



Проект научно-исследовательской работы (НИР) «Влияние микрофлоры и проницаемости тонкого кишечника на псориазическую болезнь».

1

Песляк Михаил Юрьевич,

зам. Председателя РОО (региональной общественной организации)
помощи больным псориазом «ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ»

Учредитель РОО псориазических пациентов «ЕСТЕСТВЕННЫЙ ПУТЬ»

Часть 1. Роль микрофлоры и проницаемости тонкого кишечника в системном псориазическом процессе SPP. Факты и гипотезы.

- Базовые исследования
- Проницаемость тонкого кишечника при псориазе
- Тонкокишечный СИБР при псориазе
- Структура пептидогликана и виды бактерий, предполагаемые псориагенными.
- Псориаз и эндотоксинемия. Методы оценки уровня LPS и PG в крови.
- @ Системные модели патогенеза (BF-модель, Y-модель)
- Системный псориазический процесс SPP
- @ Толеризованные моноциты и дендритные клетки
- @ Распределение моноцитов по времени пребывания в кровотоке
- @ Трансформации и хемотростатус фракции моноцитов CD14+CD16+Mo
- SPP. Основные гипотезы



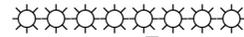
Часть 1 данной презентации содержит фрагменты из

а) Peslyak MY, Gumayunova NG, Nesterov AS, Potaturkina-Nesterova NI, «Small intestine microflora at psoriasis. Its possible role in pathogenesis», Abstracts of the 3rd World Psoriasis & Psoriatic Arthritis Conference 2012:, Stockholm, Dermatol Ther 2012, 2(10), S12.

б) Песляк М.Ю. Модель патогенеза псориаза. Часть 1. Системный псориазический процесс, Москва, МУРЕ, 2012, 94 с, ISBN 9785905504013

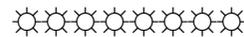
Многие пациенты с псориазом имеют синдром мальабсорбции.

Ж.В.Рудковская и др. (2003), РГМУ им.Н.И.Пирогова, Институт питания РАМН
Е.И. Харьков и др. (2005-13), Красноярский госмедуниверситет.



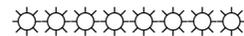
Уровень тонкокишечного СИБР более 10^5 КОЕ/мл (ОМЧ > 5) обнаружен у 95 из 121 пациентов с псориазом (78,5%).

Н.И.Потатуркина-Нестерова и др. (2009), Ульяновский госуниверситет



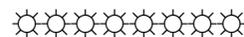
Большинство пациентов с псориазом имеют высокий LPS-уровень в крови.

З.Ш. Гараева и др. (2005-7), Казанская медакадемия.

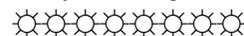


Толеризация (перепрограммирование) фагоцитов крови и их свойства.

Robert Sabat и Kerstin Wolk и др. (2000-5), University Hospital Charité, Berlin, Germany;
Jean-Marc Cavaillon и др. (2004-15), Unit Cytokines & Inflammation, Institut Pasteur, Paris, France.

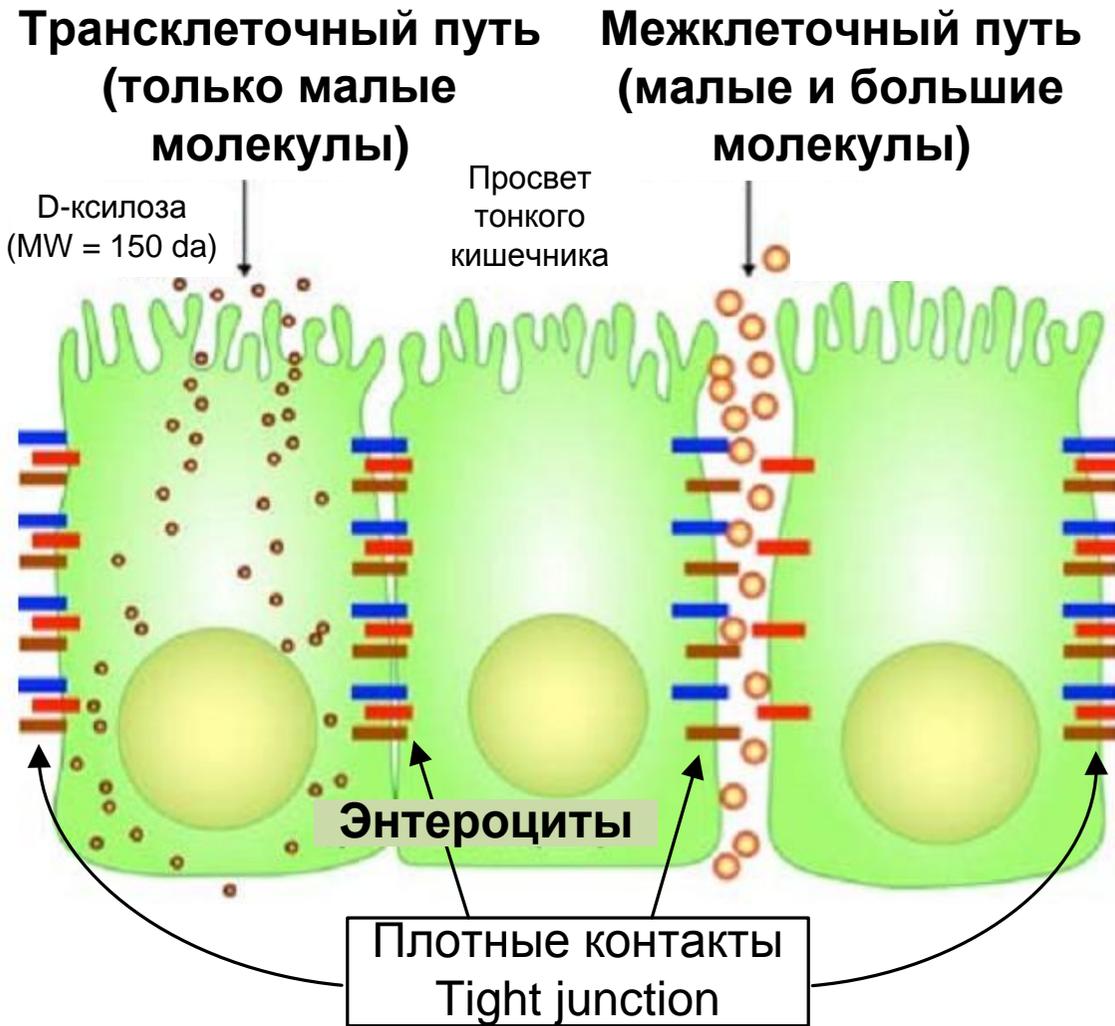


Системная модель патогенеза (BF-модель). Антигенная роль стрептококкового пептидогликана вне кожи (кишечник, тонзиллы, кровоток) и в псориазической коже. Barbara Baker и Lionel Fry (2006-7), Imperial College, London, UK.



Новая системная модель патогенеза (Y-модель). Развитие BF-модели. Детальное согласованное описание системных и локальных подпроцессов. М.Ю.Песляк (2012).

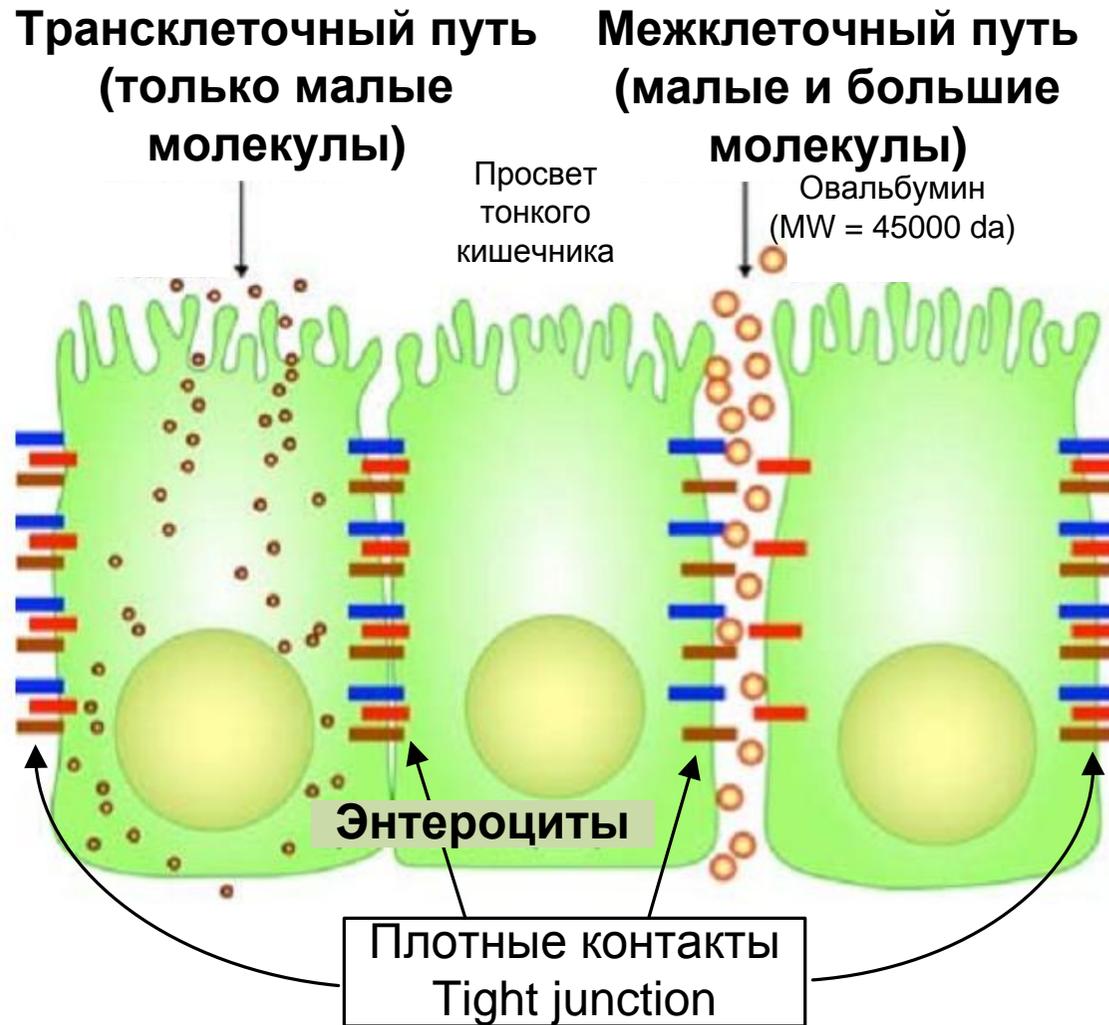
Трансклеточная тонкокишечная проницаемость при псориазе. Тест с D-ксилозой.



Многие пациенты с псориазом имеют синдром мальабсорбции (Харьков Е.И. с соавторами, Красноярский государственный медуниверситет). Была исследована взаимосвязь между синдромом мальабсорбции (SM) и псориазом. Степень SM может измеряться в граммах D-ксилозы, экскретируемых с мочой в течение 5 часов после орального приема. SM был определен у 83 псориаитиков и 20 человек из контрольной группы. У псориаитиков он был существенно снижен (SM=1,0, в среднем) по сравнению с нормой (SM=1,8, в среднем). Обнаружена обратная зависимость между SM и тяжестью (по PASI) и формой псориаза: вульгарная (SM=1,2, PASI=14), экссудативная или артропатическая (SM=1,0; PASI=18), эритродермия (SM=0,8; PASI=39). Также оказалось что, как правило, чем ниже SM, тем больше стаж заболевания.

Харьков Е.И., Прохоренков В.И., Ширияева Ю.А. Показатели функциональной активности тонкой кишки у больных псориазом. Сибирское медицинское обозрение, 2008;(6):55-58.
Харьков Е.И., Ширияева Ю.А., Терешина Д.С. Синдром мальабсорбции и псориаз: способ коррекции. Сибирский медицинский журнал (Иркутск), 2006;(7):61-63.
Харьков Е.И., Ширияева Ю.А. Синдром мальабсорбции при псориазе: клинико-лабораторные параллели. Сибирское медицинское обозрение, 2005;(2-3):62-64.
Ширияева Ю.А. Синдром мальабсорбции у больных псориазом. дис. к.мн., Красноярск, 2007, 150 с. .
Vojdani A. For the assessment of intestinal permeability, size matters. Altern Ther Health Med. 2013 Jan-Feb;19(1):12-24. 23341423.

Межклеточная тонкокишечная проницаемость при псориазе. Овальбуминовый тест.



С целью изучения уровня кишечной проницаемости у детей страдающих псориазом применялся овальбуминовый (ОВА) тест. В норме ОВА-уровень в крови до ОВА-нагрузки (приема белков куриного яйца) близок к нулю, а через 3 часа после ОВА-нагрузки он не должен превышать 1 нг/мл. У обследованной группы детей (30 пациентов) начальный ОВА-уровень в среднем был равен 1,13 нг/мл, а после ОВА-нагрузки составил 15,5 нг/мл (максимум достигал 104 нг/мл). Причем у детей в прогрессирующей стадии псориаза средний ОВА-уровень составлял 35,4 нг/мл, в то время как в стационарной стадии – 5,1 нг/мл.

В процессе лечения у больных (интервальная нормобарическая гипокситерапия) с подострым течением наблюдалось снижение ОВА-проницаемости в среднем с 43,2 нг/мл до 23,1 нг/мл. Явной корреляции между ОВА-проницаемостью и тяжестью псориаза, определенного по индексу PASI, обнаружено не было.

