

Обзоры

© Евдокимова Н.В., Черненко Т.В., 2024
УДК 616-093/-098

Евдокимова Н.В., Черненко Т.В.

Микробиом кишечника человека: научная парадигма и клиническая практика

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗ г. Москвы,
129090, Москва, Россия, Большая Сухаревская пл., д. 3, корп. 1

Исследования микробиома человека, начатые 15 лет назад и активно продолжающиеся в настоящее время, позволили во многом пересмотреть наши взгляды о глубинных механизмах взаимодействия организма человека и населяющих его микроорганизмов. Представшая картина оказалась много сложнее, чем ожидалось, особенно это относится к микробиому кишечника. В настоящее время научные концепции того, что из себя представляет микробиом кишечника, продолжают активно разрабатываться. В основе их лежит, конечно, редукционный подход. Так, предлагается теория «корового микробиома» и сопряженная с ней концепция «здорового микробиома». Еще более упрощенно подходит к решению проблемы многообразия и вариабельности кишечных микробиомов теория «энтеротипов». Она допускает существование предпочтительных (устойчивых) вариантов микробиомов, структурно организованных вокруг определенных групп микроорганизмов. Если структурообразующими являются анаэробные грамотрицательные палочки, то такие микробиомы отличаются низким видовым разнообразием, доминированием небольшой группы микроорганизмов и низкой стрессоустойчивостью. Именно такие типы микробиомов обнаруживают у пациентов с различными патологиями, в том числе, внекишечной локализации. Поэтому предполагается, что выделение энтеротипов имеет практический смысл. В настоящее время научная концепция микробиомов имеет мало выходов в медицинскую практику. Но уже имеющийся практический опыт применения про- и синбиотиков, препаратов бактериофагов и фекальной трансплантации свидетельствует о реальной возможности изменения микробиомов для профилактики и лечения различных заболеваний человека.

Ключевые слова: кишечный микробиом; коровый микробиом; энтеротипы микробиомов; направленное моделирование микробиомов; фекальная трансплантация

Для цитирования: Евдокимова Н.В., Черненко Т.В. Микробиом кишечника человека: научная парадигма и клиническая практика. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2024; 68(2): 76-86.

DOI: 10.25557/0031-2991.2024.02.76-86

Участие авторов: концепция, подготовка рукописи к печати – Евдокимова Н.В.; редактирование – Черненко Т.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Евдокимова Наталья Витальевна, e-mail: env1111@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело финансовой поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 18.09.2023

Принята к печати 25.04.2024

Опубликована 14.06.2024

Evdokimova N.V., Chernenkaya T.V.

The human gut microbiome: scientific paradigm shifts and clinical practice today and tomorrow

N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine,
3 Bolshaya Sukharevskaya Ploshchad, Moscow, 129090, Russian Federation

The study of the human microbiome, which began 15 years ago and is actively ongoing at the present time, has largely resulted in reconsideration of our views on the underlying mechanisms of interaction between the human body and the microorganisms inhabiting it. The picture that emerged has turned out to be much more complex than expected, especially for the gut microbiome. At present, the scientific concepts of what constitutes the gut microbiome are actively developing. They are based, of course, on a reductionist approach. Thus, the theory of «a core microbiome» and the associated concept of «a healthy microbiome» have been proposed. An even more simplified approach to solving the problem of diversity and variability of intestinal microbiomes is the theory of «enterotypes.» It presupposes the existence of preferred (stable) variants of microbiomes structurally organized around certain groups of microorganisms. If anaerobic gram-negative rods are structure-forming, then such microbiomes are

characterized by low species diversity, dominance of a small group of microorganisms, and low stress resistance. These types of microbiomes are found in patients with various pathologies, including extraintestinally localized. Therefore, it is assumed that stratification of microbiomes based on enterotypes is convenient from the practical point of view. At present, the scientific concept of microbiomes has little input into medical practice. However, the already existing experience of using pre- and symbiotics, bacteriophages and fecal transplantation indicates the real possibility of changing microbiomes for the prevention and treatment of various human diseases.

Keywords: gut microbiome; core microbiome; microbiome enterotypes; directed microbiome modeling; fecal transplantation

For citation: Evdokimova N.V., Chernenkaya T.V. The human gut microbiome: scientific paradigm shifts and clinical practice today and tomorrow. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2024; 68(2): 76-86. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2024.02.76-86

Author's contribution: conceived the article and drafted the manuscript – Evdokimova N.V.; editing the text – Chernenkaya T.V. The final version approval, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: **Natalya V. Evdokimova**, PhD, Senior researcher at the laboratory of Clinical microbiology, Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Public Healthcare Institution of Moscow Healthcare Department, 3 Bolshaya Sukharevskaya Square, Moscow, 129090, Russian Federation, e-mail: env1111@yandex.ru

Information about the authors:

Evdokimova N.V., <https://orcid.org/0000-0001-7473-8727>

Chernenkaya T.V., <https://orcid.org/0000-0002-6167-7117>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 18.09.2023

Accepted 25.04.2024

Published 14.06.2024

Введение

Концепция «микробиома человека» сформировалась в последние 10–15 лет в результате обобщения результатов мегагрантных международных проектов («The Human Microbiome Project (НМР, iНМР)» США, 2007–2016). В настоящее время продолжается активное изучение микробиома человека на всех континентах. Уже полученные данные позволили воссоздать картину микровселенной с невероятным богатством микробного мира и сложными связями с организмом человека. Новые открытия, как это часто бывает, породили новые вопросы, ответы на которые в дальнейшем должны решить насущные проблемы реальной практики. В настоящем обзоре мы попытались представить современные представления о микробиоме человека, рассмотрев структуру и функциональные особенности кишечного микробиома, который нередко называют еще одним органом человека. Кроме того, мы постарались найти точки соприкосновения между научными концепциями и нуждами практической медицины, которые в будущем должны перерасти в разработку эффективных систем профилактики и лечения многих заболеваний человека. Наше изложение будет в определенной степени тезисным, поскольку имеющийся материал очень обширный, иногда противоречивый и не всегда поддается строгой систематизации.

