

Вплив пробіотичної терапії на імунну систему людини

Вступ

Мікробіота супроводжує людину протягом усього життя і охоплює всі закутки її організму. Зокрема мікробіота травного тракту людини — надзвичайно складна біологічна екосистема, організована різними бактеріями, кількість яких сягає 10^{13} – 10^{14} (Vaiserman A.M. et al., 2017). Бактеріальне представництво в організмі людини не менше ніж у 10 разів перевищує кількість його власних клітин.

Не так давно вважали, що мікроорганізми є супутниками людини протягом її життя, але виявилось, що все набагато складніше. Мікробіота й організм людини — єдина система. Якщо геном людини — це загальний геном, геном мікробіоти — так званий метагеном, то геном мікробіоти і людини сьогодні вважають гологеномом, і людина за своєю суттю — голобіота. Встановлено, що розмір геному мікробіоти перевищує такий людини у 100–150 разів. Тож виникає запитання: який геном основний у цій системі голобіоти? Мікробіота має не просто складну, а надзвичайно складну організацію. За попередньою оцінкою спільний геном мікробіоти містить близько 3,3 млн генів. У мікробіоті співіснують щонайменше 1800 родів і приблизно 15–36 тис. видів бактерій, основними з яких є:

- *Firmicutes*, переважно клостридії та еубактерії (64%);
- *Bacteroidetes* (23%);
- *Proteobacteria* (8%);
- *Actinobacteria* (3%);
- *Fusobacteria* (<2%);
- *Verrucomicrobia* (<1%) (Qin J. et al., 2010).

Понад 80% представників мікробіоти травного тракту людини не ростуть на поживних середовищах. Це некультивовані бактерії, які не можуть бути ідентифіковані звичайними культуральними методами (Morgan X.C., Huttenhower C., 2014).

Головне на сьогодні розуміння того, що вся сукупність бактерій, які живуть разом із людиною, зумовлюють її життя, функціонування всіх органів та систем.

Ентеротипи

На основі вивчення вмісту різних груп бактерій у мікробіоті травного тракту M. Arumugam та співавтори (2011), що представляють Європейську молекулярну біологічну лабораторію (European Molecular Biology Laboratory — EMBL), Гайдельберг, Німеччина, виокремили три основні ентеротипи, асоційовані з домінуванням одного з родів мікроорганізмів — *Bacteroides*, *Ruminococcus* чи *Prevotella*. Вважають, що в кожній людині становлення мікробіоти відбувається таким чином, що виробляється особливий тип мікробіоти, залежно від генотипу. Залежно від того, які мікроби переважають, змінюється дигестія травного тракту, переважає цукролітична, ліполітична чи протеолітична активність. Різні ентеротипи мікробіоти травного тракту використовують різні шляхи бродіння харчових субстратів у товстому кишечнику.

Зокрема ентеротип 1 характеризується високим вмістом представників філіуму *Bacteroides*, які асоційовані з бактеріями родів *Parabacteroides*, *Clostridiales* і *Catenibacterium*. Бактерії цього ентеротипу мікробіоти травного тракту вирізняються високим цукролітичним та протеолітичним потенціалом за рахунок високого вмісту генів, що кодують такі ферменти, як галактозидази, гексозамінідази, протеази. В осіб з ентеротипом 1 зазначають вищий вміст бактеріальної 5-гідроксиізоурат-гідролази, яка бере участь у метаболізмі сечової кислоти.

