

УДК 57.083.1:579.222+579.25

## Противоречивая микроэкология

**И. В. Домарадский, Т. Х. Хохоев, О. А. Кондракова,  
А. В. Дубинин, С. В. Вострухов, В. Н. Бабин**

*ИГОРЬ ВАЛЕРИАНОВИЧ ДОМАРАДСКИЙ — доктор медицинских наук, доктор биологических наук, действительный член РАМН и РАЕН, главный научный сотрудник Московского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского (МНИИЭМ). Область научных интересов: генетика и биохимия микробов.*

*ТАЙМУРАЗ ХАКЯССОВИЧ ХОХОЕВ — доктор медицинских наук, профессор. Область научных интересов: токсикология, молекулярная микробиология.*

*ОКСАНА АЛЕКСАНДРОВНА КОНДРАКОВА — кандидат биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной микроэкологии МНИИЭМ, заведующая отделом научно-исследовательской фирмы «Ультрасан». Область научных интересов: общая микробиология, молекулярная микроэкология.*

*АЛЕКСАНДР ВАСИЛЬЕВИЧ ДУБИНИН — кандидат медицинских наук, заместитель генерального директора НИФ «Ультрасан». Область научных интересов: гастроэнтерология, проктология, медицинская микробиология, биотехнология.*

*СЕРГЕЙ ВИКТОРОВИЧ ВОСТРУХОВ — научный сотрудник. Область научных интересов: токсикология, биохимия отравляющих веществ.*

*ВАЛЕРИЙ НИКОЛАЕВИЧ БАБИН — кандидат химических наук, генеральный директор НИФ «Ультрасан», старший научный сотрудник Института элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова. Область научных интересов: химическая микробиология, химия металлоорганических соединений.*

152212 Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10, НИФ «Ультрасан», тел./факс (095)452-08-96, E-mail ultrasan@mail.ru

В статье анализируется двойственная роль собственной микрофлоры человека по отношению к хозяину. Рассматриваются некоторые механизмы (фагоцитоз, бактериальная транслокация, всасывание низкомолекулярных метаболитов, влияние эндотоксина), ответственные за переход системы организм/микрофлора от состояния симбиоза к состоянию взаимной агрессии.

### Введение

Среди нерешенных аспектов проблемы взаимоотношений хозяина и его микрофлоры основными являются выяснение молекулярных механизмов, управляющих связью микробиоты и организма-хозяина, оценка масштаба той пользы, которую получает человек от этого симбиоза, а также роли факторов патогенности собственной микрофлоры при переходе системы под влиянием внешних факторов от отношений симбиоза к состоянию взаимной агрессии [1].

Именно последний вопрос мы пытаемся проанализировать в настоящей работе, в частности, каким образом некоторые химические агенты (токсические вещества, лекарственные средства и т.д.), помимо прямого воздействия на тканевые мишени организма, инициируют конфликт хозяина с частью его микрофлоры. При этом особое внимание уделяется механизмам и природе «двойственной реакционной способности» микрофлоры, т.е. рассмотрению проблемы того, как одни и те же

молекулы, клетки, механизмы, в зависимости от времени и места могут отправлять как позитивные, эндосимбионтные, так и негативные, деструктивные функции.

### Эпителиальный фагоцитоз собственных бактерий и его последствия

Мы уже отмечали [1], что наряду с явлениями дистанционных взаимодействий бактерий и хозяина огромное значение имеет непосредственное взаимодействие бактериальных клеток с эпителиальными тканями, которое начинается с адгезии бактерий и приводит к их попаданию в цитоплазму эпителиоцитов. Парадокс этого явления состоит в том, что сложно разграничить физиологический фагоцитоз и патологическое вхождение бактерий в клетки хозяина.

Бактерии в клетки могут попадать или как жертвы, или как агрессоры. В первом случае они подвергаются процессу фагоцитоза, как, например, в нейтрофилах. Во втором случае происходит так называемое вхождение, индуцированное патогенами.

Высказанная ранее гипотеза [2] о том, что паразиты, колонизирующие эпителий, вырабатывают какие-то медиаторы, побуждающие эпителиальные клетки к их захвату, в настоящее время получила немало экспериментальных подтверждений (табл. 1). Появился даже новый термин — «*parasite directed endocytosis*» [3, 4], который противопоставляется другому термину —

Таблица 1

## Некоторые примеры индукции процесса вхождения патогенов в клетки «непрофессиональных» фагоцитов

Патоген	Тип клеток	Литература
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Клетки эпителия	[5]
<i>Shigella spp.</i> , <i>Yersinia spp.</i>	Разные клетки, включая эндотелиальные	[3]
<i>Listeria monocytogenes</i>	Энтероцитоподобные клетки (линия Caco2)	[6]
Энтеропатогенные штаммы кишечной палочки	Энтероциты	[7]
<i>Chlamydia psittaci</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i>	L и HeLa клетки	[8]
<i>Helicobacter pylori</i>	Эпителий желудка	[9]
<i>Shigella flexneri</i>	HeLa клетки	[10]
	Клетки эпителия	[11]

«*host-specified endocytosis*», относящемуся к «профессиональным» фагоцитам.

Одним из следствий индуцированного патогенами эндоцитоза является так называемое пассивное вхождение непатогенных бактерий [2], по механизму напоминающее «жидкостный пиноцитоз».

В свете задач настоящей работы нас особенно будет интересовать именно этот процесс — вхождение в эпителиальные клетки представителей нормальной микрофлоры, механизмы иницирования этого процесса и его последствия. При этом мы оставим в стороне попадание собственных бактерий в эпителий в каких-то чрезвычайных ситуациях, например, в таких случаях, когда патогенные виды транслоцируются вместе с факультативными анаэробами при ситуациях массивного повреждения эпителия при ожогах, радиационном поражении высокими или средними дозами, под влиянием рициновой кислоты, острой ишемии толстокишечных лимфатических узлов или даже при обструкции тонкого (толстого) кишечника, не сопровождающейся некрозом [12].