Что такое микробиом

Термин «микробиом» был введен экологами в официальный научный обиход в 80-ые годы 20 века для описания функциональных особенностей отдельных экологических ниш, в которых обитают определенные группы организмов. Если посмотреть шире и обратиться к трудам основоположников природной микробной экологии (Виноградский С.Н., Бейеринк М.В.), то становится очевидным, что сам принцип изучения микроорганизмов в неразрывной связи с их средой обитания, был ясно сформулирован уже в конце 19 – начале 20 века.

Существуют две трактовки понятия «микробиом» – широкая и несколько суженная. С одной стороны, термин «микробиом» используют как синоним «микробиоты», и под ним подразумевают совокупность всех микроорганизмов, населяющих организм человека, включая бактерии, археи, грибы, а также вирусы. С другой стороны, в рамках подходов геномики, которые, собственно, и легли в основу современной концепции «микробиома», под «микробиомом» подразумевают некий коллективный геном резидентных (постоянно обитающих) микроорганизмов, или, говоря другими словами, «метагеном». В основе такой двойкости, в большей степени, лежит не инерционность научного мышления, а реальные трудности в опреде-

лении видовой структуры кишечных микробиомов на основе данных метагеномных исследований. Определение числа видов, реально обитающих в кишечнике человека, до сих пор представляет собой непростую задачу. Сначала пришли к заключению, что микробиом кишечника человека содержит не менее 1000 видов микроорганизмов [1]. В дальнейшем оценки становились более сдержанными, и в настоящее время предполагается, что число видов не превышает 100, а отношение числа клеток человека к числу клеток микроорганизмов снизилось на два порядка – с 1:100 до 1:1 [2]. Поэтому исследователи сообществ микроорганизмов, населяющих природные местообитания и организм человека, под «микробиомом» подразумевают «микробиоту», генетическую информацию о которой мы пока еще не до конца расшифровали. Исследователям регуляции физиологической активности микроорганизмов-симбионтов человека в норме и при патологии более близок метагеномный подход (микробиота – суть коллективный геном). Страдает ли от такой несогласованности возможность практического применения результатов изучения микробиома на современном этапе? Сказать трудно, поскольку эта неоднозначность связана с реальной ограниченностью наших знаний. Но, несомненно, этот факт следует иметь в виду, погружаясь в море обширной научной литературы, посвященной изучению микроорганизмов, населяющих организм человека – его пищеварительный тракт, кожу, носоглотку, влагалище и т.д.

В данном обзоре мы будем использовать интегральный подход, вынужденно сохраняя эту двойственность, стараясь оперировать термином «микробиом» в первом (более понятном для микробиологов смысле), при этом не забывая, что многие положения и выводы делаются, главным образом, на основе метагеномного подхода. Кроме того, нам кажется, что, говоря о микробиоме, стоит не забывать о микробных метаболитах, а также иметь в виду определенную микросреду обитания, которая формируется как реакция организма человека на метаболическую «деятельность» микробиоты. Сразу оговоримся, что взаимодействие с иммунной системой, важность которого для поддержания гомеостаза в системе «человек-микробиом» ни у кого не вызывает сомнения, мы оставили за рамками нашего обзора, ввиду непомерной обширности материала. Этот аспект наших представлений о микробиоме требует отдельного рассмотрения.

Словарь основных понятий. Термины, используемые при изучении микробиомов, часто употребляют без четкого обозначения понятийных границ, предполагая, что это общеизвестно (в узком кругу специа-

листов). Поэтому поясним значение основных терминов, беря за основу краткость, четкость и удобство использования [3]:

- микробиота – сообщество микроорганизмов, обитающих в данном биоматериале;
- метагеном – совокупный набор генов всех микроорганизмов, выделенный из данного образца;
- метатранскриптом – полный профиль матричной РНК в пробе;
- метапротеом – полный белковый профиль пробы;
- метаболом – все органические соединения, синтезируемые микроорганизмами, включая малые молекулы, в пробе;
- «омиксные» технологии – от общего английского окончания для всех четырех технологий: метагеномика («metagenomics»), метатранскриптомика («metatranscriptomics»), метапротеомика («metaproteomics»), метаболомика («metabolomics»).

Особо стоит сказать о культуromике («culturomics») [4]. Она скромно пристроилась недалеко от «омиксных» технологий, представляя собой сплав сразу нескольких подходов – классического микробиологического (посев и выделение чистой культуры) с последующей идентификацией всех выросших клеточных «клонов» (колоний). Для видовой идентификации используется весь арсенал современных методов – от масс-спектрометрии (MALDI-TOF) до молекулярно-биологических методов. В культуromике, как и в методах классической микробиологии, уязвимым местом остается подбор сред и условий для культивирования микроорганизмов, особенно анаэробных, доминирующих среди симбионтов человека.

Микробиом кишечника

Несомненно, в иерархии микробиомов кишечный представляет собой «верховный орган», как в численном, так и в функциональном отношении. Именно кишечная микрофлора осуществляет поддержание гомеостаза в системе «человек-микробиота», подавляя рост патогенной микрофлоры, регулируя процессы пищеварения и получения энергии, а также синтез многих жизненно важных метаболитов (витаминов, нейромедиаторов, жирных кислот, гормоноподобных соединений, ферментов, расщепляющих ксенобиотики и т.д.), подавляя или активируя разные звенья иммунной системы. Кроме того, показана особо важная роль микробиоты в развитии воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта, онкологических забо-

леваний печени и поджелудочной железы, метаболического синдрома, аутоиммунных и неврологических заболеваний [3, 5].

