



<sup>1</sup> Ивановская  
государственная  
медицинская академия  
Минздравсоцразвития  
России

<sup>2</sup> Вычислительный  
центр  
им. А.А. Дородницына  
Российской академии  
наук, Москва

# Механизмы молекулярного воздействия метаболического пребиотика Хилак форте на кишечную флору и обмен ВИТАМИНОВ

О.А. Громова<sup>1</sup>, И.Ю. Торшин<sup>2</sup>, Т.Р. Гришина<sup>1</sup>, И.С. Рейер<sup>2</sup>, Е.В. Гарасько<sup>1</sup>

Адрес для переписки: Ольга Алексеевна Громова, unesco.gromova@gmail.com

*В статье проведен сравнительный метаболомный анализ продуктов обмена позитивной микрофлоры и ряда патогенных микроорганизмов. Установлено, что позитивная флора производит метаболиты, связанные с деградацией желчных кислот, биосинтезом и биотрансформацией витаминов, селена, пребиотических сахаров, короткоцепочечных жирных кислот. Препарат Хилак форте представляет собой стерильный концентрат продуктов обмена. Метаболиты в составе препарата способствуют нормализации микрофлоры и синтезу пиридоксальфосфата (витамин В<sub>6</sub>), флавинадениндинуклеотида (ФАД, производное витамина В<sub>2</sub>) и никотинамиддинуклеотида (НАД, производное витамина В<sub>3</sub>). Эти витамины являются кофакторами ферментов и всасываются из кишечника. Предлагаемые молекулярные механизмы также указывают на возможный синергизм действия витаминов, микроэлементов и молекулярных компонентов препарата Хилак форте.*

**Ключевые слова:** кишечная микробиота, дисбактериоз, метаболические пребиотики, метаболомный анализ, витамины

## Введение

Дисбактериоз кишечника характеризуется изменением качественного и/или количественного состава бактериальной флоры. В терапии дисбактериоза используются, как правило, пробиотики (препараты активной микрофлоры – молочнокислые бактерии и бифидобактерии) и пребиотики (олигосахариды, способствующие нормализации состава микрофлоры кишечника).

При лечении дисбактериоза пробиотиками непосредственно вводят пациенту живые, активные штаммы микроорганизмов, оказывающих положительное влияние на рост и развитие микрофлоры кишечника. Однако эти штаммы бифидо- и лактобактерий, как правило, не соответствуют уникальному микробному профилю пациента. Для проведения успешной терапии необходимо, чтобы введенные бактерии прижились в кишечнике, так как очень часто возникает антагонизм между



микрофлорой и «подселенными» бактериями. В этом случае лучше всего проводить персональную терапию с помощью приема препаратов из конкретных штаммов собственной микрофлоры пациента, что сложно осуществить на практике. Вследствие того что симбиотические отношения между вводимыми штаммами и микробиотой кишечника отсутствуют, у пациента возникают побочные эффекты (например, у детей может развиваться сепсис). Эффективность терапии пробиотиками значительно снижается, и долговременные эффекты не отмечаются.

Другим направлением терапии дисбактериоза кишечника является использование пребиотиков, веществ натурального или синтетического происхождения, селективно стимулирующих рост и/или ферментативную активность одного или нескольких видов нормофлоры. Перспективным направлением терапии дисбактериоза является использование нового класса пребиотиков, так называемых метаболитических пребиотиков, представляющих собой продукты обмена веществ некоторых бактерий, например, экстракт продуктов обмена веществ *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus* (штаммы DSM), оказывающий позитивный эффект. Из этих компонентов и состоит препарат Хилак форте. Данные экстракты отличаются сложным составом и содержат сотни молекул-метаболитов, производимых и потребляемых бактериями в кишечнике.

