии ципрофлоксацином в течение 10 мес, после каждого антибиотического курса происходило отчетливое изменение кишечного микробного сообщества в направлении восстановления устойчивого статуса, сходного с наблюдавшимся до антибиотикотерапии и одновременно отличающегося от него. При этом какие-либо гастроинтестинальные симптомы не регистрировались. По мнению авторов, это свидетельствует о наличии функционального резерва у кишечных микробных таксонов. Скорость и масштабность восстановления различались после проведения двух курсов терапии ципрофлоксацином у одного и того же индивидуума. Возможным объяснением этого феномена может

быть экспрессия генов или появление генов антибиотической резистентности в кишечном бактериальном сообществе после первичного воздействия антибиотиками. Такое предположение подтверждает тот факт, что антибиотическое вмешательство распространяется и на взаимодействия фагов и бактерий. Такое сопряжение фагов и бактерий может повышать возможность генных обменов и соответственно расширения мультилекарственной резистентности, а также сохранять сопротивляемость бактериальных сообществ по отношению к антибиотическому стрессу.

В работах, посвященных изучению влияния длительного приема антибиотиков различных классов на кишечную микробиоту человека, была установлена аналогичная способность микробных сообществ восстанавливаться до устойчивой и вместе с тем отличающейся по композиции структуры после стресса, вызванного применением антибиотиков. Так, клональное разнообразие *Bacteroides* значительно редуцировалось на период до 2 лет после введения клиндамицина с одновременным появлением клиндамицинрезистентных клонов. Нельзя не отметить результаты работы Н.Е. Jacobsson и соавт. [10], которые установили, что лечение больных с язвенной болезнью комбинацией метранидазола, кларитромицина и омепразола сопровождалось драматическими изменениями микробиота, которые персистировали в течение периода до 4 лет.

Практикующие врачи пока недостаточно знакомы с тем фактом, что введение антибиотиков в раннем детском возрасте может в последующем привести к развитию болезни Крона, астмы и ожирения.

### Заключение

Проект «Микробиом человека» реализуется в рамках идентификации и характеристики микроорганизмов, ассоциированных с человеком в его различных анатомических областях: на коже, во рту, в носовой полости, кишечнике, во влагалище. В задачи проекта входит изучение таких важных проблем, как внутрииндивидуальные и межиндивидуальные повреждения микробиома и их возможные влияния на здоровье людей, иммунитет и развитие заболеваний. Модель «микробиомного обмена» отражает наличие временных и пространственных неопределенностей, с которыми сталкиваются при попытках определить композицию микробиома отдельного индивидуума, в частности влияние способа рождения или возраста на этот ключевой показатель. Чрезвычайно привлекательны и сложны исследования, направленные на выявление «корового микробиома человека» и создание классификации человеческих биомных типов. Постепенное расширение наших знаний о микробиоме человека импе-

ративно приводит к их взаимосвязи и комбинированию новых знаний, в частности фармакомикробиотики и лекарственных микробиомных взаимодействий, на такие классические проблемы, как колоректальный рак и антибиотическая терапия.

Теория и практика микробиома создают большой потенциал для обоснования здоровых стереотипов питания и поведения, развития новых терапевтических агентов.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict interest.** The authors declare no conflict of interest.

#### Список литературы/References

1. Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D., Yamada T. et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473:174-80.
2. Castellarin M., Warren R.L., Freeman J.D., Dreolini L., Krzywinski M. et al. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012;22:299-306.
3. Clayton T.A., Baker D., Lindon J.C., Everett J.R., Nicholson J.K. Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:14728-33.
4. Dethlefsen L., Relman D.A. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:4554-61.
5. Dutlih B.E., Backus L., Hijum S.A., Tjalsma H. Screening metatranscriptomes for toxin genes as functional drivers of human colorectal cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2013;27:85-99.
6. El-Rakaiby M., Dutlih B.E., Rizkallah M.R., Boleij A., Cole J.N., Aziz R.K. Pharmacomicrobiomics: The impact of human microbiome variations on system pharmacology and personalized therapeutics. *OMICS* 2014;18:402-14.
7. Geng J., Fan H., Tang X., Zhai H., Zhang Z. Diversified pattern of the human colorectal cancer microbiome. *Gut Pathog* 2013;5:2.
8. Haiser H.J., Gootenberg D.B., Chatman K., Sirasani G., Balskus R.P., Turnbaugh P.J. Predicting and manipulating cardiac drug inactivation by the human gut bacterium *Eggerthella lensa*. *Science* 2013;341:295-8.
9. Huse S.M., Ye Y., Zhou Y., Fodor A.A. A core human microbiome as viewed through 16S rRNA sequence clusters. *PLoS ONE* 2012;7:e34242.
10. Jacobsson H.E., Jernberg C., Andersson A.F., Sjolund-Karlsson M., Jansson J.K. Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS ONE* 2010;5:e9836.
11. James L.P. Metabolomics: Integration of a new «omics» with clinical pharmacology. *Clin Pharmacol Ther* 2013;94:547-51.
12. Kostic A.D., Chun E., Robertson L., Glickman J.N., Gallini C.A., Michaud M., Clancy T.E. et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe* 2013;14:207-15.
13. Li K., Bihan M., Methe B.A. Analyses of the stability and core taxonomic memberships of the human microbiome. *PLoS ONE* 2013;8: e63139.
14. Rubinstein M.R., Wang X., Hao Y., Cai G., Han Y.W. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/beta-catenin signaling via its FadA adhesion. *Cell Host Microb* 2013;14:195-206.
15. Tjalsma H., Boleij A., Marchesi J.R., Dutlih B.E. A bacterial driver-passenger model for colorectal cancer: Beyond the usual suspects. *Nat Rev Microbiol* 2012;10:575-82.
16. Viaud S., Saccheri F., Mignot G., Yamazaki T., Daillere R., Hannani D., Enot D.P., Pfirschke C. et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013;342:971-6.
17. Wu G.D., Chen J., Hoffmann C., Bittinger K., Chen Y., Keilbaugh S.A., Bewtra M. et al. Linking long-term dietary with gut microbial enterotypes. *Science* 2011;334:105-8.
18. Wu S., Rhee K.J., Albesiano E., Rabizadeh S., Wu X., Yen H.R., Huso D.L. et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009;15:1016-22.
19. Zackular J.P., Baxter N.T., Iverson K.D., Sadler W.D., Petrosino J.F., Chen G.Y., Schloss P.D. The gut microbiome modulates colon tumorigenesis. *MBio* 2013;4:e00692-00713.