

А.В. Малкоч¹, С.В. Бельмер¹, М.Д. Ардатская²

¹Российский государственный медицинский университет, Москва

²Учебно-научный медицинский центр

Управления делами Президента РФ, Москва

Пребиотики и функции кишечной микрофлоры

Микрофлора кишечника – составляющая организма человека, которая выполняет многочисленные жизненно важные функции. У здоровых людей в кишечнике насчитывается более 500 видов микроорганизмов. Общая масса микрофлоры кишечника составляет от 1 до 3 кг.

Распределение микроорганизмов по ходу желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) имеет достаточно строгие закономерности и тесно коррелирует с состоянием пищеварительной системы. Условно считается, что главная микрофлора толстой кишки представлена анаэробными бактериями, тогда как аэробные бактерии – это сопутствующая микрофлора. облигатных и факультативных анаэробов в толстой кишке всегда на порядок больше, чем аэробов, причем строгие анаэробы адгезированы на эпителиоцитах; в слизи и просвете кишки располагаются факультативные анаэробы и аэробные микроорганизмы. Таким образом, анаэробные бактерии (в основном бифидобактерии и бактероиды, их суммарная доля – около 60% общего количества анаэробных бактерий) – наиболее постоянная и многочисленная группа микрофлоры кишечника, выполняющая основные функции.

Вся совокупность микроорганизмов и макроорганизм представляет своеобразный симбиоз, где каждый извлекает выгоды для своего существования и оказывает влияние на партнера. Функции кишечной микрофлоры по отношению к макроорганизму реализуются как локально, так и на системном уровне. При этом разные виды бактерий вносят свой вклад в это влияние.

Взаимоотношения микро- и макроорганизма сложны и происходят на метаболическом, регуляторном, внутриклеточном и генетическом уровнях. Однако нормальное функционирование микрофлоры возможно только при хорошем физиологическом состоянии организма, в первую очередь при нормальном питании.

Процесс пищеварения условно можно разделить на собственное (дистанционное, полостное, аутолитическое и мембранное), осуществляемое ферментами организма, и симбионтное, реализуемое при содействии микрофлоры. Микрофлора кишечника человека участвует в ферментации нерасщепленных компонентов пищи, главным образом углеводов – таких как крахмал, олиго- и полисахариды (в том числе целлюлоза), а также белков и жиров.

Белки и углеводы, не всосавшиеся в тонкой кишке, подвергаются в слепой кишке более глубокому бактериальному расщеплению преимущественно кишечной палочкой и анаэробами. Конечные продукты, образующиеся в результате процесса бактериальной ферментации, оказывают различное влияние на состояние здоровья человека.

Питание микроорганизмов, населяющих кишечник, обеспечивается преимущественно за счет нутриентов, поступающих из вышележащих отделов ЖКТ, которые не перевариваются собственными ферментативными системами и не всасываются в тонкой кишке. Эти вещества необходимы для обеспечения энергетических и пластических потребностей микроорганизмов. Способность использовать нутриенты для своей жизнедеятельности зависит от ферментативных систем различных бактерий. Условно выделяют бактерии с преимущественно сахаролитической активностью, основной энергетический субстрат которых – углеводы (характерно для сапрофитной флоры), с преимущественно протеолитической активностью, основной энергетический субстрат которых – белки (характерно для большинства представителей патогенной и условно-патогенной флоры) и со смешанной активностью. Соответственно преобладание в пище тех или иных нутриентов, нарушение их переваривания будут стимулировать рост различных микроорганизмов.

Углеводные нутриенты особенно необходимы для жизнедеятельности нормальной кишечной микро-

флоры. Раньше эти компоненты пищи называли «балластными», предполагая, что они не имеют какого-либо существенного значения для макроорганизма, однако по мере изучения микробного метаболизма стало очевидно их значение не только для роста кишечной микрофлоры, но и для здоровья человека в целом.

