

DOI: 10.15690/vsp.v14i2.1289

А.И. Хавкин, О.Н. Комарова

Российский научно-исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

# Продукты метаболизма кишечной микрофлоры: возможна ли избирательная коррекция?

## Контактная информация:

Хавкин Анатолий Ильич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом гастроэнтерологии НИКИ педиатрии РНИМУ им. Н.И. Пирогова

Адрес: 125412, Москва, ул. Талдомская, д. 2, тел.: +7 (499) 487-46-81, e-mail: akhavin@pedklin.ru

Статья поступила: 07.03.2015 г., принята к печати: 27.04.2015 г.

Нарушение количественных и качественных характеристик кишечной микробиоты — одна из причин развития широкого спектра патологических состояний в любой возрастной группе. С целью коррекции подобных нарушений используют пробиотики (препараты активной микрофлоры) и пребиотики (олигосахариды, способствующие росту позитивной флоры). Перспективно применение и метаболитических пробиотиков — экстрактов продуктов обмена веществ позитивной флоры, которые, подобно олигосахаридным пребиотикам, стимулируют рост микробиоты. Сравнительный анализ метаболома некоторых представителей кишечной микрофлоры и препаратов, содержащих продукты обмена бактерий, позволяет понять механизмы их терапевтического воздействия, открывает перспективы разработки комплексного воздействия при использовании с витаминами B<sub>6</sub>, B<sub>2</sub>, каротиноидами, селеном, глутатионом. Результаты метаболомного анализа дают возможность утверждать, что метаболиты таких представителей микрофлоры, как *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, способствуют выживанию позитивной флоры и в то же время могут тормозить рост патогенной микрофлоры.

**Ключевые слова:** микробиота, микрофлора, метаболом, дисбактериоз, пробиотики, пребиотики.

(Для цитирования: Хавкин А. И., Комарова О. Н. Продукты метаболизма кишечной микрофлоры: возможна ли избирательная коррекция? *Вопросы современной педиатрии*. 2015; 14 (2): 212–218. doi: 10.15690/vsp.v14i2.1289)

## ВВЕДЕНИЕ

Микробиота желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) представляет собой сложную экосистему, включающую более 70 тыс. различных видов микроорганизмов [1–4]. В ЖКТ взрослого человека содержится более 10<sup>14</sup> жизнеспособных микроорганизмов, что в 10 раз превышает число клеток организма хозяина. Суммарный вес микроорганизмов составляет от 1 до 3 кг [3]. Кишечная микрофлора поддерживает значительное число биохимических процессов и сравнивается по значимости

для макроорганизма с печенью [3, 4]. Некоторые исследователи даже называют микробиоту специальным «микробным органом», т.к. она участвует в иммуностимуляции, синтезе витаминов группы В и витамина К, регулировании моторики и других функций ЖКТ, синтезе короткоцепочечных жирных кислот и множестве других процессов [2].

Характерные изменения профиля микрофлоры играют существенную роль не только в развитии патологических состояний и заболеваний ЖКТ (дисбактериоз,

A.I. Khavkin, O.N. Komarova

N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

## Products of Metabolism of the Intestinal Microflora: Can We Use the Selective Correction?

Disturbed quantitative and qualitative characteristics of the intestinal microbiota are one of the reasons for the development of a wide range of pathological conditions in any age group. To correct these disorders, probiotics (active microflora drugs) and prebiotics (oligosaccharides that promote the growth of positive flora) are used. The use of metabolic prebiotics is also promising. Metabolic prebiotics are extracts of metabolic products of positive flora that, like the oligosaccharide prebiotics, stimulate the growth of the microbiota. Comparative analysis of the metabolome of some representatives of the intestinal microflora and preparations containing metabolic products of bacteria explains the mechanisms of their therapeutic effects and opens up prospects for the development of integrated treatment with the use of vitamins B<sub>6</sub>, B<sub>2</sub>, carotenoids, selenium, and glutathione. The results of the metabolome analysis suggest that the metabolites of the microflora representatives such as *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Lactobacillus helveticus* promote the survival of positive flora and at the same time can inhibit the growth of pathogenic microflora.

**Key words:** microbiota, microflora, metabolome, dysbacteriosis, probiotics, prebiotics.

(For citation: Khavkin A. I., Komarova O. N. Products of Metabolism of the Intestinal Microflora: Can We Use the Selective Correction? *Voprosy sovremennoy pediatrii — Current Pediatrics*. 2015; 14 (2): 212–218. doi: 10.15690/vsp.v14i2.1289)

синдром раздраженного кишечника, энтерит), но и заболеваний других органов и систем (ревматоидный артрит, анкилозирующий спондилит, шизофрения, кольпит, пиелонефрит и др.) [3]. Количественный и качественный состав микрофлоры толстой кишки служит чувствительным индикатором здоровья человека и является «доклиническим» маркером нарушений гомеостаза [4].

Согласно современным представлениям, под дисбактериозом кишечника понимают нарушения качественного и количественного состава симбиотической микрофлоры [3, 4]. Наиболее часто это состояние развивается в детском и старческом возрасте. В детском возрасте микробиологическая система кишечника переживает период становления и адаптации к расширяющейся пищевой нагрузке, что делает микробиоту нестабильной системой. В старческом возрасте возникновение дисбактериоза обусловлено ослаблением ферментативной и иммунологической активности слизистой оболочки кишечника, возрастными изменениями питания и образа жизни [5].

