

ИНТЕГРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЧЕЛОВЕКА И ЕГО МИКРОБИОМА ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

Н. В. Белобородова

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН, Москва

Integration of Metabolism in Man and His Microbiome in Critical Conditions

N. V. Beloborodova

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

В статье постулируется существование явления интеграции метаболизма человека и его микробиома. Высказанная автором ранее гипотеза об участии малых молекул микробного происхождения в гомеостазе человека [1, 2] нашла подтверждение в дальнейших экспериментальных и клинических исследованиях. Показано, что взаимодействия метаболитов бактерий с организмом человека, естественные и гармоничные в норме, приобретают искаженный характер при различных заболеваниях, что максимально проявляется при критических состояниях, а усугубление дезинтеграции ведет к полиорганным нарушениям и фатальному исходу. Так, в результате проведенных исследований установлена зависимость тяжести и исхода заболевания от метаболического профиля низкомолекулярных ароматических соединений микробного происхождения в крови больного, среди экзометаболитов аэробных и анаэробных бактерий (основных представителей микробиоты человека) выявлены ключевые молекулы, участвующие в интеграционных взаимодействиях с клетками человека, изучены механизмы такого взаимодействия на клеточном и субклеточном уровне. По убеждению автора, изучение механизмов интеграции, роли ароматических микробных метаболитов (АММ) и поиск методов АММ-ориентированной терапии открывает новые возможности для улучшения результатов лечения больных в различных областях медицины и прежде всего – в реаниматологии. *Ключевые слова:* критические состояния, метаболизм, ароматические микробные метаболиты, фенилкарбоновые кислоты, сепсис, микробиом кишечника.

The paper postulates whether the phenomenon of integration of metabolism in man and his microbiome exists. The author's previously hypothesized fact that small molecules from microbes are involved in human homeostasis [1, 2] has found confirmation in subsequent experimental and clinical studies. The interactions of bacterial metabolites with the human body, which are natural and harmonious in health, are shown to become distorted in different diseases, which may be present in critical conditions at the most and the worsening disintegration results in multiple organ dysfunction and a fatal outcome. Thus, the performed investigations have established that there is a relationship between the severity and outcome of disease and the metabolic profile of low-molecular-weight aromatic compounds from microbes in the patient's blood and that there are key molecules that are involved in the integrative interaction with human cells among the exometabolites of aerobic and anaerobic bacteria (the main representatives of the human microbiota); the mechanisms of this interaction at the cellular and subcellular levels have been studied. In the author's opinion, a study of integration mechanisms and the role of microbial aromatic metabolites (MAM) and a search for MAM-oriented therapeutic methods open up new avenues to improve the results of patient treatment in different fields of medicine and mainly in reanimatology. *Key words:* critical conditions, metabolism, microbial aromatic metabolites, phenylcarboxylic acids, sepsis, intestinal microbiome.

Изучение механизмов критических состояний – важнейший раздел медицинской науки, так как контролируемое управление этими механизмами направлено на сохранение и продление человеческой жизни. Сегодня для научного поиска в этой области применяют самые современные технологии. Последние достижения биологии, биохимии, биофизики, патофизиологии, генетики и многих других дисциплин незамедлительно используются для объяснения сложных патогенетических механизмов, идет интенсивный поиск новых гипотез, решений, проводятся клинические исследования для оценки их эффективности.

В мировой литературе накоплен фактологический материал, обобщение которого позволяет сделать вывод – дальнейший прогресс в медицине критических состояний невозможен без пересмотра базовых представлений о гомеостазе человека и его регуляции [1, 2]. Данная работа, постулируя существование явления интеграции метаболизма человека с метаболизмом населяющего его микробного сообщества (микробиома), предлагает оценить потенциальные возможности практического использования этих представлений в медицине критических состояний.

Еще в начале XX века И. И. Мечников обратил внимание на влияние веществ, продуцируемых нормальной микрофлорой организма человека, на жизнедеятельность и состояние здоровья макроорганизма. Дальнейшее развитие этих идей способствовало созда-

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Белобородова Наталья Владимировна (Beloborodova N. V.)
E-mail: nvbeloborodova@yandex.ru

нию лечебных препаратов на основе культур бактерий нормальной микрофлоры человека, которые активно вошли в нашу жизнь в виде пробиотиков, в то время как исследованию роли метаболитов микробиоты в организме хозяина пока не уделяли должного внимания. До сих пор в учебной и научной литературе биохимические процессы в организме человека принято рассматривать в изоляции от продуктов жизнедеятельности микробного сообщества. Тем не менее интерес к изучению микробиома значительно возрос в последние годы, в частности — благодаря данным о его роли в канцерогенезе.

Обобщая данные литературы, можно считать доказанным, что метаболическая активность микрофлоры кишечника способствует высвобождению энергии в ходе утилизации нутриентов, участвует в трофике эпителия слизистой, выполняет защитную функцию, препятствуя колонизации и инвазии патогенов, обеспечивает адекватное функционирование иммунных структур кишечного барьера и выполняет ряд других полезных функций [16, 17, 19, 24, 29]. Однако по-прежнему отсутствуют ответы на вопросы о химической структуре и механизмах участия метаболитов микробиоты в системных биохимических и регуляторных процессах, протекающих в организме человека в норме и патологии.

Как будет показано ниже, есть серьезные основания утверждать, что явление интеграции метаболизма человека и его микробиоты имеет важное физиологическое значение. Еще более важно, что эти взаимодействия радикально меняются при неблагоприятных условиях, достигая максимальных нарушений при критических состояниях, вплоть до развития необратимых поломок гомеостаза и гибели организма хозяина.

Представления о непосредственном вмешательстве продуктов микробного метаболизма в патогенетические механизмы наиболее убедительно воспринимаются на примере тяжелых больных с хирургическим сепсисом. Наличие обширных гнойных очагов (перитонит, абсцессы внутренних органов, инфицированные ожоги, скальпированные гнойные раны и т. д.) тесно ассоциируются с понятием бактериальной интоксикации, но эти представления традиционно связывают либо с микробными токсинами неизвестного строения, либо с липополисахаридом (LPS или так называемым эндотоксином) грамотрицательных бактерий, а также с продуктами воспаления и деградации собственных тканей больного (например, средние молекулы). Соответственно, положительный эффект хирургической санации и адекватной антибактериальной терапии традиционно связывают с уменьшением микробной нагрузки, подразумевая уменьшение количества микробных клеток или снижение эндотоксемии [3, 4]. Забегая вперед, следует отметить, что с позиций теории интеграции метаболизма эффект адекватной антибиотикотерапии прежде всего связан со снижением продукции низкомолекулярных метаболитов микробными клетками и, соответственно, с устранением «нежелательных» микробных метаболитов из участия в обменных процессах у критически больного человека.

