

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие рецензента	4
Предисловие автора	7
Список сокращений	8
Введение	9
Глава 1. Методология изучения микробиома дыхательных путей	12
Глава 2. Микробиом дыхательной системы у детей — ключ к здоровью?	29
Глава 3. Нарушения микробиома и патология дыхательной системы	40
Глава 4. Микробиом в респираторной медицине	45
Глава 5. Вирусы и респираторное здоровье	51
Глава 6. Микробиом в контексте пневмонии	62
Глава 7. Респираторный микробиом у пациентов с иммуносупрессией	67
Глава 8. Микробиота внешней среды и бронхиальная астма	75
Глава 9. Перспективы развития науки о микробиоме	81
Глоссарий	83
Сведения об авторе	100
Эпилог	102
Предметный указатель	103

ПРЕДИСЛОВИЕ РЕЦЕНЗЕНТА



Николай Дмитриевич Ющук

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,
президент ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России,
заслуженный деятель науки Российской Федерации

Настоящая рукопись, подготовленная к изданию, посвящена новому направлению современной медицины — науке о микробиоме. Известно, что общее количество клеток микроорганизмов в теле человека в 10 раз превышает количество клеток самого организма человека. Очень своевременным является представленное к рецензии комплексное учебно-методическое пособие, охватывающее вопросы микробиома дыхательной системы вместе с практическими аспектами исследования всех микробных сообществ человека. Приятно отметить, что это первое издание на тему микробиома дыхательной системы на русском языке, а всего лишь 10 лет назад в медицине ошибочно считалось, что «здоровые легкие свободны от микроорганизмов». Вместе с внедрением новых молекулярно-генетических методов, а именно секвенирования нового поколения, мы стали понимать, что в здоровых легких присутствует определенное количество микроорганизмов, находящихся в сложных «социальных» взаимоотношениях. Более того, взаимосвязь микробиома дыхательной системы и ряда заболеваний, таких как бронхиальная астма, муковисцидоз, пневмонии, уже нельзя игнорировать в клинической практике. Врачам становится все яснее, как формируется микро-

биом у детей, как он обогащается и стабилизируется и как от его состава зависит здоровье подрастающего человека. Эксперименты показали, что состав микробиома влияет на уровень социальной активности, тревожности, выраженности болевого синдрома. Самые распространенные заболевания, такие как сердечно-сосудистая патология, метаболический синдром и даже расстройства аутистического спектра, связаны с различными особенностями микробиома. Изучение микробиома и в особенности микробных сообществ дыхательных путей требует особой методологической подготовки, ведь малые объемы микробной биомассы в легких обуславливают особую тщательность в выборе лабораторных методов. Все это описано в представленной книге.

Международный проект изучения микробиома человека показал, что геном микроорганизмов, проживающих в теле человека, в 150 раз превышает размер генома самого человека. Это выявленное изобилие генов привело к тому, что биологи сегодня рассматривают микробиом как «наш второй геном», скрытый в человеке-хозяине. Немаловажным будет отметить и то, что в ведущем мировом научном журнале *Nature* еще в 2019 г. было обозначено, что наступающее десятилетие в научном мире будет являться временем, посвященным всестороннему пониманию микробиома человека (L. Proctor, *Nature*, 2019).

Автор издания имеет непосредственный опыт организации и руководства научными исследованиями на тему микробиома человека. Игорь Олегович Стома — основатель и руководитель научной школы по изучению микробиома в клинической медицине. Несомненно, им сделаны важнейшие шаги для создания и развития этого нового научного направления в Российской Федерации и на всем русскоязычном научном пространстве. Приятно видеть такое будущее у отечественной «науки о жизни»!

В книге представлены методологические основы изучения микробиома дыхательной системы. Отдельно выделены значимые аспекты нарушений микробиома в контексте патологии дыхательной системы. Обозначены новейшие знания в области небактериальных компонентов микробиома — микобиома (грибковые микроорганизмы) и вирома (вирусы) в респираторной медицине. Издание написано последовательно, методически грамотно, с использованием корректной терминологии. Присутствует несомненная дидактическая целесообразность иллюстративного материала. Понятная расстановка материала, а также наличие ярких примеров повышают уровень восприятия при изучении настоящей рукописи. Автор продолжает успешно развивать

выбранную им тематику, логично следуя от своей предыдущей опубликованной книги «Микробиом в медицине: руководство для врачей» (Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2020).