Микрофлора ЖКТ весьма чувствительна к воздействию таких внешних факторов, как антибиотики, алкоголь, психологические и физические нагрузки, радиация, макро- и микроэлементный состав диеты. К примеру, применение антибиотиков является наиболее распространенной и одной из самых серьезных причин значительных изменений в нормальном профиле микрофлоры. Известно, в частности, что стандартные курсы приема антибиотиков вызывают значительное снижение сывороточных концентраций энтеролактонов (продукта жизнедеятельности бактерий-симбионтов) даже через 16 мес после окончания курса лечения [6]. В целом пероральный прием антибиотиков, которые хорошо всасываются в тонком кишечнике, имеет незначительное воздействие на флору толстой кишки [4]. Антибактериальные средства с более низкой адсорбцией (и, следовательно, характеризующиеся более высокими действующими концентрациями в толстом кишечнике) гораздо более опасны для микрофлоры. К негативным последствиям воздействия антибиотиков относятся снижение интенсивности синтеза короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), что приводит к нарушениям электролитного баланса и диарее, снижению печеночного кровотока, уменьшению всасывания кальция и повреждению слизистой оболочки ЖКТ [3, 4]. Парадоксально, что антибиотики могут приводить к разрастанию таких опасных патологических микроорганизмов, как грибы *Candida*, *Clostridium difficile* и др. [7].

Диетические факторы, негативно влияющие на микрофлору ЖКТ, включают:

- соединения серы (сульфаты, сульфиты и т.д., которые часто используют в качестве консервантов для сухофруктов, овощей, яблок, упакованных соков, муки, большинства алкогольных продуктов и многих лекарств) [8];
- продукты с высоким содержанием белка (непереваренный белок является источником таких токсичных метаболитов, как аммиак, амины, фенолы, сульфиды, индолы) [9];
- продукты с высоким содержанием простых сахаров (они способствуют увеличению ферментативной деятельности бактерий и повышению концентрации желчных кислот, что приводит к замедлению времени прохождения химуса через кишечник) [10].

## ПОДХОДЫ К КОРРЕКЦИИ МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ

Коррекция микробиологических нарушений может проводиться с использованием **пробиотиков**, т.е. путем непосредственной «подсадки» пациенту живой активной флоры. Наиболее распространенными пробиотиками являются молочнокислые и бифидобактерии [11–13]. Вместе с тем следует отметить, что принимаемые конкретным пациентом штаммы бифидо- и лактофлоры, как правило, не соответствуют уникальному врожденному профилю штаммов самого пациента. Последнее делает необходимым персонализированное назначение конкретных штаммов микрофлоры пациенту, что практически крайне сложно осуществить. В случае отсутствия генетической совместимости между вводимыми штаммами и организмом пациента могут возникать побочные эффекты [1, 3, 4], или же результативность терапии пробиотиками чрезвычайно снижается, не имеет долговременных эффектов [3, 14].

При лечении дисбактериоза кишечника следует также учитывать, что для питания позитивной и патогенной флоры необходимы различные наборы питательных веществ.

**Пребиотики** — вещества натурального или синтетического происхождения, селективно стимулирующие рост и/или ферментативную активность одного или нескольких видов микрофлоры. К пребиотикам, как правило, относят пищевые волокна, олигосахариды (инулин), лактулозу [3, 4]. Прием пребиотиков обеспечивает питательную среду для роста сахаролитической флоры.

Особая группа пробиотических препаратов на основе экстрактов жизнедеятельности бактерий — **метаболические пробиотики** (ряд авторов используют термин «алиментарные фармакобиотики») — отличается химическим составом высокой сложности, что значительно затрудняет анализ механизмов молекулярного фармакологического воздействия этих препаратов. Именно поэтому крайне важно изучение их метаболома, т.е. совокупности бактериальных метаболитов.

**Симбиотическая и патогенная микрофлора.** Принято различать постоянную (облигатную) и транзиторную микрофлору, отличающуюся разнообразием, но уступающую облигатной флоре по количественному составу.

Микрофлора верхнего отдела тонкой кишки (двенадцатиперстная и тощая) в основном представлена стрептококками, лактобациллами и вейлонеллами, а повздошной кишки — кишечной палочкой, анаэробными бактериями. Наиболее высокая степень обсемененности характерна для толстой кишки, где определяются ассоциации бифидо- и лактобактерий, эшерихий и энтерококков. К условно-патогенной микрофлоре относят бактериоиды, пепто- и стрептококки, клостридии, плесневые грибы и другие микроорганизмы (стафилококки, аэробные бациллы, грибы рода *Candida*, протей, цитробактер, серрации, фузобактерии, эубактерии, катенобактерии) [3, 14]. У детей доминируют бифидо- и лактобактерии, бактериоиды, молочнокислый стрептококк и энтеробактерии.

Симбиотная микрофлора участвует в процессах пищеварения и обмена веществ, детоксикации ксенобиотиков, формировании колонизационной резистентности и иммунного ответа.