Уже первые результаты, полученные на весьма ограниченной в численном отношении группе здоровых добровольцев, показали не только невероятное разнообразие видов микроорганизмов у каждого конкретного индивидуума (α -разнообразие) и сложную индивидуальную динамику, но и еще больший разброс между отдельными участниками групп (β -разнообразие). Довольно быстро стало понятно, что подходы классической экологии, да и микробной экологии, базирующиеся на них, слабо применимы к такой сложной системе [6, 7]. Большие надежды возлагались на молекулярно-биологические методы, арсенал которых весьма обширен и продолжает постоянно пополняться. Появляются новые методы анализа нуклеотидных последовательностей в рамках как таргетного (поиск конкретных генов), так и полного секвенирования. Кроме того, происходит совершенствование методов математической обработки полученных данных (новые биоинформационные технологии). Еще в 70-ые годы 20 века, то есть задолго до начала работы проектов HMP и iHMP, для изучения строения длинных молекул ДНК был разработан так называемый метод «обрыва цепи» по Сэнгеру (англ. «whole-genome «shotgun» metagenomic sequencing, WGS»). Он основан на модифицированной форме полимеразной цепной реакции, и состоит в секвенировании фрагментов длинных молекул ДНК с последующим сшиванием полученных последовательностей с помощью специальных математических программ. В свободном доступе в настоящее время имеется обширный банк генов GenBank [8]. Процесс обратного реконструирования (вычленение или воссоздание структуры длинных компонентов из массива коротких последовательностей) – наиболее ответственный этап метагеномных исследований, проводимых с помощью WGS. Для анализа полученных данных необходима база данных, содержащая информацию о референсных генах, представляющих собой «отпечатки» референсных штаммов. Эта база на сегодняшний день еще не создана. Поэтому получается своеобразный порочный круг, когда новые обширные данные требуют систематизации и структурирования, а для этого они уже должны быть встроены в систему (их нужно знать «в лицо»). Получено огромное количество метагеномов, но их расшифровка значительно отстает. Для преодоления этих трудностей при метагеномных исследованиях нередко оперируют условным понятием «метагеномные виды» («metagenomic species, MGS») [6], или ведется поиск маркерных генов, кото-

рые в достаточной мере характеризуют виды микроорганизмов («metagenomic operational taxonomic units, mOTUs») [9]. Попытки решения возникающих трудностей путем совершенствования биоинформационных программных алгоритмов пока не привели к ожидаемым результатам: новые алгоритмы не позволяют адекватно описывать структуру микробных сообществ человека [10]. В частности, камнем преткновения была и остается невозможность учета варибельности референсных генов (эта проблема существует при использовании всех таргетных генов, даже генов рибосомальной *16 S pPHK*).

«Здоровый» микробиом кишечника

Несмотря на наличие объективных трудностей, наши знания о микробиомах постепенно расширяются. Так, уже первые результаты изучения микробиомов здоровых добровольцев показали преобладание представителей двух фил, включающих в себя строгих анаэробов – *Bacteroidetes* (грамотрицательные палочки) and *Firmicutes* (грамположительные бактерии, среди которых всем известны бифидобактерии и лактобактерии, но много и некультивируемых форм) [11–13]. Напомним, что филы представляют собой типы (по старой номенклатуре) или группы классов, то есть являются крупными таксономическими единицами. Другие группы микроорганизмов составляют не более 5% от общего видового разнообразия. К более редким представителям кишечной микрофлоры относят бактерии следующих групп: *Proteobacteria* (известные представители – сем. *Enterobacteriaceae*), *Verrucomicrobia* (грамотрицательные палочки, большинство видов некультивируемые, некоторые способны окислять метан), *Actinobacteria* (актиномицеты, близкие к ним полиморфные или образующие мицелий грамположительные палочки), *Fusobacteria* (грамотрицательные полиморфные палочки, строгие анаэробы). При стрессовых ситуациях, на фоне развития некоторых патологий именно эта малочисленная группа начинает вытеснять «бактероиды» и «фирмикуты», видовое разнообразие которых резко снижается [13]. Однако представители основного блока не исчезают даже при хронических воспалительных заболеваниях кишечника, но выделяются в значительно обедненном составе (видовом и массовом) [13].

Однако следует сказать, что консенсус по вопросу о том, какой микробиом следует считать «здоровым», до сих пор не достигнут [14]. Практическая необходимость в прояснении этого вопроса стимулирует продолжение работ по поиску так называемого «корового» микробиома, состоящего из постоянно обнаружи-

ваемых видов микроорганизмов [15]. Для преодоления трудностей, связанных с невероятным видовым разнообразием и динамичностью видовой структуры микробиомов, предлагается опираться не на видовой состав микробиомов, а на их функциональные (метаболические) особенности. Разрабатываются концепции существования функциональных групп микроорганизмов, действующих согласованно в рамках определенных экологических ниш, которые не только реализуют конкретные метаболические функции, но и поддерживают свою структурную организацию, формируя своеобразную сеть [16]. Правомерность такого подхода получила ряд подтверждений при оценке результатов применения фекальной микробной трансплантации (ФМТ). ФМТ вполне успешно используют для лечения хронических воспалительных заболеваний кишечника, в первую очередь, вызванных токсигенными штаммами *Clostridium difficile* (недавно переименован в *Clostridioides difficile*) [12]. Сопоставление метагеномов доноров и реципиентов показало, что микробные популяции по-разному приживаются в кишечнике реципиентов. Успех в колонизации кишечника реципиентов донорскими видами микроорганизмов находился в прямой зависимости от частоты встречаемости данных видов в микробиомах здоровых доноров (данные взяты из международных баз данных, число образцов в которых на момент проведения исследований приблизилось к 2000) [16]. Иными словами, виды, часто обнаруживаемые в образцах доноров и здоровых добровольцев, успешно приживались в кишечнике реципиентов. «Хорошие» колонизаторы – 20 популяций, из которых 15 относились к *Firmicutes*, 4 – к *Bacteroidetes* и 1 популяция – к группе *Actinobacteria*. Примечательно, что неудачливые «переселенцы» принадлежали к *Firmicutes*. При этом вырисовывалась интересная картина. При переносе микробных популяций донора происходил отбор видов, обладающих большей метаболической независимостью, которая проявлялась в способности синтезировать все «критические» метаболиты или факторы роста, включая незаменимые аминокислоты, витамины группы В, нуклеотиды и другие кофакторы. Эти виды бактерий в лабораторных условиях растут на простых небогатых средах. Иными словами, после проведения ФМТ происходило выпадение метаболически малоактивных видов (не способных синтезировать ростовые факторы), которые широко представлены в микробиоме здоровых доноров. Интересно, что победители и аутсайдеры ФМТ могли относиться к представителям одного и того же семейства, рода и даже вида [12]. Таким образом, концепция «корового» микробиома получила допол-