Положительный эффект гипокситерапии может быть связан с угнетением жизнедеятельности патогенных облигатных аэробов (например *Pseudomonas aeruginosa*) или некоторых кислород-зависимых штаммов стрептококков или энтерококков в микрофлоре ВДП и, возможно, тонкокишечной микрофлоре.

Стенина М.А., Кулагин В.И., Рудковская Ж.В. и др., Роль нарушений барьерной функции кишечника в патогенезе псориаза у детей, Российский журнал кожных и венерических болезней, 2003;(2):20-23.

Рудковская Ж.В., Клинико-лабораторный мониторинг эффективности применения метода интервальной нормобарической гипоксии в комплексном лечении псориаза у детей. Дис. кмн, Москва, 2003, 137 с.

Vojdani A. For the assessment of intestinal permeability, size matters. Altern Ther Health Med. 2013 Jan-Feb;19(1):12-24. 23341423.



Впервые исследования просветной микрофлоры проксимального отдела тонкого кишечника были проведены у 121 пациента с псориазом (PASI \geq 20) специалистами Ульяновского госуниверситета под руководством Н.И.Потатуркиной-Нестеровой в 2009-11 гг. В группу входило 52 пациента со средне-тяжелым псориазом (PASI 20-30) и 69 пациентов с тяжелым псориазом (PASI $>$ 30).

Контрольная группа состояла из 43 здоровых человек. Для определения родов и видов бактерий использовался метод культурального посева на специальные среды. Результаты исследований были опубликованы в российской периодике и представлены на всемирной псориатической конференции в Стокгольме.

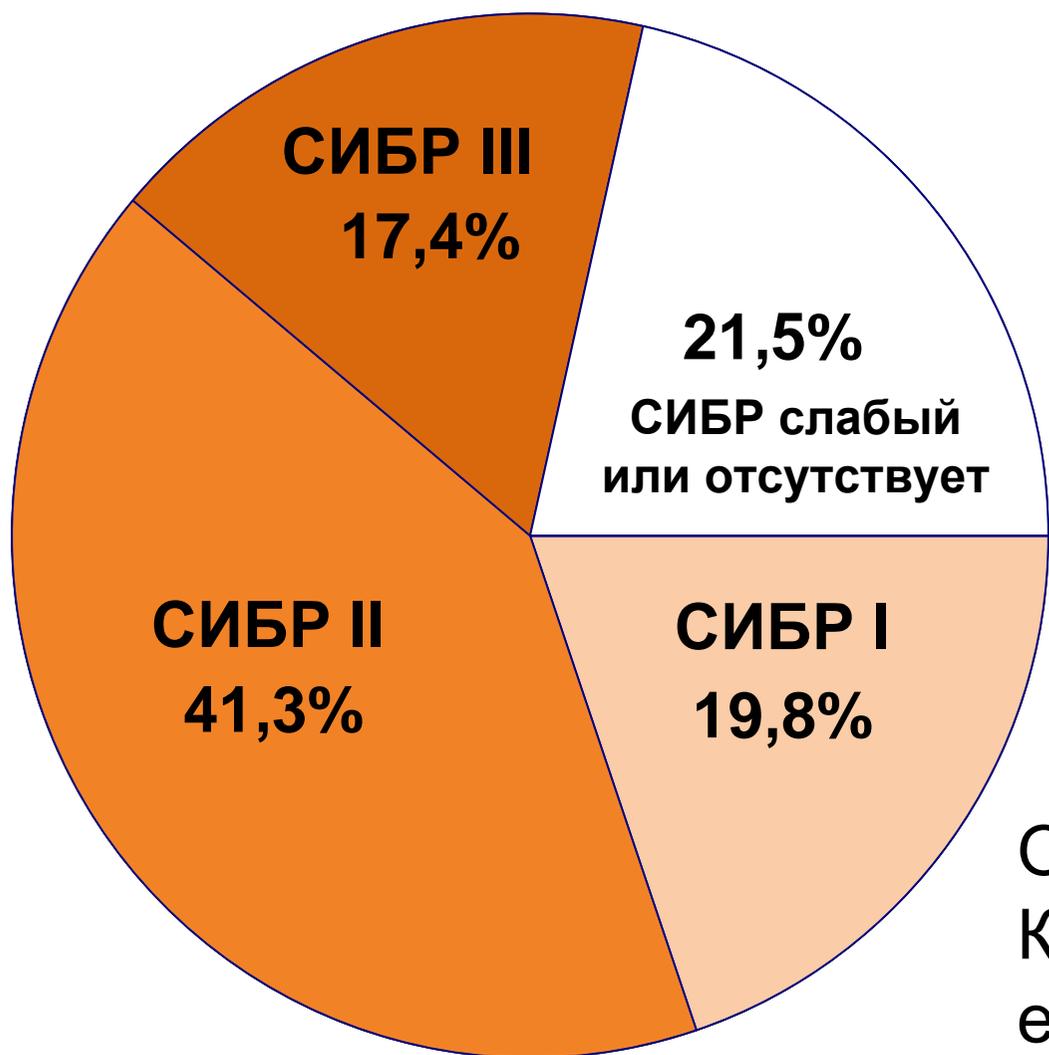
Среднее ОМЧ для пациентов с псориазом составило 3×10^6 КОЕ/мл, что существенно выше, чем в контрольной группе – $1,1 \times 10^3$ КОЕ/мл ($\lg=3,05$). Обнаружена корреляция между уровнем СИБР и значением PASI (коэффициент корреляции $R=0,46$), между уровнем СИБР и стажем заболевания ($R=0,43$).

У 93% пациентов с псориазом обнаружены *Bifidobacterium* spp. – в среднем 2×10^5 КОЕ/мл ($\lg=5,3$). В контрольной группе у 40%, в среднем 250 КОЕ/мл ($\lg=2,41$).

У 84% пациентов с псориазом обнаружены *Lactobacillus* spp., в среднем $4,6 \times 10^4$ КОЕ/мл ($\lg=4,66$). В контрольной группе у 19%, в среднем 350 КОЕ/мл ($\lg=2,54$).

У 79 из 121 (65%) пациентов с псориазом обнаружены *Enterococcus* spp. - в среднем 2×10^5 КОЕ/мл ($\lg=5,28$). В контрольной группе *Enterococcus* spp. не обнаружены. У части псориатиков обнаружены *Str.pyogenes* (9%) и *Str.viridans* (30%) (в контрольной группе не обнаружены).

Уровень тонкокишечного СИБР более 10^5 КОЕ/мл (ОМЧ > 5) был обнаружен у 95 из 121 пациента с псориазом (78,5%).



СИБР слабый или отсутствует.
ОМЧ менее 10^5 КОЕ/мл.

СИБР I. Нет анаэробной. ОМЧ аэробной от 10^5 до 10^6 КОЕ/мл.

СИБР II. Есть анаэробная. ОМЧ от 10^6 до 10^7 КОЕ/мл.

СИБР III. Преобладает анаэробная. ОМЧ более 10^7 КОЕ/мл

ОМЧ – общее микробное число.
КОЕ – колониеобразующая единица.



Тонкокишечный СИБР при псориазе. III.

Просветная микрофлора проксимальной части.

Микрофлора	Пациенты с псориазом (121 чел.)			Контрольная группа здоровых (43 чел.)		
	Носители	% носителей	Ig КОЕ/ мл	Носители	% носителей	Ig КОЕ/ мл
Bifidobacterium spp.	112	93%	5,3	17	40%	2,41
Lactobacillus spp.	102	84%	4,66	8	19%	2,54
Bacteroides spp.	20	17%	3,3	5	12%	2,86
E.coli typical	81	67%	5,04	11	26%	2,94
E.coli lactose-neg.	4	3%	3,62	0		
E.coli hemolytic	18	15%	3,6	0		
Enterococcus spp.	79	65%	5,28	0		
Str.viridans	36	30%	5,74	0		
S.aureus	18	15%	3,24	0		
Str.pyogenes	11	9%	4,81	0		
S.epidermidis	75	62%	5,54	17	40%	2,70
Candida	45	37%	4,76	10	23%	2,43
Acinetobacter spp.	7	6%	3,56	4	9%	2,40
Proteus spp.	24	20%	4,1	7	16%	2,14
Clostridium spp.	24	20%	5,2	0		
Klebsiella spp.	17	14%	3,13	0		
Moraxella spp.	63	52%	4,45	0		
ОМЧ			6,49			3,05

РАМР (Pathogen-associated molecular patterns) - Патоген-ассоциированные молекулярные структуры, в частности LPS - липополисахарид (Gram(-) бактерии), LTA-липотейхоевые кислоты (Gram+ бактерии), PG – пептидогликан (Gram+ и Gram- бактерии), CpG (фрагмент бактериальной или вирусной ДНК) и т.д.

TLR4 – лиганд LPS;

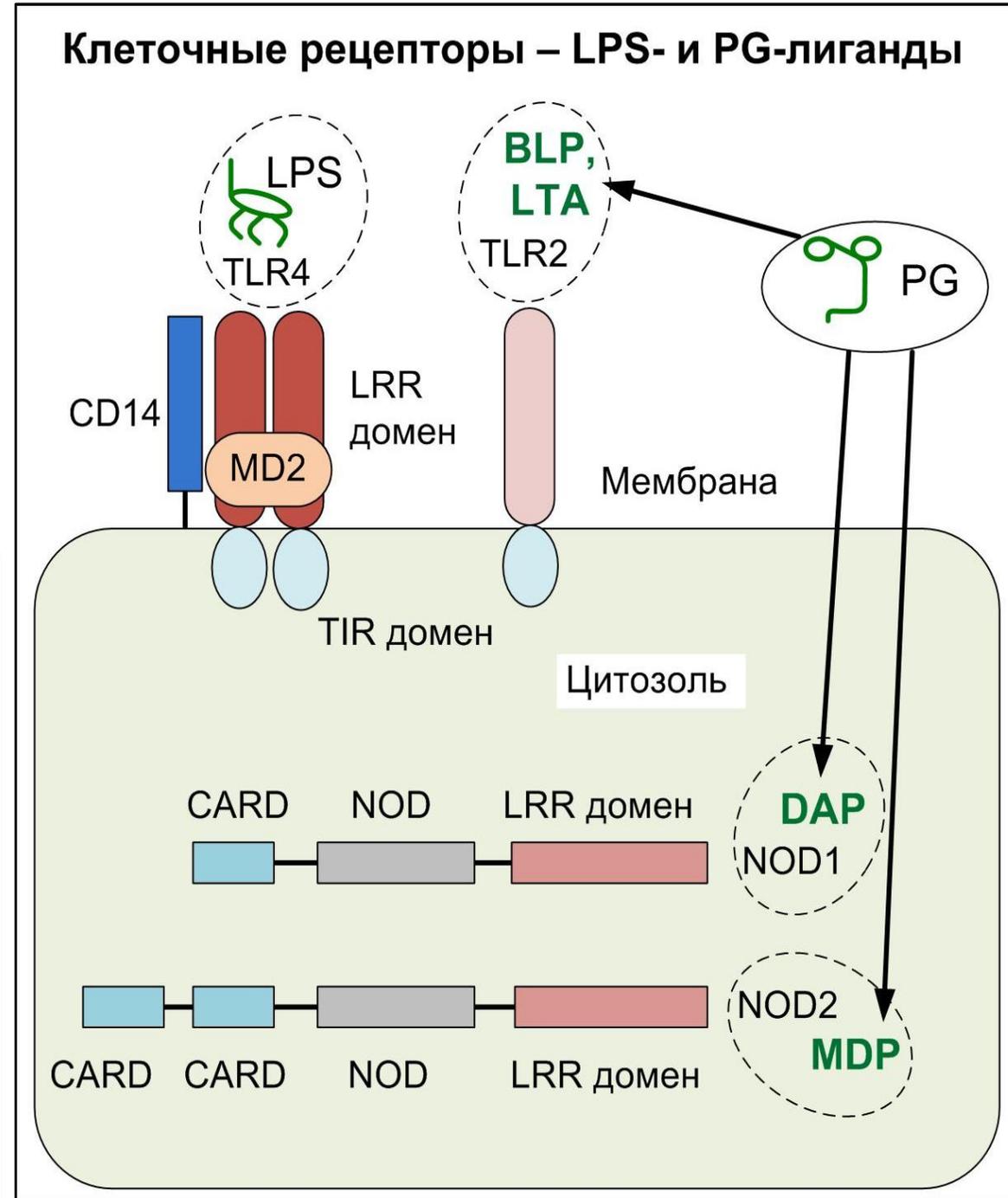
Рецепторы фрагментов PG:

TLR2 – лиганд BLP (бактериальный липопроtein) и LTA;