В данном случае наше внимание будет сконцентрировано на «обычных случаях», когда воздействуют «низкоинтенсивные» факторы, например при использовании антибиотиков, некоторых комбинаций лекарственных средств, подпороговых доз токсичных веществ и т.д. Так, в опытах на мышах убедительно показано, что введение некоторых антибиотиков в течение четырех дней приводило не только к нарушению микроэкологии, но и к развитию синдрома гиперколонизации (*overgrowth*) в слепой кишке [13].

Наши данные показывают, что при воздействии на высших животных некоторых классов токсичных веществ, например производных азотистого иприта, значительно усиливается захват бактерий клетками буккального эпителия.

Рассмотрим на примере воздействия небольших молекул токсичных веществ, какие механизмы могут быть ответственны за попадание собственных бактерий в эпителий и к каким последствиям это может приводить.

Анализ взаимосвязей эпителия и микрофлоры [14] показывает, что одним из важнейших условий и одновременно следствием этих связей оказывается взаимное обеспечение и поддержание определенных (и притом примерно одинаковых в разных отделах организма) значений некоторых фундаментальных физико-химических параметров приэпителиального контактного

слоя, в котором разыгрываются основные молекулярные события [1]. К таким параметрам в первую очередь относятся: полярность среды контактного слоя, его кислотнo-основные, окислительно-восстановительные, а также реологические характеристики. Гомеостаз позволяет поверхностным структурам бактерий и эпителиальных клеток поддерживать определенную геометрию, узнаваемую «иммунной системой». В частности, поверхностные антигены (по крайней мере, часть их) клеток собственных бактерий, «мимикрирующие» под собственные антигены клеток хозяина, являются неравновесными структурами. Их геометрия определяется не только первичной структурой, но и наличием «структурных кинетических скрепок», фиксирующих неравновесную конфигурацию молекул. Роль таких скрепок могут играть межмолекулярные контакты (водородные связи, взаимодействия гидрофобных доменов, S—S-мостики, характер упаковки молекул и т.д.). В результате такие структуры, зафиксированные в мембране и клеточной стенке и «зажатые» осмотическим давлением, находятся в состоянии сжатой пружины.

Такая неравновесность может являться «платой» за структурную гомологию, достигнутую в ходе совместной эволюции эпителиальных (и других тканей) хозяина, с одной стороны, и микрофлоры, с другой.

При попадании в приэпителиальный слой молекул некоторых соединений в состоянии структур, формирующих контактный слой, могут происходить драматические изменения, связанные, по-видимому, с изменением геометрии бактериальных антигенов.

Можно полагать, что некоторые малые молекулы (по крайней мере некоторые классы токсичных веществ), которые способны формировать водородные связи, иницировать и участвовать в быстрых реакциях переноса протонов, приводящих к расщеплению структур, фиксирующих «заданную» неравновесную конформацию бактериальных антигенов, могут даже в малых дозах оказывать влияние на изменения геометрии и топографии антигенов бактериальных клеток вследствие их перехода в конформации, близкие к равновесным.

В результате этого антигенная топография некоторых представителей собственной микрофлоры человека

\* Идея о возможной роли неравновесных (ферментативных) структур как медиаторов эффектов малых доз ФАВ была, насколько нам известно, впервые высказана Л.А. Блюменфельдом.

будет приобретать «чужеродный облик» [14—18], вследствие чего на бактериальных клетках будет сорбироваться присутствующий на поверхностях секреторный иммуноглобулин А (s-IgA) с последующим фагоцитозом этих клеток не только профессиональными фагоцитами хозяина, но и эпителиальными клетками.

Таким образом, мы постулируем, что конфликт между хозяином и частью собственной микрофлоры имеет иммунологическую природу; он начинается с отчуждения некоторых бактерий и оканчивается их фагоцитозом непрофессиональными фагоцитами. Однако в ряде случаев все это может приводить к усилению транслокации бактерий, т.е. к проникновению их во внутреннюю среду организма [16].

### Транслокация бактерий

Суть явления бактериальной транслокации состоит в том, что цельные бактериальные клетки преодолевают эпителиальный барьер и попадают в регионарные лимфатические узлы, так называемые мезентеральные узлы [19]. Дальнейшая судьба этих клеток зависит от соотношения интенсивности процесса проникновения бактерий и иммунного ответа: бактерии или подвергаются лизису макрофагами мезентеральных узлов, или через портальную вену попадают в синусы печени. Если макрофаги печени не справляются с попавшими туда бактериями, то последние могут появляться в системном кровотоке.

Как и все явления, связанные с микробиотой, бактериальная транслокация может иметь физиологический характер, в этом случае бактерии обычно не проходят далее мезентеральных узлов. Смысл этого явления заключается в том, что иммунная система «знакомится» с их антигенами и поддерживается в состоянии готовности к ответу. Попадающие в системный кровоток бактерии могут в патологической ситуации вызывать тяжелые осложнения, например сепсис.

Механизмы, контролирующие транслокацию, пока не выяснены [19—22]. Предполагается, что они зависят как от состояния организма хозяина, так и от свойств самих бактерий. Имеется много указаний на то, что реже всего транслоцируются анаэробные микробы. В то же время бактерии, которые выживают внутри макрофагов, например некоторые сальмонеллы или *Listeria monocytogenes*, транслоцируются значительно чаще, и имеются доказательства, что «нормальные» кишечные бактерии могут проникать в мезентеральные лимфатические узлы с помощью фагоцитов.

По-видимому, существует несколько механизмов прохождения бактериями эпителиального барьера.

1. Эпителиальный фагоцитоз (см. выше). Вероятно, этот механизм наиболее значим для многослойного эпителия, типа буккальных клеток. В этом случае незавершенный фагоцитоз приводит к повреждению эпителия, и прохождение происходит именно через поврежденные пласты.