нительные доказательства правомерности своего существования, но не на видовом, а на функциональном уровне. Однако видовое разнообразие, которое наблюдалось в микробиомах здоровых доноров, не сохранялось в микробиомах реципиентов. Поскольку исследование ограничивалось периодом чуть больше года, вопрос о том, насколько стабилен и стрессоустойчив сконструированный микробиом реципиента, остается открытым. Следует отметить еще одну интересную деталь. Приживаемость донорских микробных популяций зависела от способа доставки материала в организм реципиента, причем неожиданно оральный прием таблетированных форм показал лучшие результаты, по сравнению с ФМТ с помощью колоноскопии. Эти результаты определенным образом согласуются с исследованиями, показавшими взаимосвязь между «коровыми» микробиомами ротоглотки и кишечника [3, 11]. Авторы исследования даже предполагали в дальнейшем разработать критерии диагностики состояния кишечных микробиомов на основании изменений в микробиоме ротоглотки.

Исходя из вышесказанного, можно с достаточной степенью уверенности утверждать, что концепцию дисбиоза, которая давно внедрена и принята медицинским сообществом, следует рассматривать не столько с точки зрения структурных, сколько с точки зрения функциональных нарушений.

Функциональная структура здорового микробиома

В результате исследований кишечных микробиомов, проведенных объединенным исследовательским европейским проектом *MetaHIT* (15 стран, 8 институтов), был составлен каталог генов, которые кодируют около 20 000 различных метаболических путей [3, 17]. Следует отметить, что большая часть исследованной когорты здоровых добровольцев представлена городскими жителями. Данных о микробиомах сельского (не городского) населения чрезвычайно мало [15, 17]. В экономически развитых странах, возможно, различия между городским и сельским населением постепенно нивелируются в результате всеобщей необратимой урбанизации, однако в экономически бедных странах эти различия, по-видимому, сохраняются.

Изучение метаболомов кишечника показало функциональную избыточность – дублирование процессов метаболизма ростовых субстратов, синтеза или трансформации жизненно важных микробных метаболитов, которые могут осуществляться как грамположительной, так и грамотрицательной анаэробной микрофлорой кишечника. Эта избыточность базиру-

ется, в том числе, на сетевой структурной организации микробиомов.

Основная функция кишечной микробиоты – участие в переваривании пищи, преимущественно в ферментации трудноперевариваемых растительных волокон, которые организм человека не в состоянии усваивать без помощи микроорганизмов. В результате ферментации растительных волокон образуются короткоцепочечные жирные кислоты (ацетат, пропионат, бутират), газы и другие метаболиты [18]. Бутират является главным источником энергии для колоноцитов, участвует в поддержании энергетического и окислительного гомеостаза клеток кишечника, в частности, индуцирует апоптоз опухолевых клеток [18]. Пропионат, попадая в печень человека, участвует в глюконеогенезе и других важных метаболических процессах. Ацетат принимает участие в липидном обмене, в регуляции синтеза холестерина и является одним из основных энергетических субстратов для кишечной микрофлоры. Кроме того, мы уже упоминали такие важные и полезные для организма человека функции микробиоты кишечника, как синтез витаминов, аминокислот, ферментов, участвующих в трансформации желчных кислот и ксенобиотиков [3, 5].

На основе созданного банка генов была разработана концепция «минимального кишечного генома», который бы обеспечивал выживание кишечной микрофлоры и «минимального кишечного метагенома», который являлся бы базисом для активного функционирования и поддержания гомеостаза всего кишечного микробиома. Насколько такой подход окажется плодотворным, покажет время. Пока имеющиеся пробелы в знаниях о регулировании микробных метаболических путей пытаются восполнить с помощью объединения возможностей всех «омиксных» технологий, привлекая, в том числе, и культурумику [19], а также используя математическое моделирование работы микробных метаболических сетей [20].

Энтеротипы микробиомов и их прогностическая ценность

Переход на более детальный (видовой или популяционный) уровень исследований структурной и функциональной организации микробиомов кишечника неизменно наталкивается на трудности не только научно-концептуального характера. Речь идет, прежде всего, об отсутствии унифицированных методических подходов на этапах сбора материала, его хранения, выделения ДНК [3]. До сих пор не стихает спор о том, насколько выделяемая просветная микрофлора дистальных отделов кишечника соответствует микрофлоре

мукозного слоя, которая, собственно, и осуществляет взаимодействие с организмом человека. Даже не вступая в область тонкостей геносистематики или филогении, выбора референсных генов и т.д., очевидно, что это приводит к сомнениям относительно возможности сопоставить данные, полученные разными лабораториями. И если эти «шероховатости» в определенной степени были допустимы на первоначальных этапах поисковых исследований, в настоящее время становится очевидно, что ими пренебрегать нельзя.