Данная публикация обращает особое внимание специалистов в области реаниматологии на участие микробных метаболитов в патогенезе и исходе критических состояний. Важно подчеркнуть, что принципиальное значение имеет сам факт критического состояния независимо от контингента больных. Рассмотрим это на примере двух групп.

Как сказано выше, у тяжелых хирургических больных с клинической картиной манифестации сепсиса, например, при абдоминальном сепсисе, раневой, ожоговой болезни и др., явление интеграции человеческого и микробного метаболизма более очевидно. Благодаря колоссальным усилиям специалистов в области интенсивной терапии, включая методы экстракорпоральной детоксикации, у ряда больных удается «обуздать» запущенные механизмы танатогенеза, однако в условиях недостатка знаний о пользе или, напротив, токсичности тех или иных микробных метаболитов, на практике процесс дезинтоксикации осуществляется без объективного мониторинга за уровнем «токсинов», поэтому эффект лечения часто непредсказуем.

У больных в отделениях реанимации так называемого «нехирургического профиля» явление интеграции человеческого и микробного метаболизма также весьма актуально. У так называемых «неинфицированных» реанимационных больных, например, в случае внутричерепных кровоизлияний травматического или ишемического генеза, при кардиогенном шоке, гипоксических состояниях, требующих искусственной вентиляции легких, постреанимационных состояниях и др. микробный метаболизм также извращен, то есть «работает» против организма больного. Другими словами, во всех этих случаях метаболическая интеграция приобретает патологическую направленность: измененные промежуточные и конечные продукты микробного метаболизма, вступая во взаимодействие с клетками больного организма, больше не выполняют физиологических функций, а напротив, лишь усугубляют метаболические нарушения и дисфункцию органов, неизбежно развивающихся при критическом состоянии любого происхождения. Однако при изучении механизмов вторичных органных повреждений, например, при черепно-мозговой травме, роль продуктов микробного происхождения, как правило, остается вне поля зрения [5].

Тяжелая травма, обширная операция, кровопотеря, массивное повреждение тканей любого генеза (ожоги, сдавление и др.) сопровождаются гипоксией, дефицитом энергетических и пластических материалов (белков, аминокислот, жирных кислот и др.), что отражает нарушения метаболических процессов макроорганизма, но не может не влиять на метаболизм его микробиоты. Даже при отсутствии очагов инфекции и/или бактериемии микробиота активно борется за выживание в естественных биоценозах, прежде всего — в кишечнике, но в патологических условиях деятельность этого «метаболического реактора» в организме тяжелого больного направлена на выживаемость микробиоты — за счет хозяина. При первичном гнойно-воспалительном

заболевании, напротив, «агрессия» со стороны микробноты выходит на первый план. Таким образом, вопрос о причинно-следственных связях сложен, и как в любом конфликте, обычно можно лишь выделить первичный пусковой фактор, а в дальнейшем процесс дезинтеграции метаболизма принимает каскадный характер.

Цель данной публикации — обосновать существование явления интеграции метаболизма человека и его микробиоты на основе обобщения результатов исследований, показать участие микробных метаболитов в развитии жизнеугрожающих состояний.

Общие представления об интеграции метаболизма двух систем

Сегодня в практической медицине крайне мало известно о роли общих с бактериями метаболитов, о возможности стимуляции или ингибирования экспрессии специфических генов, регулирующих активность ферментов, о взаимопоставках ростовых факторов, например, по аналогии с симбиотическими взаимоотношениями бактерий с растениями [6]. Чрезвычайно актуальным представляется изучение и использование способности бактерий влиять на энергетический обмен в тканях человека. Результаты наших исследований позволяют утверждать, что ряд продуктов микробного метаболизма, а именно — фенольные кислоты, в избыточном количестве поступающие в кровь тяжелых больных, могут блокировать дыхательные цепи митохондрий, нарушая функции органов и тканей, то есть непосредственно участвовать в генезе полиорганной недостаточности [7].

Разрозненные теоретические и экспериментальные исследования в этой области ведутся давно, однако пока явление метаболической интеграции человека и его микробиома не стало предметом пристального изучения, особенно в реаниматологии.

Под интеграцией (лат. *integratio* — восстановление, восполнение, от *integer* — целый), следует понимать процесс взаимопроникновения и взаимовлияния продуктов метаболизма человека и его микробиоты. Этот процесс обеспечивает состояние симбиоза в норме, но приводит к тяжелым и даже необратимым последствиям при сбоях и нарушениях в функционировании его механизмов. Наиболее ярко катастрофические последствия разрушения физиологической интеграции метаболизма человека и его микрофлоры проявляются при сепсисе.

Данные литературы свидетельствуют о растущей актуальности проблемы сепсиса [8, 9]. Так, в последнее десятилетие в развитых странах Европы, США и др. среди всех причин летальных исходов в ОРИТ первое место принадлежит сепсису с полиорганной недостаточностью, а среди причин смертности сепсис уже опережает по численности такие «проблемные» нозологии, как рак легких, карцинома кишечника, инфаркт миокарда и др. [10]. Одной из объективных причин создавшейся ситуации можно с уверенностью назвать низкий уровень наших знаний о метаболизме бактерий, населя-

ющих организм человека. Подавляющее большинство исследований ключевых молекул воспалительного каскада направлены преимущественно в область взаимодействия белков и пептидных молекул, в то время как более древние механизмы, связанные с природными низкомолекулярными соединениями (или малыми молекулами — *small molecules*), чаще остаются вне поля зрения ученых. В литературе появляются работы об эффектах применения при абдоминальном сепсисе некоторых низкомолекулярных соединений ароматического строения, например, производного люминола — аминоксидогидрофалазиндиона натрия, но в них речь идет не о природных, а о синтетических препаратах [11].

Обращает на себя внимание сходство химического строения ряда ароматических микробных метаболитов (АММ) с катехоламинами, что не может пройти незамеченным и служит основанием для появления гипотез, связанных с критическими состояниями. В частности, нами было выдвинуто предположение, что причиной неэффективности лечения септического шока адреналином может быть конкурентное использование гормона бактериями в качестве субстрата. Однако в условиях эксперимента данное предположение было опровергнуто — уровень адреналина, добавленного в питательную среду, не снижался в процессе культивирования бактерий. В то же время в присутствии адреналина по сравнению с контролем нарастали уровни метаболитов, что указывало на активацию метаболизма бактерий этим катехоламином (неопубликованные данные).