### Использование пребиотиков в терапии кишечных заболеваний

Метаболитические пребиотики еще рано выделять в отдельный класс препаратов, так как в настоящее время существует единственный метаболитический пребиотик – Хилак форте. Препарат Хилак форте используется в профилактике дисбактериоза после антибиотикотерапии [1], является эффек-

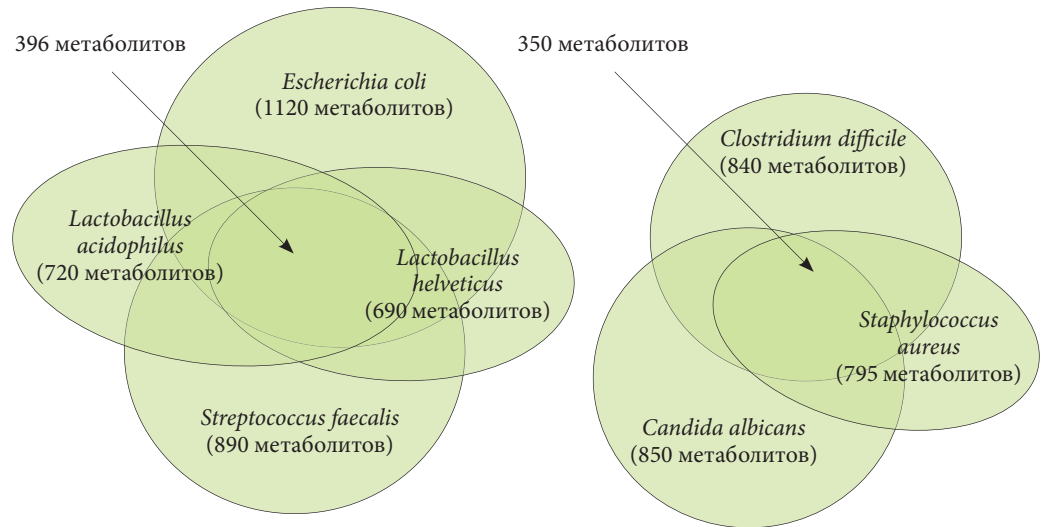


Рис. 1. Относительные размеры метаболомов (всех метаболитов клетки) исследованных представителей кишечной микробиоты\*

\* Исследовано 4 типичных представителя позитивной флоры (*Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*) и 3 представителя условно-патогенной флоры (*Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*).

тивным средством для поддержания микробиоценоза [2], успешно используется у пациентов с синдромом раздраженного кишечника [3–5], способствует выздоровлению при острой кишечной инфекции [6] и функциональных запорах [7].

Несмотря на то что клинические исследования показали способность препарата Хилак форте оказывать положительное воздействие на рост и развитие нормальной микрофлоры кишечника, механизм действия еще недостаточно изучен. Хилак форте включает экстракты метаболитических продуктов четырех представителей бактериальной нормофлоры, а метаболом (совокупность всех метаболитов) каждой бактерии состоит из нескольких тысяч различных молекул. С целью установления молекулярных механизмов действия препарата нами было проведено метаболомное моделирование представителей нормофлоры, из водного экстракта продуктов жизнедеятельности которых производится исследуемый препарат [8].

Эффективный и безопасный пребиотический препарат должен поддерживать выживание

позитивной кишечной флоры и проявлять антагонизм по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам. Поскольку Хилак форте содержит часть метаболома бактерий, соответствующих позитивной микрофлоре, сравнение метаболомов этих микроорганизмов с метаболомами бактерий условно-патогенной флоры указывает на наиболее вероятные молекулярные пути, посредством которых осуществляется терапевтическое воздействие препарата. Суммарная информация по метаболомам исследованных микроорганизмов представлена на рис. 1.

Сравнительный анализ метаболомов этих микроорганизмов показал, что у данных представителей нормофлоры имеются определенные метаболитические пути, которых нет ни у одного из исследованных представителей условно-патогенной флоры. В частности, были установлены метаболиты, связанные с биосинтезом ряда витаминов (табл. 1), и содержание этих молекул в экстрактах продуктов жизнедеятельности будет благоприятствовать нормализации микробиоценоза.