2. Транслокация бактерий через гистологически неповрежденный эпителий. В этой связи особо следует подчеркнуть роль М-клеток, которые рассматриваются

даже как своего рода «проходные дворы» для макромолекул и патогенов (см., например, [16]).

Учитывая особую роль М-клеток, на них стоит остановиться подробнее. Эти клетки, покрывающие толстокишечные лимфатические узлы, заметно отличаются по строению и функциям от других видов энтероцитов, хотя и сохраняют общие принципы организации. Базальная мембрана М-клеток отличается от базальной мембраны энтероцитов ворсинок и крипт значительно большей порозностью. Это способствует прохождению антигенов из просвета кишки в фолликулы и перемещению химических медиаторов из фолликулов в эпителий, а также миграции лимфоцитов [17].

Характерной особенностью М-клеток является то, что они захватывают и транспортируют к лимфоидной ткани из просвета кишки антигены, не подвергая их деградации. Считается, что это становится возможным из-за значительно меньшей, чем в других энтероцитах, лизосомальной активности. И действительно, в М-клетках в 16 раз меньше плотных телец, чем в энтероцитах, хотя митохондрий в них столько же. Некоторые макромолекулы, например пероксидаза хрена (мол. масса 40 кД) поступают через М-клетки непосредственно в инвагинирующие эпителий лимфоциты, однако микроорганизмы и крупные частицы захватываются и частично разрушаются субэпителиальными макрофагами.

3. Транслокации бактерий с возможным участием клеток Панета. Эти клетки располагаются в основании крипт и характеризуются наличием крупных эозинофильных гранул в апикальной части. При использовании специальных методов окраски в отдельных клетках Панета были обнаружены бактерии, покрытые IgA. Поскольку эти клетки IgA не образуют, было высказано предположение, что клетки Панета способны фагоцитировать микроорганизмы и иммунные комплексы, покрытые IgA [18]. Особенно часто в эпителиальных клетках обнаруживают патогенные бактерии.

Следует подчеркнуть, что механизмы транслокации сейчас лучше изучены на модели тонкого кишечника, хотя основная угроза сепсиса связана с толстой кишкой.

Согласно последним данным, функции, сходные с функциями М-клеток и клеток Панета, возможно, присущи и другим типам эпителиальных клеток. Во всяком случае, все эпителиальные клетки взаимодействуют с клетками иммунной системы через целую сеть цитокинов и обладают рецепторами для многочисленных цитокинов, которые модифицируют функции эпителиальных клеток, например экспрессию генов главного комплекса гистосовместимости (МНС класса II) или проницаемость [23]. Кроме того, клетки эпителия желудочно-кишечного тракта сами секретируют цитокины, такие, как интерлейкин-8 (IL-8), GRO-а и MCP-1, которые регулируют врожденные реакции, а также интерлейкины (IL-6, IL-7 и IL-15), регулирующие антигенный ответ.

И еще одно замечание: способность патогенных бактерий проникать в эпителиальные клетки зависит от наличия у них особых факторов, часто кодируемых внехромосомными генетическими элементами. Видимо, из-за трансмиссивности этих элементов они встречаются даже у условно-патогенных бактерий [20].

Однако, говоря о транслокации бактерий, нельзя все сводить только к роли эпителиальных клеток. Сейчас всеми признается, что одним из факторов, способствующих транслокации бактерий, является эндотоксин.

\* По данным [19], в мезентеральных лимфатических узлах, особенно ослабленных больных, чаще всего обнаруживают кишечную палочку, протей и энтеробактер.

Вполне вероятно, что связь эндотоксина с транслокацией объясняется, в частности, тем, что эндотоксин увеличивает проницаемость стенки кишечника. В эксперименте это наблюдается даже при однократном введении небольшой дозы эндотоксина [21]. Еще одной причиной, обуславливающей или способствующей транслокации, является поражение печени, вызываемой *D*-галактозамином. Показано, например, что у крыс транслокация начиналась примерно через 3 ч после индукции у них поражения печени с помощью *D*-галактозамина [22].

Итак, первым этапом процесса транслокации, очевидно, является попадание в эпителиальные клетки бактерий или преодоление ими тем или иным способом эпителиального барьера.

### Эндотоксемия

Процесс захвата бактерий эпителиальными клетками, эпителиального фагоцитоза, индуцированного токсичными веществами, приводит не только к проникновению бактерий во внутреннюю среду организма (развитие бактериемии). Поскольку эпителиоциты не являются профессиональными фагоцитами, они не в состоянии переварить большое число бактериальных клеток. Поэтому результатом несовершенного фагоцитоза оказывается, с одной стороны, повреждение плазматических мембран эпителиальных клеток, а с другой стороны, высвобождение бактериальных токсинов, в частности эндотоксина (липополисахарида клеточной стенки грамотрицательных бактерий [24]) и токсичных соединений. В тяжелых случаях все это приводит к эндотоксемии.

Механизм высвобождения эндотоксина, обусловленный незавершенным эпителиальным фагоцитозом, не единственный. Имеются данные о том, что развитие эндотоксемии коррелирует с активностью ксантиноксидазы слизистой оболочки кишечника. Во всяком случае, ее инактивация или ингибирование препятствует эндотоксин-индуцируемой транслокации [21]. Это чрезвычайно интересный факт, который может указывать на то, что образующийся при окислении ксантина и гипоксантина пероксид водорода участвует в высвобождении эндотоксина.

Обычно печень справляется с эндотоксином и иными токсичными продуктами, высвобождающимися при распаде бактериальных клеток. Однако ситуация резко меняется, если к действию эндотоксинов на печень

присоединяются низкомолекулярные метаболиты.

Итак, один из механизмов косвенного действия токсических веществ на печень, легкие, кишечник и мозг состоит в повреждении клеточной стенки грамотрицательных бактерий и высвобождении больших количеств липополисахарида. Одним из наиболее тяжелых патофизиологических проявлений этого оказывается эндотоксемия.