Согласно современному определению **пребиотиками** называют частично или полностью неперевариваемые компоненты пищи, которые избирательно стимулируют рост и/или метаболизм одной или нескольких групп микроорганизмов, обитающих в толстой кишке, обеспечивая нормальный состав кишечного микробиоценоза. Свои энергетические потребности микроорганизмы толстой кишки обеспечивают за счет анаэробного субстратного фосфорилирования, ключевой метаболит которого – пировиноградная кислота (ПВК). Она образуется из глюкозы в процессе гликолиза. При восстановлении ПВК образуется от одной до четырех молекул АТФ. Последний этап этих процессов обозначается как брожение, которое может идти разными путями с образованием различных метаболитов.

Гомоферментативное молочное брожение сопровождается образованием преимущественно молочной кислоты (до 90%). Оно характерно для лактобактерий и стрептококков толстой кишки. Гетероферментативное молочное брожение, при котором образуются и другие метаболиты (в том числе уксусная кислота), присуще бифидобактериям. Спиртовое брожение, ведущее к образованию углекислого газа и этанола, – побочный метаболический путь у некоторых представителей *Lactobacillus* и *Clostridium*. Отдельные виды энтеробактерий (*E. coli*) и клостридий получают энергию в результате муравьинокислого, пропионового, маслянокислого, ацетонобутилового или гомоацетатного видов брожения.

В результате микробного метаболизма в толстой кишке образуются молочная кислота, короткоцепочечные жирные кислоты (C_2 – уксусная, C_3 – пропионовая, C_4 – масляная/изомасляная, C_5 – валериановая/изовалериановая, C_6 – капроновая/изокапроновая), углекислый газ, водород, вода. Углекислый газ в значительной степени преобразуется в ацетат, водород всасывается и выводится через легкие, а органические кислоты (в первую очередь жирные короткоцепочечные) утилизируются макроорганизмом. Нормальная микрофлора толстой кишки, перерабатывая непереваренные в тонкой кишке углеводы, производит короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК) с минимальным количеством их изоформ. В то же время при нарушении микробиоценоза и увеличении доли протеолитической микрофлоры указанные жирные кислоты начинают синтезироваться из белков преимущественно в виде изоформ, что отрицательно влияет на состояние толстой кишки.

Помимо этого, различные представители сапрофитной флоры нуждаются в определенных нутриентах, что объясняется особенностями их метаболизма. Так, бифидобактерии расщепляют моно-, ди-, олиго- и полисахариды, используя их как энергетический и пластический субстрат. При этом они могут ферментировать белки, в том числе для энергетических целей. Они нетребовательны к поступлению с пищей большинства витаминов, но нуждаются в пантотенатах.

Лактобактерии также используют различные углеводы для энергетических и пластических целей. Однако они плохо расщепляют белки и жиры, поэтому нуждаются в поступлении извне аминокислот, жирных кислот и витаминов.

Энтеробактерии расщепляют углеводы с образованием углекислого газа, водорода и органических кислот. При этом существуют лактозонегативные и лактозопозитивные штаммы. Они могут утилизировать белки и жиры, поэтому мало нуждаются во внешнем поступлении аминокислот и большинства витаминов.

Очевидно, что питание сапрофитной микрофлоры и ее нормальное функционирование принципиально зависит от содержания непереваренных углеводов (ди-, олиго- и полисахаридов), необходимых для энергетического обеспечения, а также от содержания белков, аминокислот, пуринов и пиримидинов, жиров, углеводов, витаминов и минералов, требующихся для пластического обмена. Залог поступления к бактериям необходимых нутриентов – рациональное питание макроорганизма и нормальное течение пищеварительных процессов.

Хотя **моносахариды** могут быть легко утилизированы микроорганизмами толстой кишки, их не относят к пребиотикам. В нормальных условиях кишечная микрофлора не потребляет моносахариды, которые должны полностью всасываться в тонкой кишке. К пребиотикам относят некоторые дисахариды, олигосахариды, полисахариды и достаточно гетерогенную группу соединений, в которой присутствуют поли- и олигосахариды и которую обозначили как пищевые волокна. Из пребиотиков в женском молоке присутствуют лактоза и олигосахариды.

