УДК 579.61/571.27

PERSPECTIVES OF USING PROBIOTIC MICROORGANISMS IN FUNCTIONAL FOOD AND MEDICINE

S. Starovoitova, O. Karpov
National University of Food Technologies

Key words:
probiotic functional foods
immunomodulatory properties

Article history:
Received 9.09.2015
Received in revised form 23.09.2015
Accepted 1.10.2015

Corresponding author:
svetik_2004@mail.ru,
karpov_av@hotmail.com

ABSTRACT

The possibility of using probiotic microorganisms with immunomodulatory properties for improving the quality characteristics of functional foods and probiotics were considered. Mechanisms of immunomodulatory properties, which including immunostimulation, immunosuppression and and bipolar action, probiotic microorganisms and representatives of the microbiota of macroorganism were implemented.

Modulation of immunological reactivity — one of the important mechanisms of probiotic microorganisms that can be the basis for the differentiated application of probiotic drugs for the prevention and treatment of different spectrum diseases was described.

Comprehensive assessment of all components of the modulation of immune reactivity allows to define the required character of immunomodulation, composition of probiotics and Functional Foods and regime and dosage of application was shown.

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ПРОБІОТИЧНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ В ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ ТА МЕДИЦИНІ

С.О. Старовойтова, канд. біол. наук,
О.В. Карпов, д-р біол. наук
Національний університет харчових технологій

Розглянуто можливість використання пробіотичних мікроорганізмів з імуномодулюючими властивостями щодо удосконалення якісних характеристик функціональних продуктів харчування та пробіотиків. Наведено механізми реалізації імуномодулюючих властивостей пробіотичними мікроорганізмами та представниками мікробіоти.

Ключові слова: *пробіотик, функціональні продукти харчування, імуномодуляторні властивості.*

Вступ. На сьогоднішній день функціональні продукти харчування (ФХП) збагачені пробіотичними мікроорганізмами з різноманітним спектром пробіотичних властивостей не рідкість. Спектр ФХП збагачених різними видами пробіотичних мікроорганізмів у харчовій промисловості достатньо широкий, що зумовлено спектром позитивних ефектів, нормальної мікрофлори та пробіотичних мікроорганізмів на макроорганізм, особливо імуномодулюючий вплив. Враховуючий сучасний негативний вплив як зовнішніх, так і внутрішніх факторів на стан імунної системи людини ФХП на основі мікрофлори здатної до імуномодуляції є актуальними та перспективними для сучасної харчової промисловості.

Мета. Розглянути можливості мікробіоти та пробіотичних мікроорганізмів з імуномодулючими властивостями, як перспективної основи ФХП, щодо удосконалення якісних

© С.О. Старовойтова, О.В. Карпов, 2015

характеристик харчової продукції та навести механізми імуномодулюючої дії пробіотичних мікроорганізмів та представників нормобіоти.

Викладення основного матеріалу. Результати досліджень останнього десятиліття стосовно складу і функцій мікрофлори кишечника людини спричинили нову хвилю інтересу до цільового застосування і розроблення пробіотиків, парапроіботиків, синбіотиків та ФХП для профілактики і лікування соматичних захворювань. Порушення мікробіоти пов'язані з розвитком захворювань запальної етіології, а саме з розладом комунікації між клітинами імунної системи і мікробіоти, зумовлений зміною складу угруповання останньої. Відновлення порушеного складу мікробіоти сприяє встановленню збалансованої імунорегуляції та гальмуванню запальної реакції імунної системи. Дієвими чинниками відновлення порушень мікробіоти є пробіотики різних поколінь та ФХП збагачені пробіотичними мікроорганізмами. Експерти з оцінювання медичних технологій позиціонують виробництво пробіотиків та ФХП збагачених пробіотичними мікроорганізмами як високоефективну з погляду співвідношення вартість-ефект-безпечність біотехнологію, якій належить майбутнє у запобіганні й терапії запальних захворювань у шлунково-кишковому тракті (ШКТ) та поза його межами [1—2]. Важливим механізмом дії пробіотиків є модуляція функцій імунної системи як на місцевому, так і на системному рівні. Захворювання, асоційовані з порушенням нормальної мікрофлори, завжди супроводжуються розладами імунологічної реактивності. Отже, імуномодулюючу дію пробіотиків та ФХП слід розглядати як перспективний підхід для лікування та профілактики патологічного процесу, асоційованого з порушенням мікробіоти кишечника.