### Роль низкомолекулярных метаболитов собственной микрофлоры в развитии гепатической энцефалопатии

Рассмотрим роль низкомолекулярных метаболитов собственной микрофлоры в развитии конфликта и в одном из последствий этого конфликта — гепатической энцефалопатии.

Известно, что низшие жирные кислоты способны в определенных дозах вызывать развитие наркотического состояния, сопора, быстро переходящего в кому. Скорость этого перехода настолько велика, что их прежде всего необходимо рассматривать в качестве медиаторов энцефалопатии. По-видимому, наиболее естественной интерпретацией может оказаться гипотеза о синергическом воздействии на организм, печень и центральную нервную систему нескольких классов низкомолекулярных метаболитов собственной микрофлоры.

Какие классы низкомолекулярных метаболитов оказываются наиболее подходящими кандидатами на эту роль?

Кроме низших жирных кислот среди продуцируемых микрофлорой метаболитов можно отметить такие важные (как по степени продукции, так и по их роли в метаболизме хозяина), как метан, аммиак, сероводород, этилмеркаптан (этантол),  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК), фенолы и др. (табл. 2).

В принципе, каждый из представленных в табл. 2 классов низкомолекулярных метаболитов может отправлять как физиологические функции, так и выступать в роли поражающего фактора.

В зависимости от количества и места локализации метаболит может играть как физиологическую, так и патофизиологическую роль. В последнем случае говорят о токсичных метаболитах. К ним обычно относят фенолы, меркаптаны (тиолы) и амины.

Таблица 2

Основные низкомолекулярные метаболиты, продуцируемые микробиотой человека

Классы соединений	Представители
—	Водород
—	Диоксид углерода
Углеводороды	Метан, этан, пропан, бутан
Спирты	Этиловый, пропиловый
Фенолы	Фенол, <i>l</i> -крезол
Карбоновые кислоты	Муравьиная, уксусная, пропионовая, масляная, изомасляная, валериановая, изовалериановая, капроновая (гексановая), изокапроновая (4-метилпентановая), щавелевая, молочная, янтарная, щавелевоуксусная, $\alpha$ -кетоглутаровая (2-оксопентандиовая)
Аминокислоты	$\beta$ -Аланин, $\gamma$ -аминомасляная, глутаминовая
Амины и другие азотсодержащие соединения	Аммиак, метиламин, этиламин, пропиламин, бутиламин, <i>D</i> -глюкозамин, <i>D</i> -галактозамин, индол, скатол, гистамин, серотонин
Соединения, содержащие серу	Сероводород, метил-, этил- и бутилмеркаптаны (метан-, этан- и бутантиолы), диэтилсульфид

Превращения бактериальных метаболитов, попадающих во внутреннюю среду организма, происходит несколькими путями:

- 1) окислительный метаболизм, преимущественно в печени;
- 2) образование конъюгатов с глюкуроновой и серной кислотами, которые выводятся с мочой;
- 3) реабсорбция из кишечного химуса;
- 4) объединение с пулом соответствующего эндогенного метаболита с последующей утилизацией в рамках «канонического механизма».

Токсические вещества, образующиеся в организме, в норме выводятся с калом, с выдыхаемым воздухом или конъюгируются с глюкуроновой кислотой в печени и поступают в мочу.

Таким образом, эти метаболиты перемещаются по маршруту, представленному на схеме 1.

Быстрое развитие энцефалопатии, а затем и комы может быть вызвано «согласованным» взаимодействием трех классов метаболитов: разветвленных низших жирных кислот, алифатических аминов и тиолов. Первые, деполаризуя мембраны клеток гематоэнцефалического барьера (клеток нейроглии — астроцитов), «открывают дорогу» в мозг для аммиака, аминов и тиолов, которые в противном случае не могут преодолеть этот барьер.

Высказанная идея о синергической роли сульфидов и алифатических аминов в развитии энцефалопатии подтверждается экспериментально [25]. Внутривенное введение крысам *Wistar* соли аммония, диметилсульфида и низших жирных кислот закономерно вызывает летаргию и другие симптомы энцефалопатии.

Иллюстрацией роли органических соединений, содержащих серу, могут служить данные по белковому питанию. Избыточное белковое питание — пример «фоновой пищевой перегрузки». Это доказано опытами как при деваскуляризации печени, так и при наложении фистулы Эка. По-видимому, в данном случае основной причиной «кишечной» энцефалопатии является перегрузка организма продуктами гидролиза белков, с обезвреживанием которых больная печень не справляется. Отсюда и термин — «мясное отравление» [26]. Вероятно, ведущим фактором здесь оказывается перегрузка сульфидами и тиолами бактериального происхождения, которая характерна для западной диеты. Источником этих соединений оказываются содержащие серу аминокислоты, входящие в состав животных белков.

Однако список возможных медиаторов гепатической энцефалопатии не исчерпывается этими тремя классами метаболитов.

Многие считают, что одной из причин, вовлекающих в процесс центральную нервную систему при поражении печени, является  $\gamma$ -аминомасляная кислота [27—30]. Как известно, это кислота является одним из основных эндогенных медиаторов, ответственных за процессы релаксации.  $\gamma$ -Аминомасляная кислота и ее рецепторы имеются в центральной нервной системе. Кроме того, она обнаружена также в эпителии кишечника.