**Таблица 1. Результаты сравнительного метаболомного анализа исследованных микроорганизмов микрофлоры кишечника**

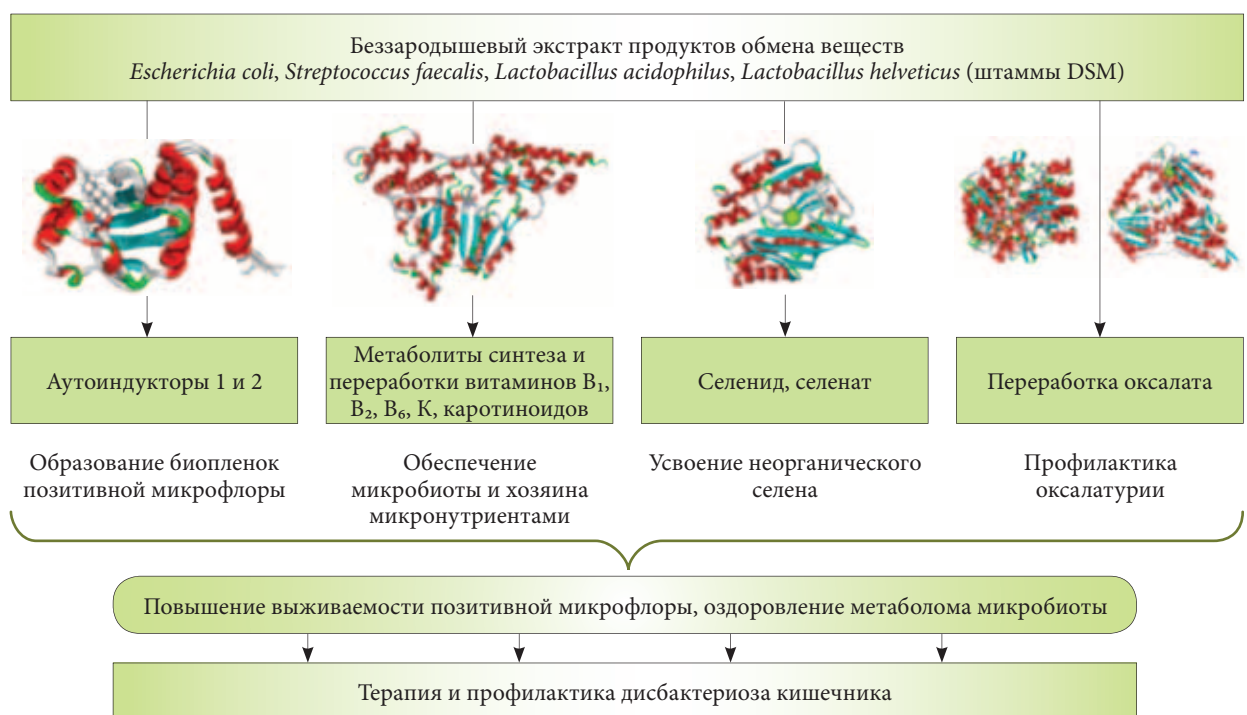
Метаболиты*	Функция
Фосфоноксibuтанoаты, пиридоксаль, пиридоксилактон	Биосинтез витамина В <sub>6</sub>
2,5-диамино-6-(5-фосфо-D-рибозиламино) пиридин-4, 6,7-диметил-8-(1-D-рибитил) лумазин, рибофлавин	Биосинтез рибофлавина (витамин В <sub>2</sub> )
Мелибиоза, N-ацетил-b-D-глюкозамин, холановая кислота, галактонат, галактозилонитол, маннитол, рибулоза, рамнофураноза, рамнулоза, фукулоза, мальтогептаоза	Сахара, пребиотики
Холевая кислота, 12-эпихолат, 3-дегидрохолат, 7-оксо-5-холанат, 7-эпихолат, гликохолат, изохолат	Метаболизм желчных кислот
Менадиол, менадион	Биосинтез витамина К
Оксалат, оксамат	Переработка оксалатов
Аллантоин, аллантаат	Преобразование аминов в мочевины
Селенит, селенат	Синтез глутатиона
Таурин	Синтез янтарной кислоты
N-ацетил-диаминобутанoат, n-бутанoат, этилсукцимид, изопропиламелид, 2-амино-3-оксо-4-фосфоноксibuтанoат, аминобутаральдегид	Биосинтез короткоцепочечных жирных кислот