Ентеротип 2 відрізняється значним підвищенням представництва анаеробних грамотригативних бактерій *Prevotella* і *Desulfovibrio*. З ентеротипом 2 також асоційовані бактерії *Lactobacillus*, *Dorea* і *Coprococcus*. Ферменти бактерій *Prevotella* і *Desulfovibrio* можуть синергічно брати активну участь у деградації муцинових глікопротеїнів, наявних у слизовому шарі кишечника. Відмінною ознакою цього ентеротипу є відсутність ферментів пентозофосфатного шляху перетворення глюкози. Ентеротип 2 асоційований із підвищеним вмістом транспортних систем для глутатіону, деяких цукрів і амінокислот із розгалуженим ланцюгом (лейцину, ізолейцину та валіну), що, ймовірно, зумовлює високий рівень ефективності поглинання поживних речовин із позаклітинного середовища. У людей із ентеротипом 2 відзначають суттєво вищі рівні сечової кислоти, ніж у людей з ентеротипом 1. Ентеротип 2 зумовлює прихильність до розвитку подагри.

Ентеротип 3 характеризується високим вмістом представників роду *Ruminococcus* і наявністю супутніх їм бактерій *Akkermansia*, *Gordibacter*, *Ruminococcaceae*, *Staphylococcus*, *Martiniobryantia*, *Symbiobacterium* і *Dialister*. Бактеріальні представники роду *Ruminococcus* і *Akkermansia* здатні руйнувати муцин. Деякі бактерії цього роду беруть участь у розщепленні полісахаридів (крохмалю) і целюлози, тому підвищується рівень всмоктування вуглеводів. Це може спричинити розвиток цукрового діабету. Наявність бактерії *Akkermansia muciniphila* знаходиться в обернено пропорційному співвідношенні з масою тіла, тому ентеротип 3 впливає і на масу тіла, і на інші показники фізичного розвитку (Arumugam M. et al., 2011; Vieira-Silva S. et al., 2016; Isokpehi R.D. et al., 2017).

Механізми дії пробіотиків

Протеолітичні бактерії беруть участь у роботі практично всіх функціональних систем організму, зокрема у перетравленні їжі, біоконверсії, продукції біологічно активних речовин, вступають у антагонізм з інфектами, перешкоджають взаємодії останніх з рецепторами, підвищують активність щільних контактів, тим самим змінюючи парацелюлярну проникність слизової оболонки, мають протизапальну активність практично протягом усієї слизової оболонки як респіраторного, так і травного тракту.

Вплив на експресію генів

Останнім часом показано, що бактерії, які співіснують з організмом людини, впливають не лише на функціонування систем органів, але й на експресію генів ентероцитів та імунної системи. Зокрема встановлено, що *Bifidobacteria* впливають на гени, які зумовлюють експресію прозапальних цитокинів, *Clostridium* впливають на гени як прозапальних цитокинів, зокрема інтерлейкіну (interleukin — IL)-8 та -6, так і експресію образ-розпізнавальних рецепторів, *Lactobacillus* — практично на весь комплекс прозапальних цитокинів, молекул адгезії, тол-подібних рецепторів (toll-like receptor — TLR) (табл. 1).

Таким чином, вплив пробіотичних бактерій і бактерій мікробіому людини регулює експресію і вироблення усіх біологічно активних речовин, які зумовлюють розвиток і перебіг імунної реакції на той чи інший антиген. Загалом бактерії як травного тракту, так і пробіотичні бактерії зумовлюють активність усього спектра імунітетів, переважно через вплив своїми патогенасоційованими молекулярними структурами на образ-розпізнавальні рецептори, такі як TLR, NOD-подібні рецептори. Якщо патогенні бактерії посилюють запальну реакцію, володіють прозапальним потенціалом,

Таблиця 1. Гени ентероцитів, чутливі до дії *Bifidobacteria*, *Clostridium* та *Lactobacillus* (Plaza-Diaz J. et al., 2014)

Пробіотичний штам	Чутливі гени
<i>Bifidobacteria</i>	IL12p40, IL-1 β , TNF- α , SOCS1
<i>Bifidobacterium</i> strains	NF- κ B-активація, IL-8, TNF- α , COX-2, ICAM-1
<i>Clostridium butyricum</i>	IL-8, IL-6, TNF- α
<i>Clostridium butyricum</i> TO-A	TLR-4
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Гени компонентів NF- κ B-асоційованого сигнального шляху IFN, TLR-3, IL-12, IL-10, TGF- β
<i>Lactobacillus casei</i>	IFN- γ , IL-2
<i>Lactobacillus casei</i> Zhang	TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-9
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	TLR-4, p38, I κ B
<i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> FC	IL-8

