
Нарушение микробиоты респираторного и
пищеварительного тракта, методы
коррекции.

Авдеева Наталья Васильевна
к.м.н. врач-гастроэнтеролог
клиника «Александрия»

Актуальность

Известно, что у 92-94% детей, страдающих частыми респираторными заболеваниями, имеет место нарушение микробного пейзажа кишечника, что указывает на необходимость разработки методов коррекции микрофлоры с целью повышения общей сопротивляемости к инфекциям

[Феклисова Л.В., 2002; Боковой А.Г., 2003].

Открытые системы человеческого организма

- Кожные покровы – 2кв.м
- Дыхательные пути – 80-100кв.м
- Желудочно-кишечный тракт – 300-600кв.м
- Мочеполовой тракт – 60-80кв.м

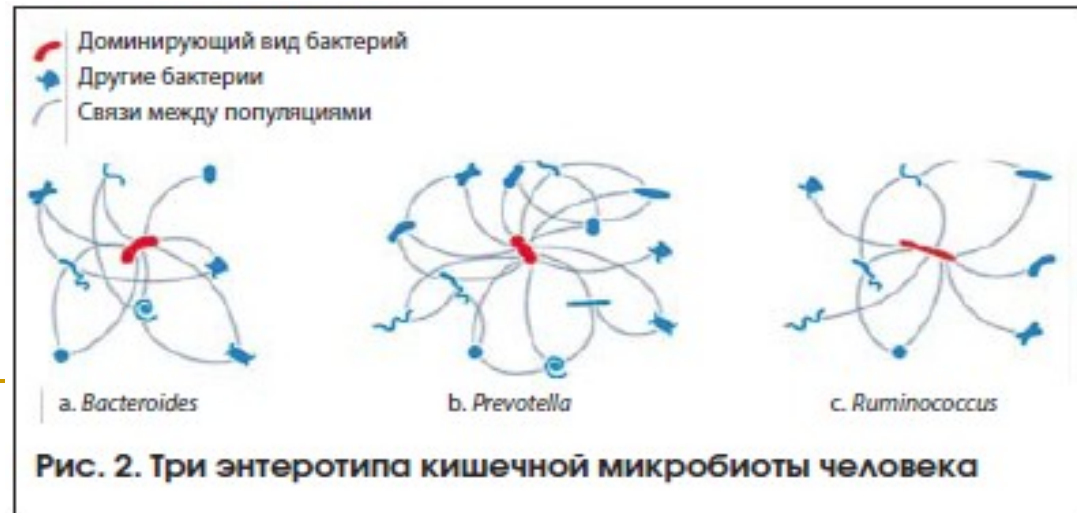
Каждая из них выполняя свою специфическую функцию выполняет и защитную роль, являясь барьером к инвазии микроорганизмов и токсинов. Микробиота каждой из них уникальна.

Микробиота организма человека

Это уникальное и достаточно устойчивое сообщество микроорганизмов (качественное и количественное), населяющее различные биотопы организма человека, обеспечивающее оптимальное биохимическое, метаболическое и иммунологическое равновесие, необходимое для сохранения здоровья. Важнейшая ее функция - участие в формировании резистентности к различным заболеваниям

Энтеротипы микробиоты человека (возможность прогнозировать болезни?)

- 1) *Bacteroides* – отличаются активностью в отношении разложения углеводов, а также способствует выработке витаминов С, В2, В5, Н
- 2) *Prevotella* – в процессе жизнедеятельности могут нарушать защитный слизистый слой эпителия кишечника
- 3) *Ruminococcus* – улучшают всасывание углеводов (повышение глюкозы крови), участие в синтезе фолиевой кислоты, витамин В1