Исследования в области взаимодействия макро- и микросистем на гормональном уровне наиболее полно обобщены в монографии «Microbial endocrinology» [12]. Установлено, что катехоламины действительно стимулируют рост стафилококков, псевдомонад и многих других бактерий, в том числе — поврежденных антибиотиками. Как следует из опубликованных материалов, экспериментальные исследования в области микробной эндокринологии направлены преимущественно на изучение влияния гормонов человека (норадреналина, дофамина) и нейротрансмиттеров (серотонина) на процессы взаимодействия микробов со слизистой кишечника, полости рта (при заболеваниях пародонта), зависимость от характера питания (диет) и проч. К сожалению, в литературе не удалось найти работ, изучающих обратную связь, а именно — влияние микробных метаболитов на регуляцию гормонального статуса больного человека, что, несомненно, было бы востребовано в реаниматологии.

Связь микробиоты с эндокринологическими заболеваниями показана на нескольких экспериментальных моделях сахарного диабета. Так, у мышей с диет-индуцированным ожирением метаболическая эндотоксемия (повышение липополисахарида грамотрицательных бактерий LPS в крови) служила пусковым фактором гипертрофии, способствовала развитию резистентности к инсулину и диабету. Путем ингибирования кишечной микробиоты антибиотиками удавалось снизить уровень LPS в крови, минимизировать воспалительный

ответ, выраженность ожирения и диабета 2-го типа [13]. Такого же положительного эффекта удалось добиться путем селективного повышения уровня бифидобактерий в кишечнике экспериментальных животных с диабетом, индуцированным диетой с высоким содержанием жиров [14].

О прямом вмешательстве микробных метаболитов в метаболизм клеток человека и о существовании общих сигнальных путей через транспортеры нутриентов свидетельствуют результаты одного из экспериментальных исследований, представленных на международном симпозиуме «Микробиота кишечника – друг или враг?» (июнь 2012 г.): уже после 4-х часов инкубации супернатанта разных видов кишечных бактерий с эпителиальными клетками достоверно изменялась экспрессия транспортеров глюкозы GLUT2 и SGLT1, а также транспортера жирных кислот GPR120 [15].

Микробиом человека в норме и при критических состояниях

В рамках национальных и мировых проектов по изучению микробиома человека установлены следующие факты [16, 17]: бактерии населяют все открытые эпителиальные поверхности, но основное их сообщество локализуется в кишечнике, общее число бактерий в микробиоме в 10–100 раз превышает число клеток самого человека, а количество генов микробиоты кишечника в 150 раз превосходит число генов человека. В организме здорового человека представлены около 1000 видов микробов, 70% из которых не поддается микробиологическому культивированию, то есть не могут быть выделены в чистой культуре и изучены. Парадокс состоит в том, что с углублением наших знаний о микробиоме усугубляется впечатление необъятности и непознаваемости

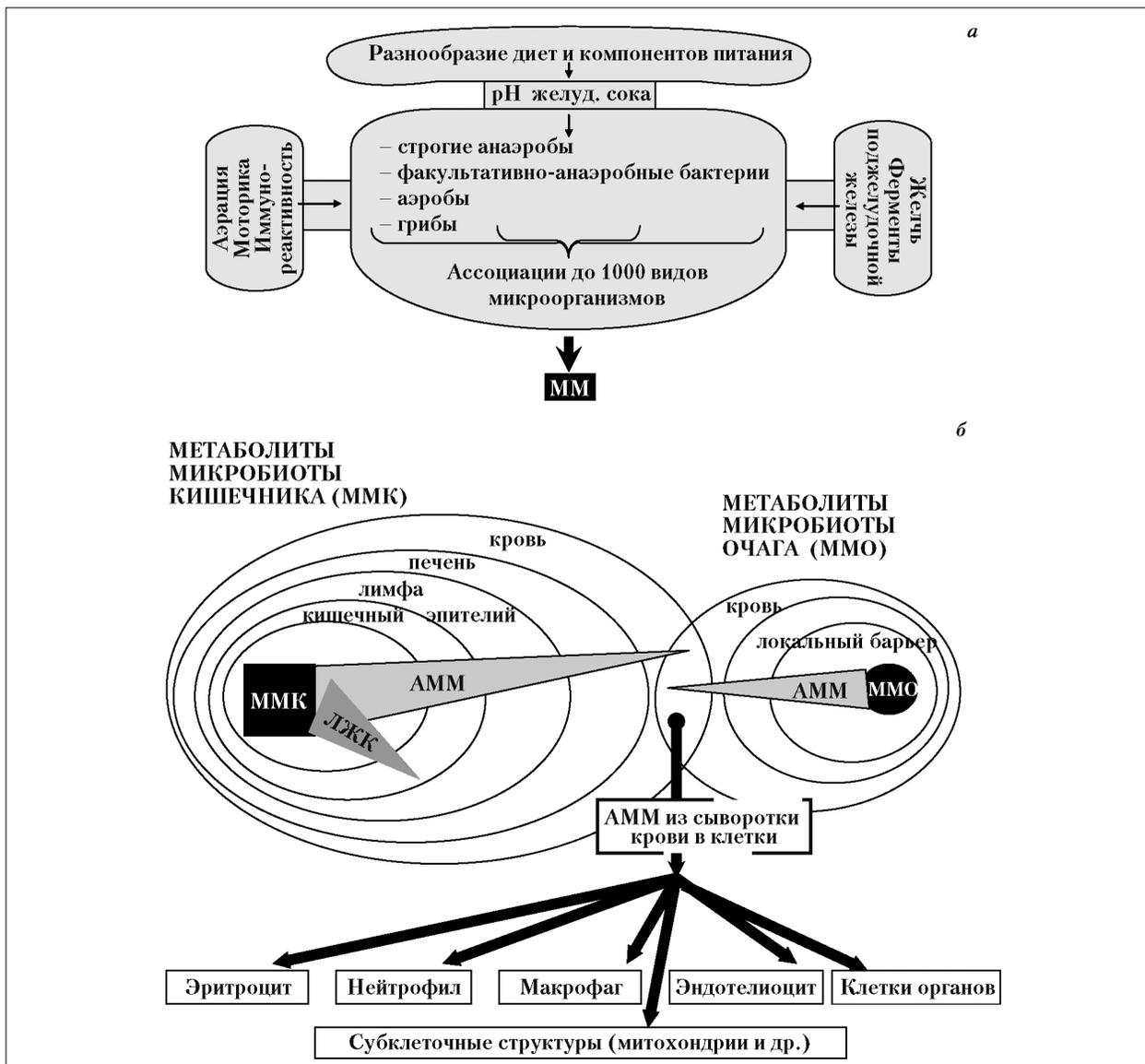


Рис. 1. Модель изучения метаболизма микробиоты в организме человека. *a* – микробные метаболиты (ММ) – интегральный показатель многофакторного процесса в «метаболическом реакторе» кишечника; *б* – пути поступления АММ в кровь и клетки человека. Здесь и на рис. 2, 3: АММ – ароматические микробные метаболиты; ЛЖК – летучие жирные кислоты.