Представленное на рецензию издание будет востребовано в рамках подготовки студентов высших учебных заведений по профилю «Здравоохранение», а также для слушателей курсов повышения квалификации и переподготовки врачей, клинических ординаторов, аспирантов и преподавателей медицинских вузов и колледжей. В целом, учитывая передовой характер материала, а также актуальность тематики, с этой книгой стоит ознакомиться каждому читателю, заинтересованному будущим мировой науки и медицины.



Николай Дмитриевич Ющук

Июль 2022 г.

ПРЕДИСЛОВИЕ АВТОРА

Дорогой читатель! Вы держите в руках книгу, посвященную новому, динамично развивающемуся направлению медицины и науки — микробиому. По данным журнала Nature, только за последние десять лет на исследования микробиома было потрачено более 1,7 млрд долларов. Микробиом, объединяя все микроорганизмы внутри нас, уже признается «отдельным органом нашего тела», как отвечая за здоровье и долголетие, так и участвуя в развитии заболеваний. Эта книга посвящена микроорганизмам, проживающим в дыхательных путях у каждого из нас, формируя «микрокосмос» в пределах нашего организма. Надеюсь, что представленные данные послужат для дальнейшего развития медицины, основанной на экологическом и цельном понимании нашего внутреннего мира.

Игорь Олегович Стома

ВВЕДЕНИЕ

В процессе постоянного взаимодействия с окружающей средой дыхательные пути, в частности легкие, обогащаются микроорганизмами. Этот факт был достоверно доказан как с помощью классических культуральных методов, так и с появлением новых молекулярно-генетических методов, таких как секвенирование [1]. Для врачей важно отметить, что обнаружение микроорганизмов в легких является постоянным фактом, подтверждаемым разными исследователями, и, более того, точно известно, что состав микроорганизмов дыхательных путей различается в норме и при патологии. Различный состав микроорганизмов присутствует при различных формах патологии и даже при различных стадиях одной патологии. Мы начинаем понимать, как формируется состав микроорганизмов дыхательных путей от внутриутробного этапа, с рождением и взрослением ребенка и как это влияет на дальнейшую жизнь и здоровье этого человека [2–3]. Более того, оси взаимодействия «кишечный микробиом — микробиом полости рта — микробиом дыхательных путей» усложняют и одновременно обеспечивают устойчивость системы «на-дорганизма» — человек и микроорганизмы в течение всей жизни первого. Современные функции микробиоты человека представлены на рис. 1.



Рис. 1. Функции микробиома человека

Болезни дыхательных путей являются одними из самых распространенных причин заболеваемости и летальности во всем мире, и вне зависимости от того, хронические они или острые, микроорганизмы непосредственно влияют на их течение и исходы. В процессе исследования микробного сообщества наиболее важна методология. И в этой монографии мы будем концентрироваться в том числе на правильной методологии изучения микробного сообщества, а именно на методах сбора материала, секвенировании генов 16S рибонуклеиновой кислоты (РНК), метагеномике, анализе big data и микробиом-ассоциированной экологии макроорганизма. Не менее важны для специалистов унификация и грамотное владение терминологией в этой новой, динамично развивающейся области наук и медицины (табл. 1).