Данные, полученные в ходе проведения больших международных проектов, в том числе *iHMP*, *Meta-HIT*, показали, что вариабельность в видовом составе микробиома конкретного индивидуума хотя и высокая (« α – разнообразие»), но она намного меньше, чем различия между разными индивидуумами примерно одной возрастной группы, обитающих в одной географической области (« β – разнообразие») [15, 17]. Исследования проводились с учетом широкого круга организмов, включая новые виды бактерий, а также археи, вирусы и простейшие. Было показано, что даже сильные изменения структуры микробиома в ответ на кратковременные стрессовые воздействия через непродолжительный промежуток времени нивелировались, и система возвращалась к своему равновесному состоянию (речь идет именно о когорте здоровых людей). Ряд исследователей, однако, настаивает на существовании структурной бимодальности (полярности) у определенных групп микроорганизмов, например, у бактерий рода *Bacteroides spp.*, *Prevotella spp.* и у некоторых некультивируемых групп бактерий из порядка *Clostridiales*). Она проявляется в существовании двух устойчивых состояний микробной системы, при которых эти виды либо полноценно представлены в микробиоме или они отсутствуют, при этом сохраняются все признаки устойчивой экологической системы (высокое видовое разнообразие, выравненность или отсутствие доминирования небольшого числа видов и т.д.) [21].

Была разработана теория существования определенных энтеротипов микробиомов, которая явилась попыткой создания системы, удобной в качестве исследовательского инструмента [21]. Теория энтеротипов разрабатывалась исключительно на основе банка данных, полученных в европейских странах, США и Канаде. Возникшая более 12 лет назад [22], эта теория с самого начала была очень неоднозначно воспринята всем исследовательским сообществом. Ввиду чрезвычайной сложности структуры микробиомов (динамичности состава и высокой его вариабельности) очевидные возражения возникали сразу. Так по-

сле рождения происходит заселение организма ребенка новыми видами микроорганизмов, и этот процесс протекает интенсивно в ранние периоды жизни. В зрелом возрасте система стабилизируется, а ближе к старости видовая сукцессия вновь ускоряется [20]. Любые стрессовые ситуации, например, смена географической локации, изменение образа жизни (диеты, физические нагрузки), и, наконец, заболевания, приводят к сдвигам в структуре микробиома.

Однако теория энтеротипов продолжает находить своих сторонников и приносить научные результаты. Энтеротипы были выделены, исходя из предположения о том, что существует группа микроорганизмов, которая является как бы структурообразующим элементом, драйвером этого сообщества (раньше чаще использовался термин «индикаторные» организмы). Можно отметить попытки выделения типов микробиомов и для других местообитаний (зев, влагалище). Математический анализ, в том числе, кластерный, показал, что удобнее стратифицировать бактерии на родовом, а не видовом уровне. При этом первоначально предполагалось, что возраст, пол, местоположение, культурный бэкграунд человека и другие факторы рассматриваться не будут, и только в дальнейшем эти факторы стали объектам исследования.

Усилия по примирению или согласованию всех имеющихся противоречий в итоге дали определенные результаты. Были привлечены данные не только европейских и американских консорциумов (*HMP*, *MetaHIT*), но и китайские базы данных (*Chinese type II*) [21]. На основе кластерного анализа, суть которого состоит в структурной оптимизации, позволяющей выделить определенные кластеры (группы), члены которых ближе друг к другу по заданным параметрам, чем к членам другого кластера, были выделены значимо различающиеся группы микробиомов. Такой подход срабатывает не всегда, а только в случае, если система реально обладает определенной структурностью. В результате подтвердилась, обнаруженная уже в первых работах [22], возможность стратификации микробиомов на основе определенных структурообразующих групп микроорганизмов (на уровне родов). Такая степень детализации оказалась удобной на этом этапе исследований. Кластерный подход предполагает «огрубление» или редукцию данных (отбрасываются очень редко встречающиеся виды), однако в качестве инструментария для дальнейших исследований он весьма неплох и имеет под собой научную базу. Данные кластерного анализа сопоставили с результатами оценки биоразнообразия методами классической экологии (расчет коэффициентов разнообразия), и были под-

тверждены различия в частоте встречаемости тех или иных групп микробиомов, сгруппированных по кластерному принципу. Были выделены следующие энтеротипы и соответствующие группы драйверных микроорганизмов: энтеротип 1, формирующийся вокруг бактерий рода *Bacteroides spp.*; энтеротип 2 – *Prevotella spp.*, энтеротип 3 – роды из фила *Firmicutes*, в том числе *Ruminococcus spp.* Третий энтеротип – самый многокомпонентный, и его не раз предлагали разделить на несколько подтипов, но так к консенсусу и не пришли. Кроме того, в нем представлено немалое число родов, которые не удалось культивировать. Однако следует заметить, что анализ именно на родовом уровне детализации сразу приводит к глубинному противоречию, поскольку представители одного рода могут содержать виды и штаммы разной степени метаболической активности и патогенности.

Очевидно, что идеальные или «чистые» энтеротипы в реальности не существуют (энтеротип – это исследовательская модель). В реальности мы имеем дело с градиентами и некими частотными максимумами. Максимумов может быть сколько угодно, в зависимости от степени детализации. Еще одно замечание. Структурообразующие виды не обязательно представлены «обильно», но они встроены в микробную сеть в виде обязательного структурного компонента (вспомним упомянутую ранее бимодальность бактерий рода *Bacteroides spp.* и *Prevotella spp.*). Наличие одной драйверной группы родов всегда отрицательно коррелирует с присутствием других. Работы с модельными животными показали наличие и у них определенных энтеротипов [21]. Можно предположить, что энтеротипы соответствуют неким равновесным состояниям системы, которые формируются в ходе симбиоза микроорганизмов и человека, при этом микроорганизмы постоянно оптимизируют свое пребывание в условиях жестких ограничений со стороны макроорганизма.