Как известно [31], в слизистой кишечника имеются ферменты, участвующие в образовании  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМКергический шунт цикла Креб-

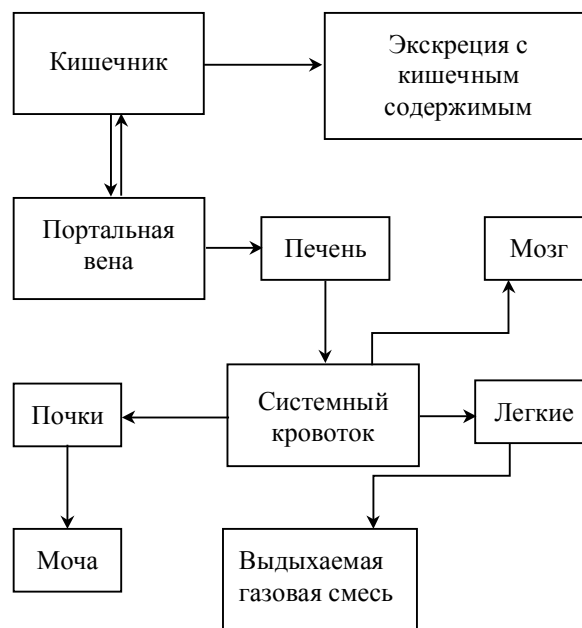


Схема 1

са). Ферменты шунта в значительной степени определяют уровень этой кислоты в венозной крови, оттекающей из тонкой и толстой кишки. При этом из тонкой кишки с кровью выносятся больше кислоты, чем из толстой.

Однако  $\gamma$ -аминомасляная кислота образуется также и в просвете кишечника в результате декарбоксилирования глутаминовой кислоты микрофлорой. Таким образом, ее общий пул имеет как эндо-, так и экзогенное (бактериальное) происхождение [32].

Участие  $\gamma$ -аминомасляной кислоты в развитии энцефалопатии подтверждается наличием в центральной нервной системе ее рецепторов [33, 34].

Еще одним медиатором гепатической энцефалопатии может быть *D*-галактозамин. В эксперименте печеночная кома может быть вызвана именно путем введения *D*-галактозамина [22, 25]. При этом гистологическая картина и биохимические изменения в печени весьма сходны с таковыми при поражении печени другой этиологии, в частности, вирусной [35].

В патогенезе поражения печени, вызываемого *D*-галактозамином, большую роль играет вызываемая им *in vitro* и *in vivo* дегрануляция тучных клеток, сопровождающаяся активацией системы комплемента циркулирующим эндотоксином. Все это приводит к гибели клеток. На основании этого делается вывод о том, что в патогенезе поражения печени галактозамином основную роль играют экстрагепато-клеточные механизмы [36].

Существует и другой взгляд на механизм действия галактозамина [37]. При введении собакам смертельных доз аминоксахара наблюдалось развитие острой печеночной недостаточности с прогрессирующим увеличением содержания печеночных энзимов, общего билирубина, аммиака, молочной кислоты, коагулопатией крови и гипогликемией. Картина завершалась комой. При вскрытии обнаруживали изменения в печени, асцит и отек мозга. Полагали, что токсичность *D*-галактозамина связана с ингибированием метаболизма уридинфосфата, т.е. с воздействием промежуточных метаболитов. В

\* Аналогичные результаты были получены нами и на мышах линий *Balb/c* и *C57/Black*.

результате возникает поражение клеточных мембран, влекущее за собой потерю больших количеств ионов кальция [38].

Возникает принципиальный вопрос о происхождении *D*-галактозамина, который принимает непосредственное участие в развитии гепатита у людей. Один из источников (небактериального происхождения) — гликопротеины слизистой оболочки кишечника; при этом *D*-галактозамин попадает в печень при каких-то нарушениях обмена веществ в организме [38, 39]. Однако и в этом случае высвобождение, вероятно, происходит с участием внеклеточных бактериальных гликозидаз. Более вероятным мощным источником *D*-галактозамина представляется пептидогликан клеточной стенки бактерий. При развитии конфликта между хозяином и микрофлорой происходит деструкция клеточных стенок с последующим лизисом образующихся фрагментов пептидогликана до мономеров.

В таком случае механизм развития гепатической энцефалопатии с участием низкомолекулярных метаболитов бактериального происхождения представляется следующим образом:

- 1) возникновение по тем или иным причинам конфликта между хозяином и микрофлорой [1];
- 2) лизис бактериального пептидогликана [40] и высвобождение *D*-галактозамина;
- 3) попадание последнего в печень через порталный кровоток и поражение ее паренхиматозных клеток;
- 4) усиление проникновения в системный кровоток разветвленных низших жирных кислот из-за снижения функциональных возможностей печени;
- 5) увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера для бактериальных метаболитов [41];
- 6) развитие энцефалопатии под влиянием аммиака, тиолов, аминов и  $\gamma$ -аминомасляной кислоты.

Кроме того, гепатическую энцефалопатию могут вызывать также и продукты питания. Одним из таких пищевых факторов являются некоторые растительные жиры. Например, у жителей некоторых районов Индии и Малайзии масло мангарозы (*mangarosa oil*) вызывает развитие гепатической энцефалопатии и даже коматозного состояния. Механизм этих явлений достаточно понятен.

Молекулы всех приведенные выше классов бактериальных метаболитов (а тем более молекулы липополисахаридов) имеют в своем составе гидрофобные алифатические фрагменты. Поэтому их поступление во внутреннюю среду сильно увеличивается при введении с пищей больших количеств длинноцепочечных кислот, в том числе непредельных кислот растительного происхождения, что является веским аргументом в пользу предложенного механизма.

Здесь также проявляется принцип двойственности эффектов микрофлоры. В принципе, длинноцепочечные непредельные жирные кислоты служат ингибиторами процессов пероксидного окисления липидов, перехватчиками токсических форм кислорода ( $O_2^-$ ,  $\dot{O}_2$ , синглетного кислорода).

Эти факты чрезвычайно важны в связи с существующей сейчас модой применять в роли биологически активных и пищевых добавок агенты, содержащие длинноцепочечные непредельные карбоновые кислоты (линоленовую, олеиновую кислоты и др.). Можно уве-

ренно сказать, что бездумное применение таких добавок (особенно если учесть низкий уровень контроля) небезопасно.

Предположение о развитии функциональных сдвигов и даже тяжелых поражений печени в связи с чрезмерным употреблением в пищу жиров возникло уже давно и послужило основанием для определения количества свободных жирных кислот при острой дистрофии этого органа [42]. По данным [43], у мышей масло мангарозы вызывало явления гепатической энцефалопатии уже через 30 мин.