\* Данные метаболиты входят в состав метаболома позитивной флоры и отсутствуют в метаболомах *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Полученные нами данные наглядно иллюстрируют правильность рассмотрения микробиоты как специфического «микробного органа», участвующего в регуляции обмена витамина А (каротиноиды), витаминов В<sub>6</sub>, В<sub>2</sub>, К в организме хозяина. Кроме того, встречающиеся в литературе сравнения «микробного органа» с печенью также вполне оправданы, например, позитивная микрофлора

в значительной степени способствует деградации желчных кислот (холевая кислота, 12-эпихолат, 3-дегидрохолат, 7-оксо-5-холанат, 7-эпихолат, гликохолат, изохолат), дополняя тем самым одну из важнейших функций печени [5]. По результатам настоящего исследования установлена взаимосвязь метаболома важнейших представителей микробиоты и метаболизма оксалатов, причем данный процесс зависит, по меньшей мере, от трех микронутриентов: пантотеновой кислоты (витамин В<sub>5</sub>, необходим для синтеза коэнзима А), тиамин-дифосфата (витамин В<sub>1</sub>) и магния. В случае если здоровый человек получит с пищей много оксалатов (например, содержащихся в щавеле), за счет хорошей микробиоты он быстро обезвредит этот избыток. Пациент с дисбактериозом при таких погрешностях в диете имеет повышенный риск развития мочекаменной болезни и формирования оксалатных камней в почках, а в суставах – оксалатного артроза. При долговременной поддержке микробиоты кишечника препаратом Хилак форте терапия

Пациент с дисбактериозом при таких погрешностях в диете имеет повышенный риск развития мочекаменной болезни и формирования оксалатных камней в почках, а в суставах – оксалатного артроза. При долговременной поддержке микробиоты кишечника препаратом Хилак форте терапия