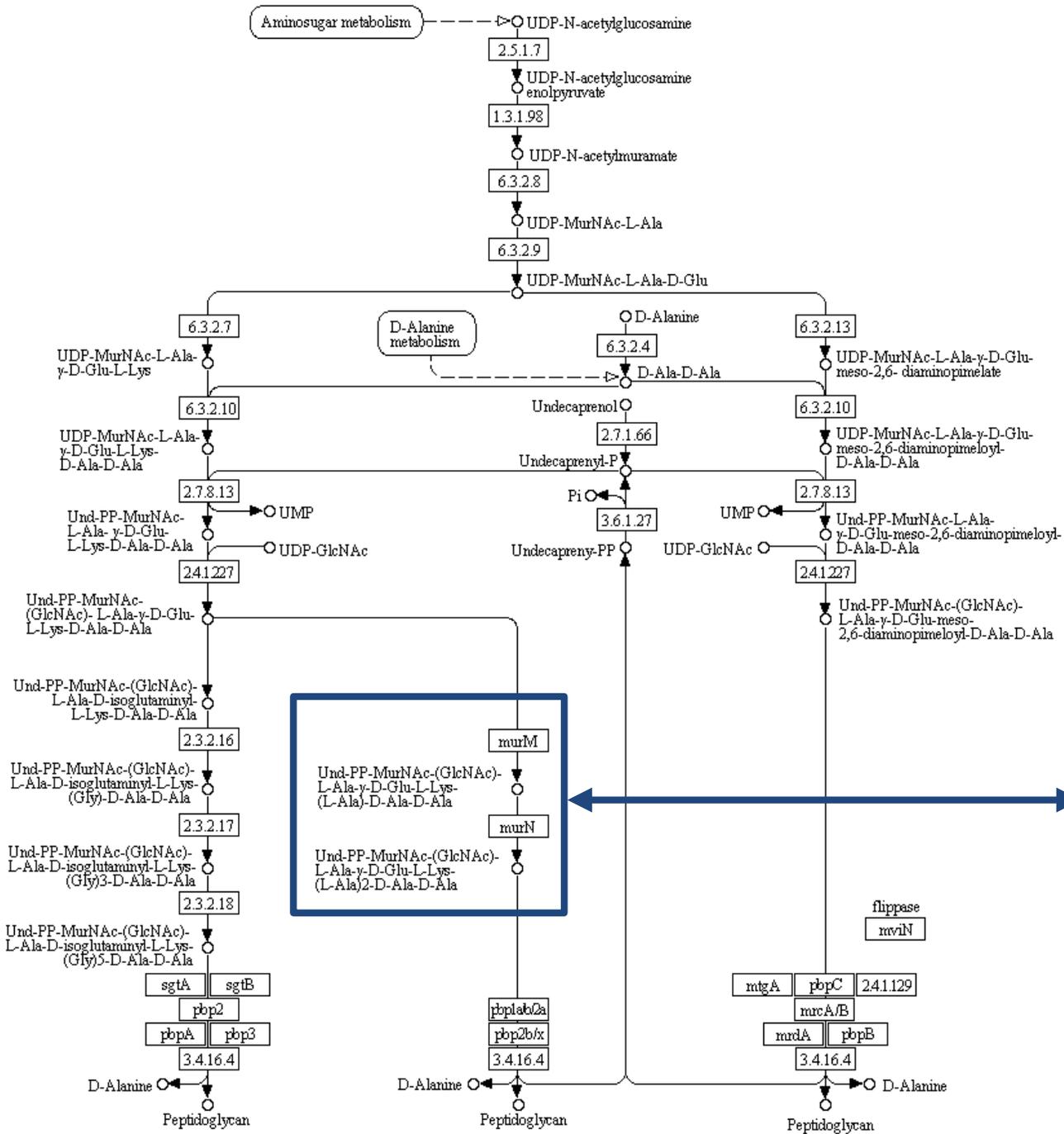
NOD1 – лиганд DAP (диаминопимелиновая кислота);

NOD2 – лиганд MDP (мурамил дипептид).

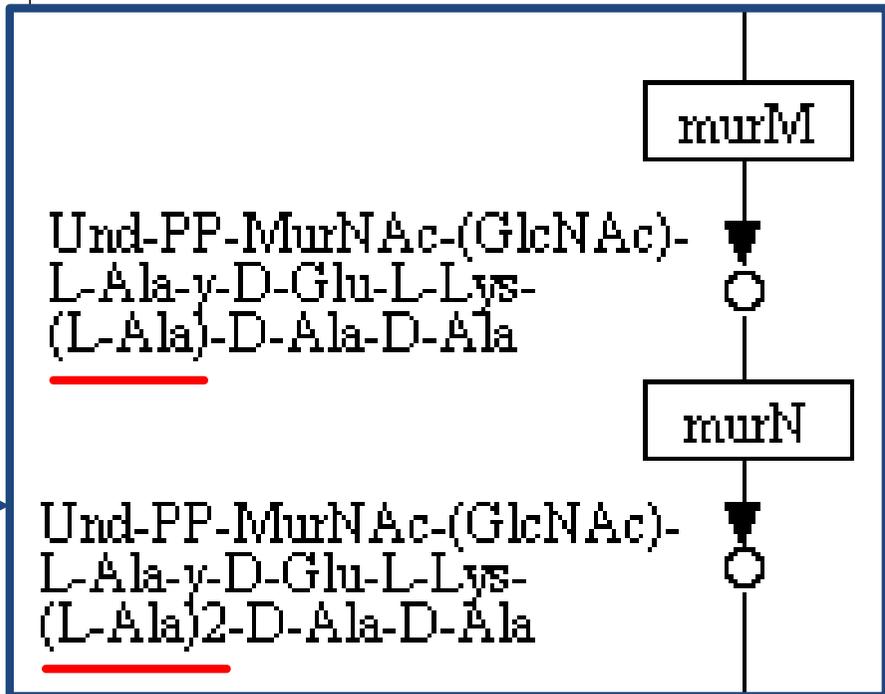
Активность взаимодействия РАМР с его лигандом определяется модификацией РАМР.



PEPTIDOGLYCAN BIOSYNTHESIS



Биосинтез межпептидного мостика с участием энзимов типа murM и murN



www.kegg.jp

00550 5/28/15
(c) Kanehisa Laboratories

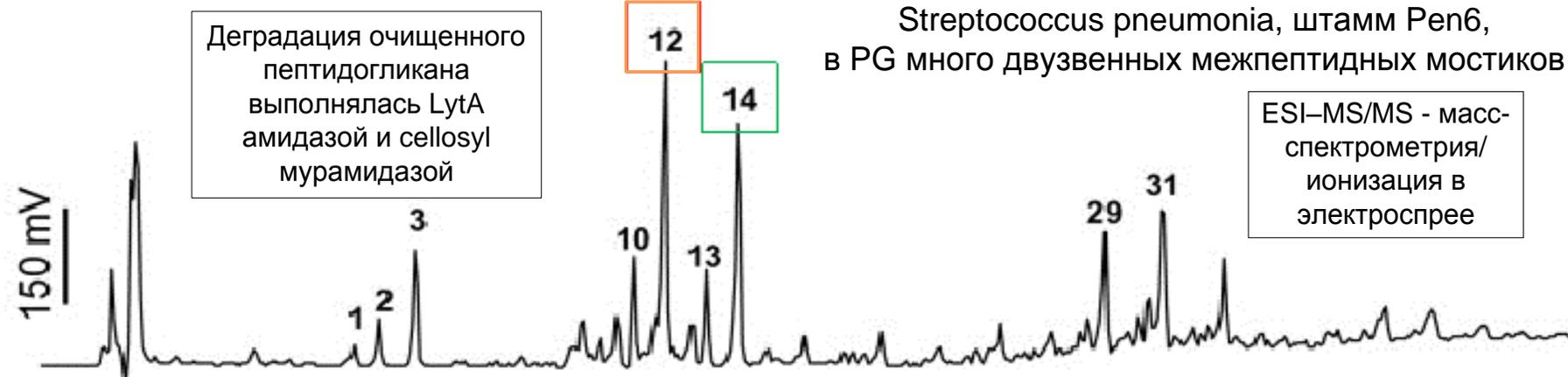
Таблица 1. Виды бактерий с межпептидными мостиками (L-Ala)*2 или (L-Ala)-(L-Ser). База данных KEGG.

Enterococcus faecalis	Streptococcus macedonicus
Lactococcus garvieae	Streptococcus mitis
Lactococcus piscium	Streptococcus mutans
Melissococcus plutonius	Streptococcus oligofermentans
Streptococcus agalactiae	Streptococcus parasanguinis
Streptococcus anginosus	Streptococcus pasteurianus
Streptococcus constellatus subsp. pharyngis	Streptococcus pneumoniae
Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis	Streptococcus pseudopneumoniae
Streptococcus equi subsp. equi	Streptococcus pyogenes
Streptococcus equi subsp. zooepidemicus	Streptococcus salivarius
Streptococcus gallolyticus subsp. gallolyticus	Streptococcus sanguinis
Streptococcus gordonii	Streptococcus suis
Streptococcus infantarius	Streptococcus thermophilus
Streptococcus iniae	Streptococcus uberis
Streptococcus intermedius	

Все штаммы каждого из этих видов имеют пептидогликан аналогичный пептидогликану **Str.pyogenes**. Все эти виды предполагаются псоррагенными.

В разных бактериях формирование межпептидных мостиков обеспечивают различные murMN-гены. По базе данных KEGG (kegg.jp) можно определить все (внесенные в нее) штаммы бактерий, которые имеют гены, обеспечивающие секрецию обоих энзимов, т.е. и типа murM и типа murN.

Муропептиды, образующиеся при деградации пептидогликана *Str.pneumonia in vitro*

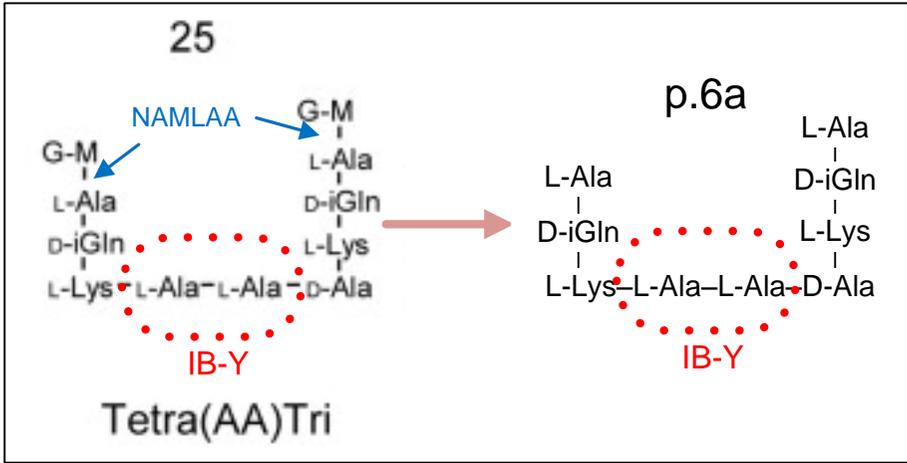
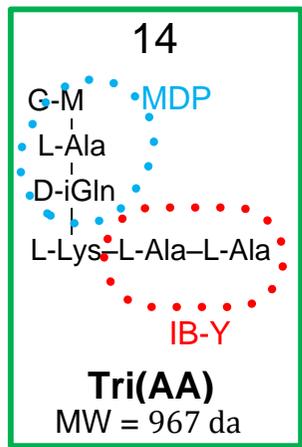
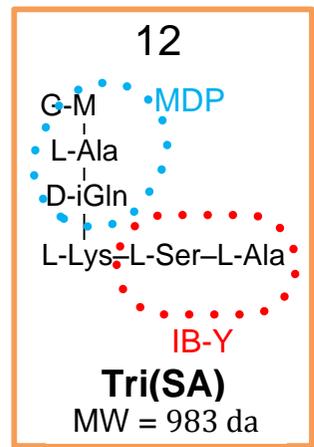


Деградация очищенного пептидогликана выполнялась LytA амидазой и cellosyl мурамидазой

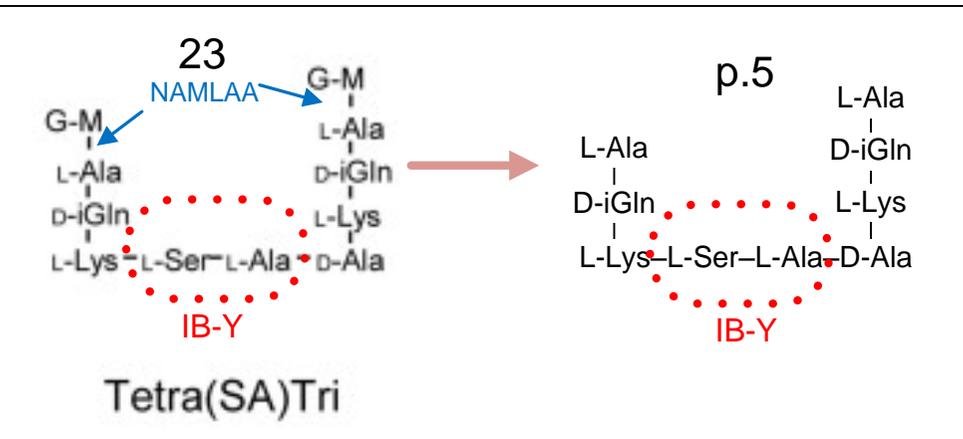
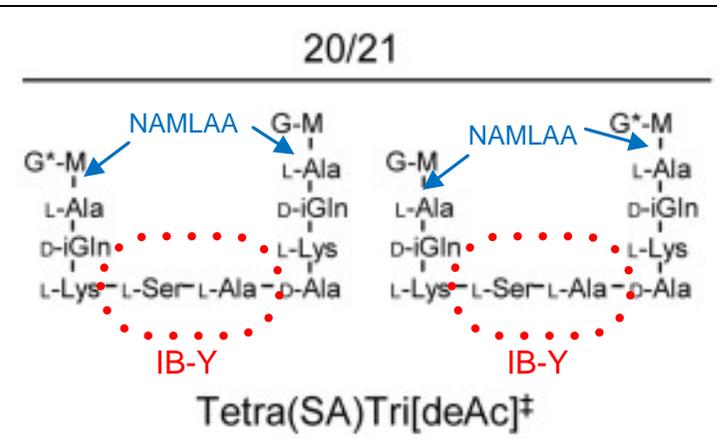
Streptococcus pneumoniae, штамм Pen6, в PG много двузвенных межпептидных мостиков

ESI-MS/MS - масс-спектрометрия/ионизация в электроспрее

Муропептиды 12 и 14 составляют значительную часть фрагментов PG (более 20%) штамма Pen6, содержат MDP (NOD2 лиганд) и IB-Y. Их доля в общей массе определяется % межпептидных мостиков L-Ser-L-Ala и L-Ala-L-Ala в конкретном штамме.