Кишечная микробиота участвует в процессах пищеварения и обмена веществ благодаря:

- действию короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), которые активизируют абсорбцию ионов калия, натрия, хлора, кальция, магния, железа, цинка;
- регуляции содержания бикарбоната и уровня pH;
- поддержке синтеза и биотрансформации витаминов группы В, К и незаменимых аминокислот;
- влиянию на перистальтику кишечника;
- предотвращению заселения ЖКТ патогенной и условно-патогенной микрофлорой;
- влиянию на врожденный и адаптивный иммунный ответ;
- участию в процессах детоксикации ксенобиотиков.

Особенностью метаболизма, протекающего в кишечнике, является преобладание процессов гидролиза и восстановления (в отличие от печени, где доминируют процессы окисления) [3, 4].

### ИЗМЕНЕНИЯ ПРОФИЛЯ МИКРОБИОТЫ

Дисбактериоз кишечника — всегда вторичное состояние, развивающееся под воздействием негативных экзогенных (пищевых, ятрогенных, экологических) или же эндогенных факторов. Изменение количественного и качественного состава микробиоты усугубляет многие заболевания. Разрыв этого «порочного круга» необходим как для успешного лечения болезни, так и для коррекции дисбактериоза. При назначении нутрицевтических препаратов (пребиотиков, синбиотиков и др.) с целью коррекции профиля микрофлоры необходимо учитывать различия в метаболизме различных представителей микрофлоры. Вместе с тем для выбора оптимального курса терапии дисбактериоза необходима адекватная диагностика этого состояния [4].

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ВЫЖИВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ

Систематических исследований по различиям в метаболизме индигенной и патогенной микрофлоры ЖКТ не проводилось. Тем не менее были установлены различные молекулярные факторы, которые могут влиять на выживание сахаролитической микрофлоры. Экзогенный пиррофосфат, например, стимулирует рост *Escherichia coli* (на 25–35%) даже при низких уровнях глюкозы в питательной среде *in vitro* и *in vivo* [3, 4]. Повышение содержания пиррофосфата в питательной среде кишечной палочки приводит к модуляции синтеза более 20 белков бактериальных механизмов реакции на стресс. Эти процессы улучшают способность *E. coli* к использованию углеродсодержащих питательных веществ, а также ее выживаемость [15].

Ключевыми регуляторами роста микрофлоры ЖКТ являются желчные кислоты. Анализ чувствительности к желчи 195 энтеробактерий в культуре показал, что сопротивляемость бактерий к желчи уменьшается в следующем ряду: *Shigella* > *Salmonella* > *Klebsiella* > *Providencia*. Уровень чувствительности к желчи определяет способность энтеробактерий колонизировать желчные пути и проксимальные участки пищеварительного тракта [16].

Гистамин, известный нейромедиатор и регулятор воспаления, вносит вклад во взаимодействие «бактерии–хозяин» посредством так называемых двухкомпонентных систем сигнализации, регулирующих мета-

болизм КЦЖК и хемотаксис бактерий [17]. Гистамин является одним из факторов выживания *E. coli*: в линии животных HDC (-/-) с генетически нарушенным синтезом гистамина выживаемость типичных *E. coli* резко снижена. В эксперименте антагонисты гистамина также способствовали снижению численности колоний *E. coli* [18]. Такой результат весьма важен с практической точки зрения: поскольку блокада синтеза гистамина влечет снижение кислотопродуцирующей функции париетальной клеткой, как следствие, возрастает риск контаминации патогенной микрофлорой. Именно поэтому при приеме антигистаминных препаратов целесообразно дополнительное применение про- и пребиотиков [4].

Помимо гистамина, посредством двухкомпонентных систем бактериальной сигнализации на жизнедеятельность бактерий влияют также такие молекулы, как ацетоацетат, полиамины, липиды и глюкоза. Ацетоацетат или спермидин инициируют активацию белка AtoS гистидинкиназы («первый компонент»), который активирует «второй компонент» AtoC фосфорилированием аминокислотных остатков Asp55 и His73. Активированный AtoC инициирует экспрессию генов оперона atoABDE — ацетат КоА-трансфераз, ацетоацетил-КоА-тиолазы (AtoB) и транспортера КЦЖК (AtoE), что приводит к усилению метаболизма последних. Гистамин и кальций оказывают регулирующее воздействие на этот процесс посредством воздействия на транспорт питательных веществ через мембрану тем самым поддерживая выживание позитивных штаммов *E. coli* [18].

### КАТЕХОЛАМИНЫ И ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНК МИКРОФЛОРОЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Важно отметить, что микрофлора ЖКТ реагирует на изменения уровней гормонов стресса — адреналина и норадреналина. Переживание острого стресса снижает у пациентов содержание лактобацилл и бифидобактерий в кишечнике в течение нескольких дней [19]. Вместе с тем норадреналин, адреналин и дофамин стимулируют клеточное деление типичной кишечной палочки [20].

Эффекты воздействия гормонов стресса на кишечную микрофлору связаны с важнейшей особенностью выживания бактерий — образованием так называемых бактериальных пленок. Бактериальные пленки — это колонии бактерий, выживаемость которых чрезвычайно усилена за счет активной кооперации между отдельными микроорганизмами, так называемой кворумной сигнализации. В биопленке бактерии взаимодействуют друг с другом и с поверхностью эпителия ЖКТ. Эти «слипшиеся» клетки бактерий часто окружают себя «матрицей» из внеклеточных полимерных веществ — ДНК, белков, полисахаридов [21].