Нормальна мікрофлора кишечника людини: формування та функції. З 2006 р. наукова спільнота розглядає мікрофлору кишечника як новий метаболічно активний орган, що складається з кількох трильйонів бактерій коменсалів [1]. Загальновизнано, що присутність нормобіоти в організмі є необхідною умовою для розвитку тканин, органів і фізіологічних систем. Мікробіоті притаманні такі основні фізіологічні функції: колонізаційна, детоксикаційна, біосинтетична, травна, трофічна, фізико-хімічна, енергетична, процесінг харчових продуктів, терморегулююча, регуляторна, генетична, імуномодулююча та системні функції. [3]. Мікробіота сприяє розвиткові судинного ложа кишечника, нервової системи в ранньому дитинстві та її функціонуванні у дорослих, а також є визначальним чинником формування лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизовими поверхнями (Mucosa Associated Lymphoid Tissue — MALT), у тому числі й кишечника (Gut Associated Lymphoid Tissue — GALT) [4].

Формування мікробіоти кишечника залежить від багатьох чинників. Попри те, що склад угруповання мікроорганізмів кишечника характеризується індивідуальною варіабельністю сьогодні, розрізняють три основних типи таких угруповань — ентеротипи. Особливістю першого ентеротипу є підвищена кількість *Bacteroides*, другий ентеротип — збагачений представниками роду *Prevotella*, а для третього властивий підвищений вміст бактерій роду *Ruminococcus*. Ентеротипи відрізняються особливостями харчових ланцюгів бактерій, що входять до їхнього складу і визначають характер та джерела отримання енергії. Формування ентеротипу не залежить від віку, статі, національності або маси тіла, але залежить від перебування тривалий час на певному раціоні харчування [5].

Імуномодулюючі властивості нормальної мікрофлори кишечника. Взаємодія між бактеріями й MALT (GALT) відбувається на трьох основних рівнях: епітеліоцити, антигенпрезентувальні клітини й ефекторні клітини адаптивної імунної відповіді. Формування GALT і компонування популяційного складу клітин імунної системи у її складі визначається мікробіотою у ранньому постнатальному періоді [6].

Першим рівнем взаємодії мікробіоти кишечника з імунною системою хазяїна є контакт з епітелієм. Епітеліоцити кишечника, а також ендокринні, бокалоподібні клітини експресують низку патернрозпізнавальних рецепторів (ПРР), відповідальних за взаємодію з антигенами мікроорганізмів, під загальною назвою мікробо- або патогенасоційовані молекулярні патерни (МАМП або ПАМП). ПРР поділяють на кілька родин: основні, зокрема TLR (Toll-like receptors), RLR (retinoic acid inducible gene I (RIG-I)-like receptors), NLR (nucleotide oligomerization domain — NOD-like receptors), а також лектинові рецептори С-типу та цитозольні ДНК-сенсори. Генетично детерміновані або набуті порушення експресії та регуляції ПРР у кишечнику асоціюються з розвитком патологічних станів. Особливе значення має регуляція експресії TLR4, оскільки активація саме цього ПРР асоціюється з розвитком запальних захворювань у кишечнику. У відповідь на взаємодію з МАМП мікробіоти епітеліоцити секретують низку біологічно активних медіаторів, що регулюють проліферацію і

міграцію клітин імунної системи, опосередковують ізотипове переключення плазматичних В-клітин до синтезу імуноглобуліну А (sIgA), активують утворення виростів (дендритів) дендритними клітинами (ДК). Взаємодія ПРР клітин епітелію з ПАМП мікробіоти необхідна не лише для ініціювання імунної відповіді і синтезу антибактеріальних субстанцій, а й для активації проліферації епітеліоцитів, запобігання їх апоптозу та активації синтезу молекул міжклітинної адгезії [7].

У lamina propria, розташованій безпосередньо під епітеліальною поверхнею, локалізовані клітини імунної системи: мієлоїдні антигенпрезентувальні клітини (АПК) — ДК і макрофаги, Т- і В-лімфоцити, мастоцити, природні кілери і невелика кількість лейкоцитів інших субпопуляцій. Наступним рівнем взаємодії мікробіоти з імунною системою MALT є розпізнавання АПК, головними серед яких є ДК і макрофаги. Для активації Т-клітин з боку ДК має надійти три сигнали: перший — комплекс MHC:пептид, другий — костимуляторні молекули родини B7 і третій сигнал, що визначає поляризацію активації Т-клітин (Th1, Th2, Th9, Th17 тощо). Експресія цих молекул визначається характером лігандів, що активували ДК.