Таблица 1. Краткая современная терминология в области микробиома [1]

Термин	Краткое определение
Микробиота	Набор микроорганизмов определенной локализации
Микробиом	Набор микроорганизмов, их генов и факторов внешней среды определенной локализации
Микобиом	Полный набор генов грибов в определенной локализации
Виром	Полный набор генов вирусов в определенной локализации
Археом	Полный набор генов микроорганизмов из домена археи в определенной локализации
Экспозом	Совокупность факторов окружающей среды, влияющей на регуляцию генов и индивидуальное развитие организмов
Резистом	Набор генов микроорганизмов, который обеспечивает устойчивость к противомикробным препаратам
Метатаксономика	Метод глубокой таксономической характеристики микробиоты, как правило, с помощью 16S рибосомальной рибонуклеиновой кислоты (рРНК) секвенирования
Метагеномика	Процесс определения состава генов представителей микробиоты, как правило, с помощью секвенирования полного генома методом дробовика
Метатранскриптомика	Процесс определения и характеристики микробных генов, экспрессируемых микробиотой
Метаболомика	Исследование продуктов клеточного метаболизма в определенной локализации, включая как человеческие, так и микробные метаболиты
Протеомика	Одновременное изучение многих индивидуальных белков, совокупность которых составляет определенную систему, что характеризует объект исследования

Окончание табл. 1

Термин	Краткое определение
Секвенирование нового поколения	Методы параллельного секвенирования огромного количества короткоцепочечных фрагментов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК)
Секвенирование полного генома методом дробовика	Метод секвенирования множества фрагментов ДНК организма, на основе которых восстанавливается исходная последовательность цепи
Секвенирование гена 16S рРНК	Метод идентификации микроорганизмов на основе секвенирования вариабельных зон высококонсервативного бактериального гена 16S рРНК
Операционная таксономическая единица	Кластерное объединение результатов секвенирования 16S рРНК бактерий с 97% идентичностью, т.е. суррогатный таксономический уровень
Плотность микробиома	Общее количество бактерий в биологическом образце
Разнообразие микробиома	Количество различных видов/операционных таксономических единиц бактерий в образце
Плавность разнообразия микробиома	Мера распределения различных видов/операционных таксономических единиц в пределах образца; доминирование одного вида снижает плавность разнообразия
А-разнообразие	Разнообразие видов в пределах биологического образца (индексы Чао 1, Шеннона, Симпсона)
Индекс Чао 1	Мера наблюдаемого/скрытого разнообразия
Индекс Шеннона	Мера разнообразия и плавности микробиома; более высокий индекс соответствует большему разнообразию
Индекс Симпсона	Мера доминирования вида в микробиоме
В-разнообразие	Разнообразие видов между двумя биологическими образцами

Список литературы

1. Стома И.О. Микробиом в медицине: руководство для врачей. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 319 с.
2. Стома И.О., Юшук Н.Д. Микробиом человека на стыке инфектологии и других разделов медицины: современное состояние проблемы и переоценка взглядов на патогенез заболеваний // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2019. Т. 8, № 3 (30). С. 78–84. DOI: 10.24411/2305-3496-2019-13012.
3. Кузьмин В.Н., Стома И.О., Адамян Л.В. Микробиом в акушерстве и гинекологии: переоценка взглядов на микробное сообщество репродуктивной системы // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2020. Т. 9, № 2. С. 94–98. DOI: 10.33029/2305-3496-2020-9-2-94-98.

Глава 1

МЕТОДОЛОГИЯ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОБИОМА ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

РАЗДЕЛ А. АНАТОМИЧЕСКАЯ И МИКРОБНАЯ ТОПОГРАФИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Дыхательные пути человека представляют собой огромную и весьма гетерогенную экосистему, представленную сотнями километров воздухоносных путей и площадью поверхности в 30 раз больше, чем поверхность кожи человека. Этот путь идет от богатой микроорганизмами глотки до мало обогащенных микроорганизмами альвеол, при этом поддерживается динамический баланс микроорганизмов. За исключением патологических состояний (таких как рвота и пищеводный рефлюкс), движение по желудочно-кишечному тракту (ЖКТ) одностороннее (от рта в сторону прямой кишки), а также ЖКТ обладает физическими и химическими барьерами (например, кислая среда желудка, щелочное содержимое двенадцатиперстной кишки). В противоположность этому движение воздуха и микроорганизмов в дыхательных путях двустороннее, без жестких физических барьеров между гортанью и самыми дистальными альвеолами легких.

