

УДК 612.3.6.31

**Маслянюк Р.П.**, д.б.н., професор, **Куртяк Б.М.**, д.вет.н., професор  
**Пундяк Т.О.**, аспірант ©

*Львівський національний університет ветеринарної медицини  
та біотехнологій імені С. З. Гжицького*

## **СІМБІОТНА МІКРОФЛОРА КИШЕЧНИКА: СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ**

*Симбіотна мікрофлора запобігає колонізації кишечника людини і тварини чужою мікрофлорою: ферменти мікробів розщеплюють клітковину, білки, жири, крохмаль, синтезують вітаміни групи В, амінокислоти, холестерин і інші речовини. Продукти мікробного метаболізму - коротколанцюгові жирні кислоти стимулюють моторику кишечника та ефективні при окремих захворюваннях кишечника. Терапія бактеріями може модулювати імунну систему та пригнічувати хімічну сигналізацію патогенних мікробів. Пробиотики та функціональне живлення складають перспективний напрямок профілактики та лікування кишкових інфекцій. Важливою функцією пробиотиків є підтримка на нормальному рівні імунну систему організму.*

**Ключові слова:** мікробіота кишечника, регуляція мікрофлори, дисбіоз, пробиотики, симбіотики.

Початок вчення про корисний вплив мікробів на організм людини поклав наш славетний співвітчизник, лауреат Нобелівської премії І.І.Мечніков. Він вважав, що мікроорганізми які, заселяють кишечник у значній мірі здатні регулювати духовне і фізичне здоров'я людини. Пізніше А.М.Уголев у створеній парадигмі живлення значне місце в забезпеченні нормальної трофіки організму відводив фізіологічним функціям мікрофлори. Він сформував уявлення про ендоекологію як еволюційно закріплену форму існування більшості багатоклітинних організмів. Для А.М.Уголева беззаперечним був той факт, що існування надзвичайно складної екосистеми, пристосованої для життя в організмі господаря, виявляє значний вплив на його здоров'я. Одним із доказів цього припущення наших класиків науки було широке застосування пробиотичних бактерій для лікування та профілактики захворювань людини і тварини.

Мікрофлора (мікробіота) знаходиться в симбіотичному зв'язку з організмом господаря. В процесі еволюції мікроби набули в кишечнику оптимальні умови для свого існування з потрібним набором поживних речовин, а всі хребетні організми забезпечили себе додатковим (мікробним) типом травлення, що дало можливість використовувати продукти метаболізму мікробів для свого життєзабезпечення та захисту від патогенної мікрофлори.

Згідно сучасних даних, отриманих, за допомогою молекулярно-генетичних досліджень, встановлено, що організм людини є середовищем

локалізації більше 2000 відомих видів бактеріальної мікрофлори лише 100 із них відносяться до патогенних [3]. Кількість кишкової мікрофлори складає приблизно  $18^{14}$  КОЕ з біомасою більш 2,5 кг [3,4]. Кількісний і якісний склад мікробіоти стабільний незалежить від локалізації. Він коливається від  $10^{11}$  КОЕ в сліпій і товстій ободовій кишці до  $10^7 - 10^8$  в дистальному відділі повздожньої кишки і до  $10^2 - 10^3$  в дистальному відділі повздожньої і тонкої кишок.

Бактеріальна спільнота в звичайній мірі представлена анаеробами, їх на декілька видів порядків більше, ніж аеробів: 60-90% мікробіоти представлені біфідобактеріями та фузобактеріями [3]. У новонароджених організмів кишечник стерильний, але дуже швидко заселяється під контролем імунної системи приблизно однаковим складом мікробіоти, хоча між окремими індивідуумами можливі певні різниці [5].