Таким образом, хроническое воздействие токсических веществ может приводить к увеличению проницаемости барьеров для низкомолекулярных метаболитов. Низшие жирные кислоты, аммиак, низкомолекулярные амины,  $\gamma$ -аминомасляная кислота, тиолы, продуцируемые собственной микрофлорой, являющиеся нейротоксическими агентами, и в определенных ситуациях печень, легкие и мозг оказываются главными тканевыми мишенями для этих метаболитов.

Аммиак и различные азотсодержащие соединения (некоторые эндо- и экзогенные алкиламины, амиды карбоновых кислот, аминокислоты) способны, попадая в мозг, вызывать токсические эффекты. Это возможно в тех случаях, когда защитные системы эпителия и печени, поврежденные воздействием некоторых факторов низкой интенсивности, не в состоянии обеспечить достаточную абсорбцию и переработку этих оснований, значительная часть пула которых поставляется собственной микрофлорой. Клинически это проявляется в развитии энцефалопатии.

#### Некоторые противоречивые аспекты воздействия микрофлоры на энергетический метаболизм хозяина

Способность кишечного сока расщеплять дисахариды ограничена сахарозой, мальтозой и лактозой, которые образуются в процессе гидролиза основных полисахаридов пищевых продуктов — крахмала и гликогена. Ферменты, расщепляющие дисахариды (соответственно сахаразы, мальтаза и лактаза), относятся к числу  $\alpha$ -гликозидаз и секретируются энтероцитами (клетками Либермана). Возникающие из дисахаридов моносахариды непосредственно всасываются клетками эпителия. Частично они используются для энергообеспечения этих клеток, а большая их часть попадает через воротную вену в печень.

Однако, как известно, пищевые продукты растительного происхождения содержат полисахариды («пищевые волокна»), в структуре которых присутствуют  $\beta$ -гликозидные связи, которые не гидролизуются в тонком кишечнике. Их расщепление осуществляется в толстом кишечнике под влиянием бактерий сахаролитиков. Возникающие при этом олиго- и дисахариды гидролизуются также кишечными бактериями, образующими соответствующие ферменты. Далее продукты распада пищевых волокон подвергаются брожению с образованием главным образом низших жирных кислот (уксусной, пропионовой и масляной), которые служат источником энергии для колоноцитов. Это одно из принципиальных различий трофического обеспечения через толстый и тонкий кишечник. В толстом кишечнике реализуется своеобразное микробное пищеварение. Поступающие в толстый кишечник углеводы преформируются бактериями в

другие метаболиты, которые и участвуют в энергообеспечении хозяина.

Следует отметить, что еще одним источником низших жирных кислот в толстой кишке являются эндогенные мукополисахариды, олигосахаридная часть гликопротеидов и отмершие клетки.

Таким образом, необходимо признать, что организму человека наряду с «классическим пищеварением» присущ также еще один тип усвоения трофических метаболитов — пищеварение микробное.

Благодаря своеобразному видовому составу бактерий в толстом кишечнике преобладают пять типов брожения [44, 45]:

1) маслянокислое, при котором 1 моль гексозы дает 1 моль бутирата;

2) пропионовокислое, дающее 2 моль пропионата и 1 моль ацетата;

3) гомоацетатное, приводящее к образованию 3 моль ацетата;

4) ацетатно-водородное, поставляющее большое количество ацетата, но при условии, что водород выводится из реакции, например, для метаногенеза;

5) молочнокислое, при котором 1 моль гексозы дает 2 моль молочной кислоты.

О значении указанных процессов для организма хозяина можно судить хотя бы по тому, что в течение дня одних лишь низших жирных кислот микробного происхождения образуется 300—600 ммоль (!) [46].

Из числа низших жирных кислот основным источником энергии для колоноцитов (эпителиальных клеток толстой кишки) служит бутират, который в этом отношении превосходит пропионат и даже ацетат. Это важно и интересно не только с биохимической, но и с общебиологической точки зрения, поскольку свидетельствует о том, что процесс коэволюции макроорганизма и его микрофлоры ведет к известной автономизации эпителиальной подсистемы. Это выражается не только в появлении стереохимически изоморфных антигенов у эпителиальных и бактериальных клеток, но и в получении эпителием субстратов от микрофлоры.

Низшие жирные кислоты быстро абсорбируются путем пассивной диффузии в виде недиссоциированных соединений, хотя анионный транспорт также имеет место (предположительно, через параклеточные шунты). Абсорбция этих кислот влечет за собой накопление в толстом кишечнике  $\text{HCO}_3^-$ , повышение pH, снижение концентрации  $\text{CO}_2$ , стимуляцию транспорта воды и ионов натрия, а также синтеза секреторного компонента иммуноглобулина А [1].

В настоящее время много пишут об энергообеспечивающей функции микрофлоры. Однако под этим обычно понимают только поставку микрофлорой энергосубстратов. Например, после появления работы [47] постепенно пришло понимание того, что бутират является основным митохондриальным топливом для колоноцитов. Однако, к сожалению, мало обращается внимания на то, что энергообеспечивающую функцию следует понимать более широко, имея в виду, что речь идет, собст-

венно, о свободной, а не только о тепловой энергии. Часто забывают о «негэнтропийной» роли микрофлоры, ее участии в построении молекулярных структур хозяина, поставке информационных молекул.

В этой связи уместно подчеркнуть, что короткие низшие жирные кислоты используются не только для энергообеспечения колоноцитов. Они всасываются в кровь и служат дополнительными источниками энергии для всех органов и тканей. Главная роль при этом принадлежит ацетату [32].

Итак, вклад микрофлоры в форму поставки низших жирных кислот в энергообеспечение хозяина как на тканевом, так и на организменном уровне, можно считать признанным.