Структура некоторых муропептидов (всего было обнаружено 37). Муропептиды 20, 21, 23 и 25 после воздействия внутриклеточной амидазы NAMLAA (=PGRP2) образуют линейные пептиды 5 и 6a, соответственно. Линейные пептиды 5 и 6a содержат эпитоп IB-Y и имеют длину 9 аминокислот, что позволяет им презентироваться через MHC I. MDP будучи адъювантом обеспечивает интенсивность процессирования и презентации.



Isolation and analysis of cell wall components from *Streptococcus pneumoniae*. Anal Biochem. 2012 Feb 15;421(2):657-66. doi: 10.1016/j.ab.2011.11.026 22192687.

Псориаз и эндотоксинемия (LPS-немия). Методы оценки уровня LPS и PG в крови.

Для группы из 16 пациентов, имеющих псориаз средней тяжести (среднее PASI = 16,5) общий уровень LPS (липополисахарид, он же эндотоксин) составил в среднем 7,2 Еу/мл, а для группы из 30 пациентов с тяжелым псориазом (среднее PASI = 24) - 35,8 Еу/мл.

У пациентов с эритродермией и экссудативным псориазом он достигал от 1000 до 2800 Еу/мл. В группе контроля (112 здоровых человек) общий уровень LPS в среднем составил 0,1 Еу/мл (Еу~0,1 нг). Уровень LPS в крови определялся с помощью модифицированного **LAL-теста (Limulus Amebocyte Lysate)**. Исследования были выполнены З.Ш. Гараевой с соавторами (2005-7), Казанская медицинская академия.

Альтернативным методом оценки уровня LPS в крови является **EAA (Endotoxin Activity Assay, Spectral Medical Inc.)**. Этот метод точнее LAL-теста при концентрации LPS < 0,25 Еу/мл, с 2003 года одобрен FDA и применяется для оценки риска развития сепсиса. Оценка уровня LPS в крови пациентов с псориазом с помощью EAA никогда не проводилась.

Тест-система для оценки уровня PG в крови только одна (реагирует также и на beta-глюкан): **SLP (silkworm larvae plasma)**, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.

Уровень PG в крови в норме (группа контроля 14 человек) в среднем - 20 пг/мл (от 0 до 90), уровень PG в крови у пациентов с сепсисом от 50 пг/мл (Fitting 2012) до 190 нг/мл (Kobayashi 2000). Оценка уровня PG в крови пациентов с псориазом никогда не проводилась.

Подробнее о LAL-тесте здесь: www.limulustest.ru.

Гараева З.Ш., Сафина Н.А., Тюрин Ю.А., Куклин В.Т., Зинкевич О.Д. Дисбиоз кишечника как причина системной эндотоксинемии у больных псориазом. Вестник дерматологии и венерологии, 2007;(1):23-27. и Гараева З.Ш. Эндотоксинемия в патогенезе псориаза. Лечащий врач, 2013, 5.

Kobayashi T, Tani T, Yokota T, Kodama M. Detection of peptidoglycan in human plasma using the silkworm larvae plasma test. FEMS Immunol Med Microbiol. 2000 May;28(1):49-53. 10767607.

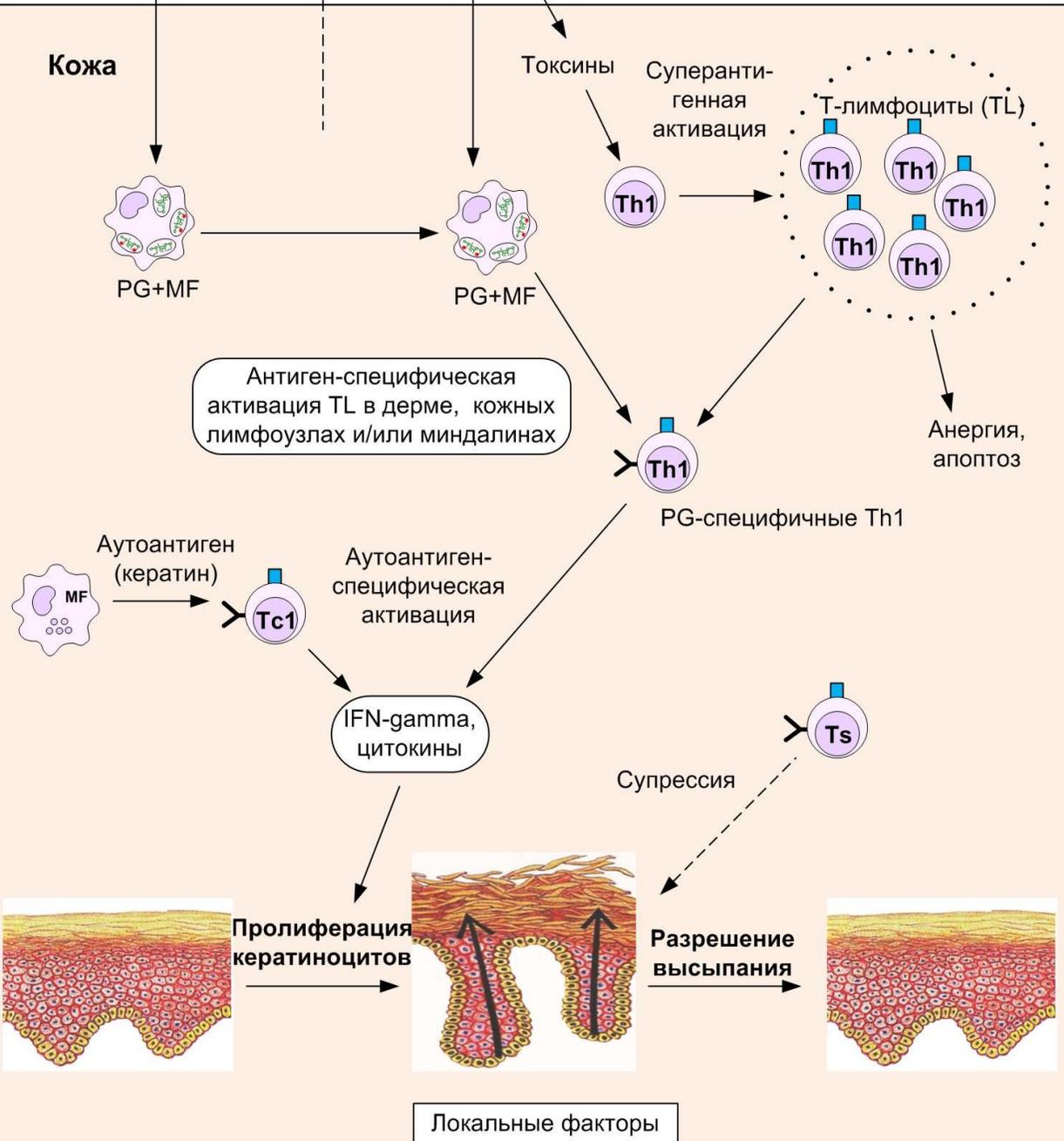
Ishihata K, Kakihana Y, Yasuda T et al, Newly Developed Endotoxin Measurement Method (the Endotoxin Activity Assay) May Reflect the Severity of Sepsis, Open Journal of Pathology, Vol. 3 No. 1, 2013, pp. 1-6.

Fitting C, Parlato M, Adib-Conquy M. et al. DNAemia detection by multiplex PCR and biomarkers for infection in systemic inflammatory response syndrome patients. PLoS One. 2012;7(6):e38916. doi: 10.1371/journal.pone.0038916. 22719987.

BF-модель патогенеза (B.Baker & L.Fry, 2006-7).

Хронический псориаз
Миндалины, кишечник
Резервуар стрептококков

Временный каплевидный псориаз
Миндалины
Стрептококковая инфекция



PG индуцирует активацию Т-лимфоцитов (TL) при временном каплевидном псориазе (GP) и при хроническом псориазе (CPs). При GP стрептококк в миндалинах производит токсины, являющиеся суперантигенами, которые активируют TL. Суперантигены также вызывают у TL экспрессию CLA. Большинство активированных TL становится анергичными или гибнет, тогда как PG-специфическая субпопуляция сохраняется из-за контакта с PG+MF. Цитокины, произведенные PG-специфическими TL вызывают пролиферацию кератиноцитов. При хроническом псориазе стрептококки и/или стрептококковые антигены сохраняются в миндалинах и/или кишечнике. PG+MF мигрируют к коже, чтобы активировать PG-специфические TL.

BF-модель не дает ответов на следующие вопросы:

- 1. Почему PG+Mo оказываются в коже, хотя PG захвачен Mo совсем в другом месте организма?**
- 2. Почему PG+Mo становятся PG+MoDC и презентируют PG?**

Baker BS, Powles A, Fry L. Peptidoglycan: a major aetiological factor for psoriasis? Trends Immunol. 2006 Dec;27(12):545-51. 17045843.

Системный псориатический процесс SPP. Повышенное кРАМР-носительство толеризованных фагоцитов. Повышенное (PG-Y)-носительство R-фагоцитов.

Y-модель патогенеза (М.Песляк, 2012).

Взаимовлияние локальных процессов

LP2-воспаление

PLS-воспаление

LP1. Привлечение иммунцитов из кровотока.
LP1.1. Мо и DC, Мо-Т и DC-Т (вкл. Мо-R и DC-R).
LP1.2. PDC, NK, Neu, TL и др.

LP2. Иницирующий и усугубляющий процесс.

LP3. Врожденный ответ против LP2.

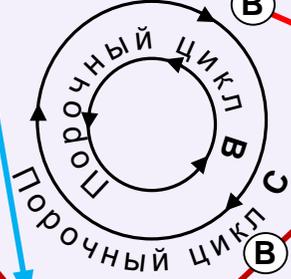
LP5. Приобретенный ответ против LP2.

LP7. Лимфоузлы. Клональная пролиферация
LP7.1. TL-Z **LP7.2.** TL-Y

LP4. Триггер приобретенного ответа против LP2.

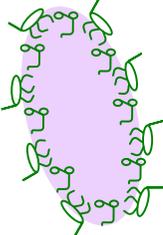
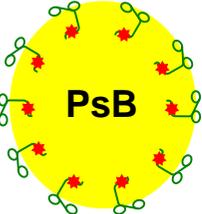
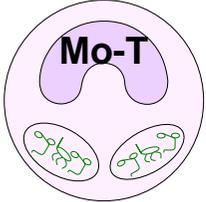
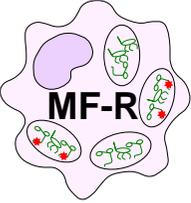
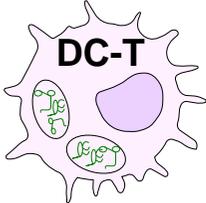
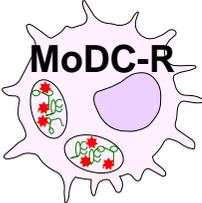
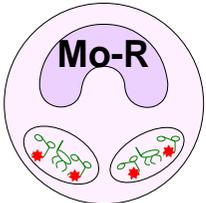
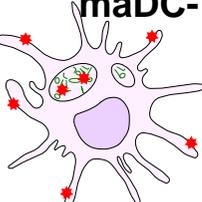
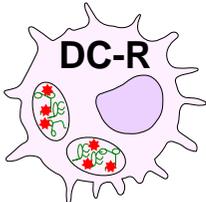
LP6. Трансформации Мо и DC
LP6.1. Потеря толерантности к кРАМР.
LP6.2. Образование MF и МоDC
LP6.3. Образование maDC-Z
LP6.4. Образование maDC-Y?

LP8. Ложный приобретенный ответ на мнимую PsB-инфекцию.
LP8.1. Презентация Y-антигена maDC-Y эффекторным ThN-Y.
LP8.2. Гиперпролиферация KC. Изменение архитектуры кожи. Рост васкуляриности и площади базальной мембраны.



Наиболее важные зависимости обозначены цветными стрелками. Цвет стрелки определяет цвет причинного процесса.

Песляк М.Ю. Модель патогенеза псориаза. Часть 1. Системный псориатический процесс, Москва, МУРЕ, 2012, 94 с, ISBN 9785905504013,
 Песляк М.Ю. Модель патогенеза псориаза. Часть 2. Локальные процессы., Москва, МУРЕ, 2012, 116 с. ISBN 9785905504037.

<p>Y-antigen</p> 	<p>Y-антиген = часть(и) межпептидного мостика IB-Y ?</p>	<p>LPS</p> 	<p>LPS = липополисахарид, свободный или связанный в комплексы с LBP, sCD14 и др.</p>
<p>PG-Y</p> 	<p>PG-Y = пептидогликан A3alpha с межпептидными мостиками IB-Y (но м.б. и с другими также)</p>		<p>Gram(-) TLR4-активные бактерии</p>
<p>PsB</p> 	<p>PsB = псоррагенные бактерии = Gram+ бактерии с пептидогликаном PG-Y</p>		<p>Mo-T = толеризованные моноциты. Они являются кРАМР-носителями.</p>
<p>MF-R</p> 	<p>MF-R = макрофаги, происшедшие от Мо-R</p>		<p>DC-T = толеризованные дендритные клетки. Они являются кРАМР-носителями.</p>
<p>MoDC-R</p> 	<p>MoDC-R = дендритные клетки, происшедшие от Мо-R</p>		<p>Mo-R = PG-Y(+)Mo-T</p>
<p>maDC-Y</p> 	<p>maDC-Y = зрелые дендритные клетки, презентующие Y-антиген</p>		<p>DC-R = PG-Y(+)DC-T</p>

SPP. Два первопричинных подпроцесса.