TNF (tumor necrosis factor)- α – фактор некрозу пухлини- α ; SOCS1 (suppressor of cytokine signaling 1) – білок-негативний регулятор транскрипції генів; NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) – транскрипційний фактор- κ B; COX (cyclooxygenase)-2 – циклооксигеназа-2; ICAM (inter-cellular adhesion molecule)-1 – молекула клітинної адгезії-1; IFN (interferon) – інтерферон; TGF (transforming growth factor)- β – трансформуючий фактор росту- β .

то пробіотичні, навпаки, пригнічують активність прозапальних реакцій, особливо Th₂-асоційованих.

Вплив пробіотиків на функціональну активність імунітетів збалансований: з одного боку, вони підвищують активність механізмів, які сприяють елімінації патологічних інфекцій, з іншого — пригнічують механізми, що призводять до розвитку як низько- так і високоактивного запального процесу (рис. 1). Пробіотики особливо виражено впливають на слизову оболонку кишечника, зумовлюючи розвиток мукозальної імунної відповіді. Усі пробіотичні бактерії впливають таким чином, що знижують механізми відповіді, пов'язані з синтезом IgE, і підвищують активність синтезу IgG, тим самим зумовлюючи високу ефективність розвитку після-інфекційного імунного захисту.

Загалом усі пробіотичні бактерії виконують дві головні функції, регулюючи імунну відповідь. З одного боку, вони підвищують ефективність елімінації інфекційних агентів та їх антигенів, з іншого — пригнічують активність запального процесу, тим самим запобігаючи розвитку різних ускладнень, асоційованих із запаленням (Dargahi N. et al., 2019). Встановлено, що пробіотичні бактерії, які потрапляють у травний тракт, не обмежують свого впливу лише на нього. Їхній вплив зареєстрований і поза травним трактом, зокрема в респіраторному тракті (рис. 2 і 3).

Бактерії *Bacillus clausii*

На сьогодні одним із найважливіших питань у розумінні пробіотичної терапії є вибір того чи іншого пробіотичного засобу. Окреме місце серед усіх пробіотиків займають спорутоворювальні бактерії, зокрема *Bacillus clausii*. Це — одна з найбільш вивчених пробіотичних бактерій. За останні 25 років вивчення цієї бактерії спостерігають невпинний зріст інтересу до неї, пов'язаний з особливостями її багатфункціонального впливу і безпекою застосування (Elshagabee F.M.F. et al., 2017). У багатьох країнах розроблено препарати, які містять ті чи інші штами *Bacillus*.

Bacillus clausii займає невелику частку в родині *Bacillus*. Але ця бактерія володіє надзвичайно стійким профілем безпеки. Вивчення метаболома *Bacillus clausii* показало, що ця бактерія не виробляє ніяких біологічно активних речовин, які могли б нанести будь-яку шкоду макроорганізму. Тому ця бактерія — одна з найбезпечніших пробіотичних бактерій.

S. Di Caro та співавтори (2005) оцінили характер експресії генів ентероцитів слизової оболонки кишечника здорових людей на фоні застосування *Bacillus clausii*. Встановлено, що остання активує 158 і пригнічує 265 генів ентероцитів кишечника. *Bacillus clausii* переважно впливає на експресію генів, які беруть участь в імунній відповіді та запаленні, апоптозі, клітинному рості, диференціації клітин, міжклітинній сигналізації, клітинній адгезії, трансдукції внутрішньоклітинного сигналу і транскрипції генів. З одного боку, *Bacillus clausii* регулює активність синтезу протеїнів, які посилюють активність запалення (IL-1 β , IL-6, IL-13, Hsp40, протеоглікану 2, сіалофорину, катепсину S, β -дефензину 126, цистеїнбагатого протеїну 1, Н-фактора 1, рецептора TNF, рецептора IL-15, соматомедину С, активатора глікогену). З іншого боку, сприяє пригніченню багатьох інтерлейкінів, які зумовлюють ак-

