

## ПЕРСПЕКТИВИ РОЗРОБКИ ІМУНОБІОТИКІВ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ МІКРОБІОТИ ЛЮДИНИ ТА НАСЛІДКІВ ЇЇ ПОРУШЕННЯ

*Старовойтова С.О.*

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

**Вступ.** Пробиотики, згідно з визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), - це живі мікроорганізми, застосування яких в адекватних кількостях покращує здоров'я організму господаря [4].

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

**Мета дослідження.** Враховуючи негативний вплив зовнішніх та внутрішніх факторів на імунну систему людини, розробка бактеріотерапевтичних препаратів та функціональних продуктів харчування на основі пробіотичних мікроорганізмів з імуномодулюючими властивостями – є актуальною галуззю сучасної фармацевтичної та харчової біотехнології.

**Основні результати.** З 2006 р наукове співтовариство розглядає мікрофлору кишечника як новий метаболічно активний орган, що складається з декількох трильйонів бактерій комменсалів. Мікробні клітини кишечника складають 90% всіх клітин в організмі. Загальновизнано, що присутність нормальної мікрофлори в організмі є необхідною умовою для розвитку тканин, органів і фізіологічних систем. Основними фізіологічними функціями нормальної мікрофлори в організмі хазяїна є: колонізаційна, детоксикаційна, біосинтетична, травна, трофічна, фізико-хімічна, енергетична, процесинг харчових продуктів, терморегулююча, регуляторна, генетична, імуномодулююча та системні функції. Результатом ензиматичної деградації харчових волокон бактеріями кишечника є утворення коротко ланцюгових жирних кислот (КЛЖК) (ацетат, бутират, пропіонат), які служать додатковим джерелом енергії і забезпечують 10% всієї харчової енергії в організмі людини. Вони також стимулюють ріст і диференціювання ентероцитів і колоноцитів. Бактерії-симбіонти сприяють також оновленню муцинового шару, що складається з двох компонентів: внутрішнього і зовнішнього. Внутрішній, тонкий, інша назва - апікальний глікокалікс, складається з мембраноасоційованих муцинів і гліколіпідів. Зовнішній, товстий, складається з трьох компонентів: секреторних муцинів, секреторного імуноглобуліну А (sIgA) і антимікробних пептидів. Зовнішній шар муцину виконує бар'єрну функцію завдяки вмісту гуморальних факторів вродженого імунітету, а також шляхом нейтралізації патогенів муцинами. Бактерії нормофлори використовують секреторні муцини як джерело енергії, стимулюючи їх вироблення та постійне оновлення муцинового шару. Крім того, їх антигени стимулюють вироблення sIgA і антимікробних пептидів. Мікробіота сприяє розвитку судинного ложа кишечника, нервової системи в

ранньому дитинстві і її функціонуванні у дорослих, а також є визначальним фактором формування лімфоїдної тканини, асоційованої з слизовими поверхнями (Mucosa Associated Lymphoid Tissue - MALT), в тому числі і кишечника (Gut Associated Lymphoid Tissue - GALT). Виходячи з результатів досліджень останніх років зроблено припущення про те, що найважливішу роль у формуванні GALT і в програмуванні взаємодії між імунною системою і мікробіотою грають сегментовані ниткові бактерії (СНБ). Як і більшість (від 20 до 80%) мікроорганізмів кишечника СНБ - некультивовані мікроорганізми. СНБ - єдині мікроорганізми кишечника, які формують тісний контакт з епітеліоцитами. Таке еволюційно створене партнерство пояснюється біологічними характеристиками СНБ, в яких практично відсутні метаболічні цикли, необхідні для продукування амінокислот, нуклеотидів і кофакторів. Всі ці сполуки СНБ отримують з епітеліальних клітин через спеціалізовану транспортну систему. На відміну від тварин, у яких СНБ присутні протягом усього життя, у людини ці бактерії є лише у дітей до трьох років - в період становлення співвідношень між імунною системою і мікробіотою. Не менш важливе регуляторний вплив надає нормальна мікрофлора кишечника і на формування імунної системи в цілому. Основним механізмом впливу є фізіологічна транслокація живих мікроорганізмів, їх метаболітів та продуктів розпаду в віддалені тканини і органи. Доказом впливу бактерій нормофлори на системну імунологічну реактивність є здатність пробіотиків підвищувати імуногенність вакцинних препаратів різної специфічної стимуляцією антителогенеза в MALT. Цей феномен доведений на прикладі застосування *Lactobacillus casei* GG безпосередньо перед вакцинацією дітей ротавірусної вакциною, а також в разі застосування *Lactobacillus rhamnosus* GG одночасно з поліомієлітною вакциною. В обох випадках зареєстровано підвищені титри нейтралізуючих антитіл і значне зростання швидкості сероконверсії.