Бактерии, способные формировать биопленки, имеют рецепторы к специфическим сигнальным молекулам кворумной сигнализации. Когда сигнальная молекула связывается с рецептором, активируются определенные гены, в т.ч. вовлеченные в синтез этих сигнальных молекул. По мере роста численности бактерий в колонии концентрация сигнальных молекул в окружающей среде возрастает лавинообразно по принципу положительной обратной связи. В результате бактериальные рецепторы для сигнальных молекул максимально активируются, что приводит к синхронизации транскрипции определенных генов во всех клетках колонии [2–4].

Существует несколько разновидностей кворумной сигнализации бактерий, образующих биопленки. Их основные отличия связаны с механизмом реагирования на сигнальные молекулы. Особый интерес представляют сигнальные молекулы N-ацилгомосеринлактонов, иногда называемые аутоиндукторами 1-го и 2-го типа, производимые микрофлорой ЖКТ.

N-ацилгомосеринлактоны отличаются длиной боковой цепи R-группы, содержащей до 4–18 атомов углерода. Биологически активными являются N-ацилгомосеринлактоны с длиной R-цепи более 4 атомов углерода, причем более длинная R-цепь соответствует более стабильной сигнальной молекуле и более высокому сродству сигнальной молекулы к соответствующему рецептору [22, 23]. Связывая N-ацилгомосеринлактоны, белок-рецептор SdiA активирует транскрипцию генов, ускоряющих процессы клеточного деления бактерий для формирования биопленки [24].

Типичные виды *E. coli* имеют механизмы реагирования на N-ацилгомосеринлактоны (включая специальный транспортный белок), в то время как, например, патогенные *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* таковых не имеют. Более того, определенные N-ацилгомосеринлактоны не только способствуют выживанию типичных *E. coli*, но и тормозят рост патогенной флоры. Например, 3-оксо-12-гомосеринлактон уменьшает вирулентность *S. aureus* посредством снижения интенсивности секреции экзотоксина и экспрессии вирулентных генов *sarA* и *agr* [25]. Определенные гомосеринлактоны также тормозят развитие грибов *Candida* [26].

Аутоиндуктор-2 — фуранозил-боратный эфир — также является одной из основных молекул кворумной сигнализации у различных видов бактерий [27]. В целом молекулярный механизм воздействия аутоиндуктора-2 можно описать следующим образом. Молекула аутоиндуктора-2 специфически связывается с транспортным белком типа Lsr и переносится внутрь бактериальных клеток, где претерпевает фосфорилирование белком киназы LsrK. Затем фосфо-аутоиндуктор-2 связывается с рецептором — транскрипционным репрессором LSRR, который отделяется от промотора *lsr*-оперона (группы генов), что приводит к инициации транскрипции генов *lsr*. Гены, включая *luxS*, кодируют белок *luxS*, который играет важную роль в переработке S-аденозил-L-метионина с образованием аутоиндуктора-2 как побочного продукта [28].

Микроорганизмы флоры кишечника различаются по наличию у них систем кворумной сигнализации, опосредованной сигнальной молекулой аутоиндуктора-2. Например, основной ген данной сигнальной системы, ген *luxS*, был обнаружен в геномах позитивной флоры *E. coli*, *Lactobacillus acidophilus*, но отсутствовал в геномах *Streptococcus faecalis* и грибов *C. albicans*, поэтому аутоиндуктор-2 будет способствовать выживанию и росту *E. coli*, *L. acidophilus* и не окажет воздействия на выживание *S. faecalis* или *C. albicans*. Повышенное содержание катехоламинов воспринимается как фактор стресса и человеком, и его микробиотой. Катехоламины непосредственно стимулируют формирование биопленок. Норадреналин отличается наиболее интенсивным воздействием на микробиоту и приводит к выработке бактериями *E. coli* молекул аутоиндуктора-2 [29].

Другим фактором среды, который влияет на образование биопленок, является триптофан. Высокая концентрация этой аминокислоты, наоборот, предотвращает формирование биопленок *E. coli* [30], а также секрецию некоторых, пока не идентифицированных, бактериальных пептидов. Так, обработка протеиназой K среды с культурой бактерий значительно снижает степень агрегации бактерий в биопленке. Это указывает на важную роль белковых компонентов в формировании биопленок микробиоты [31].

Таким образом, анализ геномов некоторых представителей микробиоты ЖКТ показал, что гены, отвечающие за синтез и клеточный ответ микроорганизмов на стимуляторы роста биопленок (аутоиндукторы 1-го и 2-го типа) присутствуют в таких представителях микробиоты, как *E. coli* и *L. acidophilus*, поэтому можно предположить, что аутоиндукторы, способствующие выживанию бактериальных пленок микробиоты, присутствуют в беззародышевых экстрактах продуктов жизнедеятельности этих микроорганизмов. Последние, как известно, являются стимуляторами роста определенных бактерий. Например, сравнение 9 культур бифидобактерий и 18 условно-патогенных микроорганизмов *in vitro*, выделенных у пациентов с дисбактериозом кишечника, показало, что бифидофлора снижала уровень факторов роста, антилизоцимную активность и формирование биопленок такой патогенной флоры, как *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus*, *C. albicans* [32].