За фізіологічних умов макрофаги GALT — це регуляторні клітини. Однак порушення гомеостатичної рівноваги у мікробіомі може спричинити їх функціональну реполяризацію і участь у розвиткові локальних і системних запальних процесів [7].

Серед Т-лімфоцитів у GALT переважають Th17 та iTreg (індуковані регуляторні Foxp3+-клітини). Перші концентруються в тонкому кишечнику, другі — у товстому. Концентрування лімфоцитів цих популяцій і функціональне диференціювання Т-клітин у різних відділах кишечника регулює мікробіота [7, 8].

Отже, у межах GALT можливе ініціювання двох протилежно спрямованих імунних реакцій: агресивної імунної відповіді, спрямованої на елімінацію патогенів, і толерантості/імунорегуляції — на безпечне співіснування імунної системи з мікробіотою. Антигенам мікробіоти притаманна унікальна здатність сприяти розвиткові толерантності/імунорегуляції. Надзвичайно важливу імунорегуляторну роль виконують коротколанцюгові жирні кислоти (КЛЖК) — продукти метаболізму мікробіоти. Ацетат, пропіонат і бутират зв'язуються зі специфічними G-протеїнвмісними рецепторами, що експресовані переважно на клітинах імунної системи. Ацетат і бутират стимулюють синтез секреторних муцинів та посилюють експресію протеїнів, що забезпечують щільні контакти між епітеліоцитами. Імуномодулююча дія КЛЖК поширюється лише на стимульовані клітини імунної системи [7].

Запальні захворювання, асоційовані з порушеннями мікробіоти кишечника. Існує багато причин порушення мікрофлори кишечника: раціон харчування з високим вмістом полінасичених жирів (Western diet), лікування антибіотиками, стреси, локальні (у ШКТ) і системні запальні захворювання [8, 9] тощо. У багатьох випадках кілька чинників діють одночасно. Наслідки порушення мікрофлори кишечника є комплексними і можуть спричинювати як локальні (захворювання кишечника), так і системні (метаболічні хвороби) патологічні стани. Дисбаланс мікробіоти кишечника в ранньому дитинстві спричинює порушення розвитку GALT, негативно впливає на гомеостаз організму і може стати однією з причин розвитку низки імунозалежних патологій (хвороби Крона, цукрового діабету, ожиріння, атопічного дерматиту, алергії тощо). Вікові зміни мікробіоти асоціюються з розвитком нейродегенеративних захворювань.

Найбільш загальною рисою порушення мікрофлори кишечника є зміна співвідношення двох основних груп мікроорганізмів — *Bacterioidetes* і *Firmicutes*. Зсув балансу на користь фірмікутів супроводжується зменшенням функціонального різноманіття бактерій кишечника, переважанням метаболічних циклів, для яких характерна підвищена кількість ензимів, відповідальних за ферментацію недеградабельних полісахаридів, наслідком чого є зростання калорійності їжі і посилення ліпогенезу. Раціон харчування з високим вмістом вуглеводів і полінасичених жирів спричинює зниження відносної кількості біфідобактерій і лактобацил. Зменшення відносної кількості біфідобактерій супроводжується зниженням синтезу молекул, що забезпечують щільний контакт між епітеліоцитами. Зміни у складі мікрофлори асоціюються також із посиленням експресії CB1 — одного з рецепторів ендоканабіноїдної системи, що супроводжується порушенням розподілу і локалізації протеїнів щільних контактів, наслідком чого є підвищення проникності кишкової стінки. Посилення ліпогенезу супроводжується синтезом хіломікронів і активацією їх виходу в циркуляцію. Через підвищену проникність кишкової стінки разом із хіломікронами в циркуляцію потрапляють бактерії і низка ПАМП (ЛПС, пептидоглікан, флагелін тощо), які активують ефекторні клітини

імунної системи. Із циркуляції бактерії і ПАМП потрапляють у віддалені інсулінзалежні тканини та органи, у тому числі й у жирову тканину, де спричинюють розвиток запальних реакцій. Запалення Th1-типу набуває системного характеру, знижується чутливість периферичних тканин до інсуліну, прогресує ожиріння [8]. Одним з найбільш вразливих органів до системної прозапальної дії ПАМП є печінка. Метаболічна ендотоксемія, зумовлена порушеннями нормальної мікрофлори кишечника, є патогенетичним чинником без алкогольного стеатозу печінки та інших її захворювань. ПАМП-асоційоване запалення Th1-типу спричиняє інсулін-резистентність та як наслідок — розвиток цукрового діабету типу II [7, 8].