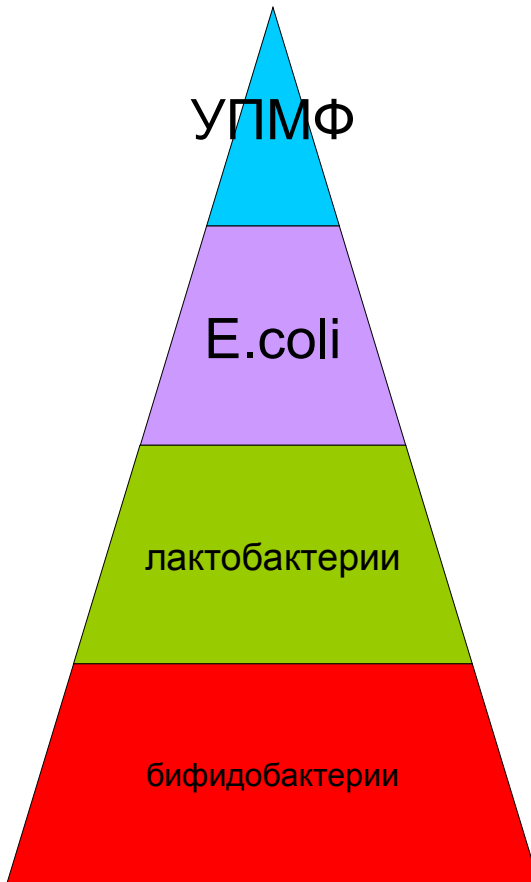
Локальные и системные функции микробиоты кишечника

- Регулирование перистальтики кишечника
- Стимуляция местного иммунитета, образование иммуноглобулинов
- Трофические и энергетические функции
- Поддержание ионного гомеостаза организма
- Витаминосинтетическая функция
- Доставка субстратов глюконеогенеза и липогенеза
- Обеспечение цитопротекции и колонизационной резистентности
- Детоксикация и выведение экзогенных и эндогенных субстратов и метаболитов
- Участие в противоопухолевом надзоре

Факторы нарушения микробиоты

- Стрессы различного генеза (хронический стресс)
 - Нерегулярное и/или несбалансированное по составу нутриентов питание
 - Дефицит пищевых волокон в рационе
 - Потребление пищи, содержащей а/бактериальные компоненты
 - Резкая смена рациона и режима питания
 - Заболевания внутренних органов
 - Лекарственная терапия (антибактериальная, гормональная и лучевая терапия и др.)
 - Инфекционные заболевания ЖКТ
-