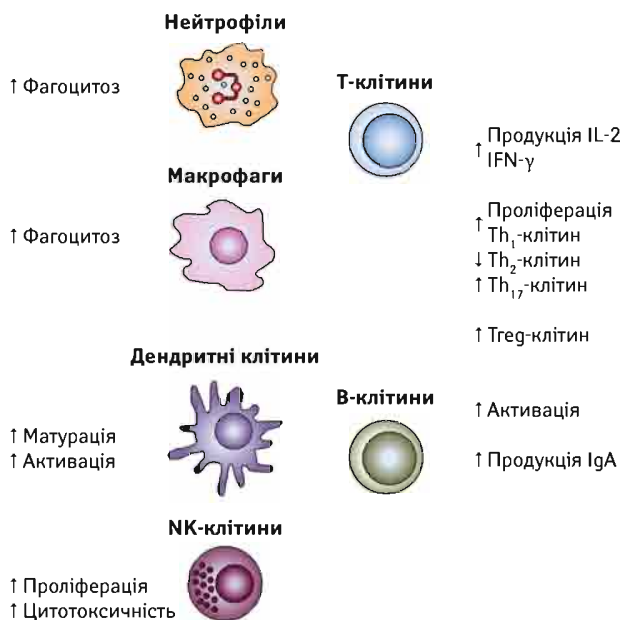


Рис. 1. Вплив пробіотиків на функціональну активність імунітетів (Wu D. et al., 2018)

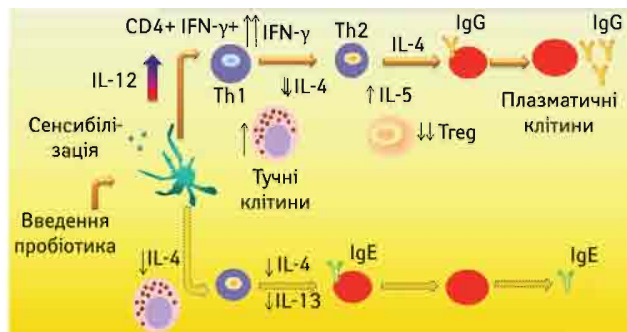


Рис. 2. Вплив пробіотиків на імунну систему в респіраторному тракті (Maldonado Galdeano C. et al., 2019)

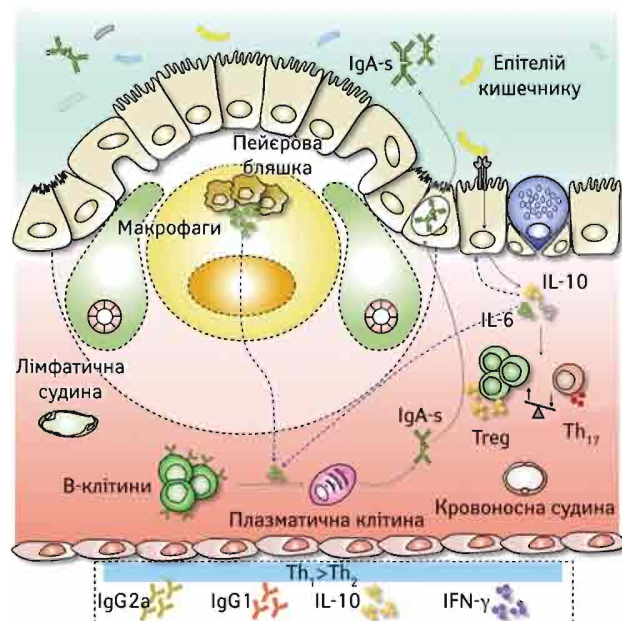


Рис. 3. Вплив пробіотиків на імунну систему у кишечнику (Maldonado Galdeano C. et al., 2019)

тивність запалення. Зокрема одними з перших молекулярних компонентів, які реагують на патогени, є образ-розпізнавальні рецептори, центральне місце серед яких займають TLR. *Bacillus*

clausii активно впливає на експресію останніх. Залежно від часу інфекційного процесу змінюється й активність *Bacillus clausii*: на початку захворювання вони сприяють пригніченню, у більш пізній час — підвищенню активності експресії TLR5 і TLR9 (табл. 2).