«микро-вселенной», живущей внутри нас (рис. 1 а). По-рой планирование клинических исследований в этой области отпугивает сложностью и громоздкостью, что на практике не способствует новым решениям.

В 2004 г. Deitch E. et al . применили следующий прием: на экспериментальной модели посттравматического шока — в условиях суперроста энтеробактерий в кишечнике оттекающую от кишечника лимфу, содержащую неизвестные растворимые компоненты, вводили интактным животным, что приводило к развитию сепсиса кишечного происхождения и дистантного повреждения органов [18]. Однако химическое строение этих сепсис-индуцирующих компонентов микробного происхождения не было установлено.

В нашей клинической работе мы применили другую модель: исследуя вклад микробного метаболизма, осуществляли детекцию низкомолекулярных метаболитов микробиома непосредственно в крови, условно «заперев в черный ящик» разнообразие и особенности видового состава в каждом конкретном случае (рис. 1 а, б). Известно, что организм млекопитающего может быть стерильным и существовать годами в стерильных условиях гнотобиологического изолятора, обеспечивая свои метаболические циклы автономно, без участия бактерий. Однако стерильные гнотобиологические животные значительно менее устойчивы к стрессу, хуже переносят воздействие неблагоприятных факторов, иммунологически несостоятельны и др. При микробной колонизации безмикробных животных существенно возрастает усвоение энергии из пищи и ее депонирование в адипоцитах, причем установлено, что это происходит не только из-за микробной ферментации пищевых компонентов, но также благодаря генерации метаболитов, вовлеченных в энергетический баланс, и регуляции экспрессии генов организма хозяина. Так, микробная колонизация стерильных мышей повышала экспрессию генов ключевых печеночных ферментов печени, вовлеченных в цикл биосинтеза жиров (ацетил-КоА карбоксилаза и синтаза жирных кислот) [19]. Микробиота кишечника модулировала также экспрессию генов ангиогенеза: так, у взрослых безмикробных животных (при полностью сформированной капиллярной сети кишечника) после колонизации бактериями процесс ангиогенеза претерпевал «рестарт», резко активировался и завершался только спустя 10 дней [20].

Однако полезность сосуществования здорового организма человека с бактериями (симбиоз) вовсе не означает, что микробиота продолжает выполнять свои «благородные функции» даже тогда, когда организм хозяина оказывается в экстремальных условиях (кровопотеря, гипоксия, гипо- или гипертермия, голод, гиповолемия, отравление, облучение и т. д.), то есть в условиях резкого изменения среды обитания населяющих его микроорганизмов. Существуют общебиологические закономерности возникновения и разрушения симбиозов, изученные и сформулированные в фундаментальных трудах ученых [21, 22].

При критических состояниях любого генеза неизбежно разрушаются сложные многовидовые ассоциации

микроорганизмов, обеспечивающие полный метаболический цикл ингредиентов. Из-за неблагоприятных условий прежде всего разрушаются микробные биопленки симбионтов, многие виды (например, бифидо-, лактобактерии) прекращают свою жизнедеятельность или исчезают совсем (дисбиоз), а другие, например, энтеробактерии, стафилококки — вместо естественных биотопов формируют биопленки в верхних отделах пищеварительного тракта (феномен бактериального суперроста в тонкой кишке), что проявляется несостоятельностью кишечного барьера и интоксикацией. Покинув биопленки, выжившие бактерии в планктонной форме циркулируют в крови «в поиске» более благоприятных условий, что регистрируется как «бактерионосительство». Устойчивые к неблагоприятным факторам (в том числе — к антибиотикам) бактерии «оседают» на микротромбах, в экссудате, поврежденном эпителии/эндотелии, формируя гнойно-воспалительные очаги во внутренней среде организма человека («септикопиемия»).

В наших работах доказано упрощение видового состава микробного сообщества у реанимационных больных [23], что позднее подтверждено исследованиями зарубежных авторов [24]. Очевидно, что разрушение симбиозов неизбежно сопровождается микробной трансформацией метаболизма, то есть неполным превращением органических соединений ферментами микроорганизмов, что проявляется накоплением в среде (то есть в организме больного!) продуктов этого превращения и отражается изменениями клинико-лабораторных показателей.

Среди промежуточных и конечных продуктов метаболизма человека вряд ли можно назвать вещества, отсутствующие в обмене веществ бактерий, или соединения, недоступные для дальнейшей микробной биодеградации. А вот среди метаболитов бактерий, входящих в состав микробиома человека, довольно велик перечень низкомолекулярных соединений (SMOM), которые не продуцируются эукариотическими клетками, более того — не подвергаются дальнейшим превращениям из-за отсутствия у человека необходимых ферментов. Присутствие в крови человека таких SMOM документировано [25, 26], однако в доступных базах данных о метаболизме человека и информационных сайтах отсутствуют сведения об их биологической роли [27]. Наиболее обширна среди SMOM группа ароматических соединений, индол-производных и фенольных кислот, которым ниже будет посвящен отдельный раздел.

Сопоставляя научные факты о механизмах регуляции в живой природе, удается обнаружить волнующие совпадения, например, о том, что АММ фенилуксусная и индолуксусная кислоты, обнаруженные нами в крови людей, относятся к ауксином — фитогормонам, которые в низких концентрациях 10^{-5} – 10^{-6} передают сигналы и координируют процессы роста в жизненном цикле растений [6].

Метаболиты микробиома человека

Сведения о метаболитах бактерий, входящих в состав микробиома человека, в литературе крайне скудны.

Согласно традиционным представлениям, это небелковые низкомолекулярные органические соединения, непригодные для дальнейшего биосинтеза, и поэтому бесполезные для человека. Принято считать, что в процессе брожения «полезные бактерии», такие как бифидо- и лактобактерии, продуцируют «безвредные» вещества, в частности, молочную к-ту (лактат). Другие условно-патогенные бактерии могут в процессе гниения выделять токсичные ароматические соединения, которые детоксицируются в печени (фенол — в крезол, индол — в скатол) и выводятся почками.

Нами проведена серия экспериментальных исследований с целью изучения экзометаболитов, которые продуцируются бактериями микробиома человека при культивировании *in vitro*. В исследование были включены основные представители микрофлоры человека:

А) облигатные анаэробные бактерии, составляющие основу эндогенной микрофлоры здорового человека, формирующие колонизационную резистентность (бифидобактерии, лактобактерии, эубактерии, бактероиды);

Б) аэробные и факультативно анаэробные бактерии, которые могут выступать в роли возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний и сепсиса (стафилококки, энтеробактерии, неферментирующие грамотрицательные бактерии).