Изменение состава микробиоты при стрессорном воздействии



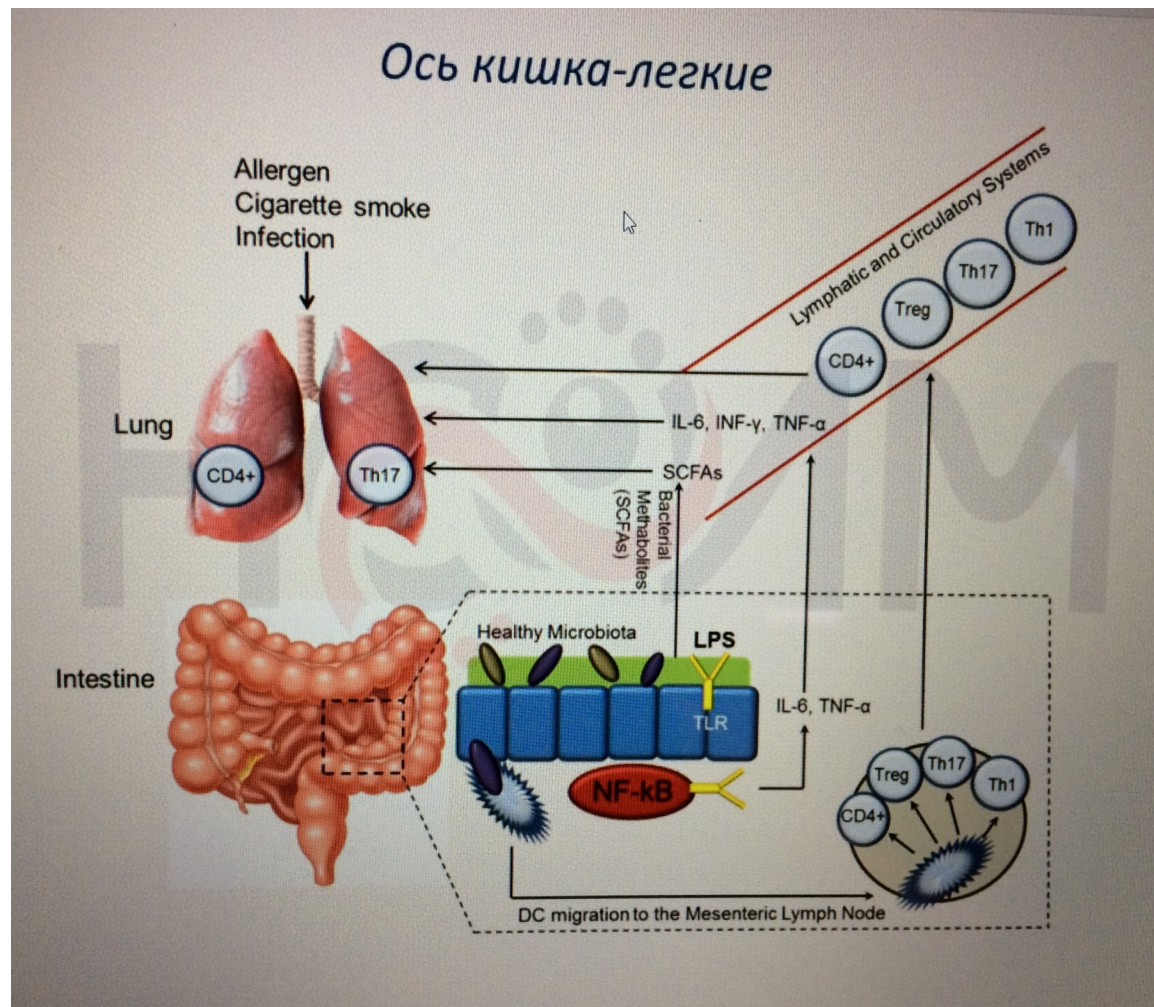
норма



При стрессовом воздействии

Взаимосвязь по оси кишечник – легкие

В слизистой кишечника на фоне частых респираторных заболеваний - ↑ Т-лимфоцитов тучных клеток, ИЛ - 1 β
В крови - ↓ ИЛ-10/ИЛ-12
↑ ИЛ-6, ИЛ-8, TNF- α



Влияние микробиоты легких на состав микробиоты кишечника

Эксперимент исследования	Эффект	Автор
Вирус гриппа	Увеличение количества энтеробактерий, уменьшение количества лактобацилл и лактококков в микробиоте кишечника	Looft S., 2012
Пневмония, вызванная <i>P.aeruginosa</i>	Приводит к снижению пролиферации кишечного эпителия, блокирует M-фазу клеточного цикла эпителиоцитов	Coopersmith M., 2003 He O., 2017
Ингаляционное введение липополисахарида	Сопровождается нарушениями в микробиоте кишечника	Sze P., 2014

Частота функциональных расстройств ЖКТ –
У часто болеющих детей - **64,7%** (95% ДИ 0,8-0,9)
В группе редко болеющих детей – **18,7%** (95% ДИ 0,18
– 0,4)

Основа нарушений – дестабилизация системы
микробиоценоза, нарушение физико-химических свойств
муцинового слоя, расстройства моторики

У 87% детей с длительным, персистирующим
течением ФР ЖКТ в дальнейшем формируется
органическая патология пищеварительной системы

Печкуров Д.В., Особенности функциональных расстройств желудочно-
кишечного тракта, проявляющихся абдоминальными болями 2014г