Данные по изучению физиологических особенностей драйверных видов позволяют сделать ряд предположений. Так бактерии рода *Prevotella spp.* отличаются высокой гидролитической активностью в отношении растительных волокон, в то время как *Bacteroides spp.* обладают большим липолитическим и протеолитическим потенциалом. Представители *Firmicutes* отличаются широким спектром гидролитической активности и медленным метаболизмом. Эти же функциональные особенности, основанные на способности расщеплять те или иные субстраты, обнаруживают у соответствующих энтеротипов [23]. Так микробиомы, близкие к энтеротипу 1, формируются у людей, в рационе которых преобладают животные белки и насыщенные жиры,

а близкие к энтеротипу 2 – у людей, предпочитающих богатые растительной клетчаткой продукты. Люди, обладающие микробиомом, близким к энтеротипу 3, потребляют разнообразные продукты, нередко склонны к избыточному потреблению сахаров и олигосахаридов, характеризуются медленным метаболизмом углеводов и очень экономным расходом энергетических ресурсов. Таким образом, каждый энтеротип имеет свой метаболический профиль. Подтверждением тому служат результаты изучения генов, кодирующих микробные метаболические пути [21].

Экологические характеристики микробиомов разных энтеротипов активно изучаются. Исследования показывают, что наибольшим видовым разнообразием отличаются микробиомы 3 типа, а наименьшим – первого [24]. Однако насколько это видовое богатство является достаточным признаком устойчивого здорового микробиома остается вопросом. Проблема устойчивости микробиомов требует длительных динамических наблюдений, и очевидно, что таких наблюдений пока недостаточно, чтобы сделать окончательные выводы. Имеющиеся данные позволяют полагать, что в естественном здоровом состоянии устойчивость индивидуальных микробиомов высока, и даже смена диеты и местообитания приводит лишь к временным изменениям. Единственным исключением является антибиотикотерапия, которая разрушает исходную структуру кишечного микробиома безвозвратно [24]. Также показано, что, по меньшей мере, у 16% респондентов из европейских баз данных, обнаружена смена энтеротипов без выявления четких причин [21]. По все видимости, устойчивость микробиомов определяется не столько видовым разнообразием, сколько функциональной стабильностью или сбалансированностью работы всей сложной метаболической сети [15]. Так микробиомы 3 типа труднее вывести из равновесного состояния, но и возвращаются в исходное состояние они гораздо дольше. Это связано с преобладанием медленно растущих видов с «небыстрым» метаболизмом [21]. Энтеротипы 1 и 2 характеризуются меньшим видовым разнообразием, активной реакцией на стресс и более быстрым возвращением в исходное состояние при условии, что барьер стрессоустойчивости не был преодолен. По-видимому, «высота» барьера стрессоустойчивости самая большая у микробиомов энтеротипа 3, а у 1 и 2 – ниже. Именно с энтеротипами 1 и 2 связаны состояния, которые характеризуют как дисбиоз. По некоторым оценкам, примерно половину видов микроорганизмов микробиомов (не по биомассе, а по числу видов!) составляют «универсальные» виды, легко метаболизирующие широ-

кий круг субстратов [21, 25]. Они играют роль своеобразного «якоря», способного гасить небольшие возмущения в системе.

Хотя пока еще невозможно предсказать ход событий, но знание того, как конкретные возмущения в системе ведут к изменению видового состава (смена энтеротипа?), могут позволить в будущем корректировать лечение и давать рекомендации в отношении питания. Модуляция микробиома кишечника особенно актуальна для патологических состояний, когда задача состоит в том, чтобы вернуть микробиом к здоровому состоянию, или к тому состоянию, которое предшествовало заболеванию.

Несколько слов

о генетической предрасположенности

Имеющиеся в настоящее время данные свидетельствуют о том, что генетическая преопределенность тех или иных особенностей микробиома важна, но не стоит ее переоценивать [3]. Более важную роль играет длительное воздействие таких факторов, как диета, образ жизни (включая физическую нагрузку, социокультурные особенности). Кроме того, пол, возрастные изменения, болезни, смена географической локации – эти факторы безусловно значимы и во многом определяют динамику изменений микробиома. Маленький пример. При попадании в условия длительной холодной нагрузки в микробиоме происходит накопление представителей *Firmicutes* и уменьшение содержания *Akkermansia muciniphila*, что связано с энергосберегающими способностями первых и энергозатратностью вторых [26].

Микробиом кишечника при различных патологиях

Так что же нам может дать знание о состоянии микробиома кишечника? Во-первых, состав и метаболическую активность микробиома можно рассматривать как дополнительный диагностический признак при оценке тяжести заболевания. Кроме того, при умелом использовании, характеристика микробиома может служить индикатором стадий заболевания (прогрессирует оно или нет) и прогноза течения. Еще один важный практический аспект состоит в том, что фармакокинетика и фармакодинамика ряда препаратов зависит от способности микробиома трансформировать эти препараты [21, 27], и эту особенность надо учитывать при разработке лечебных схем.

Анализ имеющихся данных позволяет соотнести наличие того или иного энтеротипа кишечного микробиома с разными патологическими состояниями [21]. Например, у людей с энтеротипом 1 достовер-

но чаще констатируют заболевания печени (неалкогольный стеатоз и гепатоцеллюлярную карциному), а также целиакию и хронические воспалительные заболевания кишечника [21]. У пациентов с раком поджелудочной железы в микробиомах ротовой полости, кишечника и самой поджелудочной железы преобладали бактерии *Prevotella spp.* [28]. И хотя сами авторы термин энтеротип не употребляли, но анализ данных показывает, что структурообразующим видом являлись именно превотеллы, а, следовательно, микробиоценозы можно отнести к типу 2. Доминирование *Prevotella spp.* отмечали при длительной антибиотикотерапии в ходе лечения осложнений, возникших при лечении артритов, диабетической стопы [3, 21]. У людей, обладающих энтеротипом 3 достоверно чаще развивались атеросклероз, сердечно-сосудистые заболевания и метаболический синдром [21, 27].