При культивировании микроорганизмов применялись стандартные многокомпонентные питательные среды (среда Шедлера, триптон-соевый бульон HIMEDIA), содержащие все необходимые компоненты для роста и размножения бактерий, т.е. создавая условия, имитирующие внутреннюю среду организма человека. Детекция экзометаболитов осуществлялась с применением газового хромато-масс-спектрометрического анализа.

На рис. 2 а, б отражена способность изученных нами бактерий продуцировать или утилизировать ароматические метаболиты на примере шести фенилкарбоновых кислот (ФКК). Исходное содержание каждой ФКК в среде культивирования условно принято за 1. Высота столбцов отражает кратность повышения (или снижения) уровня ФКК через 24 часа культивирования данного вида бактерий по отношению к исходному.

Интерпретация полученных *in vitro* результатов интересна в сопоставлении с данными, полученными в клинике.

В процессе изучения явления интеграции метаболизма нами исследованы различные биологические среды здоровых и больных людей (кровь, моча, ликвор, экссудаты, клетки крови и др.), идентифицированы и измерены десятки низкомолекулярных соединений [1, 28–30] — промежуточных и конечных метаболитов, относящихся к разным химическим группам. Некоторые из них, такие как летучие жирные кислоты (ЛЖК, в зарубежной литературе SCFA — *small chain fatty acids*) имеют исключительно микробное происхождение, так как являются продуктами анаэробных бактерий и не образуются в эукариотических клетках. Другие, например, карбоновые кислоты, участвующие в цикле Кребса, характерны и для макроорганизма, и для бактерий.

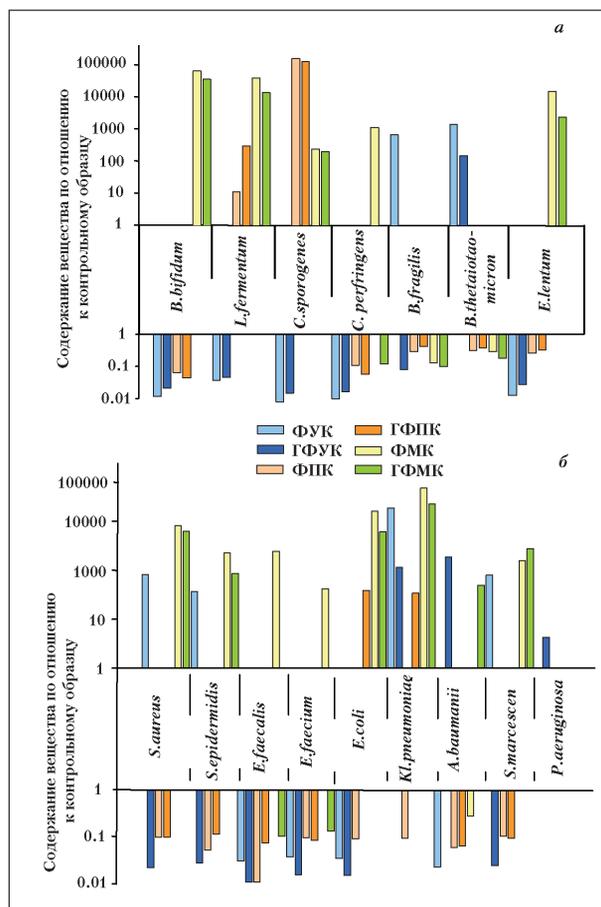


Рис. 2. Продукция и потребление АММ при культивировании чистых культур бактерий – основных представителей микрофлоры человека.

а – строгих анаэробов в анаэробных условиях; б – аэробов и факультативных анаэробов – в аэробных условиях.

Здесь и на рис. 3–5: ФУК – фенилуксусная кислота; ГФУК – п-гидроксифенилуксусная кислота; ФПК – фенилпропионовая кислота; ГФПК – п-гидроксифенилпропионовая кислота; ФМК – фенилмолочная кислота; ГФМК – п-гидроксифенилмолочная кислота.

Оценка степени участия того или иного метаболита в интеграции основана на полученных нами данных о степени изменчивости уровня данного метаболита у «критических больных» по сравнению со здоровыми. И перечень метаболитов, и эта оценка может, безусловно, меняться по мере накопления новых данных.

Среди множества изученных метаболитов наиболее интересные данные получены, как будет показано ниже, в отношении некоторых ФКК, именно поэтому их степень участия отмечена «+++». На рис. 3 приведены данные об уровне ряда ФКК в нг/мл в сыворотке крови у разных групп больных. В образовании ФКК в ходе катаболизма ароматических аминокислот задействованы несколько биохимических путей, включая эндогенные (основной и альтернативный) и микробные пути (аэробный и анаэробный), но у реанимационных больных высокие уровни ФКК в крови имеют микробное происхождение [26].

Возвращаясь к обсуждению результатов, представленных на рис. 2, следует отметить, что они получены *in vitro* при культивировании изолированных чистых

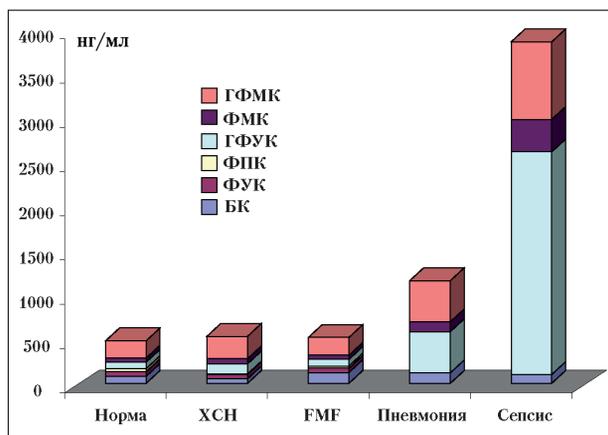


Рис. 3. Уровни ароматических микробных метаболитов (АММ) в сыворотке крови здоровых и больных людей (метод ГХ-МС).

Здесь и на рис. 4: БК — бензойная кислота; XCH — хроническая сердечная недостаточность; FMF — средиземноморская лихорадка.

культур бактерий, чего в природе практически не встречается, тем не менее выявлены некоторые интересные факты, которые обращают на себя внимание и будут прокомментированы ниже.