Методы исследования микробиоты

Методы исследования	описание	преимущества	недостатки
культуральные методы	Используются различные среды для выращивания бактерий, субстраты – кал, аспират, биоптаты слизистой	Высокая распространенность, возможность диагностировать наличие основных патогенных микробов	Лишь небольшая часть бактерий может быть культивирована
молекулярно-биологические (определение содержания КЦЖК)	Определение КЦЖК методом ГЖХ, возможность оценить состояние микробиоты в определенном микробиоценозе	Средняя распространенность, универсальность подготовки материала, высокая чувствительность метода	Невозможность определить микробный спектр
секвенирование генов 16S рибосомальной РНК	Определение последовательности азотистых оснований в генах 16S рРНК (считается «золотым стандартом» определения видовой принадлежности бактерий)	Использование универсальных праймеров, 16S рРНК последовательности описаны для многих видов бактерий и природных изолятов, по вариабельным участкам можно проследить пути эволюции, наличие компьютерных баз данных для сравнения	Неспособность оценить биологические функции изучаемых микроорганизмов, низкая распространенность

Метод определения КЦЖК

- Определение содержания кислот (уксусная С2, пропионовая С3, масляная и изомасляная С4, валериановая и изовалериановая С5, капроновая и изокапроновая С6)
- Нормальное состояние микробиоценоза – С2-С4 – $9,4 \pm 1,4$ мг/г, С2-С6 – $10,5 \pm 2,5$ мг/г, С2 - $0,634 (\pm 0,014)$, С3 – $0,189 (\pm 0,011)$, С4 – $0,176 (\pm 0,011)$, АИ – $0,576 (\pm 0,012)$, изо С5/С5= $1,471 (\pm 0,2)$
- Увеличение С3 более $0,221$ – повышенная активность бактерий рода *Bacteroides* (1 тип изменений состава КЦЖК);
- Увеличение С4 более $0,198$ – микроорганизмов *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Eudacterium* (2 тип изменений состава КЦЖК);
- Сочетанное увеличение С3 и С4 – повышение активности смешанной анаэробной микробиоты (3 тип изменений КЦЖК);
- Увеличение С3 и С4 при значениях изокилот $0,063 \pm 0,011$ (4 тип изменений КЦЖК)
- Увеличение С2 более $0,651$ – повышенная активность *Escherichia*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, возможным ростом – *Klebsiella*, *Proteus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* (5 тип изменений КЦЖК);
- Повышение содержания отношения изо С5/С5 более $1,5 \pm 0,2$ – активация аэробных бактерий с гемолитической активностью (6 тип изменений КЦЖК)