Однако, поступая к хозяину, эти кислоты могут играть совершенно противоположную роль. В толстой кишке кроме низших жирных кислот образуются валериановая и капроновая (гексановая) кислоты, а также кислоты изостроения — изомасляная, изовалериановая и изокапроновая (4-метилпентановая). Источником последних являются не углеводы (полисахариды), а аминокислоты, которые подвергаются брожению особого типа, в частности реакции Стикленда [44]. В обоих случаях соответствующие превращения аминокислот осуществляются особыми видами анаэробных бактерий. Кроме полисахаридов, неферментируемых в тонком кишечнике, в толстый кишечник попадают также частично переваренные или трудно перевариваемые там белки, которые гидролизуются до аминокислот, главным образом, бактероидами и пропионибактериями и, судя по результатам опытов *in vitro*, клостридиями, стрептококками, бациллами и стафилококками [48].

Важно подчеркнуть, что увеличение концентрации низших жирных кислот, особенно более «тяжелых» разветвленных кислот, может приводить к деполаризации плазматических мембран различных клеток (не только эпителиальных, но и нервных, глиальных и др., да и бактериальных). Происходящая при этом «деэнергизация» мембран становится причиной различных патологических проявлений — от дистрофии слизистой до рассмотренной выше энцефалопатии.

Мы рассмотрели некоторые аспекты энергетического вклада микрофлоры толстого кишечника, поскольку химикам, клиническим микробиологам и практическим врачам об этом мало известно. Напомним кстати, что даже некоторые крупнейшие биохимики в минувшем веке [49—52] не обращали на это внимания и говорили преимущественно о вреде, который исходит от толстого кишечника. Более того, микроорганизмы толстого кишечника расценивались ими скорее как паразиты, нежели как симбионты.

Теперь приходится наблюдать иной крен: на фоне признанной позитивной роли пищевых волокон рассматривается в основном симбионтный аспект.

\* Здесь и далее, конечно, имеются в виду сами кислоты, а не их соли (анионы). Просто мы используем терминологию, традиционно применяемую в биохимической литературе. Что касается существа дела, то, будучи слабыми кислотами, низшие жирные кислоты в приэпителиальных условиях естественно диссоциированы в незначительной степени.

\*\* Это можно легко видеть при проведении копрологического исследования кишечного содержимого.

\*\*\* Физиологическое значение притока разветвленных низших жирных кислот из толстого кишечника состоит в том, что они служат для образования таких незаменимых аминокислот, как лейцин и валин.



Схема 2



В действительности, нужно считаться с обеими ролями собственной микрофлоры — и с энергообеспечивающей, и с «дезэнергизирующей». Важно понимать, что результат воздействия зависит от конкретной молекулярной и физиологической ситуации, от времени и места, где разыгрываются конкретные молекулярные события.

#### Механизм развития синдрома воздействия факторов низкой интенсивности

Из изложенного выше видно, что развитие конфликта между хозяином и его микрофлорой может привести к тяжелым осложнениям. Кооперативная атака факторов патогенности микрофлоры приводит к множественным полисистемным поражениям внутренних органов организма.

Дисбиотические сдвиги могут быть обусловлены хорошо известными воздействиями, такими, как мощные дозы антибиотиков, цитостатиков и др. При этом развиваются, так сказать, «классические» дисбактериозы. Однако конфликт между хозяином и его микрофлорой может быть также инициирован при воздействии различных низкоинтенсивных факторов, в частности, околопороговых доз некоторых токсических веществ, малых доз облучения, малых и сверхмалых доз некоторых лекарственных средств и т.д. Однако и в этом случае конфликт в системе микрофлора/хозяин может приводить к возникновению повреждений систем организма под действием факторов патогенности собственной микрофлоры. Отличие от «классического» варианта состоит в том, что когда внешние инициирующие факторы имеют низкую интенсивность, эти поражения будут иметь микроочаговый характер. Однако клинические проявления все равно будут отмечаться.

Результатом описанных процессов на уровне организма оказывается его пограничное состояние, когда выраженной патологии нет, но есть совокупность функциональных нарушений, которые держат организм в состоянии, далеком от нормы и готовым патологически реагировать на возмущения различной природы. Мы будем обозначать это состояние организма как синдром факторов низкой интенсивности.

Предполагаемый механизм развития такого синдрома, исходя из идеи ведущей роли конфликта в системе хозяин/микрофлора, приведен на схеме 2.

Таким образом, при длительном воздействии на организм человека некоторых факторов низкой интенсивности, вызывающих дисбиотические сдвиги и в конечном итоге нарушение регуляции иммунитета, можно ожидать развития аллергических и аутоиммунных болезней, например неспецифических заболеваний легких (хронического обструктивного бронхита, бронхиальной астмы и др.), а также функциональных и воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта.

В рамках такого патофизиологического механизма становится понятна причина повышения проницаемости эпителиального, а затем и гематотканевых, в частности гематознцефалического, барьеров. Поэтому токсические вещества могут влиять на основные терминальные мишени (мозг, легкие, печень и т.д.).