Проведены отдельные исследования молекулярных компонентов, входящих в состав экстрактов продуктов жизнедеятельности ряда бактерий. Жидкостная и гель-хроматография низкомолекулярных экзометаболитов культуральной жидкости *E. coli* штамма M-17 показала, что стимулирующая активность экстракта отчасти обусловлена глутаминовой и янтарной кислотой [33].

#### АНАЛИЗ МЕТАБОЛОМА КИШЕЧНОЙ ФЛОРЫ

Ферменты-белки поддерживают определенные химические реакции, в результате которых образуются различные метаболиты, формирующие метаболом организма — весь массив метаболитов, «малых молекул» биологической системы. Очевидно, что если известен геном определенного организма, то можно установить его протеом, т.е. процессы экспрессии генов приводят к образованию совокупности всех соответствующих белков (протеом). В свою очередь, установление функций (аннотация) белков протеома позволяет моделировать метаболом организма. Сведения такого рода приведены в многочисленных биоинформационных базах данных [34–36].

Информация о метаболомах различных организмов является чрезвычайно важной для разработки и анализа молекулярных эффектов воздействия лекарственных средств [37]. Как известно, последние оказывают свое специфическое влияние через взаимодействие с белками, РНК и ДНК. Зачастую лекарственные средства в некотором роде «мимикрируют» под определенные метаболиты организма и, соответственно, вмешиваются в обменные процессы, таргетные для данного препарата. Побочные эффекты того или иного синтетического фармацевтического средства возникают как результат схожести структуры молекул этого средства с какими-то другими молекулами метаболома, не имеющими отношения к таргетному метаболическому процессу, поэтому сравнение метаболомов различных организмов позволяет ответить на ряд вопросов об эффективности, безо-



пасности и молекулярных механизмах действия того или иного препарата.

Для исследования механизмов молекулярного воздействия на кишечную микробиоту препарата, содержащего продукты обмена *E. coli*, *S. faecalis*, *L. acidophilus*, *L. helveticus* был использован метод сравнительного метаболомного анализа [35, 37]. С точки зрения исследователей, эффективный и безопасный пребиотический препарат должен поддерживать выживание доминантной кишечной флоры и тормозить (или, по крайней мере, не поддерживать) рост условно-патогенной или микробиоты. В одном из исследований [37] были получены модели метаболомов в виде списков входящих в каждый метаболом метаболитов, характерных для ряда представителей аутохтонной кишечной микрофлоры. Показано, что метаболомы различных видов бактерий имеют значительное число общих метаболитов. Например, из 1230 метаболитов, найденных в 4 моделях метаболомов доминантной индигенной флоры, 396 молекул входили в каждый из 4 метаболомов. В случае патогенной флоры из 970 молекул 3 метаболомов 350 входили в каждый из исследованных метаболомов [34, 38, 39].

В результате сравнительного анализа метаболома *E. coli*, *S. faecalis*, *L. acidophilus*, *L. helveticus* с метаболомами патогенных *C. difficile*, *S. aureus* и *C. albicans* установлено более 90 метаболитов, найденных у представителей позитивной флоры и отсутствующих у представителей патогенной флоры [34, 37]. Позитивная микрофлора содержит метаболиты, необходимые для синтеза и переработки витаминов (витамин В<sub>6</sub>, витамин В<sub>2</sub>, витамин К, каротиноиды), поддержки реакции переработки желчных кислот, обезвреживания определенных метаболитов (переработка оксалатов, преобразование аминов в мочевины, синтез глутатиона), синтеза янтарной кислоты и биосинтеза КЦЖК. Метаболиты этих представителей микробиоты содержат ряд специфических сахаров (например, пребиотик мелибиозу). Наличие этих молекул в экстрактах продуктов жизнедеятельности ускоряет рост позитивной флоры, не стимулируя при этом рост патогенной флоры [34, 35].

Известно также, что метаболом бактерий *Lactobacillus* оказывает эффекты и за пределами ЖКТ. В частности, *L. helveticus* секретирует трипептиды, которые снижают повышенное артериальное давление путем ингибирования ангиотензинпревращающего фермента [40].

Связанные с биосинтезом витамина В<sub>6</sub> метаболиты (фосфонооксибутаноаты, производные пиридоксала, пиридоксилактон и др.) способствуют выработке витамина не столько для нужд организма хозяина, сколько для поддержания метаболической активности самой микробиоты. Производные витамина В<sub>6</sub>, как пиридоксаль фосфат, входят в состав более 70 таких важных для *E. coli* ферментов, как глутаматдекарбоксилаза, триптофаназа, серингидроксиметилсинтаза, цистеиндесульфураса, аланинрацемаза (метаболизм аминокислот), порфиринобилиногендеаминаза (метаболизм желчных кислот), аденилосукцинатсинтаза, 4-аминобутиратсинтаза (метаболизм КЦЖК) и фермента гомеостаза селена Se-цистеинсинтазы. Являясь кофактором белка, вовлеченного в транспорт и переработку мальтозы (MalY, цистатионазная активность), пиридоксаль фосфат напрямую определяет способность *E. coli* перерабатывать мальтозу и, следовательно, необходим для выживания этой и других бактерий микробиоты [41].