Таблиця 2. Вплив *Bacillus clausii* на експресію TLR, інтерлейкінів, інтерферонів та дефензинів макрофагами (Pradhan B. et al., 2016)

Ген	Застосування <i>Bacillus clausii</i>			
	Години			
	1	2	3	4
TLR5	-1,16	1,54	1,52	1,85
TLR9	1,48	1,50	1,30	1,33
IL-10ra	1,65	1,74	1,57	1,40
IL-12rb2	1,48	1,10	1,85	1,10
IL-15ra	-2,76	-2,09	2,79	-1,63
IL-16	1,68	1,21	2,73	1,33
IL-17β	1,14	-1,01	1,97	1,11
IL-17d	1,70	-1,56	1,14	1,40
IL-17rd	1,33	3,87	1,07	1,27
IL-5	-1,66	-5,06	-2,49	-2,34
IFNα12	-1,04	1,46	1,86	1,35
IFNα2	6,76	1,96	1,20	1,04
IFNι1	1,55	1,14	4,30	2,35
Defα-rs12	1,44	-1,14	2,74	1,64
Defβ10	1,04	1,17	1,15	3,92
Defβ15	1,50	1,45	3,10	2,17
Defβ34	1,44	1,41	2,87	2,04
Defβ35	1,12	4,19	7,31	2,80
Defβ38	1,07	1,85	1,53	1,38
Defβ39	1,42	2,14	1,20	1,07

Становить інтерес вплив *Bacillus clausii* на синтез прозапальних інтерлейкінів. TLR посилюють експресію прозапальних інтерлейкінів на початку і протизапальних — наприкінці захворювання. Введення бактерій *Bacillus clausii* сприяє зниженню рівня прозапальних цитокінів IL-6, IL-17, IFN-γ і TNF-α, а також підвищенню рівня протизапального цитокіну IL-10 наприкінці захворювання, тим самим знижуючи активність запалення, тривалість запального процесу і, звичайно, ускладнення і негативні явища, асоційовані з процесом запалення (див. табл. 2) (Di Caro S. et al., 2005; Dar H.Y. et al., 2018). Таким чином, вплив *Bacillus clausii* модулює перебіг запального процесу під час інфікування. *Bacillus clausii* активно впливає на продукцію інтерферонів макрофагами, тим самим змінює противірусну відповідь, посилюючи її активність на початку захворювання і сприяючи швидкому її припиненню (див. табл. 2) (Honda K., Taniguchi T., 2006; Pradhan B. et al., 2016).

Bacillus clausii впливає на експресію хемокінів макрофагами, тим самим змінюючи запальну відповідь. Посилення рекрутингу прозапальних імунітетів на початку захворювання — найголовніший клітинний фактор, який зумовлює елімінацію як бактеріальних, так і вірусних агентів (рис. 4).