Зміни окремих видів мікрофлори кишечнику призводять до розвитку злоякісних пухлин у товстому кишечнику і прямій кишці, що асоційоване з розвитком запалення Th1-типу [9].

Патологічні зміни мікробіоти кишечнику супроводжують розвиток харчових алергій. Характерною ознакою таких порушень є зменшення вмісту Firmicutes spp. одночасно з підвищенням кількості представників Proteobacteria, наслідком є розвиток запалення Th2-типу [4].

Порушення мікробіоти справляє вплив і на розвиток аутоімунних патологій, зокрема діабету типу I. Характерним для нього є збільшення відносної кількості бактерій трьох основних груп: Actinobacteria, Proteobacteria та Bacteroidetes та є зменшення кількості бактерій, що продукують лактат і бутират. В імунопатогенезі діабету типу I також присутнє запалення Th1-типу [4].

Механізми та перспективи цільового застосування імуномодулюючої дії пробіотиків та ФПХ. Пробіотики, згідно з визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), — це живі мікроорганізми, застосування яких в адекватних кількостях поліпшує здоров'я організму хазяїна [1].

За призначенням пробіотики можна класифікувати: 1) для забезпечення функціонального харчування — ФПХ, 2) для терапії та відновлення мікробіоценозу після тривалого застосування антимікробних засобів, 3) для терапії при захворюваннях бактеріальної і вірусної етіології та 4) для імунокорекції при запальних захворюваннях — імунобіотики [1, 9].

Біологічні ефекти пробіотичних мікроорганізмів є штамоспецифічними. Залежно від типу, виду, штаму пробіотичні бактерії можуть справляти імуностимулюючу, імунодевіаторну (біполярну) та імунорегуляторну/супресивну дію. Наприклад, вид Lactobacillus rhamnosus є характерним компонентом пробіотиків та ФПХ. Усі представники цього виду мають у складі геному неметильовані CpG-послідовності, що активують TLR9 на епітеліоцитах і клітинах імунної системи, наслідок - стимуляція секреції протизапальних медіаторів. Однак склад C-G-нуклеотидів у бактерій різних штамів неоднаковий, що визначає їх відмінності у здатності активувати протизапальний метаболізм епітеліоцитів та імуноцитів кишечнику. Бактеріям цього виду притаманна як прозапальна, так і протизапальна імуномодулююча дія. Протизапальні імуномодулюючі властивості притаманні також клітинам L. rhamnosus GG, що широко використовуються у ФПХ [6].

Застосування пробіотичного мікроорганізму самостійно і в поєднанні з іншими може мати різні наслідки для імунологічної реактивності. Так, L. casei Shirota належить до мультифункціональних імунобіотиків із широким спектром різноспрямованої імуномодулюючої дії. Застосування самостійно L. casei Shirota стимулює продукування прозапального ІЛ12 і практично не впливає на продукування ІЛ10. Якщо L. casei Shirota використовують у поєднанні з бактеріями, яким властивий високий ступінь деградабельності пептидоглікану ензимами фаголізосом, наприклад L. johnsonii JSM 2012, стимулюючий ефект на продукування ІЛ12 практично зникає. Те ж саме відбувається і в разі застосування L. casei Shirota разом із пептидогліканом інших грампозитивних бактерій. Компонування L. casei Shirota з тейхоєвою кислотою L. plantarum або ліпотейхоєвою кислотою лактобацил або S.aureus, має наслідком стимуляцію продукування ІЛ10 [1, 9].