Результаты ряда исследований позволяют рассматривать кишечную микробиоту как специфический «микробный орган», участвующий в регуляции обмена витаминов А (каротиноиды), В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub> и К организма хозяина. Более того, сравнение «микробного органа» с печенью оправдано. Например, микробиота способствует переработке таких желчных кислот, как холевая, 12-эпихолат, 3-дегидрохолат, 7-оксо-5-холанат, 7-эпихолат, гликохолат, изохолат, помогая тем самым печени [4, 35, 41]. Установлено взаимодействие микробиоты и метаболизма оксалатов [37, 41]. Избыток оксалатов в организме приводит к таким заболеваниям, как мочекаменная болезнь, артриты, и потенцирует развитие атеросклероза вследствие поддержания хронического воспаления эндотелия кровеносных сосудов. Вместе с тем оксалат-анион является весьма приемлемым источником пищевого углерода для бактерий микробиоты [42], которые трансформируют токсичный для организма хозяина избыток оксалата в углекислый газ. В бактериях позитивной флоры данный процесс осуществляется ферментом формил-коэнзим А-трансферазой и Mg<sup>2+</sup>-зависимым ферментом оксалил-коэнзим А-декарбоксилазой. Этот процесс зависит от пантотеновой кислоты (синтез коэнзима А), витамина В<sub>1</sub> и магния. Поскольку трансформации оксалата являются одним из важных источников углерода для бактерий позитивной флоры, выживание микробиоты в значительной степени зависит от нутрициальной обеспеченности организма витаминами В<sub>1</sub>, В<sub>5</sub> и магнием.

Важное различие метаболомов доминантной и патогенной микрофлоры заключается в наличии метаболитов, связанных с биотрансформацией селена. Любой микроорганизм нуждается в аминокислоте селеноцистеине, которая необходима для синтеза более 10 селенобелков. Однако, из рассмотренных ранее микроорганизмов только представители позитивной микрофлоры способны синтезировать селеноцистеин из неорганического селена.

Биосинтез селеноцистеина поддерживается двумя ферментами: селенид-водной дикиназой и селеноцистеинсинтазой. Селенид-водная дикиназа — магнийзависимый фермент, который синтезируют из неорганического селенида (Se<sup>-2</sup>), АТФ и воды, важный промежуточный продукт — молекула селенофосфата (НО<sub>3</sub>РSe). Благодаря этому ферменту *E. coli* и другие представители микробиоты могут использовать неорганический селенид непосредственно из окружающей среды. Расположенный в активном центре ион магния принципиально необходим для активности фермента, поэтому на фоне дефицита магния активность селенид-водной дикиназы будет значительно снижена. Витамин-В<sub>6</sub>-зависимый фермент селеноцистеинсинтаза трансформирует селенофосфат и серин в селеноцистеин. Полученный в результате реакции селеноцистеин встраивается в такие селенобелки бактерий, как ydfZ, selA, selB и др. Активность фермента невозможна без кофактора пиридоксаль фосфата, поэтому дефицит витамина В<sub>6</sub> в микробиоте будет приводить к значительному падению активности фермента.

#### КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ХИЛАК ФОРТЕ

Препарат представляет собой экстракт продуктов метаболизма *E. coli* DSM, *S. faecalis* DSM, *L. acidophilus* DSM, *L. helveticus* DSM. Он содержит КЦЖК, фосфорную,

лимонную и молочную кислоту. Последние способствуют нормализации pH, количественных и качественных показателей микрофлоры кишечника при различных патологических состояниях [43]. Исследования показали высокую эффективность и безопасность препарата в клинической практике.

Препарат используют для устранения дисбактериоза после антибиотикотерапии, у пациентов с запором или диареей [44–49]. Препарат не влияет на моторно-кинетическую функцию толстой кишки, что позволяет использовать его у пациентов с функциональными запорами. Исследования содержания КЦЖК в фекалиях методом газожидкостной хроматографии у пациентов с хроническими заболеваниями ЖКТ показали, что при применении метаболитического пробиотика отмечена нормализация их уровней и соотношений [50]. В контролируемом клиническом исследовании эффективности препарата у младенцев отмечено значительное снижение выделения сальмонелл с фекалиями по сравнению с контрольной группой при отсутствии побочных эффектов [51]. В рандомизированном исследовании с участием 60 взрослых пациентов с острыми кишечными инфекциями и хроническими заболеваниями ЖКТ применение метаболитического пробиотика приводило к достоверно более быстрому исчезновению диспепсических явлений, нормализации стула и микробиоценоза, репарации слизистой оболочки толстой кишки по сравнению с аналогичными показателями у больных, получавших пробиотики и только базисную терапию. Побочных реакций отмечено не было [52].