В системном псориазическом процессе SPP главную роль играют два первопричинных подпроцесса в тонком кишечнике:

SP1. Повышенная проницаемость для бактериальных продуктов.

SP2. Рост популяций Gram+ NOD2-активных (включая псориагенные PsB) и Gram(-) TLR4-активных бактерий.

Эти два подпроцесса (вместе с другими) поддерживают подпроцесс

SP4. PAMP-немия = Эндотоксинемия (LPS-немия) + PG-немия.



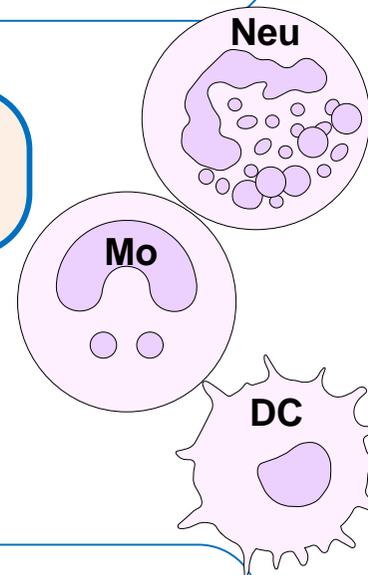
Главные кРАМР (key PAMP) это
LPS (липополисахарид) и  PG (пептидогликан).

кРАМР-нагрузка это фагоцит-зависимый расход (связывание, эндоцитоз) кРАМР и контакт с кРАМР.

кРАМР оказывают **синергичное** воздействие на фагоциты.

РАМР-немия это хроническое повышение кРАМР-нагрузки на фагоциты крови (нейтрофилы, моноциты и дендритные клетки), приводящее

- к формированию существенной доли толеризованных фагоцитов
- к повышению уровня кРАМР в кровотоке
- к повышенному кРАМР-носительству толеризованных фагоцитов

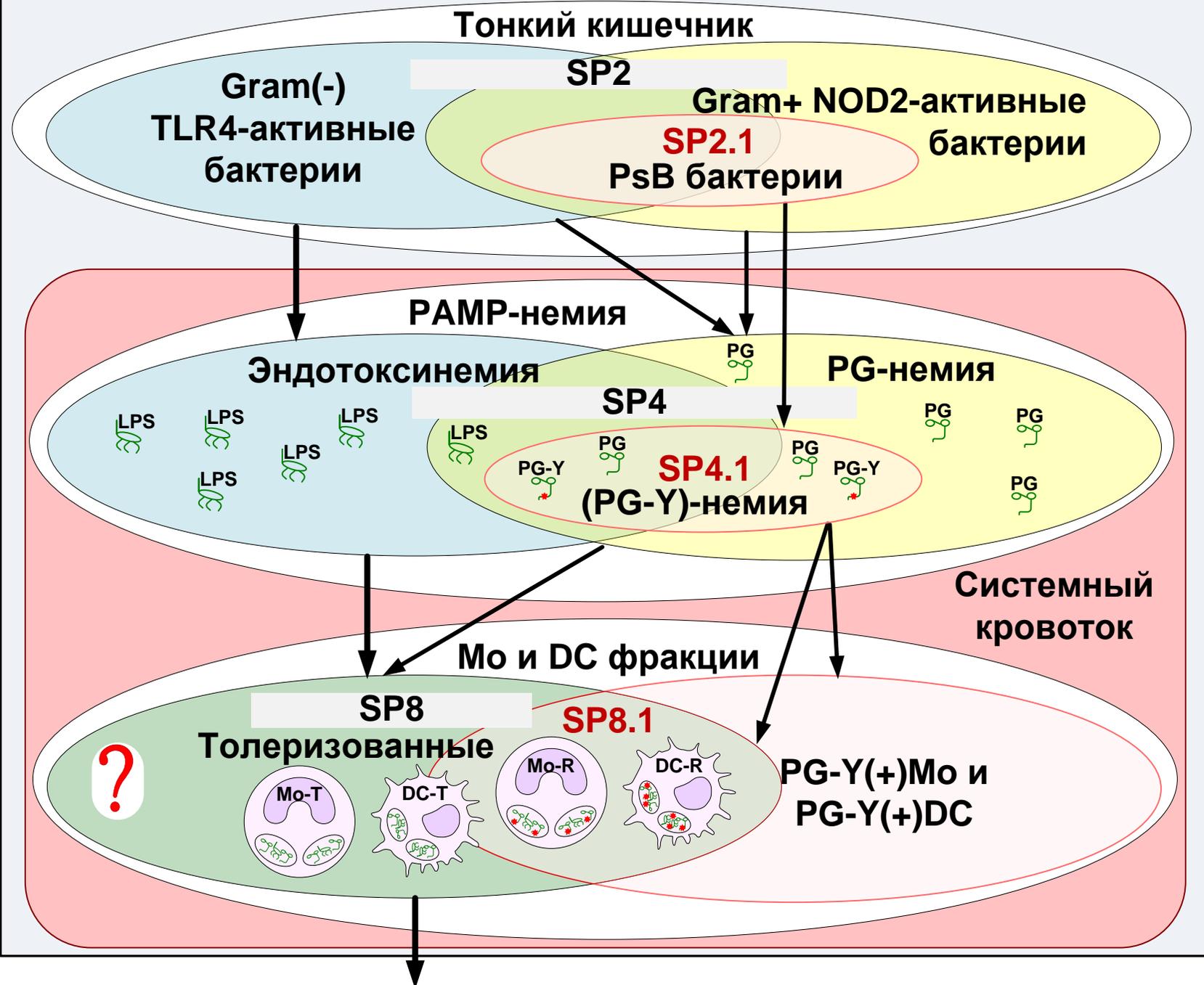


**Две
компоненты
SPP-базиса:
толери́зация
фагоцитов
и их (PG-Y)-
носите́льство.**

Mo-R = PG-Y(+)Mo-T
DC-R = PG-Y(+)DC-T

Подфракции
Mo-R и **DC-R**
могут существовать
(SP8.1) только когда
эти две компоненты
действуют вместе.

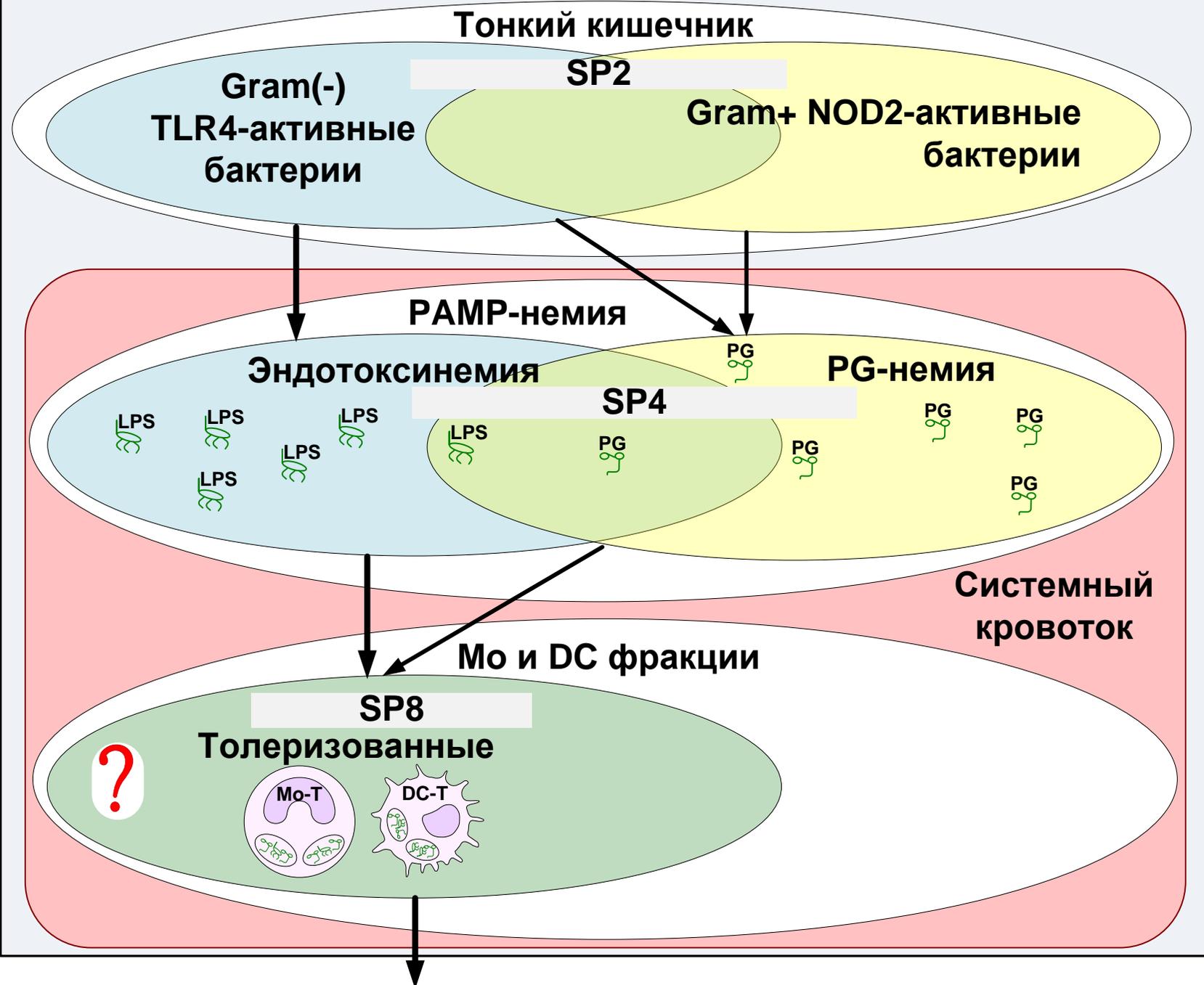
**SPP действует
только,
если SP8.1
действует.**



LP1.1. Привлечение Mo и DC, Mo-T и DC-T (вкл. Mo-R и DC-R) из кровотока.

LP6. Трансформации Mo и DC.

pre-SPP: толеризация



Две компоненты SPP-базиса: толеризация фагоцитов и их (PG-Y)-носительство.

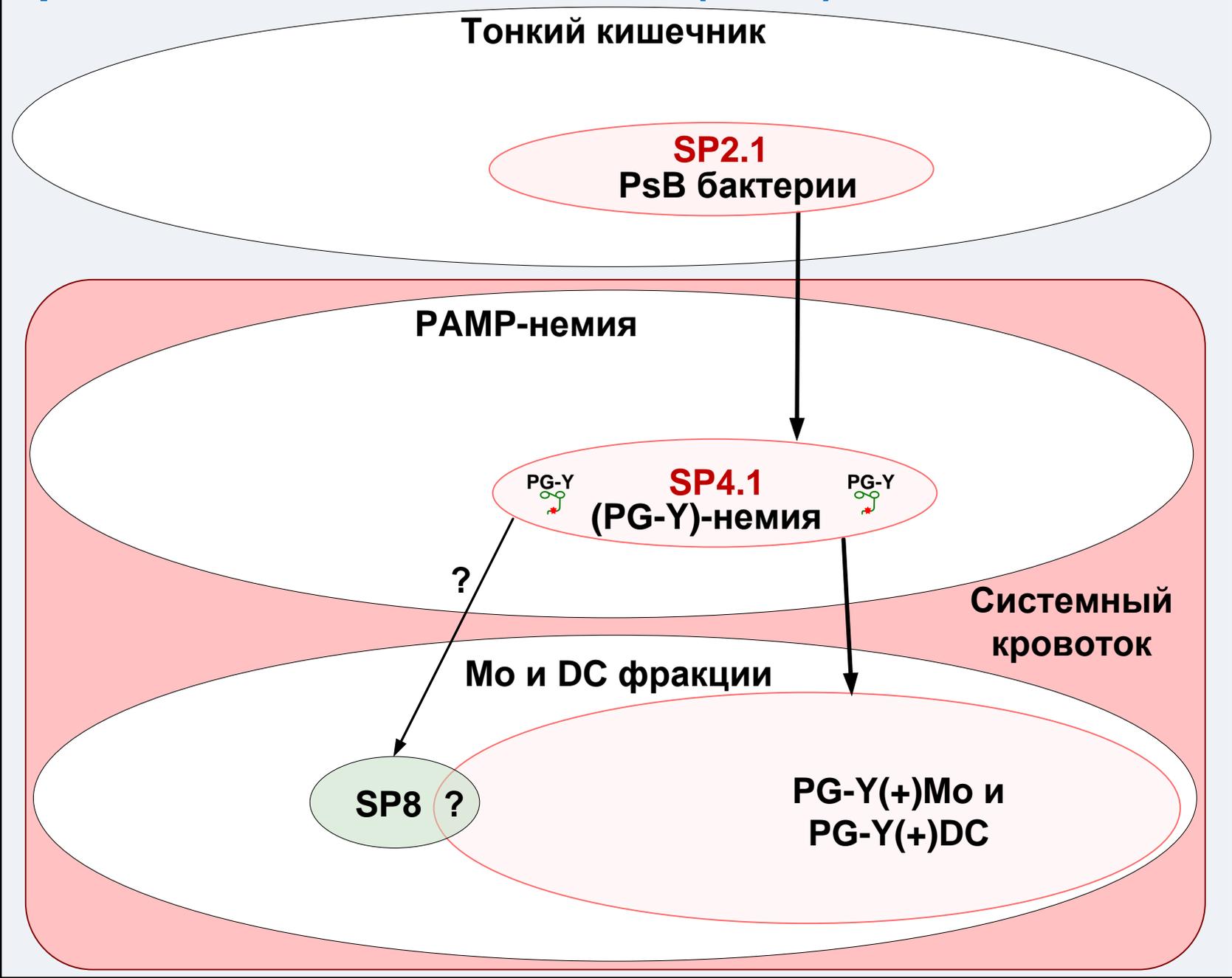
Mo-R = PG-Y(+)
DC-R = PG-Y(+)

Подфракции Mo-R и DC-R могут существовать (SP8.1) только когда эти две компоненты действуют вместе.