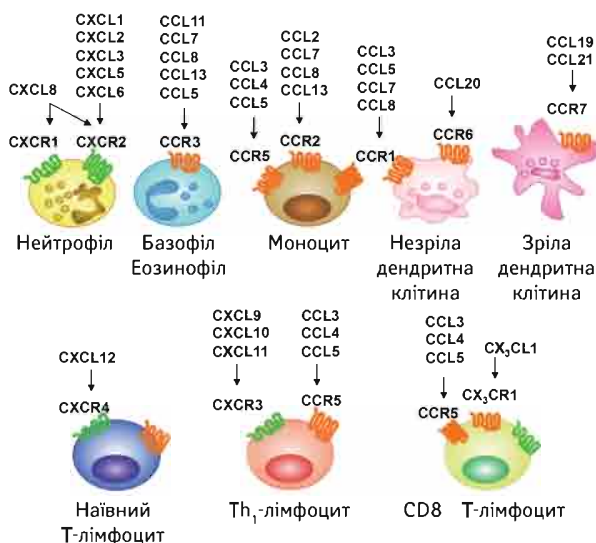


Рис. 4. Вплив *Bacillus clausii* на експресію хемокінів (Matsushima K. et al., 2011)

Встановлено, що *Bacillus clausii* посилює продукцію таких протимікробних пептидів, як дефензини, у різний час після стимуляції, активуючи експресію не одного, а декількох дефензино-

вих генів. Це зумовлює рівень антибактеріального і певною мірою — противірусного захисту, оскільки дефензини реагують на інфект у перші хвилини після інфікування. Чим вищий рівень первинного синтезу β-дефензинів, тим нижча ймовірність розвитку системного інфекційного процесу. Вже до 6-ї години після застосування *Bacillus clausii* ефект щодо експресії дефензинів практично досягає максимуму (див. табл. 2) (Di Caro S. et al., 2005; Pradhan B. et al., 2016).

Вважають, що *Bacillus clausii* посилює активність продукції дефензинів за рахунок впливу патогенасоційованих молекулярних структур на TLR макроорганізму.

Bacillus clausii не лише залучає прозапальні клітини, але й сприяє диференціюванню Т-лімфоцитів у так звані Т-регулюючі клітини, які є найпотужнішими протизапальними клітинними структурами.

Висновки

Таким чином, одразу після застосування *Bacillus clausii* відбувається підвищення, а з часом — пригнічення активності прозапальних імунних механізмів. Індукція прозапальної реакції у ранній період дії та активація протизапальних механізмів у пізніший час інфекційного процесу відповідають фазам його розвитку, спричиненого патогенними агентами. Така модуляція імунної системи дозволяє вважати *Bacillus clausii* оптимальним кандидатом для відновлення фазового профілю цитокинових змін при інфекційному процесі. *Bacillus clausii*-асоційована експресія декількох типів дефензинів та IFN1 зумовлює посилення антибактеріальної та противірусної відповіді (Dar H.Y. et al., 2018).

Список використаної літератури

- Arumugam M., Raes J., Pelletier E. et al. (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346): 174–180.
- Dar H.Y., Pal S., Shukla P. et al. (2018) *Bacillus clausii* inhibits bone loss by skewing Treg-Th17 cell equilibrium in postmenopausal osteoporotic mice model. *Nutrition*, 54: 118–128.
- Dargahi N., Johnson J., Donkor O. et al. (2019) Immunomodulatory effects of probiotics: can they be used to treat allergies and autoimmune diseases? *Maturitas*, 119: 25–38.
- Di Caro S., Tao H., Grillo A. et al. (2005) *Bacillus clausii* effect on gene expression pattern in small bowel mucosa using DNA microarray analysis. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 17(9): 951–960.
- Elshagabee F.M.F., Rokana N., Gulhane R.D. et al. (2017) *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. *Front. Microbiol.*, 8: 1490.
- Honda K., Taniguchi T. (2006) IRFs: master regulators of signalling by Toll-like receptors and cytosolic pattern-recognition receptors. *Nat. Rev. Immunol.*, 6(9): 644–658.
- Isokpehi R.D., Simmons S.S., Johnson M.O., Payton M. (2017) Genomic evidence for bacterial determinants influencing obesity development. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 14(4): E345.
- Maldonado Galdeano C., Cazorla S.I., Lemme Dumit J.M. et al. (2019) Beneficial effects of probiotic consumption on the immune system. *Ann. Nutr. Metab.*, 74(2): 115–124.
- Matsushima K., Terashima Y., Toda E. et al. (2011) Chemokines in inflammatory and immune diseases. *Inflamm. Regen.*, 31(1): 11–22.
- Morgan X.C., Huttenhower C. (2014) Meta'omic analytic techniques for studying the intestinal microbiome. *Gastroenterology*, 146(6): 1437–1448.
- Plaza-Diaz J., Gomez-Llorente C., Fontana L., Gil A. (2014) Modulation of immunity and inflammatory gene expression in the gut, in inflammatory diseases of the gut and in the liver by probiotics. *World J. Gastroenterol.*, 20(42): 15632–15649.
- Pradhan B., Guha D., Ray P. et al. (2016) Comparative analysis of the effects of two probiotic bacterial strains on metabolism and innate immunity in the RAW 264.7 murine macrophage cell line. *Probiotics Antimicrob. Proteins*, 8(2): 73–84.
- Qin J., Li R., Raes J. et al. (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464(7285): 59–65.
- Vaiserman A.M., Koliada A.K., Marotta F. (2017) Gut microbiota: a player in aging and a target for anti-aging intervention. *Ageing Res. Rev.*, 36–45.
- Vieira-Silva S., Falony G., Darzi Y. et al. (2016) Species-function relationships shape ecological properties of the human gut microbiome. *Nat. Microbiol.*, 1(8): 16088.
- Wu D., Lewis E.D., Pae M., Meydani S.N. (2018) Nutritional modulation of immune function: analysis of evidence, mechanisms, and clinical relevance. *Front. Immunol.*, 9: 3160.