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

**А.И. Хавкин** — получение исследовательских грантов от фармацевтических компаний Abbott, Валента, STADA CIS, Nutricia.

**О.Н. Комарова** — получение исследовательских грантов от фармацевтических компаний Abbott, Валента, STADA CIS, Nutricia.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Moore W.E., Holdeman L.V. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Appl. Microbiol.* 1974; 27: 961–979.
- Noack J., Kleessen B., Proll J., Dongowski G., Blaut M. Dietary guar gum and pectin stimulate intestinal microbial polyamine synthesis in rats. *J. Nutr.* 1998; 128: 1385–1391.
- Хавкин А.И. Микрофлора пищеварительного тракта. М.: Фонд социальной педиатрии. 2006. 416 с.
- Урсова Н.И. Дисбактериозы кишечника в детском возрасте: инновации в диагностике, коррекции и профилактике. М. 2013. 328 с.
- Лиманова О.А., Федотова Л.Э., Садин А.В. Клиническая фармакология препаратов, применяемых для лечения дисбактериоза кишечника. *Иваново*. 2007. 23 с.
- Kilkinen A., Pietinen P., Klaukka T., Virtamo J., Korhonen P., Adlercreutz H. Use of oral antimicrobials decreases serum enterolactone concentration. *Am. J. Epidemiol.* 2002; 155: 472–477.
- Hurley B.W., Nguyen C.C. The spectrum of pseudomembranous enterocolitis and antibiotic-associated diarrhea. *Arch. Intern. Med.* 2002; 162: 2177–2184.
- Macfarlane G.T., Gibson G.R. Metabolic activities of the normal colonic flora. In: Human Health: The Contribution of Microorganisms. S.A.W. Gibson (ed.). London: Springer-Verlag. 1994. P. 17–53.
- Macfarlane S., Macfarlane G.T. Proteolysis and amino acid fermentation. In: Human Colonic Bacteria: Role in Nutrition, Physiology, and Pathology. G.R. Gibson, G.T. Macfarlane (eds.). Boca Raton, FL: CRC Press. 1995. P. 75–100.
- Kruis W., Forstmaier G., Scheurlen C., Stellaard F. Effect of diets low and high in refined sugars on gut transit, bile acid metabolism, and bacterial fermentation. *Gut.* 1991; 32: 367–371.
- WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria (October 2001). «Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria». *Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization*. [http://www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/en/probiotics.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf) (available: 07.03.2015).
- Metchnikov I. *Essais optimistes*. Paris. 1907. 438 p.
- Roberfroid M. Prebiotics: the concept revisited. *J. Nutr.* 2007; 137 (Suppl. 3): 830–837.
- Таболин В.А., Бельмер С.В., Гасилина Т.В., Мухина Ю.Г., Корнева Т.И. Рациональная терапия дисбактериоза кишечника у детей. Метод. рекомендац. М. 1998. 24 с.
- Biville F., Laurent-Winter C., Danchin A. In vivo positive effects of exogenous pyrophosphate on *Escherichia coli* cell growth and stationary phase survival. *Res. Microbiol.* 1996; 147 (8): 597–608.
- Gritsenko V.A., Brudastov Iu.A., Kudria E.V., Vasil'eva L.I. Comparative analysis of the sensitivity of enterobacteria to bile. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2002; 3: 65–67.