1) Как показано на рис. 2, метаболит п-ГФУК, токсичный для человека, утилизируется из питательной среды практически всеми анаэробными бактериями, а также аэробами (и стафилококками, и энтеробактериями), из

чего следует заключить, что в ассоциации эти бактерии могут «обезопасить» ситуацию в случае избыточной продукции ГФУК в кишечнике (например, при колонизации *Pseudomonas aeruginosa*). Однако при поступлении ГФУК напрямую из очага инфекции в крови могут создаваться высокие концентрации, что действительно наблюдается, как будет показано ниже, в группе септических больных.

2) Показано, что максимально высокие количества ФУК (в 1000 раз превышающих фон), *in vitro* продуцируют анаэробные грамотрицательные бактерии семейства бактероидов, но почти все остальные аэробы и анаэробы утилизируют ФУК, каждый из которых в 10–100 раз снижает исходный уровень этого метаболита в питательной среде, поддерживая физиологическое равновесие. Теоретически в случае активного размножения анаэробов (бактероидов) за пределами кишечника в крови могут создаваться опасно высокие уровни ФУК, что действительно описано в литературе, например, при анаэробных инфекциях мягких тканей [31].

3) Нами обнаружена продукция больших количеств ФМК и ГФМК молочнокислыми бактериями. Неоднозначность этого факта связана с тем, что с одной стороны, бифидо- и лактобактерии традиционно относятся к полезной микрофлоре, а с другой — метаболиты ФМК и ГФМК достоверно повышены в крови септических больных и их уровень коррелирует с летальностью [32–34]. В ходе дальнейших исследований обнаружено, что ФМК и ГФМК подавляют активность нейтрофилов, что может иметь важное физиологическое значение, в частности, — предотвращение гипервоспаления в условиях постоянного контакта кишечной слизистой с микроорганизмами [35]. У здоровых людей такое участие в регуляции воспаления представляется целесообразным, однако при инфекционной патологии эффект угнетения фагоцитоза крайне нежелателен. Симбиотические механизмы так устроены, что практически при любых заболеваниях уровень молочнокислых бактерий в кишечнике снижается, а значит и снижается вероятность снижения фагоцитоза под действием их метаболитов. В то же время избыточное поступление ФМК и ГФМК в кровоток может развиваться вследствие продукции этих метаболитов стафилококками или энтеробактериями, и это может негативно отразиться на функции нейтрофилов и качестве воспалительного ответа в целом.

С этих позиций применение препаратов живых биокультур (пробиотиков) в реаниматологии представляется вовсе небезобидным и даже опасным. Так, в рандомизированном, двойном слепом, плацебо-контролируемом независимом исследовании у больных с тяжелым острым панкреатитом ($n=298$) [36] одна группа ($n=153$) с целью профилактики гнойных осложне-

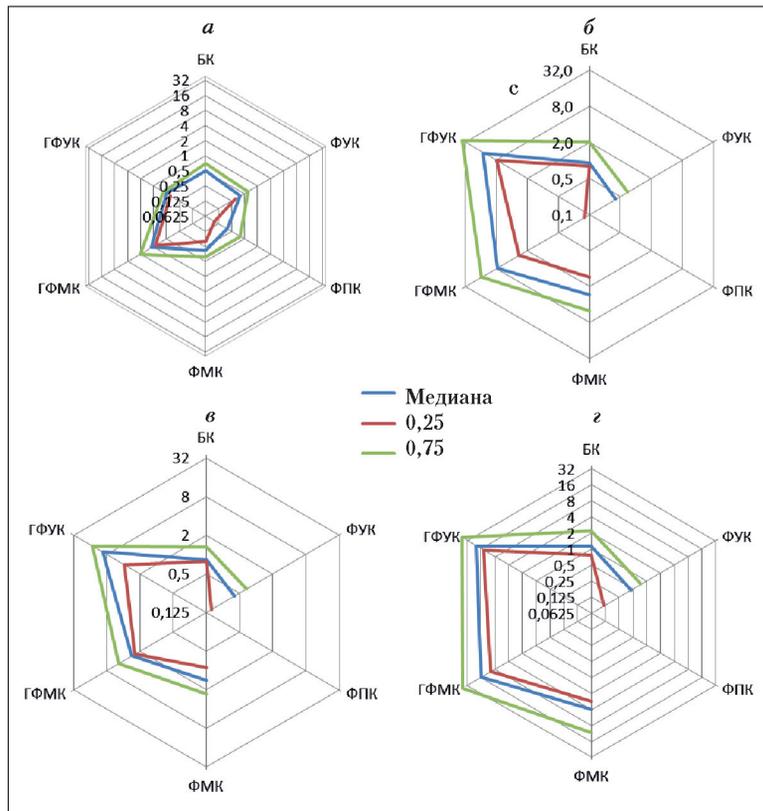


Рис. 4. Сравнение метаболических профилей ароматических микробных метаболитов в сыворотке крови.

а — здоровых; б — больных сепсисом; в — выживших; д — умерших.

Изученные группы природных низкомолекулярных соединений и конкретные метаболиты, потенциально участвующие в процессе интеграции

Группа	Метаболит	Оценка потенциального участия в интеграции
Летучие жирные кислоты — ЛЖК	уксусная (ацетат)	++
	пропионовая (пропионат)	++
	масляная(бутират)	+++
	изомасляная	+
	валериановая	+
	изовалериановая	+
	капроновая	+
	изокапроновая	+
Производные фенола/бензола	п-крезол	—
	бензиловый спирт	—
	бензойная к-та, БК	+++
	2,4-дигидроксибензойная к-та	+
	3,4-дигидроксибензойная к-та	+
	п-гидроксибензойная к-та, ГБК	++
Карбоновые к-ты	молочная (лактат)	+++
	яблочная	+
	фумаровая(фумарат)	+
	янтарная	+
	2-кетоглутаровая	+
	2-гидроксиглутаровая,	+
	2-гидроксимасляная	++
	фенилуксусная к-та, ФУК	+++
Фенилкарбоновые к-ты (ФКК)	о-гидроксифенилуксусная	—
	2-гидроксифенилуксусная	—
	п-гидроксифенилуксусная, ГФУК	+++
	Фенилпропионовая, ФПК	+++
	п-гидроксифенилпропионовая, ГФПК	+
	циннамовая, ЦК	+++
	п-гидроксифенилциннамовая	+
	фенилмолочная, ФМК	+++
	п-гидроксифенилмолочная, ГФМК	+++
	фенилпировиноградная,	+
	п-гидроксифенилпировиноградная	—
Индольные к-ты	1-индолуксусная к-та,	—
	3-индолуксусная к-та, ИУК	++

ний получала биопрепарат, содержащий 4 вида лактобактерий (*L.acidophilus*, *L.casei*, *L.salivarius*, *L.lactis*), и 2 вида бифидобактерий (*B.bifidum*, *B.lactis*) в дозе 1010 ежедневно, а контрольная группа ($n=145$) получала плацебо. Результаты огорчили исследователей — в группе больных, получавших пробиотики, зарегистрировано более тяжелое течение заболевания, чаще развивался панкреонекроз, присоединялась бактериемия и другие инфекционные осложнения, достоверно чаще отмечалось развитие ПОН, был достоверно выше уровень летальных исходов ($p=0,01$). Авторы исследования не смогли дать убедительных объяснений, но высказали мнение о сомнительности показаний для применения пробиотиков у «критических больных». По нашему мнению, применение живых микробных культур молочно-кислых бактерий могло еще более усугубить метаболические нарушения и привести к неблагоприятным последствиям у исходно тяжелых пациентов, в частности, за счет избыточной продукции ФМК и ГФМК, характерных метаболитов бифидо- и лактобактерий (см. рис. 2 а и рис. 4).