Изучение изменений структурной организации микробиомов кишечника при болезни Крона и язвенном колите (а это основные воспалительные заболевания кишечника) на фоне явного дефицита *Firmicutes* и повышенного содержания *Bacteroidetes* происходило резкое увеличение частоты выделения представителей семейства *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella variicola*, *Klebsiella quasipneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*) [29]. Для оценки наблюдаемых изменений можно опереться на теорию «корового» микробиома (или общеэкологические принципы) и соотнести ее с теорией энтеротипов: из первой вытекает, что выход на авансцену минорных представителей микробиоты является свидетельством серьезных экологических нарушений, согласно второй — преобладание энтеротипов 1 и 2. Для этих энтеротипов характерно доминирование грамотрицательной анаэробной микрофлоры (напомним, что *Bacteroides spp.* и *Prevotella spp.* относятся к филу *Bacteroidetes*), которая отличается низкой устойчивостью к стрессовым ситуациям, и развитие воспалительных заболеваний кишечника следует ожидать с высокой степенью вероятности. Только принадлежность к энтеротипу 3, когда преобладают грамположительные анаэробные бактерии, относящиеся к типу *Firmicutes*, является хорошим прогностическим признаком, свидетельствующим о стабильности системы и малой вероятности негативного воздействия со стороны кишечной микрофлоры. Отсюда следует, что и возникновение воспалительных осложнений в ходе лечения любой, в том числе и внекишечной патологии, маловероятно.

Особой ремарки заслуживает неправомерность использования в качестве критерия серьезных нару-

шений в структуре микробиома так называемого отношения *Bacteroidetes/Firmicutes* (числа видов одного и другого фила) [30]. Этот показатель уже на коммерческой основе используют диетологи, рекомендуя «научно обоснованные» схемы коррекции веса и для лечения метаболического синдрома. Однако методическая несогласованность, о которой мы говорили ранее, наличие множества противоречивых данных, неполный анамнез — все это не позволяет до конца верифицировать и сопоставлять полученные результаты.

Заключение

Нельзя отрицать, что вслед за изучением генома человека исследование микробиома стало знаковым явлением науки в начале 21 века. Вложенные огромные материальные и интеллектуальные ресурсы, несомненно, дали свои результаты. Невероятное количество уже накопленных данных о сложном, в структурном и функциональном отношении, строении микробиома требуют разработки не только новых методических подходов, но и поиска новых научных концепций, которые позволили бы изучить и понять механизмы, лежащие в основе взаимодействия организма человека и населяющих его микроорганизмов. Однако следует отметить, что слабым местом остается отсутствие унификации методик сбора, консервации, выделения ДНК и принципов применения того или иного метода секвенирования. Проблемы филогении и геноситематики тоже не решены до конца.

Имея дело со столь сложной системой как микробиомы, использование редукционного подхода (введение понятия энтеротипов), как нам кажется, просто необходимо, особенно это актуально для клинической практики. Многие исследования структурных изменений микробиомов при той или иной патологии исходят из концепции «корового» микробиома, но она более громоздкая и апеллирует к множеству видов, а эта детализация пока мало проясняет картину. В ситуации, когда ненадежно работают оба подхода (у детей и людей преклонного возраста) возможным решением может являться их объединение или корректировка одного с помощью другого. Еще большие надежды возлагаются на потенциал метатранскриптомики, метаболомики и метапротеомики, которые пока недостаточно нашли свое применение.

На сегодняшний день научное сообщество только приближается к пониманию того, каким образом можно изменять состояние кишечного микробиома для профилактики и лечения различных патологий, в том числе, внекишечной локализации. Результаты

применения фекальной трансплантации дают много полезной информации для разработки новых тактических подходов по «конструированию» кишечных микробиомов с заданной структурой и свойствами. В будущем предполагается использовать не биологический материал, а пробиотики или синбиотики, включающие сложные микробные сообщества и комплементарные им пребиотики. По-видимому, для этих целей следует использовать штаммы, обладающие более высокой метаболической активностью (или универсальностью), способные конкурировать с «нежелательными» видами кишечной микрофлоры пациентов в пространстве множества экологических ниш кишечника.

Мы еще только в начале пути к практическому применению наших знаний о микробиомах человека, в том числе кишечного, но даже имеющийся практический опыт применения про- и пребиотиков, препаратов бактериофагов и ФМТ свидетельствует о реальности решения такой задачи.