Можно полагать, что такие состояния, как синдром Персидского залива и синдром множественной химической чувствительности, имеют такой же механизм.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бабин В.Н., Домарадский И.В., Дубинин А.В., Кондракова О.А. Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева), 1994, т. 38, № 6, с. 66—78.
2. Savage D. Symp. Soc. Gen. Microbiol. (Cambridge), 1972, № 22, p. 25—56.
3. Gorby Z., Robinson E., Barley L. e. a. Can. J. Microbiol., 1988, v. 34, № 4, p. 507—512.
4. Moulder J.W. Microbiol. Rev., 1985, v. 49, p. 298—337.
5. Исачкова Л.М., Жаворонков А.А., Антоненко Ф.Ф. Патология псевдотуберкулеза. Владивосток: Дальнаука, 1994.
6. Gaillard J.L., Berche P., Mounier J. e. a. Infect. Immun., 1987, v. 55(11), p. 2822—1829.
7. Andrade J. R. Costa, Da Silva C. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1987, v. 82, № 1, p. 87—90.
8. Byrne G.I., Moulder J.W. Infect. Immun., 1978, v. 19, p. 598—606.
9. Bjorkholm B., Zhukhovitsky V., Lofman C. e. a. Helicobacter, 2000, v. 5, № 3, p. 2000.
10. Clerc P., Sansonetti P. Infect. Immun., 1987, v. 55, p. 2681.
11. Hale T., Moris R., Bonventre P.F. Ibid., 1979, v. 24, № 3, p. 887—894.
12. Deitch E.A. Arch. Surg., 1989, v. 124, № 6, p. 699—701.
13. Berg D. Infect. Immun., 1981, v. 33, p. 851—861.
14. Домарадский И.В., Бабин В.Н. Мед. паразитол., 1996, № 4, с. 3—8.
15. Debard N., Siero F., Browning J., Kraehenbuhl J.P. Gastroenterology, 2001, v. 120, № 5, p. 1173—1182.
16. Owen R. L., Perce N.F., Apple R. T., Cray W.C. J. Infect. Dis., 1986, v. 153, № 6, p. 1108—1118.
17. Аруин Л.И., Каппуллер А.И., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. М.: Триада-Х, 1998.
18. Erlandsen S.L., Rodning C.B., Montero C. e. a. J. Histochem., Cytochem., 1976, v. 24, № 10, p. 1085—1092.
19. Steffen E.K., Berg, R.D., Deitch E.A. J. Infect. Dis., 1988, v. 157, p. 1032—1037.
20. Small P.L., Falkow S. Infect. Immun., 1988, v. 56, p. 225—229.
21. Deitch E.A., Taylor M., Grisham M. e. a. J. Trauma, 1989, v. 29, № 12, p. 1679—1683.
22. Kasravi F.B., Adawi D., Molin G. e. a. J. Hepatol., 1997, v. 26, № 2, p. 417—424.
23. Stadnyk A.W. J. Gastroenterol., 2002, v. 16, № 4, p. 241—246.
24. Morrison D.C., Ulevitch R. Am. J. Pathology, 1978, v. 93, p. 527—601.
25. Zeneroli M.L., Ventura E., Baraldi M., Penne A. e. a. Hepatology, 1982, v. 2(5), p. 532—538.
26. Фишер А. Физиология и экспериментальная патология печени. Будапешт: Изд-во АН Венгрии, 1961.
27. Schafer D.F., Jones E.A. Lancet, 1982, v. 1, p. 18.
28. Jones E. A., Schafer D. F., Ferenci P., Pappas S. C. J. Biol. Med., 1984, v. 57, № 3, p. 301—316.
29. Van Berlo C.L., deJonge H.R., van den Bogaard A.E. e. a. Gastroenterology, 1987, v. 93, № 3, p. 472—479.
30. Schafer D. F., Fowler J.M., Jones E.A. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1981, v. 167, № 3, p. 301—303.
31. А.Лабори Регуляция обменных процессов. М.: Медицина, 1970.
32. Дубинин А.В., Бабин В.Н., Раевский П.М. Клиническая медицина, 1991, № 7, с. 24—28.
33. Baker B.L., Morrow A.L., Vergalla J. e. a. Metab. Brain. Dis., 1990, v. 5, № 4, p. 185—193.
34. Ашмарин И.П., Антипенко А.Е., Ашапкин В.В. и др. Нейрохимия. М.: ИБМХ РАМН, 1996.

35. *Pickering R.W., James G.W., Parker F.L.* *Arzneimittelforschung*, 1975, Bd. 25, № 6, S. 898—901.
36. *Liehr H., Grun M., Seelig H.P. e. a.* *Virchows Arch. B.*, 1978, v. 26, № 4, p. 331—344.
37. *Siefaft T.D.* *Hepatology*, 1995, p. 21, № 3, p. 796—804.
38. *Terho T., Laitio M.* *Scand. J. Gastroenterol.*, 1977, v. 12, № 1, p. 7—15.
39. *Wold J.K., Midtvedt T., Winsnes R.* *Acta Chem. Scand.*, 1973, v. 27, № 8, p. 2997—3002.
40. *Кондракова О.А., Бабин В.Н., Вылегжанина Е.С. и др.* Эпидемиология и инфекционные болезни, 1998, № 3, с. 30—35.
41. *Грубцова Е.А., Затевалов А.М., Лехатинова Т.И. и др.* В сб.: Медицинские аспекты микробной экологии. М.: МНИИЭМ, 1999.
42. *Ивановский Н.Н., Рубин В.И., Рыжков Ю.Д., Домарадский И.В.* XX научн. сессия Саратовского мединститута, Саратов, 1953, с. 136.
43. *Sinniah R., Sinniah D., Chia L.S., Baskaran G.* *J. Pathol.*, 1989, v. 159, № 3, p. 255—264.
44. *Метаболизм бактерий.* Под ред. И. Гунзалус, Р.Стайнер. М.: Издатинлит, 1963.
45. *Гомтшалк Г.* *Метаболизм бактерий.* М.: Мир, 1982.
46. *Ruppin H., Bar-Meir S., Soergel K.H. e. a.* *Gastroenterology*, 1980, v. 78, p. 1500—1503.
47. *Roediger W.E.W.* *Ibid.*, 1982, v. 83, № 2, p. 424—429.
48. *Macfarlane G.T., Cummings J.H., Allison C. J.* *Gen. Microbiol.*, 1986, v. 132, p. 1647—1656.
49. *Абдергальден Э.* *Учебник физиологической химии.* М.: Биомедгиз, 1934.
50. *Палладин А.В.* *Учебник биологической химии.* М.: Биомедгиз, 1939.
51. *Макеев И.А., Гулевич В.С., Броуде Л.М.* *Курс биологической химии.* М.: Медгиз, 1947.
52. *Штрауб Ф.Б.* *Биохимия.* Будапешт: Изд-во АН Венгрии, 1963.