Восстановление функционального состояния системы барьеров организма

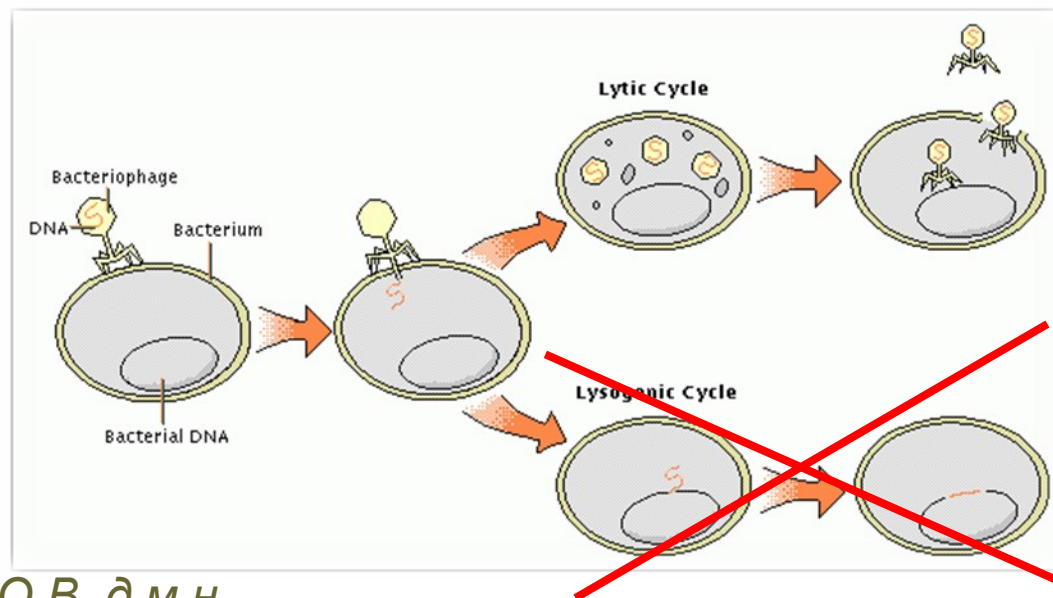
Правило четырех «R» –

1. «Remove» – устранение раздражающих факторов (аллергены, токсины и т.п.)
2. «Replace» – замещение необходимых элементов (ферменты, витамины, микроэлементы)
3. «Repair» - восстановление функциональное состояния слизистой оболочки (цитопротекция – пр-ты масляной к-ты, диоктаэдрический смектит, *L.reuteri*)
4. «Reinoculate» – восстановление нормальной микрофлоры (деконтаминация патогенной флоры - бактериофаги, восстановление симбионтной)

Принцип использования фагов в медицине

Использование только высоковирулентных фагов!!!

Два пути
взаимодействия
БФ с клеткой
- Литический
- Лизогенный



Из выступления Ковалишеной О.В. д.м.н.,
профессор кафедры эпидемиологии
НИИ профилактической медицины
ПИМУ

Основные преимущества бактериофагов

- **Безопасность** (можно назначать детям с первых дней жизни, в т.ч. недоношенным и беременным женщинам)
- **Отсутствие токсичности** (низкий уровень побочных эффектов)
- **Совместимость с другими лекарственными средствами** (кроме одновременного применения с антисептиками!)
- **Строгая специфичность** (воздействуют на 1 вид чувствительных к ним бактерий – монофаги, на группу бактерий – поликомпонентные фаги)
- **Саморегуляция** (в отсутствии специфических бактерий удаляются из организма) и **Самовоспроизведение** (бактериофаги действуют до момента полного исчезновения бактериальной инфекции)
- **Быстродействие** препаратов и возможность проникновения в очаг инфекции (исследования по фармакокинетике показали, что через 1ч после перорального приема фаговые частицы определяются в крови, через 1,5-2 часа – в бронхолегочном секрете, через 2 часа – выделяются с мочой)
- **Нет перекрестной резистентности с АБП и антисептиками** (сохраняют актуальность в условиях растущей а/бактериальной резистентности)
- **Отсутствие влияния на естественную микробиоту человека**
- **Постоянно обогащаются новыми фаговыми клонами**, что позволяет сохранять актуальность при лечении бактериальных инфекций

Фаготерапия респираторных заболеваний (историческая справка)

- 1959г **P. Delacoste** ингаляционная терапия бактериофагов больных хроническим бронхитом

Delacoste P. Considerations sur le traitement des affections respiratoires banales au moyen de bacteriophages [Considerations on the treatment of common respiratory diseases by means of bacteriophages]. Rev Med Suisse Romande 1959; 79:552-563

- 1962г **J. Hoeflmayr** эффективность применения ингаляционной терапии в 90% клинических случаев

Hoeflmayr J. Inhalationstherapie mit Bakteriophagen bei therapieresistenten Infektionen [Inhalation therapy with bacteriophages for treatment – resistant infections]. Stuttgart, Germany: 1962:403-409

- В России - ингаляционная фаготерапия

1974г Гарсеванишвили Т.И. Некоторые методические аспекты применения ингаляции поливалентного бактериофага при лечении пневмонии раннего детского возраста

(журнал Педиатрия им.Сперанского, 1974, №53, 65-66)

Лечение бронхообструктивных заболеваний у детей младшего возраста с использованием бактериофагов (Краснодар, 2003г)

- Цель работы: внедрение в практику ингаляционного введения бактериофагов в комплексном лечении при БОЗ у детей раннего возраста.
- Материалы и методы: по комплексной методике с применением БФ пролечено 36 детей в возрасте до 3х лет. Ингаляции БФ проводилась 3 раза в день.
- Результаты: уменьшение сроков лечения - курс антибактериальной терапии сократился с 17 до 8 дней, снижение риска развития кандиоза

Сборник статей молодых ученых и специалистов/под ред. Л.М. Огородовой, Л.В.Капелевича.-Томск.-СГМУ.-2003г

Ингаляционное применение бактериофагов



- Использование ингалятора компрессорного типа (ультразвуковой тип, меш-ингалятор исключается)
- Использование моно ингаляций фагов (не разводить и не сочетать с антисептиками)
- Использование препаратов бактериофагов температурой 25-30С (не нагревать фаги)!