Імуномодулюючі ефекти пробіотичних бактерій реалізуються через клітиноасоційовані механізми і продукуванням біологічно активних субстанцій з імунорегуляторними властивостями [9]. Наприклад, екзометаболіти Bifidobacterum infantis та Lactobacillus acidophilus містять низькомолекулярну фракцію (10-15 кДа) з протизапальною дією [4]. Імуномодулююча дія притаманна також субклітинним компонентам пробіотичних бактерій. Наприклад, системна імуностимулююча дія ліпотейхоєвої кислоти бактерій штаму L. rhamnosus GG поширюється на імунітет шкіри і справляє канцеропротекторну дію, знижуючи ризик розвитку злоякісних пухлин, індукованих ультрафіолетом [4]. Застосування ПАМП бактерій нормофлори як альтернатива використанню живих клітин — перспективний напрям для корекції порушень імунологічної реактивності в ранньому дитинстві, коли імунна система ще не сформована.

Багато запальних захворювань, у патогенезі яких присутні порушення мікробіоти (астма, алергічний риніт, запальні захворювання кишечнику тощо), характеризуються циркадними ритмами, що є наслідком підпорядкування взаємодії ПАМП мікроорганізмів із ПРР у GALT циркадним ритмам експресії рецепторів різних типів [9].

Висновки. Модуляція імунологічної реактивності — один із важливих механізмів дії пробіотичних мікроорганізмів, що може бути покладений в основу диференційованого застосування пробіотичних засобів з метою профілактики і лікування захворювань. Стратегія ефективного застосування імуномодулюючої дії пробіотиків містить три складових: знання складу і функцій мікрофлори різних біотопів з урахуванням ентеротипу, вікових та індивідуальних особливостей, причин і характеру дисбіозів; оцінювання стану системної і локальної імунологічної реактивності, патологічних процесів, циркадної динаміки; аналіз і врахування механізмів дії пробіотичного (-их) мікроорганізму (-ів). Комплексна оцінка усіх складових дає змогу визначити характер необхідної імуномодуляції, склад пробіотиків та ФПХ та особливості їх застосування.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Kitazawa H.* Probiotics: Immunobiotics and Immunogenics / H. Kitazawa, J. Villena, S. Alvarez. — USA: CRC Press, 2013—412 p.

2. *King S.* Effectiveness of probiotics on the duration of illness in healthy children and adults who develop common acute respiratory infectious conditions: a systematic review and meta-analysis / S. King, J. Glanville, M.E. Sanders et al. — Br. J. Nutr. — 2014. — Vol. 112, № 1. — P. 41—54.

3. *Duca F.A.* Gut microbiota, nutrient sensing and energy balance / F.A. Duca, T.K. Lam. — Diabetes Obes. Metab. — 2014. — Vol. 16 Suppl. 1. — P. 68—76.

4. *Weng M.* The role of gut microbiota in programming the immune phenotype / M. Weng M., W.A. Walker — J. Dev. Orig. Health Dis. — 2013. — Vol. 4, № 3. — P. 203—214.

5. *Bushman, F.D.* Diet, gut enterotypes and health: is there a link? / F.D. Bushman, J.D. Lewis, G.D. Wu — Nestle Nutr. Inst. Workshop Ser. — 2013. — Vol. 77. — P. 65—73.

6. *De Kivit, S.* Regulation of Intestinal Immune Responses through TLR Activation: Implications for Pro- and Prebiotics / S. de Kivit, M.C. Tobin, C.B. Forsyth et al. — Front. Immunol. — 2014. — Vol. 5. — P. 61 — 67.

7. *Kamdar, K.* Toll-like receptor signaling and regulation of intestinal immunity. Virulence / K. Kamdar, V. Nguyen, R. DePaolo — 2013. — Vol. 4, № 3. P. 207—212.

8. *Albenberg, L.G.* Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease / L.G. Albenberg, G.D. Wu — Gastroenterology. — 2014. — Vol. 146, № 6. — P. 1564—1572.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ И МЕДИЦИНЕ

С.А. Старовойтова, А.В. Карпов
Национальный университет пищевых технологий

Рассмотрена возможность использования пробиотических микроорганизмов с иммуномодулирующими свойствами по совершенствованию качественных характеристик функциональных продуктов питания и пробиотиков. Приведены механизмы реализации иммуномодулирующих свойств пробиотическими микроорганизмами и представителями микробиоты.

Ключевые слова: *пробиотик, функциональные продукты питания, иммуномодулирующие свойства.*