SPP действует только, если SP8.1 действует.

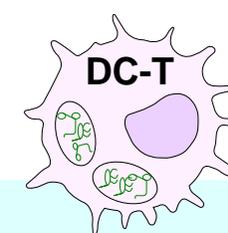
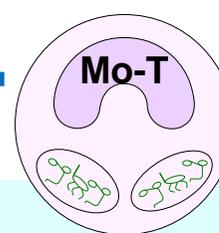
LP1.1. Привлечение Мо и DC, Мо-Т и DC-Т из кровотока.

**Две
компоненты
SPP-базиса:
толеризация
фагоцитов
и их (PG-Y)-
носительство.**
Mo-R = PG-Y(+)Mo-T
DC-R = PG-Y(+)DC-T



Подфракции **Mo-R** и **DC-R** могут существовать (SP8.1) только когда эти две компоненты действуют вместе.

SPP действует только, если SP8.1 действует.



Понижены

- Секреция провоспалительных цитокинов (TNF-alpha, IL-1beta, IL-12 и др.) после повторной PAMP-нагрузки.
- Экспрессия HLA-DR, CD74, HLA-DM, CD58 (LFA-3) и CD86 и др.
- Производство и уровень внутриклеточных протеинов катепсина S и легумаина, ответственных за **деградацию** и процессирование антигенов.
- Производство, транспорт и экспрессия MHC II
- Способность презентировать антигены и активировать T-лимфоциты

Повышен уровень внутриклеточного протеина **IRAK-M**, ответственного за толеризацию.

Способность быстро терять толерантность (депрограммироваться) под воздействием цитокинов-депрограммеров IFN-gamma, GM-CSF и (опосредованно) IL-12.

Свойство 2.
Они являются **kPAMP-носителями.**

Свойство 1.
Их хеомостатусы (ассортимент экспрессированных хемокиновых рецепторов) подобны неактивированным.

DC-T - да
Mo-T - ?

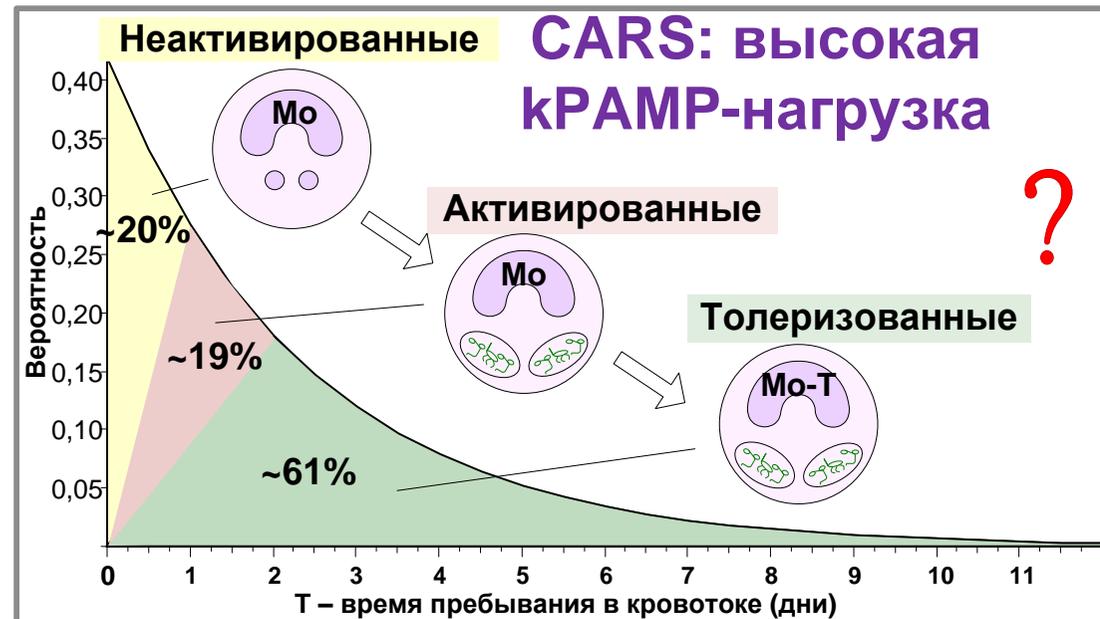
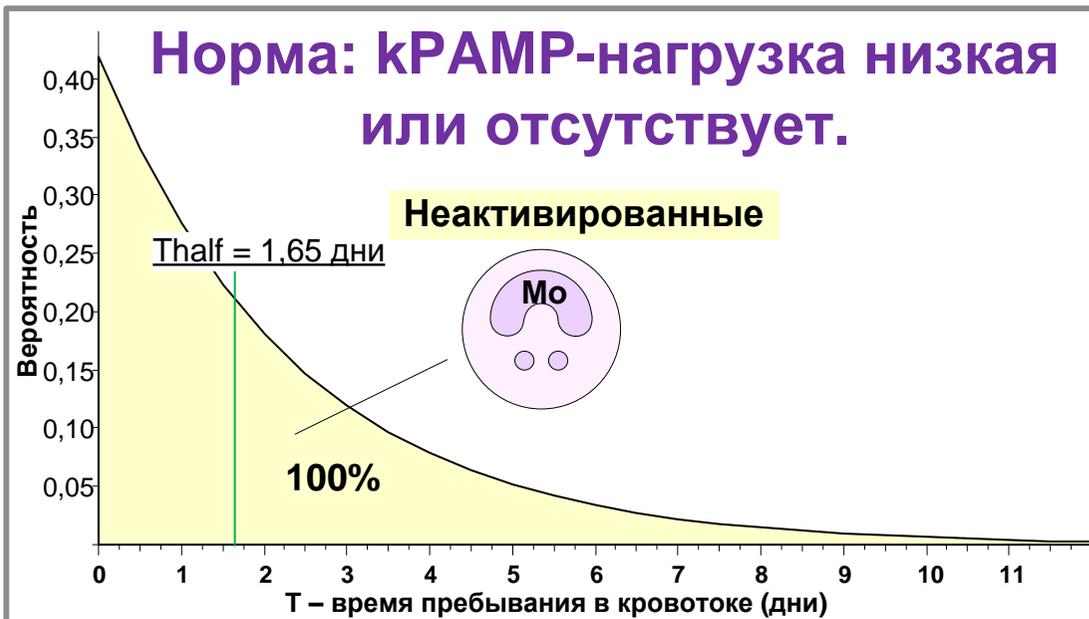
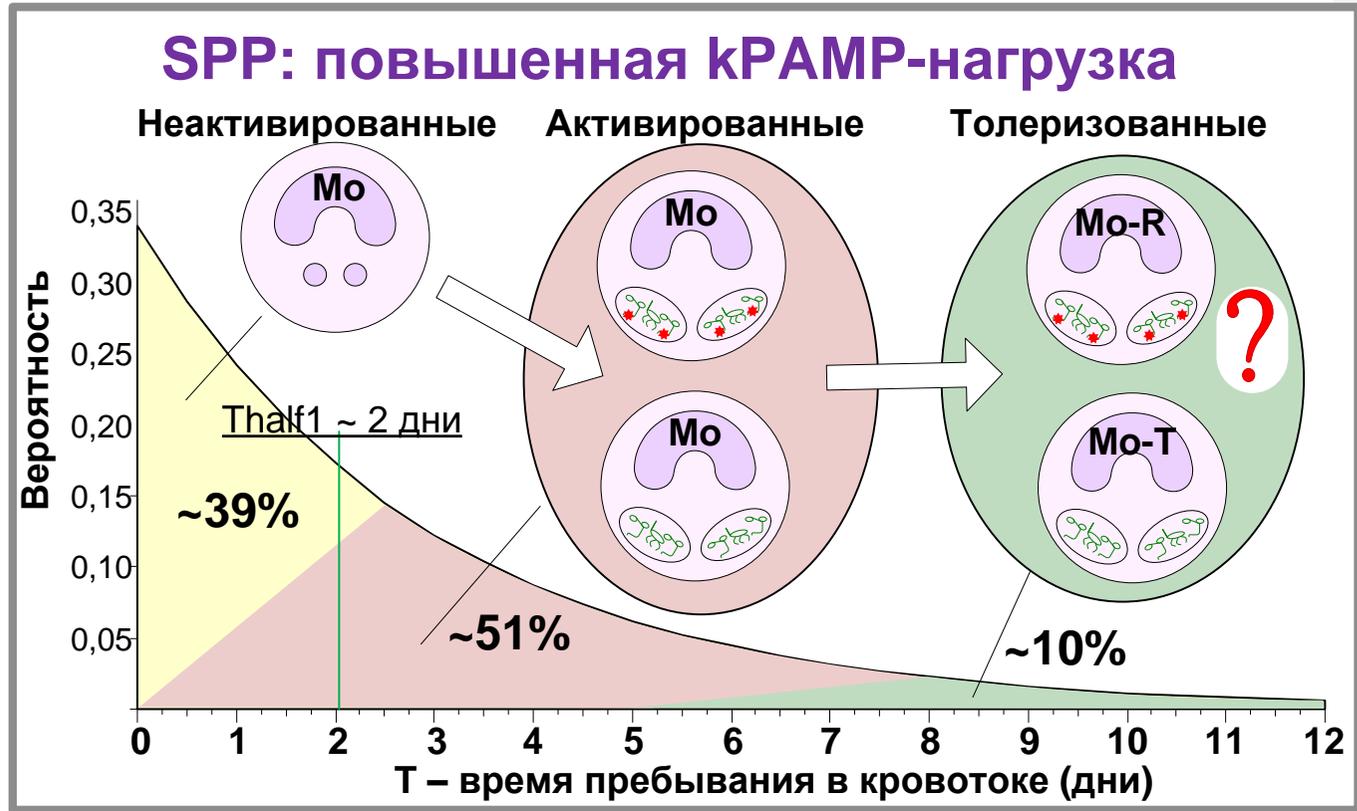
@



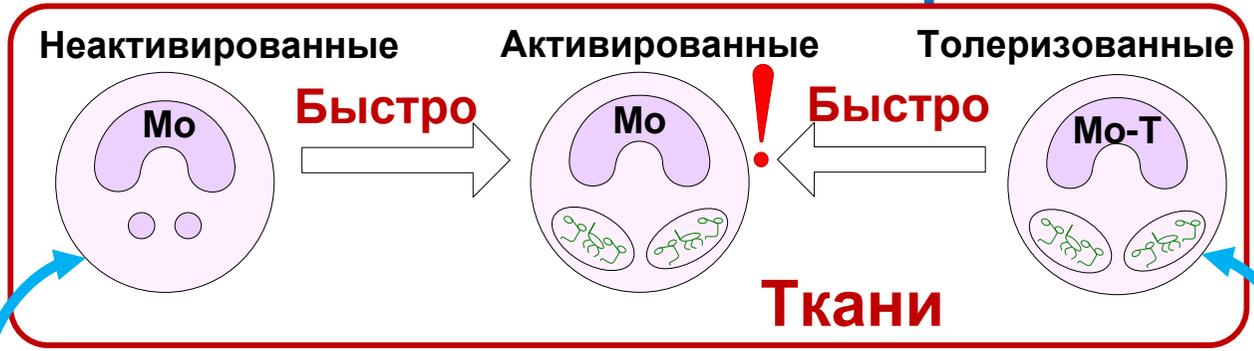
Как образуется толеризованная фракция?

Возможное фракционирование при SPP и при CARS (компенсаторном противовоспалительном синдроме).

SPP - это слабый CARS?