17. Kyriakidis D.A., Tiligada E. Signal transduction and adaptive regulation through bacterial two-component systems: the Escherichia coli AtoSC paradigm. *Amino Acids*. 2009; 37 (3): 443.
18. Hori Y., Nihei Y., Kurokawa Y., Kuramasu A., Makabe-Kobayashi Y., Terui T., Doi H., Satomi S., Sakurai E., Nagy A., Watanabe T., Ohtsu H. Accelerated clearance of Escherichia coli in experimental peritonitis of histamine-deficient mice. *J. Immunol.* 2002; 169 (4): 1978–1983.
19. Bailey M.T., Coe C.L. Maternal separation disrupts the integrity of the intestinal microflora in infant rhesus monkeys. *Dev. Psychobiol.* 1999; 35: 146–155.
20. Lyte M., Ernst S. Catecholamine induced growth of gram negative bacteria. *Life Sci.* 1992; 50: 203–212.
21. Hall-Stoodley L., Costerton J.W., Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004; 2 (2): 95–108.
22. Bukharin O.V., Petrunova N.B. Microbial «friend-foe» identification in human intestine microsymbiogenesis. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2011; 6: 46–51.
23. Yates E.A., Philipp B., Buckley C., Atkinson S., Chhabra S.R., Sockett R.E., Goldner M., Dessaux Y., Camara M., Smith H., Williams P. N-acylhomoserine lactones undergo lactonolysis in a pH-, temperature-, and acyl chain length-dependent manner during growth of Yersinia pseudotuberculosis and Pseudomonas aeruginosa. *Infect. Immun.* 2002; 70 (10): 5635–5646.
24. Wang X.D., de Boer P.A., Rothfield L.I. A factor that positively regulates cell division by activating transcription of the major cluster of essential cell division genes of Escherichia coli. *EMBO J.* 1991; 10 (11): 3363–3372.
25. Qazi S., Middleton B., Muharram S.H., Cockayne A., Hill P., O'Shea P., Chhabra S.R., Camara M., Williams P. N-acylhomoserine lactones antagonize virulence gene expression and quorum sensing in Staphylococcus aureus. *Infect. Immun.* 2006; 74 (2): 910–919.
26. Hall R.A., Turner K.J., Chaloupka J., Cottier F., De Sordi L., Sanglard D., Levin L.R., Buck J., Muhlschlegel F.A. The quorum-sensing molecules farnesol/homoserine lactone and dodecanol operate via distinct modes of action in Candida albicans. *Eukaryot. Cell.* 2011; 10 (8): 1034–1042.
27. Miller M.B., Bassler B.L. Quorum sensing in bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 2001; 55: 165–199.
28. Diggle S.P., Gardner A., West S.A., Griffin A.S. Evolutionary theory of bacterial quorum sensing: when is a signal not a signal? *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2007; 362 (1483): 1241–1249.
29. Lyte M., Frank C.D., Green B.T. Production of an autoinducer of growth by norepinephrine cultured Escherichia coli O157: H7. *FEMS Microbiol. Lett.* 1996; 139: 155–159.
30. Shimazaki J., Furukawa S., Ogihara H., Morinaga Y. L-Tryptophan prevents Escherichia coli biofilm formation and triggers biofilm degradation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012; 419 (4): 715–718.
31. Vacheva A., Ivanova R., Paunova-Krasteva T., Stoitsova S. Released products of pathogenic bacteria stimulate biofilm formation by Escherichia coli K-12 strains. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2012; 102 (1): 105–119.
32. Kumari A., Pasini P., Deo S.K., Flomenhoft D., Shashidhar H., Daunert S. Biosensing systems for the detection of bacterial quorum signaling molecules. *Anal. Chem.* 2006; 78 (22): 7603–7609.
33. Vakhitov T.Ya., Protasov E.A., Visnol'd N.V., Tolparov Yu.T., Petrov L.N. Isolation and identification of growth stimulators of Escherichia coli M-17. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2003; 2: 7–12.
34. Громова О.А., Торшин И.Ю., Гришина Т.Р., Гарасько Е.В. Механизмы молекулярного воздействия метаболитического пребиотика Хилак форте на кишечную биофлору и обмен витаминов. *Russian Union Medical Professions. Журнал Гастро.* 2013; 1: 11–16.
35. Торшин И.Ю., Громова О.А. 25 мгновений молекулярной фармакологии. М.: А-Гриф. 2012. 678 с.
36. Joshi-Tope G., Gillespie M., Vastrik I., D'Eustachio P., Schmidt E., de Bono B., Jassal B., Gopinath G.R., Wu G., Matthews L., Lewis S., Birney E., Stein L. Reactome: a knowledgebase of biological pathways. *Nucleic Acids Res.* 2005; 33: 428–432.
37. Громова О.А., Торшин И.Ю., Волков А.Ю., Лисица А.В., Гарасько Е.В. Молекулярные механизмы воздействия метаболитических пребиотиков на выживание позитивной микрофлоры. *Лечащий врач.* 2013; 6: 79–83.
38. Bentley R., Meganathan R. Biosynthesis of vitamin K (menaquinone) in bacteria. *Microbiol. Rev.* 1982; 46 (3): 241–280.
39. Reid G., Howard J., Gan B.S. Can bacterial interference prevent infection? *Trends Microbiol.* 2001; 9 (9): 424–428.
40. Aihara K., Kajimoto O., Hirata H., Takahashi R., Nakamura Y. Effect of powdered fermented milk with Lactobacillus helveticus on subjects with high-normal blood pressure or mild hypertension. *J. Am. Coll. Nutr.* 2005; 24 (4): 257–265.
41. Schlegel A., Bohm A., Lee S.J., Peist R., Decker K., Boos W. Network regulation of the Escherichia coli maltose system. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2002; 4 (3): 301–307.
42. Bochner B.R., Gadzinski P., Panomitros E. Phenotype microarrays for high-throughput phenotypic testing and assay of gene function. *Genome Res.* 2001; 11 (7): 1246–1255.
43. Хавкин А.И. Микрофлора пищеварительного тракта. М.: ФСП. 2012. 424 с.
44. Florkiewicz H., Szurska G. Role of the Hylak forte preparation in the prevention of dysbacteriosis following intraoral antibiotic therapy. *Pol. Tyg. Lek.* 1963; 18: 1066–1068.
45. Агафонова Н.А., Яковенко Э.П., Иванов А.Н., Яковенко А.В., Прянишникова А.С. Особенности терапии больных с постинфекционным синдромом раздраженного кишечника. *Фарматека.* 2011; 15: 50–55.
46. Бурков С.Г., Макух Е.А. Синдром раздраженного кишечника в поликлинической практике. *Фарматека.* 2009; 8: 60–64.
47. Ардатская М.Д. Пре- и пробиотики в коррекции микробиологических нарушений кишечника. *Фарматека.* 2011; 12: 62–68.
48. Хавкин А.И. Микрофлора и развитие иммунной системы. *Детская гастроэнтерология.* 2010; 4 (3): 34–37.
49. Плоскирева А.А., Усенко Д.В., Горелов А.В. Адаптогенные свойства метаболитного пребиотика Хилак форте. *Инфекционные болезни.* 2010; 8 (1): 48–54.
50. Грачёва Н.М., Малышев Н.А., Леонтьева Н.И., Кондракова О.А., Партин О.С., Соловьёва А.И., Затевалов А.М., Кошкина Н.К. Восстановление метаболитного статуса кишечной микрофлоры у больных хроническими заболеваниями желудочно-кишечного тракта. *Инфекционные болезни.* 2006; 4 (2): 37–41.
51. Rudkowski Z., Bromirska J. Reduction of the duration of salmonella excretion in infants with Hylak forte. *Pediatr. Padol.* 1991; 26 (2): 111–114.
52. Грачёва Н.М., Партин О.С., Леонтьева Н.И., Щербаков И.Т., Соловьёва А.И. Применение современного пребиотика Хилак форте в комплексной терапии больных острыми кишечными инфекциями и хроническими заболеваниями желудочно-кишечного тракта с явлениями дисбактериоза кишечника. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2003; 5: 32.