Результаты оценки выживших фаговых частиц в аэрозоле после распыления небулайзерами (Ковалишена О.В., 2015г НИИ профилактической медицины ПИМУ)

Вид небулайзера	Время распыления БФ (мин)	Выраженность лизиса индикаторной культуры	Объем исследований (n=108)	
Компрессорный	1	+++	3 постановки в 3-х повторях = 9 иссл.	36
	3	++++		
	5	++++		
	10	++++		
Ультразвуковой	1	++	9	36
	3	+		
	5	-		
	10	-		
Мембранный (мэш-небулайзер)	1	++	9	36
	3	+		
	5	-		
	10	-		

« - » - единичные мелкие бляшки (d до 1 мм);

« + » - мелкие бляшки (до 50 шт.);

« ++ » - мелкие бляшки (до 50 шт.), единичные крупные (d до 0,3-0,5 мм) с большим количеством колоний вторичного роста;

« +++ » - множественные зоны лизиса, местами сливной характер, с единичными колониями вторичного роста;

« ++++ » - сливной лизис индикаторной культуры.

Клиническая эффективность пробиотиков

Количество участников, возраст	Страна и длительность исследования	штамм	результат
299 детей 3-6 лет	Россия, 3мес	L.casei плацебо	Сокращения частоты ринофарингита на 19% (n=81/n=100, ОР 0,82, 95%, ДИ 0,69-0,96,p=0,017
251 ребенок 3-12 лет	Испания, 20 нед	L.casei плацебо	Уменьшение продолжительности заболеваний, снижение частоты ИНДП (бронхит, пневмония) на 17%
32 ребенка 3-5 лет	США, 6мес	L.acidophilus	Уменьшение частоты лихорадки на 47,4%, кашля на 62,1%, частоты использования антибиотика на 46,8%

Состав препарата Бак-сет

Для детей с
рождения



Lactobacillus casei
Lactobacillus rhamnosus
Lactobacillus acidophilus
Bifidobacterium breve
Bifidobacterium infantis
Bifidobacterium longum
Streptococcus thermophilus
Пребиотик -
фруктоолигосахарид