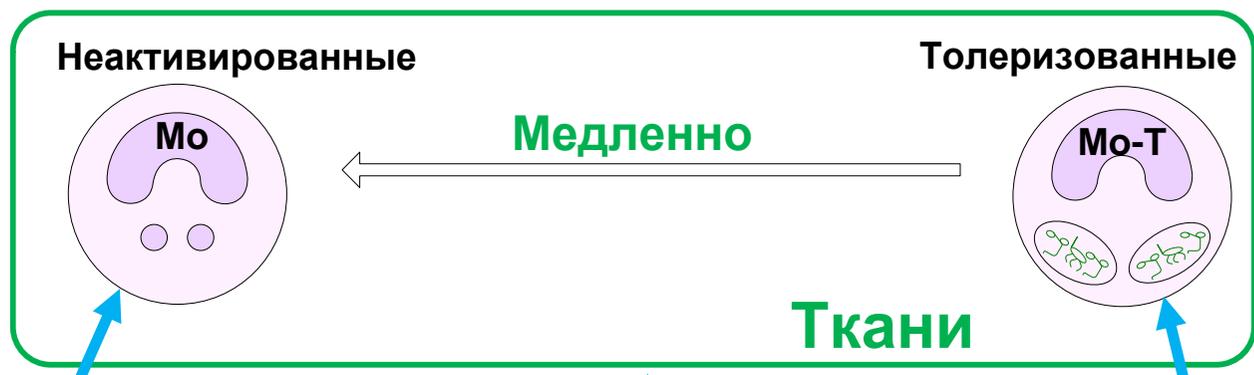


Трансформации и хемотатус CD14+CD16+ моноцитов



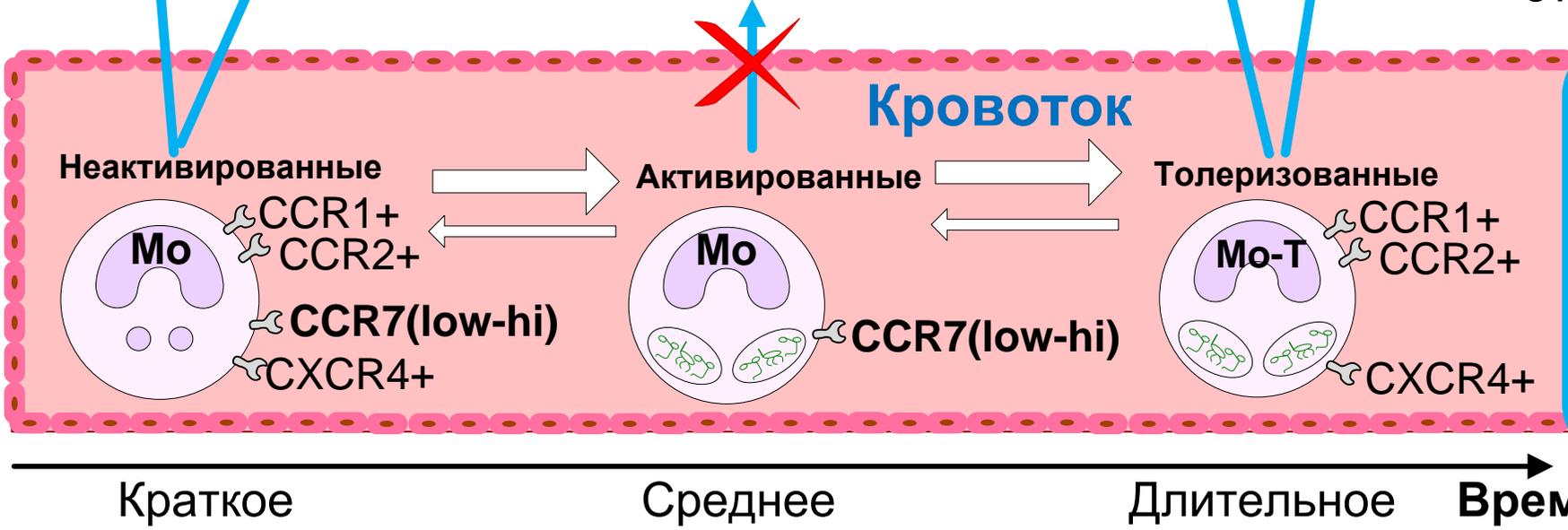
Воспаление

Цитокины-депрограммеры GM-CSF, IFN-gamma в избытке.
кРАМР-нагрузка возможна.



Гомеостаз

Цитокины-депрограммеры GM-CSF, IFN-gamma отсутствуют.
кРАМР-нагрузка отсутствует.



?
Свойство 1.
Хемотатус Мо-Т подобен неактивированному.

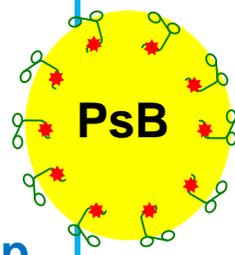
Краткое Среднее Длительное **Время**

Ожидаемое время пребывания в кровотоке под хронической кРАМР-нагрузкой.

? Системный псориазический процесс SPP. Гипотезы. 25

H1

Главными причинами SPP являются колонизация тонкого кишечника Gram+ NOD2-активными (в т.ч. псоррагенными PsB) и Gram(-) TLR4-активными бактериями, а также его повышенная проницаемость для бактериальных продуктов. PsB - это E.faecalis, beta-гемолитические стрептококки, VGS и некоторые др.



H2

PsB имеют PG-Y - пептидогликан с межпептидными мостиками IB-Y, т.е. L-Ala(2-3) и-или L-Ala-L-Ser. Y-антиген это часть(и) межпептидного мостика IB-Y.

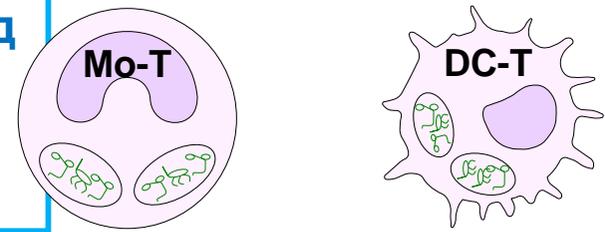


H3

РАМР-немия и (PG-Y)-немия это главные процессы. кРАМР это LPS и PG.

H4

Рост фракций толеризованных Мо-Т и DC-Т в кровотоке под хронической кРАМР-нагрузкой. Их повышенное кРАМР-носительство. Они формируются в результате долгосрочного пребывания в кровотоке.

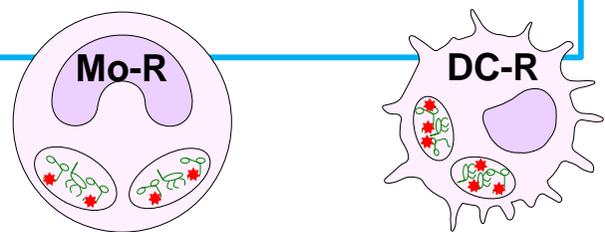


H5

Хемотростатусы толеризованных Мо-Т и DC-Т подобны неактивированным.

H6

Рост подфракций Мо-R и DC-R в кровотоке под хроническими кРАМР-нагрузкой и (PG-Y)-нагрузкой. Тяжесть SPP пропорциональна их суммарному (PG-Y)-носительству.



H7

SPP – это слабый CARS (компенсаторный противовоспалительный синдром).



Часть 2.

Методы диагностики, сотрудничество и порядок участия пациентов.

- Микрофлора и проницаемость. Факты и вопросы.
- Тонкокишечная микрофлора. Стандартные и новые методы диагностики.
- Цели и сотрудничество
- Порядок участия пациента в НИР
- Планы на 2016 год

Микрофлора и проницаемость. Факты и вопросы 1.

- Длина тонкого кишечника взрослого человека составляет 3,5-4 метра.
- Пристеночная микрофлора может колонизировать весь тонкий кишечник.
- Всасывание воды, солей, питательных веществ и бактериальных продуктов происходит на всем протяжении тонкого кишечника. Количество всасываемой жидкости составляет около 8,5 л/сутки.

Предполагается, что для псориатических пациентов критичным является специфический тонкокишечный дисбиоз:

Подпроцесс SP2. Повышенное присутствие в пристеночной микрофлоре любой части тонкого кишечника Gram(-) TLR4-активных бактерий и Gram(+) бактерий NOD2-активных, в т.ч. псорагенных бактерий PsB

Что считать повышенным присутствием микрофлоры?

Это зависит от того насколько велика у конкретного пациента

Повышенная проницаемость кишечных стенок для бактериальных продуктов (подпроцесс SP1);

Подпроцессы SP1 и SP2 нужно рассматривать во взаимодействии, так как именно их сочетание влияет на **PAMP-немию (Подпроцесс SP4).**

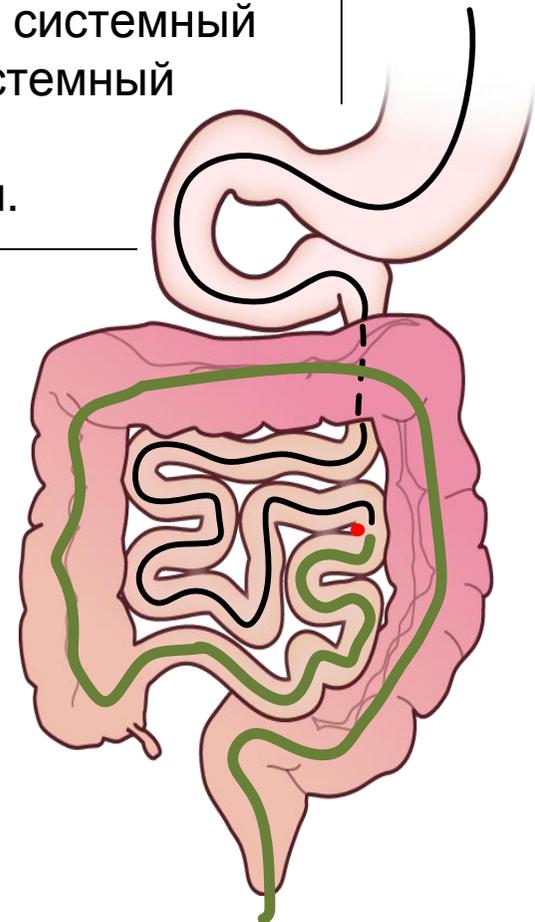
В частности SP4 может быть при значимом уровне SP1 и незначимом уровне SP2 и наоборот. Пептидогликан PG, образующийся после гибели Gram(+) бактерий, начинает фрагментироваться еще в кишечнике. Если межклеточная проницаемость существенно повышена, то и большие и малые фрагменты PG попадут в системный кровоток. Если проницаемость немного повышена (или в норме), то в системный кровоток смогут попасть только малые фрагменты PG.

А много их попадет или мало зависит от размеров пристеночной колонии.

Как получить информацию о микрофлоре всего тонкого кишечника?

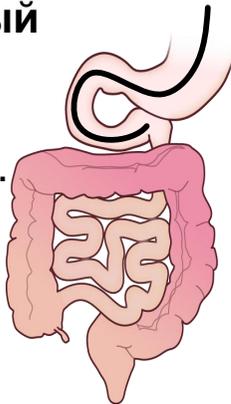
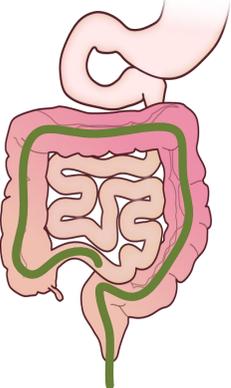
Исследование проводится в два этапа с размещением пациента в дневном стационаре:

1) **Двухбаллонная интестиноскопия** до максимальной глубины, где делается **отметка**; 2) **Двухбаллонная колоноскопия** с заходом в подвздошную до уровня **отметки**. Во время каждого из этих двух исследований забор биоматериал (мазок) берется с шагом 50 см. Рассмотрим более простые и экономичные альтернативы.



Тонкокишечная микрофлора.

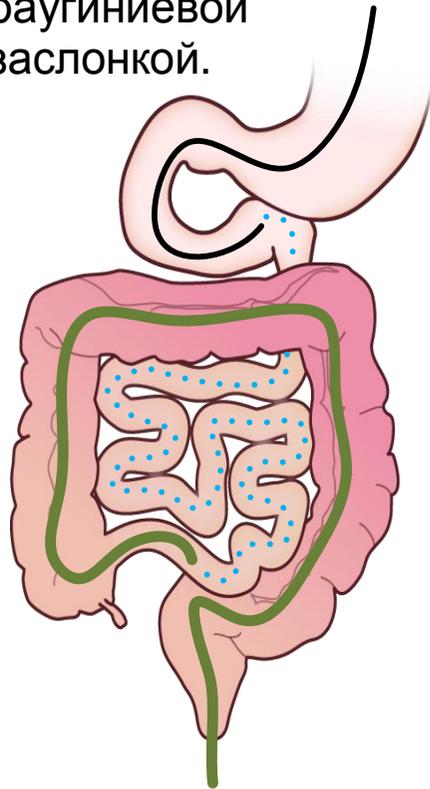
Стандартная диагностика.

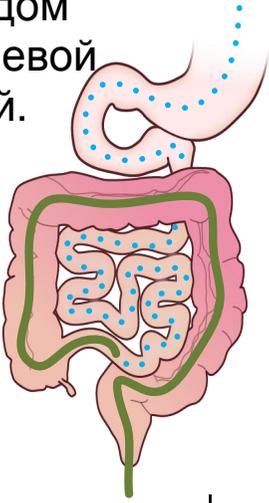
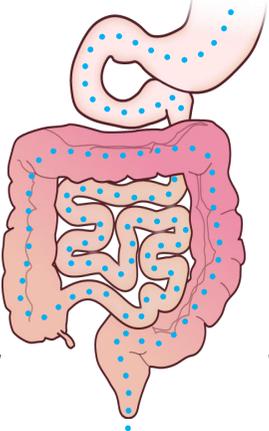
Название и метод исследования	Биоматериал и место сбора	Тест микрофлоры	Примечания. Достоинства (+) и недостатки (-).
<p>Проксимальный СИБР-тест. Выполняется во время ЭГДС.</p> 	<p>Аспират, биоптат или мазок.</p> <p>Сбор - 12перстная кишка - зона связки Трейца или 10-15 см за связкой Трейца.</p>	<p>Культуральный посев</p>	<p>Классический. Активно применяется за рубежом, в РФ реализован в нескольких медучреждениях.</p> <p>(+) Есть много данных по нормофлоре (и ее отсутствию).</p> <p>(-) Биоматериал содержит микрофлору только проксимальной части тонкого кишечника.</p>
<p>Подвздошный СИБР-тест. Выполняется во время КОЛОНОСКОПИИ с заходом в подвздошную (не более чем на 50 см).</p> 	<p>Аспират, биоптат или мазок.</p> <p>Сбор – на участке подвздошной кишки, максимально отстоящий от баугиниевой заслонки.</p>	<p>Культуральный посев</p>	<p>Реализовывался при различных заболеваниях, в т.ч. в НМХЦ для псориатических пациентов.</p> <p>(-) Биоматериал содержит микрофлору только дистальной части тонкого кишечника.</p> <p>(-) Мало информации о подвздошной нормофлоре*.</p> <p>(-) Есть вероятность попадания в биоматериал толстокишечной микрофлоры.</p>

* Исследование подвздошной нормофлоры (24 здоровых пациента)

Zilberstein B, Quintanilha AG, Santos MA et al. Digestive tract microbiota in healthy volunteers. Clinics (Sao Paulo). 2007 Feb;62(1):47-54. 17334549.