Лактоза (молочный сахар) – это дисахарид, состоящий из галактозы и глюкозы. В норме лактоза расщепляется лактазой тонкой кишки до мономеров, которые практически полностью всасываются в тонкой кишке. Лишь незначительное количество нерасщепленной лактозы у детей первых месяцев жизни попадает в толстую кишку, где утилизируется микрофлорой, обеспечивая ее становление. В то же время дефицит лактазы приводит к избытку лактозы в толстой кишке, значительному нарушению состава кишечной микрофлоры и осмотической диарее.

Олигосахариды – это линейные полимеры глюкозы и других моносахаров с общей длиной цепи не более 10. По химической структуре выделяют галакто-, фрукто-, фукозилолигосахариды и др. Концентрация олигосахаридов в женском молоке относительно невелика – не более 12–14 г/л, однако их пребиотический эффект весьма значителен. Именно олигосахариды сегодня рассматривают как основные пребиотики женского молока, обеспечивающие как становление нормальной микрофлоры кишечника ребенка, так и ее поддержание в дальнейшем. Важно то обстоятельство, что олигосахариды присутствуют в значимых концентрациях только в женском молоке и отсутствуют, в частности, в коровьем. Следовательно, в состав адаптированных молочных смесей для искусственного вскармливания здоровых детей следует добавлять пребиотики (галакто- и фруктоолигосахариды).

Полисахариды – это длинноцепочечные углеводы, в основном растительного происхождения. Инулин, содержащий фруктозу, в больших количествах присутствует в артишоках, клубнях и корнях георгинов и одуванчиков. Он утилизируется бифидо- и лактобактериями, способствует их росту. Кроме того, инулин повышает всасывание кальция и влияет на метаболизм липидов, снижая риск развития атеросклероза.

Пищевые волокна – большая гетерогенная группа полисахаридов. Наиболее известные из них – целлюлоза и гемицеллюлоза. Целлюлоза – неразветвленный полимер глюкозы, гемицеллюлоза – полимер глюкозы, арабинозы, глюкуроновой кислоты и ее метилового эфира. Помимо функции субстрата для питания лакто- и бифидофлоры и опосредованно – поставщика короткоцепочечных жирных кислот для колоноцитов, пищевые волокна оказывают и другие важные эффекты. Они обладают высокой адсорбционной способностью и удерживают воду, что приводит к повышению осмотического давления в полости кишки, увеличению объема фекалий, ускорению пассажа по кишечнику, обуславливая слабительный эффект.

В средних количествах (1–1,9 г/100 г продукта) пищевые волокна содержатся в моркови, сладком перце, петрушке (в корне и зелени), редьке, репе, тыкве, дыне, черносливе, цитрусовых, бруснике, фасоли, гречневой, перловой крупе, «Геркулесе», ржаном хлебе.

Высокое содержание (2–3 г/100 г продукта) пищевых волокон характерно для чеснока, клоквы, красной и черной смородины, черноплодной рябины, ежевики, овсяной крупы, хлеба из белково-отрубной муки.

Наибольшее их количество (более 3 г/100 г продукта) содержится в укропе, кураге, клубнике, мали-

не, чае (4,5 г/100 г), овсяной муке (7,7 г/100 г), пшеничных отрубях (8,2 г/100 г), сушеном шиповнике (10 г/100 г), жареном кофе в зернах (12,8 г/100 г), овсяных отрубях (14 г/100 г). Пищевые волокна не содержатся в рафинированных продуктах!

Несмотря на очевидную значимость пребиотиков для питания микрофлоры, благополучия желудочно-кишечного тракта и всего организма в целом, в современных условиях отмечается дефицит пребиотиков в питании во всех возрастных группах. В частности, взрослый человек должен съедать в сутки примерно 20–35 г пищевых волокон, тогда как реально европейский житель потребляет не более 13 г в сутки. Уменьшение доли естественного вскармливания у детей первого года жизни приводит к недостатку пребиотиков, содержащихся в женском молоке.