Плотность содержания микроорганизмов в нижних дыхательных путях по крайней мере в 100 раз меньше, чем в полости рта. А это, в свою очередь, гораздо меньше, чем в нижних отделах кишечника. Таким образом, микробное воздействие на здоровые легкие чрезвычайно низко по сравнению с кишечником, однако нередко повышается при острой и хронической патологии легких, когда механизмы удаления (элиминации) микроорганизмов могут быть нарушены, а нижние дыхательные пути становятся более благоприятной средой для размножения бактерий. Временные изменения микробиома дыхательных путей хотя и менее изучены по сравнению с кишечным микробиомом, но представляются более динамичными и подверженными влиянию окружающей среды [1–2].

С точки зрения экологии микробиома дыхательная система человека — это последовательность ниш от ноздрей и рта к легким, в которых «проживают» различные бактериальные сообщества.

В 2010 г., в связи с широким внедрением некультуральных методов исследования микроорганизмов, системно произошла смена парадигмы «микроорганизмы — дыхательная система» [2]. Догма «здоровые легкие свободны от микроорганизмов» ушла в прошлое. На сегодняшний день постулаты знаний о респираторном микробиоме следующие:

- а) здоровые нижние дыхательные пути содержат бактерии, отличающиеся от бактерий верхних дыхательных путей;
- б) дыхательные пути пациентов с респираторными заболеваниями содержат микробные сообщества, отличающиеся от таковых у здоровых людей.

Состав микробиома легких определяется балансом трех факторов: микробная миграция в дыхательных путях, элиминация микроорганизмов из дыхательных путей и состояние местного воспроизводства представителей микробного сообщества, определяемых местными условиями. Характеристики экологических ниш микробиома дыхательных путей представлены в табл. 2.

Таблица 2. Характеристика экологических ниш микробиома дыхательных путей [1]

Уровень дыхательных путей	pH	Площадь, см ²	Влажность, %	Температура, °С	Плотность микробиома, ед. ⁻¹
Внешняя среда	–	–	45	23	10 ⁻¹
Полость носа	6,3	150	90	–	10 ³
Носоглотка	7,0	9	90	34	10 ³
Ротоглотка	7,2	8	90	–	10 ⁵
Легкие	7,5	7–10 ⁵	100	37	10 ²

Полость носа заселена относительно простым набором бактерий с небольшими различиями в составе у детей и взрослых. Представители *Corynebacterium*, *Propionibacterium* и *Staphylococcus spp.* являются первичными колонизаторами полости носа и сохраняют свое доминирование до взрослого возраста, когда к ним часто присоединяется род *Moraxella*. Профили микробиоты носа у детей сильно варьируют в зависимости от сезона, причем осенью/зимой часто преобладают *Proteobacteria* и *Fusobacteria*.

Микробиом носоглотки — динамичная экосистема, претерпевающая изменения и дифференцировку в процессе взросления, что может продолжаться до 2 лет, резко отличаясь от микробиома взрослых. Первоначально носоглотка заселяется представителями *Corynebacterium* и *Staphylococcus spp.*, а впоследствии дополняется родом грамполо-

жительных бактерий *Dolosigranulum* (в особенности у детей на грудном вскармливании), родами *Alloiococcus* и *Moraxella*. У взрослых же разнообразие видов микробиома носоглотки обычно снижается, и *Corynebacterium* становится обычно доминирующим родом.

Ротоглотка является анатомическим барьером между дыхательными путями и ЖКТ, что приводит к наличию в ней наиболее вариабельной бактериальной экосистемы. В ротоглотке у здоровых взрослых описаны: *Streptococcus spp.* (в том числе *S. pneumoniae* и *S. pyogenes*), *Haemophilus spp.*, *Neisseria spp.*, *Prevotella spp.*, *Veillonella spp.* и *Leptotrichia spp.*