Вченими доведено, що порушення нормальної мікрофлори людини пов'язані з розвитком захворюванням запальної етіології. В основі розвитку такого роду запалення лежить розлад комунікації між клітинами імунної системи та мікроорганізмами, обумовлене зміною якісного та кількісного складу останніх. Відновлення порушеного складу мікробіоти сприяє встановленню збалансованої імунорегуляції і, як наслідок, гальмуванню запальної реакції імунної системи. Дієвим фактором відновлення порушень мікробіоти є застосування бактеріотерапевтичних препаратів на основі пробіотичних мікроорганізмів, їх структурних компонентів та метаболітів, а профілактики – застосування функціональних продуктів харчування збагачених пробіотичними мікроорганізмами. Виробництво пробіотиків позиціонується, як високоефективна з точки зору співвідношення вартість – ефект – безпечність біотехнологія, якій належить майбутнє у профілактиці і терапії запальних захворювань у шлунково-кишкового тракту та за його межами. Однак, не дивлячись на те, що застосування пробіотиків уведено до профілактичних та терапевтичних схем для профілактики та лікування багатьох захворювань (некротизуючого ентероколіту, антибіотикоасоційованої діареї, запальних захворювань кишечника, уrogenітальних інфекцій, алергічної патології тощо),

потенціал цих препаратів реалізовано лише частково. Причинами цього є багатофакторність впливу пробіотиків на фізіологічні та патологічні процеси в організмі, а також відсутність надійних критеріїв для вибору того чи іншого препарату для даної конкретної патології. В даний час описано декілька підходів до підвищення ефективності дії бактеріотерапевтичних препаратів: селекція найбільш ефективних штамів, комбінація декількох штамів разом, сполучення пробіотичних мікроорганізмів з пребіотиками, генетична модифікація пробіотичних мікроорганізмів. Проте одному пробіотичному мікроорганізму, як правило, властиві багаточисельні біологічні ефекти. Питання про те, які саме властивості пробіотичних мікроорганізмів повинні бути покладені в основу вибору для профілактики або лікування даної конкретної патології, залишається відкритим. Важливим механізмом дії пробіотичних препаратів є модулювання функцій імунної системи як на місцевому, так і на системному рівні. Захворювання, асоційовані з порушенням нормальної мікрофлори, при яких слід застосовувати пробіотики, завжди супроводжуються розладами імунологічної реактивності різного характеру та ступеня важкості. Враховуючи це імуномодулююча активність пробіотичних препаратів та функціональних продуктів харчування збагачених пробіотичними мікроорганізмами можна розглядати як інформативний критерій для цільового застосування цих лікарських та профілактичних засобів, направлено на імунопатологічну компоненту патологічного процесу, асоційованого з порушенням мікробіоти кишечника.

Існує багато причин порушення нормальної мікрофлори: дієти з високим вмістом поліненасичених жирів, антибіотики, стреси, місцеві та системні запальні захворювання тощо. В багатьох випадках діють одразу декілька факторів. Наслідки порушення мікрофлори кишечника є складними і можуть визивати як місцеві (кишкові захворювання), так і системні (метаболічні захворювання), патологічні стани (хвороба Крона, діабет, ожиріння, атопічний дерматит, алергія тощо). Біологічні ефекти пробіотичних мікроорганізмів специфічні. В залежності від роду, виду, штаму пробіотичні бактерії можуть мати імуностимулюючу, імуномодулюючу (біполярну) та імуnoreгуляторну / супресивну дію. Імуномодулюючі ефекти пробіотичних бактерій реалізуються внаслідок механізмів клітинної асоціації, і виробництва біологічно активних речовин з імуnoreгуляторними властивостями.

Імуномодулюючі ефекти пробіотичних бактерій реалізуються по клітинноасоційованим механізмам, продукцією біологічно активних субстанцій з імуnoreгуляторними властивостями. Наприклад, екзометаболіти пробіотичних бактерій *Bifidobacterium infantis* і *Lactobacillus acidophilus* містять низькомолекулярну фракцію (10-15 кДа) з протизапальною дією. Пробіотичні бактерії *Lactobacillus reuteri* 6475 утилізують L-гістидин з утворенням біогенного аміну з імуномодулюючими властивостями - гістаміну, який зв'язується з рецепторів ентероцитів і гальмує синтез ними прозапальних цитокінів – фактор некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) [5]. Імуномодулююча дія притаманна також субклітинним компонентам пробіотичних бактерій. Застосування патоген-асоційованих молекулярних патернів (ПАМП) бактерій

нормофлори як альтернатива використанню живих мікроорганізмів - перспективний напрямок для корекції порушень імунологічної реактивності у ранньому дитинстві, коли імунна система ще не сформована [1].