ТЕСТОВІ ЗАПИТАННЯ

(один або декілька правильних варіантів відповідей на кожне запитання)

1. Скільки виділено ентеротипів травного тракту?

- 2
- 3
- 5

2. За принципом домінування яких родів мікроорганізмів виділено ентеротипи травного тракту?

- *Bacteroides*
- *Ruminococcus*
- *Prevotella*

3. Які імунomodуючі ефекти пробіотиків?

- запобігання та/чи зниження вираженості інфекцій респіраторного тракту, урогенітальних та інфекційних захворювань
- запобігання та/чи зниження вираженості алергічних захворювань у дітей
- зниження концентрації канцерогенних ензимів і/або гнильних (бактеріальних) метаболітів у кишечнику
- запобігання та/чи зниження вираженості й тривалості ротавірусної та антибіотикасоційованої діареї, а також зниження проявів непереносимості лактози
- усі відповіді вірні

4. Згідно з дослідженням S. Di Caro та співавторів (2005), скільки генів ентероцитів кишечника *B. clausii* активує і скільки пригнічує?

- активує 158, пригнічує 265

- пригнічує 158, активує 265

5. Чи сприяє введення бактерій *B. clausii* зниженню рівня концентрації прозапальних цитокінів і TNF- α ?

- так
- ні

6. Чи сприяє введення бактерій *B. clausii* підвищенню рівня вмісту протизапального цитокіну IL-10?

- так
- ні

7. Що зумовлює противірусну дію *B. clausii*?

- посилення продукції IFN- α_2
- пригнічення продукції IFN- α_2

8. Який вплив *B. clausii* на диференціювання T-лімфоцитів?

- збільшення представництва Th₁₇-клітин і зниження вмісту Treg-клітин
- збільшення представництва Treg-клітин і зниження вмісту Th₁₇-клітин

9. Чи посилює *B. clausii* продукцію β -дефензину 126?

- так
- ні

Для отримання сертифіката дайте відповідь на тестові запитання в режимі on-line на сайті журналу www.umj.com.ua або надішліть ксерокопію сторінок з відповідями разом з контактною інформацією за адресою: 01001, Київ-1, а/с «В»-82, ТОВ «МОРІОН»

КОНТАКТНІ ДАНІ:

ПІБ _____
 Поштова адреса: індекс _____
 область _____
 район _____
 місто _____
 вулиця _____
 будинок _____
 квартира _____
 Телефон _____
 E-mail _____