Мікробіота розташовується у просвіті кишечника на зовнішньому боці епікальної мембрани епітеліоцитів і у при мембранному шарі слизу. Якщо розтягнути внутрішню поверхню кишечника дорослої людини до епітеліоцита, то площа цієї поверхні сягає 300-400 м<sup>2</sup> [6]. Вся ця величезна поверхня заселена не менш вразливою кількістю МО, яка на порядок перевищує загальне число клітин, які утворює організм дорослої людини чи тварини. Більшість живих мікробів прикріплена до епітелію за допомогою адгезивних зв'язків. Епітеліальний шар слизової оболонки (СО) кишечника поряд з травно-транспортною функцією забезпечує захист внутрішнього середовища організму від зовнішнього впливу (просвіт кишок). Цей бар'єр створюється структурними, ферментними та хімічними засобами захисту [7,8]. Порушення кишкового бар'єру представляє реальну загрозу розвитку сепсиса та хронізації запальних процесів [9].

Апікальна мембрана представляє собою пористу поверхню, утворену мікроворсинками, глікокаліксом і покриваючим їх шаром слизу. Мікрофлора зміцнює трофіку епітеліоцитів і бар'єрну функцію СО кишечника [29].

Контроль за різновидними функціями мікрофлори організм людини і тварини здійснює за допомогою природного та адаптативного імунітету. Кишка оснащена системою трансмембранних Toll - подібних цитоплазматичних NOD-подібних рецепторів [11]. Вони охороняють компартменти епітеліоцитів від надходження в кишечник МО шляхом селективного розпізнання та зв'язування ліпополісахаридів (ЛПС) флагеліну, пептидогліканів та агресивних бактеріальних антигенів. В захисті від патогенів забезпечують пептиди з антимікробним властивостями, підтримуючи стерильність в криптах [14].

Природжена імунна система кишечника завдяки розпізнавальним рецепторам (РР), по-різному реагує на присутність симбіотичних і патогенних мікробів. Симбіотична мікрофлора не викликає репресії РР, що регулярно спостерігається у відповідь на появу патогенних мікробів, що пояснюється супресорним ефектом транскрипційних TLR [26].

Епітеліоцити товстих кишок також регулюють імунну відповідь пригнічуючи експресію TLR в присутності сапрофітної мікрофлори і, навпаки, посилюють ці ефекти при появі патогенної загрози [18].

Недавно вдалося виділити захисні білки симбіотичних лактобактерій і виконуючих унікальні сигнальні функції в клітинах організму – господаря. В результаті створюються передумови для розробки нових лікарських препаратів на основі цих білкових продуктів бактеріальної природи.

На дистальному відділі клубової кишки зосереджена основна частина лімфоїдної тканини, яка асоціюється з кишечником (gut-associated lymphoid tissue- (GALT)). Вона представлена паєровими бляшками та забезпечує імунну відповідь СО кишечника присутність мікрофлори. Паєрові бляшки по суті є лімфовузлами СО кишки. Вони покриті епітеліальними клітинами особливого типу, названі М- клітинами, та представляються локальним стовбуровим клітинам, що знаходяться у пайєрових бляшках. В результаті утворюються популяції Т-хелперних (CD4<sup>+</sup>) лімфоцитів [28].

Стимуляція імунної відповіді можлива шляхом розпізнання полісахаридів, які знаходяться в оболонках бактерій. Полісахарид А (*Bacteroidis Fragilis*) розпізнається стовбуровими клітинами та стимулюють збільшення числа Т-клітин, які володіють здатністю пригнічувати активність інфекційного та хімічного коліту [24].

Адаптивний (набутий) імунітет СО кишок забезпечує гуморальну і клітинно-опосередковану відповідь проти харчових і мікробних антигенів. Цей вид імунітету вибірково впливає на конкретні антигени з якими організм-господар раніше не зустрічався.

Так, імунна система СО кишки (GALT) здатна впливати на харчові антигени. В результаті повторного контакту з цими антигенами імунна реакція не викликається, як це було при першому контакті [16]. Як вже відмічалось, природжені імунні реакції, що здійснюються за допомогою ОРР, розпізнають різні МО, та відповідають на них незалежно від минулого контакту [25].