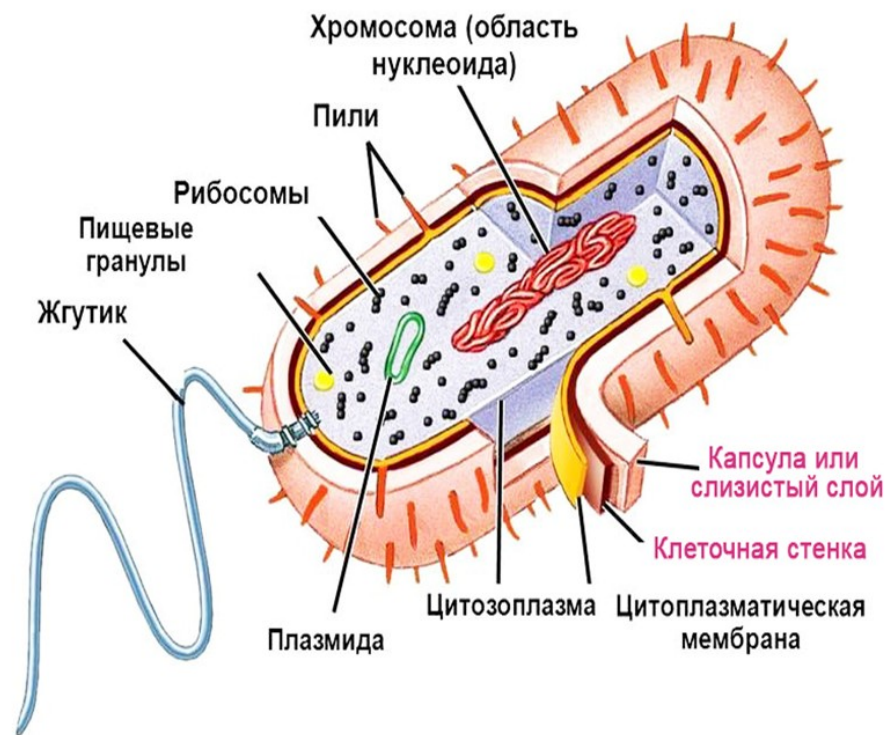
Для детей старше 3
л
и взрослых



Lactobacillus casei
Lactobacillus rhamnosus
Lactobacillus plantarum
Lactobacillus fermentum
Bifidobacterium bifidum
Bifidobacterium breve
Bifidobacterium longum
Lactobacillus acidophilus
Lactococcus lactis ssp. lactis
Streptococcus thermophilus
Bifidobacterium infantis
Lactobacillus bulgaricus
Lactobacillus helveticus
Lactobacillus salivarius

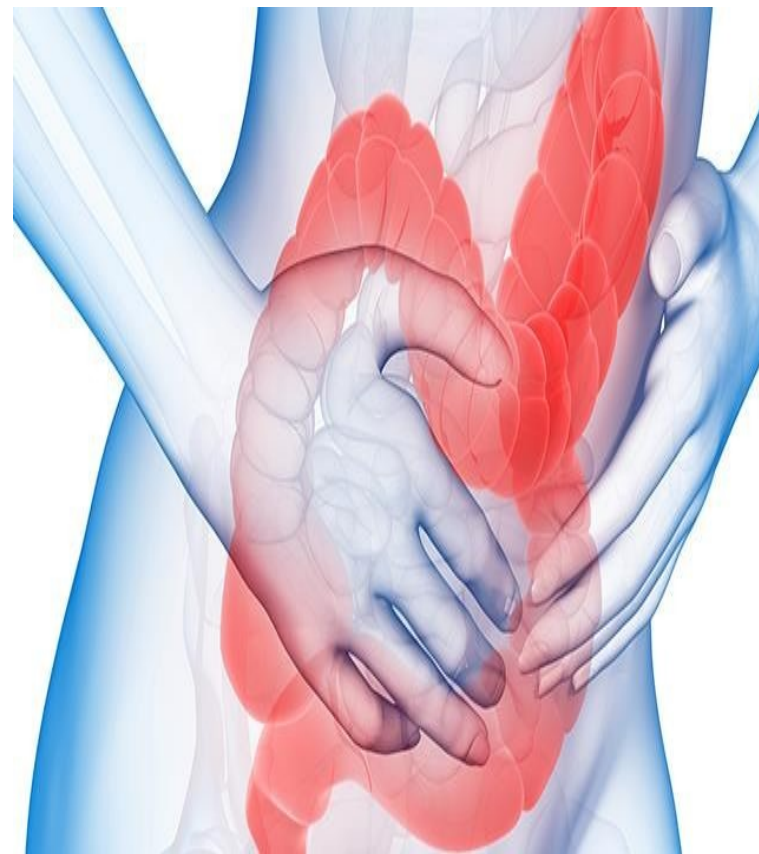
Высокая жизнеспособность и кислотоустойчивость

- Бактерии, входящие в состав Бак-Сета, сохраняют жизнеспособность, высокую активность и кислотоустойчивость в течение всего срока годности (2 года) при комнатной температуре!
- Щадящая технология производства – фильтрация вместо центрифугирования с последующим микрокапсулированием и лиофилизацией, позволяет избежать разрушения естественной оболочки бактерий (клеточной стенки), что повышает их устойчивость и выживаемость