Название и метод исследования	Биоматериал. Вливание/Сбор	Тест микрофлоры	Примечания. Достоинства (+) и недостатки (-).
<p>Лаважный СИБР-тест во время комплексного обследования. Выполняется ЭГДС, в конце которой в зоне связки Трейца вливается СЭР (солевой энтеральный раствор). Темп и время вливания определяется индивидуально. Затем выполняется КОЛОНОСКОПИЯ с заходом в подвздошную. Вечером предшествующего дня выполняется кишечный лаваж.</p>	<p>Промывные воды тонкого кишечника. Вливание – зона связки Трейца. Аспирация – на участке подвздошной кишки рядом с баугиниевой заслонкой.</p>	<p>Центрифугирование и культуральный посев осадка</p>	<p>Метод обсуждался. (+) Биоматериал содержит пристеночную микрофлору всего тонкого кишечника. (-) Есть вероятность попадания в биоматериал толстокишечной микрофлоры. (-) Нет данных о нормофлоре (-) Нет данных о СЭР, как транспортной среде (-) ЭГДС и колоноскопия проводятся без седации</p>



Название и метод исследования	Биоматериал. Вливание/Сбор	Тест микрофлоры	Примечания. Достоинства (+) и недостатки (-).
<p>Лаважный СИБР-тест во время колоноскопии. Колоноскопия с заходом в подвздошную. Вечером предшествующего дня пациент выполняет кишечный лаваж. Перед колоноскопией пациент принимает СЭР (или физраствор). Время и количество определяется индивидуально.</p>	<p>Промывные воды ЖКТ. Вливание – орально. Аспирация – на участке подвздошной кишки рядом с баугиниевой заслонкой.</p> 	<p>Центрифугирование и культуральный посев осадка</p>	<p>Метод обсуждается. (+) Биоматериал содержит пристеночную микрофлору всего тонкого кишечника. (-) Биоматериал содержит микрофлору всего пищеварительного тракта (кроме толстокишечной), т.е. микрофлору ротовой полости, пищевода и желудка. (-) Есть вероятность попадания в биоматериал толстокишечной микрофлоры. (-) Нет данных о нормофлоре (-) Нет данных о СЭР, как транспортной среде (-) Колоноскопия проводится без седации</p>
<p>Лаважный СИБР-тест. Выполняется кишечный лаваж (СЭР). Может быть использован физраствор (Пракшалана).</p> 	<p>Промывные воды ЖКТ. Вливание – орально. Сбор – во время дефекации в стерильную баночку.</p>	<p>Центрифугирование и культуральный посев осадка</p>	<p>Были пробные тесты. (+) Биоматериал содержит пристеночную микрофлору всего тонкого кишечника. (-) биоматериал содержит микрофлору всего пищеварительного тракта. (-) Нет данных о нормофлоре. (-) Нет данных о СЭР, как транспортной среде.</p>

Примечания.

- Если процедура кишечного лаважа (основная или предваряющая эндоскопическое обследование) выполнена качественно, то промывные воды содержат преимущественно пристеночную микрофлору, которая постоянно диспергирует в очищенный от химуса просвет.
- Лаважные СИБР-тесты должны применяться в дополнение к стандартному проксимальному СИБР-тесту и тесту микрофлоры зева.
- Для лучшей интерпретации лаважного СИБР-теста можно осуществить предварительный сбор толстокишечных промывных вод (путем постановки клизмы). Сравнение результатов двух посевов (ЖКТ в целом и толстый кишечник) позволит частично учесть вклад толстокишечной микрофлоры.
- Чтобы правильно интерпретировать результаты лаважных тестов на основе СЭР, необходимо изучить его свойства как транспортной среды
- Чтобы правильно интерпретировать результаты лаважных тестов необходимо собрать статистически значимые результаты для здоровых пациентов

Микрофлора тонкого кишечника псориатических пациентов в зоне связки Трейца, Ig(КОЕ/мл).



Вид предполагается псорогенным



Некоторые виды (или штаммы) предполагаются псорогенными.

Микрофлора/Пациент	1	2	3	7	8	9	10	11	12	14	15	18	20	22	23	25	26	27	39	40
Candida albicans	3	3	3	3		4			<3	2	3	2		2				4		
Candida lusitanae								2												
Bifidobacterium sp.									7					3						
Enterococcus avium							4												4	
Enterococcus casseliflavus																				4
Enterococcus durans/hirae							3													
Enterococcus faecalis	5	2	3						3			2			3			3		5
Escherichia coli (лактозонегативная)												3							4	6
Gemella haemolysans								<3												
Klebsiella pneumonia																			4	6
Kocuria kristinae											3									
Lactobacillus sp.						4								3						
Staph.aures		3		3					3		4								3	4
Staph.auricularis										5										
Staph.epidermidis													3	3			4			
Staph.lugdunensis				3																
Staph.saprophyticus	4											2			2					
Stenotrophomonas maltophilia					<3															
Strep.agalactiae		3							4											
Strep. anginosus (milleri subgroup)							<=4												4	4
Strep.dysgalactiae											4									
Strep.equinus								3												
Strep.infantarius, subsp.infantarius				4																
Strep.mitis/oralis	5	3	6	<3				4	<3	6		3	4	4		3	5	5		
Strep.mutans															3					
Strep.pneumoniae							3													
Strep.salivarius																	5			
Peptostr.anaerobis	4																			
Pseudomonas alcaligenes										5										
Тонкокишечный СИБР	5	3	6	4	<3	4	4	4	7	6	4	3	4	4	3	3	5	5	4	6

Фаговые комплексы производства «Микроген», к которым могут быть чувствительны энтерококки и стрептококки.

- Бактериофаг стрептококковый (Пермь);
- Интести-бактериофаг (Пермь);
- Интести-бактериофаг (Нижний Новгород);
- Пиобактериофаг поливалентный очищенный (Уфа);
- Пиобактериофаг комплексный жидкий (Нижний Новгород);
- Секстафаг (пиобактериофаг поливалентный) (Пермь).

При обнаружении бактерий, резистентных к фабричным фаговым комплексам, возможен подбор и производство индивидуального фагового комплекса.

Предполагается сотрудничество с ФГУП «НПО Микроген»



Цели НИР. Самостоятельная реализация (только при участии НМХЦ и РОО).

1	Разработка и внедрение новых методов диагностики микрофлоры ЖКТ (в первую очередь тонкокишечной).
2	Выявление и устранение причин дисбиоза и повышенной проницаемости тонкого кишечника
3	Выявление и устранение хронических инфекций ротовой полости и ВДП с целью предотвращения рецидивов тонкокишечного дисбиоза.
4	Проверка гипотез о взаимосвязи тонкокишечного дисбиоза и макромолекулярной проницаемости с ПБ (в частности Н1 и Н3).
5	Внедрение методик определения уровня LPS и PG в крови.
6	Сбор и анализ данных по микрофлоре и проницаемости тонкого кишечника, по уровням LPS и PG.
7	Разработка и оценка новых методов лечения ПБ, основанных на корректировке микрофлоры и проницаемости тонкого кишечника.



Цели НИР. Реализация в сотрудничестве.

8	Применение СЭР (солевого энтерального раствора) и процедуры Кишечный лаваж для диагностики кишечной микрофлоры. Внедрение процедуры Кишечный лаваж для корректировки микрофлоры и проницаемости тонкого кишечника.	ООО НМЦ «Лаваж Глобал»
9	Внедрение овальбуминового теста. Выявление и лечение причин повышенной макромолекулярной проницаемости кишечника.	Институт питания РАМН. Лаборатория физиологии и биохимии пищеварения.
10	Определение бактериальных штаммов, присутствующих в биоматериале методом параллельного секвенирования. Сравнение результатов, полученных культуральным методом и методом секвенирования.	«ФГБУН НИИ Физико-химической медицины», проект Метагеном.
11	Применение методов фаготерапии для корректировки тонкокишечной микрофлоры.	ФГУП «НПО Микроген»
12	Подведение итогов НИР. Подготовка и публикация отчета, статей, регистрация патентов.	Совместно

Начальное обследование должно дать всю необходимую информацию для принятия решения о включении пациента в Программу НИР, в индивидуальную Программу или об отказе от дальнейших обследований.

Необходимо выявить

- (1) Заболевания или зависимости, наличие которых не допускается условиями Программы НИР (см. Требования к пациентам).
- (2) Заболевания, при которых кишечный лаваж противопоказан
- (3) Неустраняемые или труднокорректируемые факторы риска тонкокишечного СИБР

Рассмотрим эти условия на следующих слайдах.

- Возраст от 18 до 70 лет

Состояние дерматоза.

- Наличие выраженного псориаза обычного (пятнистого) – *common vulgaris (plague)*. Уровень поражения – от среднего до тяжелого.
- Отсутствие других кожных заболеваний.
- Отсутствие псориатического артрита.
- Отсутствие активного лекарственного лечения псориатической болезни (ПБ) за последние полгода.

Состояние здоровья в целом.

В клиническом анамнезе больных желательно иметь указания на:

- Отсутствие алко- и наркозависимости
- Отсутствие серьезных хронических инфекционных заболеваний
- Отсутствие серьезных хронических заболеваний ЖКТ и/или гепатобилиарной системы
- Отсутствие острых функциональных или токсических нарушений в работе кишечника за последний месяц (расстройства, отравления и т.п.)
- Отсутствие резких диетических изменений в течение последнего полугодия.
- Отсутствие приема антибиотиков за последний месяц.
- Отсутствие лечения цитостатиками и глюкокортикостероидами

(2) Противопоказания к процедуре кишечный лаваж

Абсолютные

Желудочно-кишечное и другое внутреннее кровотечение
2-я половина беременности

Заболевания, требующие неотложного хирургического вмешательства или интенсивной терапии

Относительные

Эрозивный гастрит

1-я половина беременности

Желчекаменная или мочекаменная болезнь

Диабет I типа

Гипертонический криз

Обострение геморроя

(3.1) Факторы риска тонкокишечного СИБР

Анатомические изменения в тонкой кишке, способствующие нарушению движения химуса

- Болезнь Крона
- Дивертикулярная болезнь
- Стриктура кишечника
- Кишечные лимфомы
- Синдром короткой кишки
- Гастроэюнальные анастомозы
- Дисфункция илеоцекального клапана = Недостаточность баугиниевой заслонки.

(3.2) Факторы риска тонкокишечного СИБР

Другие заболевания или состояния (в т. ч. из-за приема лекарств)

- Бактериальные инфекции гепатобилиарной системы
- Хронические бактериальные инфекции ВДП
- Нарушения перистальтики пищеварительного тракта
- Нарушения метаболизма желчных кислот
- Хронический панкреатит
- Целиакия
- Кишечные паразитарные заболевания
- Кишечные бактериальные инфекции
- Гипосекреция соляной кислоты
- Прием ингибиторов протонной помпы
- Диабетическая нейропатия
- Амилоидоз
- Системная склеродермия
- Гипотиреозидизм
- Прием иммунодепрессантов
- Дефицит IgA
- Гипогаммаглобулинемия

Решение принимает консилиум

В случае выявления (1), либо (2) или (3.1-3.2) пациент не может быть включен в **Программу НИР**.

Решение о том проводить обследование и лечение такого пациента по **индивидуальной Программе** или отказаться от дальнейших обследований и лечения такого пациента принимает консилиум специалистов НМХЦ при участии представителя РООПП.

Предполагается контроль, поддержка и субсидирование пациентов, являющихся членами РООПП, а также использование результатов, полученных во время диагностики и лечения.

При вхождении в **Программу НИР** пациент подписывает соглашение с РООПП и НМХЦ, в котором оговариваются его права и обязанности, а также сроки и перечень обследований.

Этап 1. Информирование и Анкетирование.

Решение об участии пациента на основании анкетных данных.

Этап 2. Заключение договора с пациентом. Формирование ЭМК. Первичные обследования и консультации (дерматолог, отоларинголог, стоматолог, гастроэнтеролог).
Оценка состояния псориатической болезни (ПБ).

Этап 2.1. Решение консилиума специалистов на основании первичных обследований.

В Программу НИР

Отказ от
дальнейших
обследований

В индивидуальную Программу

Этап 3. Основные обследования и консультации.
Диагностика микрофлоры и проницаемости тонкого кишечника. Выявление причин обнаруженных отклонений.

Этап 4. Курс (курсы) лечения
(на основе результатов обследований).

Этап 3.1.
Дополнительные
консультации и
обследования
(необходимы при
серьезных
отклонениях)

Этап 5. Контрольные обследования и консультации (Программа НИР)
(через 1-2 месяца после окончания последнего курса лечения).
Диагностика микрофлоры и проницаемости тонкого кишечника. Оценка состояния ПБ.

Этап 6. Контрольные обследования и консультации (Программа НИР)
(через 6 месяцев после окончания последнего курса лечения). Оценка состояния ПБ.



Планы на 2016 год

- Организация вебинаров для псориатических пациентов с участием специалистов (дерматологов, отоларингологов, гастроэнтерологов, диетологов, микробиологов и др.) с использованием возможностей Skype и Youtube.
- Привлечение специалистов (дерматологов, отоларингологов, гастроэнтерологов, диетологов, микробиологов и др.) для публикаций в Интернет научно-популярных статей, посвященных патогенезу, диагностике, лечению и профилактике псориатической болезни
- Издание брошюры «Псориатическая болезнь. Все, что должен знать пациент.»
- Поддержка и активное участие в НИР «Влияние микрофлоры и проницаемости тонкого кишечника на псориатическую болезнь»