Спрямованість і вираженість імуномодулюючої дії пробіотичних бактерій залежить від вихідного функціонального стану клітин імунної системи. Один і той же пробіотик може активувати міграцію функціонально нейтральних клітин і пригнічувати рух ефektorів, поляризованих до того чи іншого фенотипу, посилювати проліферацію тканинних резидентних лейкоцитів і гальмувати індуковану проліферацію циркулюючих клітин імунної системи різних популяцій [2].

Важливе значення, для реалізації імуномодулюючого ефекту пробіотиків, мають генетичні чинники. Перш за все, це стосується генетично детермінованих порушень експресії патернрозпізнаючих рецепторів (ППР), асоційованих з розвитком запальних захворювань, зокрема в шлунково-кишковому тракті. Не менш важливим для призначення і вибору пробіотиків є врахування генетично детермінованої схильності до певних захворювань.

Механізми дії, зокрема і імуномодулюючу дію, пробіотичних бактерій інтенсивно досліджують. Результати цих досліджень свідчать, що стимуляція Th1-імунної відповіді пробіотиками є наслідком активації (MyD88) залежних і незалежних сигнальних каскадів (MyD88 - the myeloid differentiation primary response gene 88 - адаптерний протеїн миелоїдного диференціювання первинної відповіді 88). Механізми гальмування Th1-імунної відповіді пробіотичними мікроорганізмами складні і менш досліджені. Важливою умовою протизапальної та імуномодулюючої активності пробіотичних мікроорганізмів є присутність в складі їх генома імунорегуляторних CpG-послідовностей, які активують TLR9 нативні Т-клітини, викликаючи утворення Treg [3]. Однак ці дослідження стосуються тільки активації окремо взятих ППР. Відповідно до сучасних уявлень, як патогенні бактерії, так і представники мікробіома і пробіотичні мікроорганізми в складі лікарських засобів, взаємодіють з клітинами-учасниками імунної відповіді одночасно по ряду як розчинних (метаболіти і субклітинні компоненти, експоновані в результаті загибелі бактеріальної клітини), так і мембраноасоційованих патернів, які розпізнаються різними ППР і їх комплексами. В результаті формується складна сигнальна мозаїка, навіть незначні відмінності в якій можуть призвести до розвитку протилежної реакції [5].

**Висновки.** Стратегія ефективного застосування імуномодулюючої активності пробіотиків містить три складових. Перша – знання складу та функцій мікрофлори різних компартментів з урахуванням енетротипу, вікових та індивідуальних особливостей метаболізму мікробіоти, причин та характеру дисбіозу. Друга – оцінка стану системної та локальної імунологічної реактивності, імунопатогенетичних складових патологічного процесу, циркадної динаміки його протікання. Третя – детальний аналіз та облік усіх властивостей та механізмів дії пробіотичного (-их) мікроорганізму (-ів), зокрема характеру та направленості імуномодулюючої дії. Комплексна оцінка всіх складових дозволяє визначити характер необхідної імуномодуляції, склад

пробіотику, режим і дози його застосування, а також реалізувати потенціал пробіотиків цілеспрямовано, досягнувши максимальної ефективності застосування цих лікарських засобів.

### **Список літератури**

1. Eberl G., Boneca I. G. Bacteria and MAMP-induced morphogenesis of the immune system // *Curr. Opin. Immunol.* – 2010. - Vol. 22, № 4. – P. 448–454.
2. Isidro R. A., Bonilla F. J., Pagan H. et al. The Probiotic Mixture VSL#3 Alters the Morphology and Secretion Profile of Both Polarized and Unpolarized Human Macrophages in a Polarization-Dependent Manner // *J. Clin. Cell. Immunol.* – 2014. - Vol. 5, № 3. – P. 10002–10027.
3. Kant R., de Vos W. M., Palva A., Satokari R. Immunostimulatory CpG motifs in the genomes of gut bacteria and their role in human health and disease // *J. Med. Microbiol.* – 2014. - №, 63, Pt 2. – P. 293–308.
4. Petschow B., Doré J., Hibberd P. et al. Probiotics, prebiotics, and the host microbiome: the science of translation // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2013. - Vol. 1306. - P. 1–17.
5. Thomas C. M., Hong T., van Pijkeren J. P. et al. Histamine derived from probiotic *Lactobacillus reuteri* suppresses TNF via modulation of PKA and ERK signaling // *PLoS One.* – 2012. - Vol. 7, № 2. - ID 31951.