Другий механізм, який відносяться до адаптивного імунітету: СО - гуморальний імунітет, який здійснюється через секреторний імуноглобулін А (IgA). Імунна відповідь здійснюється шляхом представлення антигена В – лімфоцитам і обмежується границями GALT популяція Т – гелперів (CD4<sup>+</sup>) знижена, але по мірі проліферації цих клітин GALT досягає нормальних параметрів протягом декількох тижнів [24].

Нормальна мікрофлора потрібна для синтезу ІЛ-17, ПНФ-1, щоб інгібувати експресію ІЛ-23 та наступний синтез про запальних ІЛ-17, ПНФ-1 і Т - гелперів [33].

Нормальна мікрофлора розвивається в основному в анаеробних умовах і джерелом енергії для її життєзабезпечення служить бродіння вуглеводів, які знаходяться у харчових волокнах. В процесах бродіння утворюються такі коротко – ланцюгові жирні, кислоти (КЖК), як масляна, оцтова, пропіонова та янтарна. Усі вони служать джерелом енергії для епітеліоцитів кишечника [23,24]. Особливо активну участь у синтезі енергоємних продуктів бродіння

беруть біфідобактерії та клостридії, як це було показано в дослідях на мишах і людях [15,30].

Отже, КЖК є головним джерелом енергії для організму і їх доцільно використовувати в лікуванні запальних процесів ШКТ, що було показано в дослідях [31].

Важливим методом терапії запальних процесів ШКТ є забезпечення пацієнтів, зокрема епітеліальних клітин їх кишечника, пробіотиками та пребіотиками. До пробіотиків відносять препарати до складу яких входять живі МО, а до пребіотиків різні фруктополісахариди, лактоза, лізоцим, інулін і ін. [2]. Доповнення раціонів пребіотиками збільшує концентрацію КЖК в кишечнику і тим самим поліпшує його анатомічну структуру та моторно-евакуаційну функцію.

Пребіотики можна доставляти в організм в складу симбіотиків, включаючи живі пробіотичні бактерії та комплексні добавки, що використовують мікробіотою в якості джерела енергії та росту.

На кінець, для лікування ШКТ можна застосувати пробіотики – деревати (постбіотики) – селективні компоненти метаболізму бактерій – масляну та інші КЖК, а також не життєздатні бактеріальні клітини, компоненти їх клітинної стінки та ДНК [48]. В тих випадках можна уникнути ризику розвитку сепсису та інших потенційних ускладнень, званих з терапією пробіотиками. Особливо це стосується хворих з порушеною бар'єрною функцією кишечника [12]. Результати численних досліджень нормальної мікрофлори кишечника свідчать про те, що при порушенні функціонування симбіотичної системи господар - мікробіоти у відновленні функцій терплять обидві підсистеми і вирішальне значення при цілеспрямованій терапії можуть відігравати як ті чи інші пробіотичні препарати, а також низько молекулярні мікробні сигнальні екзометаболіти, які регулюють міжмікробні та молекулярно-клітинні взаємовідносини за принципом "відчуттям кворому" та "cross taking" [9,32].

На завершення слід відзначити, що про біотичні препарати не можуть повністю відповідати різноманітності людської чи тваринної мікрофлори та продуктам живлення. Тим не менш вони мають неоціненні переваги перед традиційними фармакологічними засобами, що застосовуються в лікуванні запальних хвороб кишечника, систематичних аутоімунних і алергічних і метаболічних порушень (відсутність побічних ефектів і ін.). Вже наявний клінічний досвід успішної терапії профілактики вірусного гастроентериту, асоційованого з антибіотиками діареї, алергії у дітей, некротичного ентероколіту та хвороби Крона [12,29].