Лактулоза – дисахарид, состоящий из галактозы и фруктозы; в молоке (женском или коровьем) отсутствует, однако в небольших количествах может образовываться при нагревании молока до температуры кипения. Лактулоза не переваривается ферментами желудочно-кишечного тракта. Она ферментируется лакто- и бифидобактериями, служит им субстратом для энергетического и пластического обмена, в результате чего способствует нормализации состава микрофлоры, увеличению объема биомассы и каловых масс, что обуславливает ее слабительный эффект. Кроме того, установлена антиканцерогенная активность лактулозы и ее угнетающий эффект на сальмонеллы. Полученная синтетическим путем лактулоза (Дюфалак, *Solvay Pharma*, Германия) широко используется как эффективное слабительное средство, обладающее пребиотическими свойствами. С пребиотической целью Дюфалак назначают детям в низких дозах, не оказывающих слабительного эффекта (по 1,5–2,5 мл два раза в день в течение 3–6 нед.).

Мы наблюдали 27 детей в возрасте от одного года до 16 лет с дисбиозом кишечника различной степени тяжести, которым в качестве пребиотика был назначен Дюфалак в дозе 4–5 мл/сут в два приема в течение 3–4 нед. У всех больных оценивали общее состояние, частоту стула, его характер (согласно Бристольской шкале форм кала), наличие примесей в стуле, а также характер и выраженность абдоминального синдрома (боль, урчание, объем живота). Наряду с клиническими данными оценивали копрограмму, исследовали состав фекальной микрофлоры и спектр короткоцепочечных жирных кислот в кале методом газожидкостной хроматографии.

Оценку вышеназванных показателей проводили в трех точках: до начала монотерапии Дюфалаком; сразу после ее окончания и через один месяц после монотерапии Дюфалаком.

На фоне терапии Дюфалаком у всех детей улучшилось общее самочувствие, у большинства пациентов были купированы признаки абдоминального синдрома, у остальных значительно снизилась их интенсивность (график 1).

У детей улучшился характер стула, причем не только для 1-го и 2-го типов по Бристольской шкале, но и для 6-го типа (кашицеобразный стул). Этот эффект сохранялся и через месяц после окончания терапии Дюфалаком (график 2).

У большинства пациентов нормализовалась частота стула. Если до начала терапии у 17 детей отмечались запоры или склонность к ним, то после применения Дюфалака у большинства детей дефекация происходила каждые 24 ч, у некоторых – каждые 36 ч. Характерным было то, что и у пациентов с частой дефекацией (2–3 раза и более в сутки) отмечалось уменьшение частоты стула до 1–2 раз за 24 ч.

Положительная динамика выявлена нами в отношении состава фекальной микрофлоры. В начале исследования у всех детей был отмечен дисбиоз

различной степени: 1-й – у 6 пациентов; 2-й – у 17; 3-й – у 4. На фоне терапии Дюфалаком нормализовался состав фекальной микрофлоры у 5 детей с 1-й степенью дисбиоза, у остальных – значительно улучшился, причем 3-я степень дисбиоза уже не определялась. Позитивные изменения фекальной микрофлоры сохранились и через месяц после окончания терапии Дюфалаком. Так, нормальные показатели фекальной микрофлоры мы констатировали у 13 детей, а доля дисбиоза 2-й степени снизилась по сравнению с показателями во 2-й точке исследования сразу после курса Дюфалака.

У большинства пациентов до лечения Дюфалаком было отмечено снижение абсолютного содержания отдельных короткоцепочечных жирных кислот и их суммарного количества в кале. Это свидетельствовало как об уменьшении утилизации данных кислот колоноцитами вследствие нарушения моторно-эвакуаторной функции кишечника, так и об изменении активности и численности различных популяций микроорганизмов индигенной толстокишечной микрофлоры.

График 1

Динамика клинических проявлений у детей на фоне лечения препаратом лактулозы (Дюфалак)



График 2

Динамика характера стула (в баллах по Бристольской шкале) у детей на фоне лечения препаратом лактулозы (Дюфалак)



После проведенного курса лечения наблюдалась тенденция к нормализации абсолютного содержания уксусной, пропионовой и масляной кислот, вносящих основной вклад в общий пул КЖК. Данный факт свидетельствует о восстановлении функциональной активности и численности толстокишечной микрофлоры вследствие нормализации моторно-эвакуаторной функции кишечника, что соответствует динамике клинических симптомов.