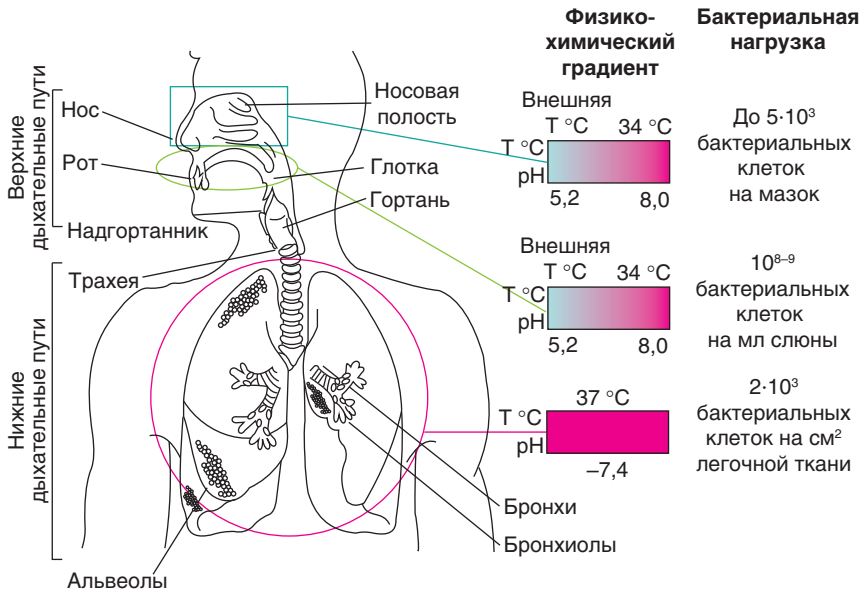
Состав микробиома *нижних дыхательных путей* (НДП) у здоровых взрослых значительно коррелирует с аналогичным составом верхних дыхательных путей, особенно ротоглотки, но отличается гораздо более низкой плотностью бактерий. Плотность бактерий меняется от 10^5 бактерий на 1 мл в ротоглотке до 10^1 – 10^2 бактерий в 1 мл бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). У детей, однако, дополнительно к снижению плотности отмечался больший вклад бактерий микробиома носоглотки в композицию микробиома легких (рис. 2).

Верхние дыхательные пути (ВДП) — экологическая ниша для патобионтов: *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *S. aureus*. До 93% детей до 2 лет колонизированы одним из патобионтов на уровне ВДП, даже при оценке «классическими» культуральными методами. Таким образом, это фактически резидентные участники микробиома ВДП. Двойственная роль патобионтов в развитии респираторных заболеваний заключается в следующем:

- а) с одной стороны, колонизация патобионтом — фактор риска инфекции;
- б) с другой стороны, колонизация патобионтами не обязательно приводит к инфекции, и даже предполагается, что она обеспечивает устойчивость к приобретению новых патогенных штаммов.

Уже было показано, что у *пациентов на фоне пневмонии* отмечается более высокая плотность бактерий в НДП в сочетании с меньшим разнообразием и равномерностью распределения видов. Как правило, резко доминирует один таксон с наибольшей частотой доминирования *Streptococcus spp.*, *Haemophilus spp.* или *Moraxella spp.* Более подробно мы остановимся на этом в следующих главах.

Кроме того, по данным объемных исследований, у пациентов с более высоким содержанием в микробиоме кишечника бактерий, продуцирующих бутират (ингибиторная короткоцепочечная жирная кислота), снижен риск развития *вирусных инфекций НДП* [4].



Состав микробного сообщества



Рис. 2. Анатомия и микробная экология дыхательных путей. Показаны три основных уровня микробной экологии, включающие носоглотку, ротоглотку и легкие, с различными физико-химическими условиями, бактериальной нагрузкой и составом бактериальных сообществ на каждом уровне. Таксономические типы в составе микробиома включают *Actinobacteria* (голубой), *Firmicutes* (бирюзовый), *Proteobacteria* (малиновый), *Bacteroides* (оранжевый) и другие (серый) (адаптировано из [29, 48–52])

Уже здесь обозначим, что понимание процессов, которые приводят к нарушениям респираторного микробиома и, как следствие, к повышенной восприимчивости и тяжелому течению заболеваний органов дыхания, будет способствовать разработке новых терапевтических средств. До этого момента имеющиеся данные могли бы помочь нам