**Рис. 2. Молекулярные механизмы воздействия компонентов безародышевых экстрактов микробиоты**

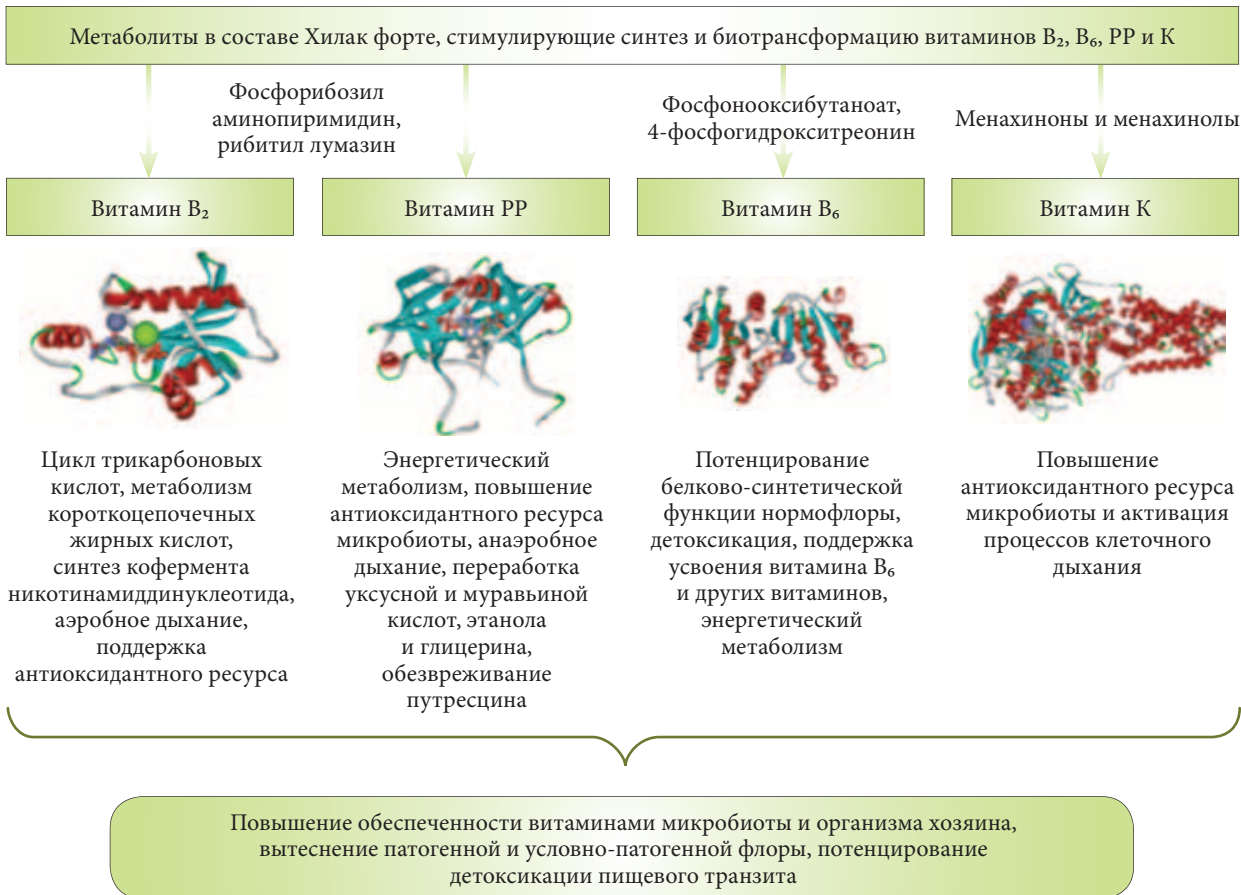


Рис. 3. Молекулярные механизмы действия метаболитов в составе Хилак форте на метаболизм витаминов, детоксикацию пищевого транзита и выживание микробиоты

мочекаменной болезни и артроза более успешна, так как она дополнена метаболическим компонентом. По данным настоящего анализа, важным отличием метаболомов микробиоты от метаболомов патогенной микрофлоры является наличие метаболитов, связанных с биотрансформацией неорганического селена. Результаты метаболомного анализа показали, что в экстрактах могут присутствовать такие важнейшие сигнальные молекулы, как аутоиндукторы 1-го и 2-го типов, которые контролируют образование бактериальных пленок позитивной микрофлоры. Эти молекулы и метаболиты, необходимые для синтеза и переработки витаминов, пребиотические сахара и короткоцепочечные жирные кислоты могут являться действующим агентом препарата с пребиотической активностью Хилак

форте (рис. 2). Эти метаболиты будут способствовать образованию нормального микробиоценоза, препятствующего активации патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, стимулировать усвоение эссенциальных микронутриентов из пищи (каротиноидов, селена и др.), обезвреживание желчных кислот и оксалатов.

Трудно переоценить роль участия компонентов метаболома нормобиоты в составе Хилак форте в метаболизме витаминов. Сравнительный метаболомный анализ показал, что метаболиты в составе Хилак форте могут способствовать нормализации метаболизма таких важных для выживания клеток микробиоты кофакторов, как пиридоксальфосфат (витамин В<sub>6</sub>), флавинадениндинуклеотид (ФАД) и никотинамиддинуклеотид (НАД), оказывающих

существенное воздействие на энергетический и антиоксидантный ресурсы микробиоты (рис. 3). Результаты данного анализа позволяют предположить синергизм между витаминами группы В (прежде всего, витаминами В<sub>2</sub>, РР, В<sub>6</sub>) и микроэлементами (цинк, марганец, магний), с одной стороны, и с молекулярными компонентами препарата Хилак форте – с другой.

### Заключение

Дисбактериоз кишечника является нарушением равновесия между позитивной и патогенной флорой и активацией патогенной, и причины его возникновения в современных условиях самые разнообразные. В числе наиболее распространенных можно выделить следующие факторы: прием антибиотиков, негативные факторы диеты (сульфаты,

гастроэнтерология





сульфиты, которые используются в качестве консервантов, диета с высоким содержанием белка, высокоуглеводная диета). При нарушенной микрофлоре значительно замедляется или блокируется усвоение из пищи жизненно важных микронутриентов (витаминов и микроэлементов), что существенно ухудшает состояние пациентов. Именно поэтому эффективные и безопасные фармакологические средства для терапии дисбиоза приобретают большое значение.