Летучие жирные кислоты (ЛЖК)

Уже более двух десятков лет известны факты о способности низкомолекулярных метаболитов анаэробных

бактерий кишечника — летучих жирных кислот (ЛЖК) — подавлять активность иммунокомпетентных клеток человека [29], однако до настоящего времени эти факты не нашли должного применения не только на практике, но и в научных лабораториях, например, при изучении механизмов запуска иммунопаралича у «критических больных», где исследования по-прежнему концентрируются на изучении регулирующих свойств белков и интерлейкинов.

Метаболическую интеграцию в здоровом организме можно назвать физиологической, соответственно, у больных — патологической. Рассмотрим интеграцию метаболизма человека и индигенных анаэробов на примере летучих жирных кислот (ЛЖК) (таблица), к которым относятся пропионовая (пропионат), масляная (бутират), валериановая, капроновая и некоторые другие, причем все они специфичны для строгих анаэробов в качестве конечных продуктов метаболизма и не образуются клетками человека. Факт обнаружения ЛЖК в биологических средах и тканях используют для диагностики анаэробных инфекций.

Природная (физиологическая) целесообразность накопления ЛЖК в просвете толстой кишки состоит, по видимому, в подавлении активности иммунокомпетентных клеток. То есть метаболиты анаэробных бактерий

препятствуют реализации воспаления в пищеварительном тракте в условиях высокого уровня микробной обсемененности. Доказано также, что ЛЖК стимулируют пролиферацию эпителиальных клеток и их дифференцировку, улучшают микроциркуляцию, перистальтику и абсорбцию в кишечнике, регулируют адгезию и хемотаксис нейтрофилов. Особая роль отводится противовоспалительным эффектам бутирата, у которого описана способность ингибировать активность NF- κ B и снижать активность провоспалительных цитокинов, а для пропионата и ацетата характерен другой механизм — повышение экспрессии противовоспалительного цитокина IL-10 [37].

У больных с SIRS параллельно с угнетением анаэробной микрофлоры резко снижается содержание в кишечнике ЛЖК, особенно пропионовой и масляной [24], что не может не отразиться на функции кишечного эпителия и состоянии проницаемости кишечного барьера в целом у реанимационных больных.

В норме ЛЖК не поступают в системный кровоток, утилизация этих кислот происходит там же, в кишечнике, они служат субстратом для кишечного эпителия, обеспечивая надежность кишечного барьера. В то же время можно привести пример патологической интеграции с участием тех же ЛЖК: при несанированных абсцессах внутренних органов, абдоминальном, гинекологическом сепсисе и др. метаболиты анаэробов поступают из очагов непосредственно во внутреннюю среду человека, подавляя иммунореактивность, способствуя развитию иммунопаралича и неблагоприятному исходу.

Карбоновые кислоты

Ряд промежуточных продуктов метаболизма, например — карбоновые кислоты, являются ключевыми для метаболических циклов как в клетках человека, так и его бактерий, например, лактат, пируват, фумарат, сукцинат и др. Являются ли они общими метаболитами — вопрос спорный, что можно продемонстрировать на примере лактата. Известно, что L-изомер молочной кислоты (L-лактат) метаболизируется в клетках человека L-лактат дегидрогеназой (L-ЛДГ). Основные биохимические учебники утверждают, что микроорганизмы в процессе жизнедеятельности образуют исключительно D-лактат, а люди не обладают D-лактат-дегидрогеназой (D-ЛДГ). Ранее в литературе доминировали представления, согласно которым клетки человека усваивают только L-лактат. Однако в последующем экспериментально было показано, что здоровый человек может весьма эффективно усваивать D-молочную кислоту, причем как при пероральном, так и при внутривенном введении. Осуществляется этот процесс с участием D-2-гидроксикислотой (hydroxyacid) дегидрогеназы (D-2-НДН) 31 [38]. Фермент D-2-НДН является митохондриальным флавопротеидом с высокой активностью в почках и печени. У здорового человека избыточная нагрузка D-лактатом не приводит к развитию D-лактат ацидоза, так как D-лактат подвергается окислению с участием бактериальных процессов фер-

ментации. При нарушении микробного метаболизма развитие D-лактат ацидоза весьма вероятно, причем не только у больных с синдромом короткого кишечника, чему посвящено уже немало публикаций [39, 40]. Обследуя пациентов в состоянии метаболического ацидоза различного генеза, в том числе — на фоне лактат-ацидоза (с уровнем лактата $> 5 \text{ mmol/l}$), были получены высокие концентрации D-лактата с достоверным превышением уровня в контроле, тогда как повышение L-лактата было недостоверным [41].

Пересмотр представлений о роли пространственной изомерии молекул позволяет под другим углом зрения рассматривать причины гиперлактатемии у «критических больных», так как во многих ситуациях гиперлактатемия и лактатацидоз могут быть микробного происхождения, отражая избыточную микробную нагрузку и неадекватную антимикробную терапию. Также не исключена возможность конкуренции за лактат между макро- и микросистемами при дефиците последнего, что в равной степени относится и к другим «общим» метаболитам. Отмечены выраженные видовые различия метаболической активности. Среди изученных микроорганизмов наиболее выраженную способность к продукции молочной к-ты проявили бифидо- и лактобактерии, янтарной и фумаровой — бактероиды [32]

Среди экзометаболитов бактерий — такие известные участники цикла трикарбоновых кислот, как молочная, янтарная, фумаровая, яблочная к-ты и др. Вовлекаются ли эти кислоты микробного происхождения в метаболические превращения в организме человека? Ответа на этот вопрос в литературе нет. Принято считать, что в ассоциациях, из которых состоит микробное сообщество человека, конечные продукты жизнедеятельности одного вида бактерий являются промежуточными для других, то есть априори на выходе работы этого «метаболического реактора» мы должны получить «0». Хотелось заметить, что такая точка зрения весьма сомнительна, особенно для «критического больного» с выраженными метаболическими нарушениями.