Мультиштаммовый пробиотик **Bio-Kult***/Бак Сет в лечении СРК. Двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое испытание (2017)

- Пациенты мужского и женского пола в возрасте 18-55 лет
- Диагностика умеренно тяжелого СРК-D согласно Римским критериям IV
- Исключение нефункционального желудочно-кишечного заболевания
- 4 месяца приема мультипробиотика
- Ежемесячный контроль: финальный контроль через 5 месяцев
- Бак-Сет форте (Bio-Kult) 2 капсулы 2 раза в день = **8 млрд. КОЕ/день** или аналогичного вида капсулы с плацебо из целлюлозы



Результаты исследования

Первичный критерий эффективности - боль:

- Выраженность боли при СРК уменьшилась на **70%** от исходного уровня в группе, принимавшей мультипробиотик ($p = <0.001$)

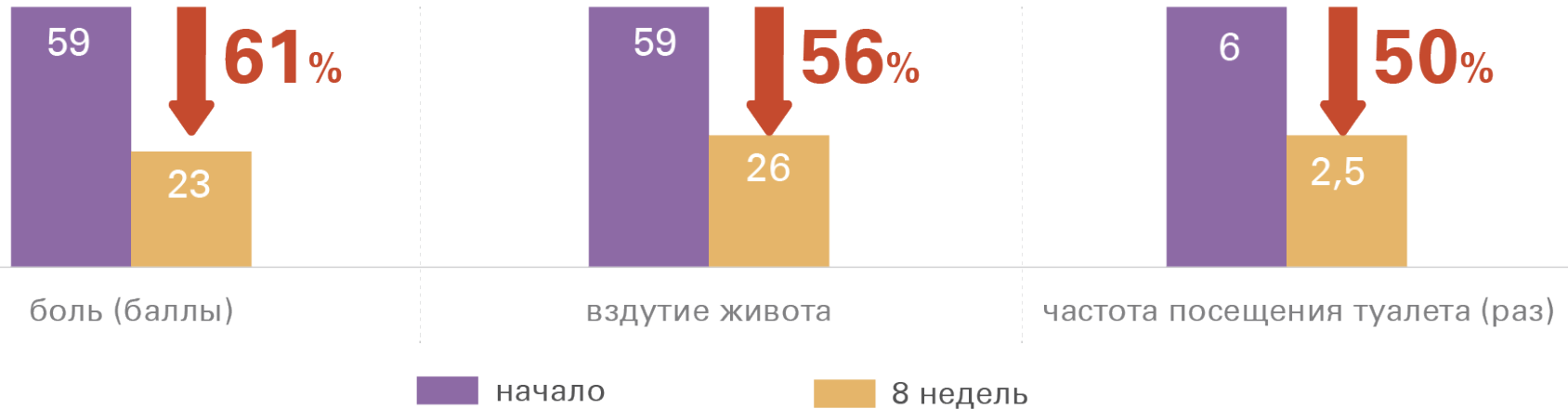


- Самое крупное исследование мультипробиотика при СРК
- Двойное слепое плацебо-контролируемое исследование 400 человек
- Основная группа получала мультипробиотик Bio-Kult* по 2 капсулы 2 раза в день, группа контроля - плацебо в той же дозировке
- Курс приема составил 4 мес., всего наблюдение продолжалось в течение 5 мес.
- Первичный критерий эффективности - абдоминальная боль

Выраженность боли в группе Бак-Сета уменьшилась на **70% от исходного** (было 60 баллов, стало 18). И только на 47% в группе плацебо.

Результаты исследования

Выраженность симптомов



Общая оценка состояния пациентов на момент завершения исследования



В экспериментальной группе наблюдалось более значительное и стойкое улучшение всех показателей качества жизни, чем в группе, принимавшей плацебо.

25-26 мая Москва ежегодная научно-практическая конференция Научного сообщества по содействию клиническому изучению микробиома человека «Клиника и последствия нарушения микробиоты»



НОИМ

Спасибо за внимание!