Результаты исследования абсолютного содержания отдельных КЖК и их суммарного количества в кале до и после приема Дюфалака представлены в *таблице 1*.

Результаты изучения профилей C_2-C_4 , вносящих основной вклад в общий пул КЖК, и значения анаэ-

робных индексов (АИ – отношение суммы концентраций C восстановленных кислот к менее восстановленным $C_{\text{пропионовая}} + C_{\text{масляная}}/C_{\text{уксусная}}$) на фоне лечения представлены в *таблице 2*.

Профиль КЖК в норме не зависит ни от количества продуцируемых и утилизируемых метаболиты микроорганизмов, ни от числа клеток (эпителиоцитов) всасывающей поверхности.

Исходно у наших пациентов было отмечено достоверное повышение относительного содержания пропионовой и масляной кислот при снижении доли уксусной кислоты в пуле кислот с длиной атомов углерода C_2-C_4 по сравнению с группой здоровых лиц. Возрастание уровня данных кислот свидетельствует о повышении численности и активности анаэ-

Таблица 1

Абсолютное содержание КЖК в кале до и после приема Дюфалака и у практически здоровых лиц, мг/г

Фракции КЖК	Норма	До лечения	После лечения
Уксусная C_2	5,88-1,22	2,15-0,44	3,96-1,19
Пропионовая C_3	1,79-0,55	0,89-0,21	1,30-0,7
Изомасляная Iso C_4	0,25-0,11	0,14-0,08	0,201-0,04
Масляная C_4	1,72-0,55	1,02-0,21	1,27-0,16
Изовалериановая Iso C_5	0,40-0,11	0,22-0,05	0,35-0,05
Валериановая C_5	0,34-0,12	0,16-0,05	0,25-0,07
Изокапроновая Iso C_6	0,01-0,01	0,010-0,001	0,012-0,004
Капроновая C_6	0,14-0,06	0,057-0,009	0,11-0,04
Сумма КЖК	10,51-2,5	4,64-1,05	7,56-2,1

Таблица 2

Характер изменений профилей C_2-C_4 , значений анаэробных индексов, суммарного относительного содержания изокислот p (изоСп), отношения содержания отдельных изокислот к кислотам с неразветвленной цепью ($\sum iCn/Cn$) в кале до и после приема Дюфалака и у практически здоровых лиц

Профиль C_2-C_4	Норма	До лечения	После лечения
Уксусная кислота (C_2)	0,625-0,004	0,528-0,011	0,608-0,009*
Пропионовая кислота (C_3)	0,191-0,005	0,224-0,009	0,198-0,009*
Масляная кислота (C_4)	0,184-0,004	0,246-0,010	0,194-0,008*
АИ	-0,599-0,009 ед.	-0,917-0,011 ед.	-0,645-0,011 ед.*
ДАИ (лечение)			0,272 ед.
ДАИ (N)		-0,318 ед.	-0,046 ед.
P (изоСп)	0,059-0,015	0,192-0,014	0,069-0,008*
\sum изоСп/ \sum Сп	0,430-0,140	0,329-0,011	0,401-0,010

*Примечание: М←т для $p < 0,05$

робного звена микрофлоры, представленного в основном популяциями микроорганизмов родов *Bacteroides*, *Clostridium*, эубактерий, фузобактерий и др. (в основном их факультативных и условно-патогенных штаммов). После курса лечения отмечено формирование нормального профиля содержания КЖК, что свидетельствует о восстановлении активности и численности облигатных штаммов микроорганизмов, в частности, представителей молочной флоры (бифидо- и лактобактерий), облигатных штаммов бактероидов и др.

Представленные данные соответствуют динамике результатов бактериологического исследования кала, свидетельствующих о повышении численности облигатной флоры, снижении количества (или исчезновении) условно-патогенных микроорганизмов.