Литература/References

- Li J., Jia H., Cai X., Zhong H., Feng Q., Sunagawa S., et al. Meta-HIT Consortium. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat. Biotechnol.* 2014; 32(8): 834-41. <https://doi.org/10.1038/nbt.2942>
- Sender R., Fuchs S., Milo R. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell.* 2016; 164(3): 337-40. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.013>
- Kedia S., Ahuja V. Human gut microbiome: A primer for the clinician. *JGH Open.* 2023; 7(5): 337-50. <https://doi.org/10.1002/jgh3.12902> eCollection 2023 May.
- Chang Y., Hou F., Pan Z., Huang Z., Han N., Bin L., et al. Optimization of culturomics strategy in human fecal samples. *Front Microbiol.* 2019; 10: 2891. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02891> eCollection 2019.
- Marchesi J.R., Adams D.H., Fava F., Hermes G.D., Hirschfield G.M., Hold G., et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut.* 2016; 65(2): 330-9. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309990>
- Nielsen H.B., Almeida M., Juncker A.S., Rasmussen S., Li J., Sunagawa S., et al. Identification and assembly of genomes and genetic elements in complex metagenomic samples without using reference genomes. *Nat. Biotechnol.* 2014; 32(8): 822-8. <https://doi.org/10.1038/nbt.2939>
- He Y., Wu W., Zheng H.M., Li P., McDonald D., Sheng H.F., et al. Regional variation limits applications of healthy gut microbiome reference ranges and disease models. *Nat. Med.* 2018; 24(10): 1532-5. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0164-x>
- Li W., O'Neill K.R., Haft D.H., DiCuccio M., Chetvernin V., Badretdin A., et al. RefSeq: expanding the prokaryotic genome annotation pipeline reach with protein family model curation. *Nucleic Acids Res.* 2021; 49(D1):D1020-D1028. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1105>
- Milanese A., Mende D.R., Paoli L., Salazar G., Ruscheweyh H.J., Cuenca M., et al. Microbial abundance, activity and population genomic profiling with mOTUs2. *Nat. Commun.* 2019; 10(1): 1014. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08844-4>
- Meziti A., Rodriguez-R L.M., Hatt J.K., Peña-Gonzalez A., Levy K., Konstantinidis K.T. The reliability of metagenome-assembled genomes (MAGs) in representing natural populations: insights from comparing MAGs against isolate genomes derived from the same fecal sample. *Appl. Environ. Microbiol.* 2021; 87(6): e02593-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.02593-20>
- Allaband C., McDonald D., Vázquez-Baeza Y., Minich J.J., Tripathi A., Brenner D.A., et al. Microbiome 101: Studying, Analyzing, and Interpreting Gut Microbiome Data for Clinicians. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2019; 17(2): 218-30. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.09.017>
- Watson A.R., Füssel J., Veseli I., DeLongchamp J.Z., Silva M., Trigodet F., et al. Metabolic independence drives gut microbial colonization and resilience in health and disease. *Genome Biol.* 2023; 24(1): 78. <https://doi.org/10.1186/s13059-023-02924-x>
- Wexler A.G., Goodman A.L. An insider's perspective: Bacteroides as a window into the microbiome. *Nat. Microbiol.* 2017; 2: 17026. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.26>
- Eisenstein M. The hunt for a healthy microbiome. *Nature.* 2020; 577(7792): S6-S8. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-00193-3>
- Lloyd-Price J., Mahurkar A., Rahnava G., Crabtree J., Orvis J., Hall A.B., et al. Strains, functions and dynamics in the expanded Human Microbiome Project. *Nature.* 2017; 550(7674): 61-6. <https://doi.org/10.1038/nature23889>
- Wu G., Zhao N., Zhang C., Lam Y.Y., Zhao L. Guild-based analysis for understanding gut microbiome in human health and diseases. *Genome Med.* 2021; 13(1): 22. <https://doi.org/10.1186/s13073-021-00840-y>
- McKeown N.M., Fahey G.C. Jr, Slavin J., van der Kamp J.W. Fibre intake for optimal health: how can healthcare professionals support people to reach dietary recommendations? *BMJ.* 2022; 378: e054370. <https://doi.org/10.1136/bmj-2020-054370>
- Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012; 486(7402): 207-14. <https://doi.org/10.1038/nature11234>
- Whon T.W., Shin N.R., Kim J.Y., Roh S.W. Omics in gut microbiome analysis. *J. Microbiol.* 2021; 59(3): 292-7. <https://doi.org/10.1007/s12275-021-1004-0>
- Tian L., Wang X.W., Wu A.K., Fan Y., Friedman J., Dahlin A., et al. Deciphering functional redundancy in the human microbiome. *Nat. Commun.* 2020; 11(1): 6217. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19940-1>
- Costea P.I., Hildebrand F., Arumugam M., Bäckhed F., Blaser M.J., Bushman F.D., et al. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. *Nat. Microbiol.* 2018; 3(1): 8-16. <https://doi.org/10.1038/s41564-017-0072-8>
- Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D., Yamada T., Mende D.R., et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 2011; 473(7346): 174-80. <https://doi.org/10.1038/nature09944>
- Vieira-Silva S., Falony G., Darzi Y., Lima-Mendez G., Garcia Yunta R., Okuda S., et al. Species-function relationships shape ecological properties of the human gut microbiome. *Nat. Microbiol.* 2016; 1(8): 16088. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.88>

24. Pereira F.C., Berry D. Microbial nutrient niches in the gut. *Environ Microbiol.* 2017; 19(4): 1366–78. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13659>
25. Couch C.E., Stagaman K., Spaan R.S., Combrink H.J., Sharp-ton T.J., Beechler B.R., et al. Diet and gut microbiome enterotype are associated at the population level in African buffalo. *Nat. Commun.* 2021; 12(1): 2267. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22510-8>
26. Chevalier C., Stojanović O., Colin D.J., Suarez-Zamorano N., Tarallo V., Veyrat-Durebex C., et al. Gut microbiota orchestrates energy homeostasis during cold. *Cell.* 2015; 163(6): 1360–74. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.11.004>
27. de la Cuesta-Zuluaga J., Mueller N.T., Corrales-Agudelo V., Velásquez-Mejía E.P., Carmona J.A., Abad J.M., et al. Metformin is associated with higher relative abundance of mucin-degrading *Akkermansia muciniphila* and several short-chain fatty acid-producing microbiota in the Gut. *Diabetes Care.* 2017; 40(1): 54–62. <https://doi.org/10.2337/dc16-1324>
28. Chung M., Zhao N., Meier R., Koestler D. C., Wu G., de Castillo E. et al. Comparisons of oral, intestinal, and pancreatic bacterial microbiomes in patients with pancreatic cancer and other gastrointestinal diseases. *J. Oral Microbiol.* 2021; 13(1): 1887680. <https://doi.org/10.1080/20002297.2021.1887680>
29. Khorsand B., Asadzadeh Aghdai H., Nazemalhosseini-Mojarad E., Nadalian B., Nadalian B., Hourri H. Overrepresentation of enterobacteriaceae and *Escherichia coli* is the major gut microbiome signature in Crohn's disease and ulcerative colitis; a comprehensive metagenomic analysis of IBDMDB datasets. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022; 12: 1015890. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1015890> eCollection 2022
30. Magne F., Gotteland M., Gauthier L., Zazueta A., Pesoa S., Navarrete P., et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio: A relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? *Nutrients.* 2020; 12(5): 1474. <https://doi.org/10.3390/nu12051474>

Сведения об авторах:

Евдокимова Наталья Витальевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. клинической микробиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗ г. Москвы;

Черенькая Татьяна Витальевна, канд. мед. наук, зав. лаб. клинической микробиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗ г. Москвы.