В терапии дисбактериоза используются, как правило, пробиотики (препараты активной позитивной микрофлоры) и пребиотики (олигосахариды, способствующие

росту позитивной флоры). Лечение дисбактериоза может проводиться пробиотиками, то есть методом непосредственной «подсадки» пациенту живой, активной флоры. Однако штаммы бифидо- и лактофлоры препарата, как правило, не соответствуют уникальному профилю микробиоценоза пациента.

Результаты метаболомного анализа позволяют утверждать, что метаболиты в составе Хилак форте способствуют приживаемости позитивной флоры и могут тормозить рост патогенной микрофлоры кишечника. Проведенный нами систематический анализ метаболомов представителей позитивной микрофлоры

указал на то, что они участвуют в биосинтезе ряда витаминов. В настоящей работе представлены результаты систематического анализа эффектов витаминов В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub> и К на выживание представителей позитивной микрофлоры на основе субстрата продуктов обмена позитивной флоры, из которых изготавливается препарат Хилак форте. Результаты данного анализа позволяют уточнить молекулярные механизмы терапевтического воздействия данного препарата, подтверждают имеющиеся клинические данные. Все вышеизложенное может служить обоснованием для проведения последующих микробиологических исследований препарата. ●

### Литература

1. Florkiewicz H., Szurska G. Role of the Hylak Forte preparation in the prevention of dysbacteriosis following intraoral antibiotic therapy // Pol. Tyg. Lek. 1963. Vol. 18. P. 1066–1068.
2. Копанев Ю.А. Применение Хилак форте для коррекции микробиологических нарушений и функциональных расстройств у детей и взрослых // Трудный пациент. 2007. Т. 5. № 10. С. 46–52.
3. Агафонова Н.А., Яковенко Э.П., Иванов А.Н. и др. Особенности терапии больных с постинфекционным синдромом раздраженного кишечника // Фарматека. 2011. № 15. С. 50–55.
4. Бурков С.Г., Макух Е.А. Синдром раздраженного кишечника в поликлинической практике // Фарматека. 2009. № 8. С. 60–64.
5. Ардатская М.Д. Пре- и пробиотики в коррекции микробиологических нарушений кишечника // Фарматека. 2011. № 12. С. 62–68.
6. Rudkowski Z., Bromirska J. Reduction of the duration of Salmonella excretion in infants with Hylak forte // Pediatr. Pathol. 1991. Vol. 26. № 2. P. 111–114.
7. Чернущь Н.П. Особенности микробиоценоза толстой кишки у пациентов с функциональными запорами и его коррекция пробиотиком Хилак форте // Клиницист. 2006. № 3. С. 47–53.
8. Лиманова О.А., Торшин И.Ю., Гарасько Е.В. и др. Избирательная модуляция роста позитивной флоры кишечника – новая концепция воздействия метаболитического пребиотика Хилак Форте // Фарматека. 2012. № 20. С. 53–58.

### Mechanisms of molecular effects of metabolic prebiotic Hylak forte on intestinal flora and vitamin metabolism

O.A. Gromova<sup>1</sup>, I.Yu. Torshin<sup>2</sup>, T.R. Grishina<sup>1</sup>, I.S. Reyer<sup>2</sup>, Ye.V. Garasko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ivanovo State Medical Academy of the Ministry of Health and Social Development of Russia

<sup>2</sup> Institution of Russian Academy of Sciences, Dorodnicyn Computing Centre

Contact person: Olga Alexeyevna Gromova, unesco.gromova@gmail.com

*Comparative metabolome analysis of metabolites of normal microflora and several pathogens show that normal flora produces metabolites associated with bile acids degradation, biosynthesis/biotransformation of vitamins, selenium, prebiotic sugars, short-chain fatty acids. Hylak forte is a sterile concentrate of metabolites which maintain normal microbial flora and stimulate synthesis of pyridoxal phosphate (vitamin B6), flavine adenine dinucleotide (FAD, vitamin B2 derivative) and nicotinamide dinucleotide (NAD, vitamin B3 derivative). These vitamins are absorbed in intestine and act as co-factors of different enzymes. The molecular mechanisms described may indicate possible synergistic effects of vitamins, microelements and molecular components of Hylak forte.*

**Key words:** *intestinal microbiota, dysbacteriosis, metabolic prebiotics, metabolome analysis, vitamins*