До лечения наблюдается смещение значений АИ в область более отрицательных показателей по сравнению с нормой ($-0,917 \pm 0,011$ ед. при норме $-0,599 \pm 0,009$ ед.). В данной зоне перестают работать терминальные ферредоксинсодержащие ферменты облигатных анаэробов, что приводит к блокированию их жизнедеятельности. На этом фоне начинают активно размножаться условно-патогенные штаммы анаэробных микроорганизмов, что отражается на изменении профиля C_2-C_4 кислот.

После курса лечения наблюдается смещение АИ в область нормальных значений – из более отрицательной в менее отрицательную область (соответственно с $-0,917$ до $-0,645$ ед., Δ АИ (лечение) – $0,272$ ед.), что обеспечивает условия для нормальной и эффективной жизнедеятельности облигатной микрофлоры.

Изомеры КЖК образуются в результате жизнедеятельности микроорганизмов, утилизирующих пептиды. Кишечные палочки, фекальные стрептококки, некоторые бациллы рассматриваются как сильнейшие протеолитические агенты. Некоторые виды анаэробов (бактероиды, клостридии) также метаболизируют белки, однако они обладают несколько сниженной протеолитической активностью.

Исходно у больных было отмечено повышение суммарного относительного количества изокислот $r(\text{изо}C_n)$. На фоне приема Дюфалака значения данного показателя снижались. Данный факт объясняется уменьшением протеолитической активности некоторых видов факультативных и условно-патогенных а- и анаэробных микроорганизмов (в частности, *E. coli* с измененными свойствами, стрептококков, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides ruminicola*, *Bacteroides melaninogenicus*, представителей отдельных видов и штаммов рода *Clostridium*), что соответствует экспериментальным данным, указывающим на угнетение условно-патогенных протеолитических штаммов микроорганизмов под воздействием Дюфалака.

Анализ изменений соотношения продукции изо-кислоты/короткоцепочечные жирные кислоты ($\Sigma \text{изо}C_n / \Sigma C_n$) свидетельствует об увеличении изучаемого показателя на фоне приема Дюфалака, а значит, о восстановлении приэпителиального гликокаликсного слоя защиты.

Отдельно было исследовано содержание свободных КЖК (H^+R) до и после курса лечения Дюфалаком. Отмечено нарастание свободных кислот после лечения с $3,64$ до $6,23$ мг/г, что свидетельствует об ацидификации кишечного содержимого.

Таким образом, на фоне приема Дюфалака не только происходило улучшение клинических показателей, частоты и характера стула, но и наблюдались положительные изменения толстокишечного микробиоценоза, выраженные в нормализации состава фекальной микрофлоры, снижении содержания условно-патогенных анаэробов (в частности, протеолитических и гемолитических штаммов). При этом нормализовался баланс аэробно/анаэробных популяций микроорганизмов, что привело к изменению состава и спектра КЖК.

В результате терапии Дюфалаком значительно менялась внутриполостная среда толстой кишки, которая обеспечивает условия для нормальной, эффективной жизнедеятельности облигатной микрофлоры – об этом свидетельствует динамика значений АИ и повышение уровня свободных кислот. Кроме того, прием Дюфалака способствовал восстановлению приэпителиального гликокаликсного слоя защиты, что вело к изменению соотношения продукции изо-кислоты/короткоцепочечные жирные кислоты.

Таким образом, лактулоза оказывает значительный пребиотический эффект. Ее можно использовать в качестве монотерапии дисбиозов кишечника легкой степени, а при более тяжелых нарушениях кишечной микрофлоры – в сочетании с другими препаратами.

ВЫВОДЫ

Пребиотики обеспечивают благополучие микрофлоры толстой кишки. Они необходимы для здоровья человека благодаря существенным метаболическим эффектам. Для преодоления дефицита пребиотиков человеку требуется рациональное питание во всех возрастах – от новорожденного до преклонного. При необходимости с лечебной целью можно назначать лактулозу в составе лекарственных препаратов (Дюфалак), хорошо зарекомендовавшую себя как фактор, эффективно и безопасно нормализующий состав кишечного микробиоценоза.