Таким чином, в даний момент отримано дані про молекулярні основи колонізаційної резистентності ШКТ, молекулярно-клітинні механізми захисної дії мікробіоти та терапевтичного ефекту пробіотичних препаратів. По мірі розширення наших уявлень про кишкову мікробіоту стануть більш очевидними три напрями реалізацій знань. По-перше необхідно оберігати власну мікробіоту від шкідливих факторів зовнішнього середовища. По-друге, слід продовжити вивчення якісних і кількісних характеристик мікробіоти, що використовується

для створення лікарських препаратів і продуктів функціонального живлення. В третій потрібно створювати нові пробіотики та інші форми біопрепаратів, орієнтуючись на різновидні типи симбіотичної кишкової мікрофлори.

#### Література

1. Ардатская М.Д. дисбактериозы кишечника: эволюция взглядов, современные принципы диагностики и фармакологической коррекции /М.Д. Ардатская// Гастроэнтерология.-2006.-№2.-С 4-11.
2. Бондаренко В. М. Прибиотические и противоиные действия лактулозо содержащих/ Бондаренко В. М.// форматика -2004.-№.//.-С 20-30.
3. Бондаренко В.М. Метаболитные пробиотикит: механизмы терапевтического эффекта при микробиологических нарушениях Consilium Medicum /В. М. Бондаренко// Гастроэнтерология.-2005.-Ж.7, С.437-443.
4. Бондаренко В.М. Характеристика и терапевтический потенциал пробиотиков по данным клинических испытаний / В.М. Бондаренко // Биопрепараты.-2007.-Ж.1, - С.11-15.
5. Бондаренко В.М. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы / В.М.Бондаренко ,Т.В.Матулевич // М.-ТЕОТАР.-медиа.-2007.
6. Бондаренко В.М. Микробный фактор и подобные рецепторы в патогенезе атеросклероза / В М Бондаренко; В Г Лиходед // ЖМИ.-2009.- №6.- С 107-112.
7. Бондаренко В.М. Взаимодействие кишечной микрофлоры с Toll-подобными рецепторами в норме и патологии / В.М.Бондаренко, В.Г.Лиходед // Иммунология.-2009.-№5.-С.317-320.
8. Бондаренко В.М. Роль дисфункции кишечного барьера в поддержании хронического воспалительного процесса различной локализации / В.М. Бондаренко, Е.В. Рябченко // ЖМСИ.-2010.-№1. – С. 92-100.
9. Бондаренко В.М. Молекулярно – клеточные механизмы терапевтического действия пробиотиков / В.М. Бондаренко // Биопрепараты.-2010.-№1.– С. 31-34.
10. Маслянко Р.П. Роль умовно – патогенної мікрофлори в інфекційній патології кишечника / Р.П. Маслянко, Л.Я. Божик // Наук. вісник ЛНУВМ та БТ. – 2011, т.13 (48), №2, С. 142-149.
11. Маслянко Р.П. Мікробіоз кишечника та імунітет у тварин / Р.П. Маслянко, Л.Я. Божик, М.С. Романович // Наук. вісник ЛНУВМ та БТ. – 2011, т.13 (50), №4, С. 134-140.
12. Парфенов А.И. Єнтерология / А.И. Парфенов // М. МНА. – 2009.
13. Уголев А.М. Єнзиматический барьер тонкой кишки / А.М. Уголев // Физиол. журн. им И.М. Сеченова. – 1992. – 78 (8). С. 1-20.
14. Ahabe T. Suretion of microcibidol alpha-definsis by intestes tinal Paneth cells in response to bacteria / Т. Ahabe, D.P.Satchel // Nat. Immunol. – 2000. v.1. – P.113-118.
15. Bergman E. Energy contribution of volitle fatty acid from the gastro intestinal tract in varions species / E. Bergman // Physiol.Rev. – 1999. – v.79. – P.567-572.

16. Cooper M.D. The evolution of adaptive immune systems / M.D.Cooper, M.N.Alder // *Cell*. – 2006. v.124. – P.815 – 822.
17. Eckurg P.B. Diversity of the human intestinal microbial flora / P.B. Teckurg // *Scitnce*. – 2005. – v.308. – P.1635 – 1638.
18. Kelly D. commensal gut bacteria: mechanisms of immune modulation / D. Kelly, S.Convey // *Trends Immunol.* – 2005. – v.26. – P.326 – 333.
19. Lebber S. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action / S.Lebber, J. Yanderleiden // *Mirobiol. Med.Biol.Rev.* – 2008. – v.72. – P.728 – 764.
20. Leukotter M.G. Role of the Intestinal barrier of inflammatory bowel disease / M.G.Leukotter, P.Nava, A.Nustar // *WJD Y. Gastroenterol.* – 2008. – v.14. P.401 – 407.
21. Madera J.L. Structure and function of the intestinal epithelial barrier in health and disease / J.L. Madera // *Monogr. Pathol.*- 1990. – 31. – P. 306-324.
22. Macpherson A.J. Induction of protective IgA by intestinal dendritic celes carryng commensal bacteria / A.Y.Macpherson, T.Urs // *Sciense*. – 2004. – v.303. – P.1662 – 1665.
23. Madsen K. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function / K.Madsen // *Castroenterologi.* – 2001. – v.121. – P.580 – 591.
24. Mazmanian S.K. Amicrobial synbiosis factor presents intestinal inflammatory discose / S.K. Mazmanian, Y.Y.Round // *Nature*. – 2008. – v.453. – P.620 – 625.
25. Mc Fall Mgai M. Adaptive immunity: are for the community / M.Mc.Fall M dai // *Nature*, 2007. – v.445. – P.153 – 160.
26. Melmed G Human intestinal epittlial cells are broadlyunresponsive to TOLL- like receptor 2-depended bacterial ligants: implicarions for hostmicrobial interactions in the gut / G. Melmed // *Y.Immunol.* – 2003. – v. 170. – P.1406 – 1415.
27. Muzmanion S.K.An immunomodulatory molecule of symbiosis bacteria directs maturation of the host immune system / S.K.Muznanion // *Cell*.-2005.-V.122.-P.107-115.
28. Neutra M.R.Lollaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues / M.R.Neutra, N.J.Mantis // *Nat.Immunol.*-2001.-V.2.-P.1004-1005.
29. Pall S.L.Activated macrophages are adaptive element of the colonic of ithelial progenitor niche necessary for regenerative responses to injury / S.L.Pall.// *Proc.Natl.Acad.Sci USA*.-2005.-V.112.-P.99-104.
30. Turnlaugh P.I.An olesity associated gut microbione with increased capacity for energy harvest / P.I.Turnlaugh, R.E.Ley // *Nature*.-2006.-V.444.-P.1027-1031.
31. Vernid P.Topical butyrate improves efticacy of S-ASA in refractory distal ulcerative colitis: results of a multicentretrial / P.Vernia, V.Armese // *Eur.J.Clin.Invest.*-2003.-V.33.-P.244-249.
32. Walter J.Ecological role of Lactobacilei the gastrointestinal tract opplication for fundamental and biomedical research / J.Walter // *Appl.Eur.Microbiol.*-2008.-V.74.-P.4985-4996.

**Summary**

*Symbiotic microflora prevets contamination of human and animal intestine with foreign microflora: microbial enzymes split, cellular tissue proteins, fat, starch, deconjugate bile acids, synthesize B vitamins, amino acids, cholesterol and other substances. Microbial metabolism products - short chain fatty acids stimulate intestinal motility and effective in some intestinal diseases. Bacterial therapy is able to modulate immune system and suppress chemical signalization of pathogenic microbes. Probiotics and functional nutrition represent a perspective trend in prophylaxis and treatment of human and animal disease. A criterion of probiotic efficacy is its ability to suppress foreign microflora and maintenance of normal microbial flora of the host. An essential probiotic function – support of normal immune system. In the future, probiotics will be employed in prevention and treatment of many diseases. New probiotic and other forms of biopreparations should be designed basing on various species of symbiotic intestinal microflora.*

Рецензент – д.вет.н., професор Завірюха В.І.