В экспериментальном исследовании Г. А. Ливанова с соавт. (2006) продемонстрировано, что экзогенное введение янтарной кислоты может оказывать разный эффект в зависимости от степени угнетения тканевого дыхания, в том числе — приводить к метаболической десинхронизации, тяжелому повреждению тканей головного мозга и летальному исходу, когда организм животного находится в состоянии выраженной интоксикации и янтарная кислота не может быть включена в энергетические процессы [42].

Процесс цитопатической гипоксии, характерный для сепсиса, проявляется в гипоксии тканей даже при достаточном содержании кислорода в крови. Нарушения метаболических процессов в тканях проявляются полиорганной недостаточностью (ПОН), что характерно для сепсиса [43]. На начальных этапах ПОН при сепсисе носит обратимый характер, так как связана именно с метаболическими нарушениями на уровне митохондрий и не сопровождается деструкцией и некрозом кле-

ток, ее иногда образно называют гибернацией. В наших исследованиях показано, что снижение количества метаболитов цикла трикарбоновых кислот в крови септических больных происходило или параллельно с ростом уровня ФКК, то есть находится в обратной зависимости от метаболической активности микробиома [44].

В здоровом организме микробиота вовлекается в метаболизм человека и может способствовать прибавке массы тела. Это положение наиболее ярко демонстрируется в экспериментах с применением безмикробных животных (гнотобионтов) и животных, колонизированных микрофлорой дистального отдела кишечника. Показано, что за период 10–14 дней прибавка в весе у колонизированных животных была на 60% больше, чем у безмикробных, то есть микробная колонизация способствовала повышению способности организма хозяина извлечь энергию из пищи и аккумулировать ее в адипоцитах, что возможно лишь путем продукции метаболитов, влияющих на энергетический баланс и регулирующих экспрессию генов в организме хозяина [19].

Механизмы интеграции, обеспечивающие прибавку массы тела с участием метаболитов бактерий, могут играть определенную положительную роль, например, для новорожденных детей с установившейся бифидо- и лактофлорой. Напротив, избыточная прибавка в весе на фоне обычного рациона у людей с нарушениями обмена веществ может расцениваться как сомнительный результат «метаболического сотрудничества» с микрофлорой, что проявляется клиникой «метаболического синдрома». И в том, и в другом случае можно говорить об «анаболическом эффекте» метаболической интеграции.

При критических состояниях любого генеза, напротив, имеет место потеря веса, энергетический дефицит, выражены процессы катаболизма. Создаются реальные условия для противостояния макро- и микросистем, конкуренции за субстрат. Важно отметить, что сегодня этот факт не учитывается ни в одной из формул теоретического расчета потребности «критического больного» в основных ингредиентах. Не удивительно, что применение таких расчетов на практике при критических состояниях нередко дает серьезные погрешности, и поэтому даже на фоне коррекции питания усугубление нарушений гомеостаза и прогрессирование катаболизма могут приобретать необратимый характер.

Ароматические микробные метаболиты (АММ)

Особого внимания заслуживает группа микробных экзометаболитов, имеющих ароматическое строение, — это продукты метаболизма ароматических аминокислот тирозина, фенилаланина и триптофана. Анализ состава около 50 ароматических соединений в кишечнике здорового человека показал, что в количественном отношении преобладают такие метаболиты, как ФУК (400–1100 мкМ) > ГФУК (60–400 мкМ) > 3,4 диГЦК (50–200 мкМ) > ФПК (200–600 мкМ) > БК (23–25 мкМ) [45]. Нами обнаружено, что в сыворотке

крови здоровых людей присутствует большинство этих АММ, но в другом соотношении: ГФМК (1,1 мкМ) > БК (0,7 мкМ) > ГФУК (0,5 мкМ) > ФУК (0,4 мкМ) > ФМК (0,3 мкМ) > ФПК (0,2 мкМ) [34]. Изменение соотношения АММ в крови мы связываем с их избирательной утилизацией клетками тканевых барьеров (кишечная стенка, лимфоидная ткань, печень, эндотелий сосудов и др.) (рис.16), что будет показано в дальнейших исследованиях.

Факт постоянного присутствия АММ в крови здоровых людей, а также существование специальных белков-транспортеров для их переноса внутрь клеток млекопитающих (например, монокарбоксилатный транспортер Mct-1) указывает на их потенциальное участие в процессах внутриклеточной регуляции. Подтверждением вышесказанному служат результаты наших первых экспериментальных исследований по изучению влияния АММ на митохондрии клеток печени и мозга [7, 46, 47]. Это подтверждает одну из основополагающих идей статьи об интеграции метаболизма — о выполнении АММ особых, неизвестных ранее, функций в организме человека. В клинических исследованиях нами установлено достоверное повышение сывороточных концентраций ряда ФКК у наиболее тяжелых больных с сепсисом и ПОН. Факт повышения их уровня в крови при критических состояниях отражает реальный вклад метаболизма «поврежденного» микробиома, что характерно для критических состояний и сепсиса [26].

Как показали результаты экспериментальных исследований, большинство изученных нами микроорганизмов *in vitro* демонстрировали способность продуцировать или потреблять ФКК, что отражено на рис. 2 а и б. Очевидно, что это чрезвычайно многофакторный процесс. Невозможно рассчитать реальный конечный результат метаболизма всех бактерий, входящих в состав микробиома человека, даже для здорового человека с нормальным биоценозом, а тем более — для больного, находящегося в критическом состоянии. Используя модель «черного ящика» (рис. 1, а), мы условно дистанцируемся от микробной биомассы, а конечный результат работы этого «метаболического реактора» оцениваем по уровню ФКК в сыворотке крови и клетках организма больного (см. рис. 1, б). У септического больного при наличии гнойного очага последний служит дополнительным резервуаром для активно-метаболизирующих бактерий и нередко становится реально опасным источником микробных метаболитов, так как токсичные АММ имеют возможность напрямую попадать в системный кровоток (16).

Таким образом, метаболический профиль ФКК в периферической вене отражает результат суммарного поступления микробных метаболитов как из основного естественного резервуара (кишечник), так и из очагов воспаления в органах и тканях больного. По нашему мнению, профиль ФКК в крови может служить интегральным показателем, дающим представление о степени вмешательства микробного метаболизма в гомеостаз

человека. Отмечена однонаправленность изменений в качественно-количественном спектре ФКК при развитии критических состояний, например, снижение ФПК вплоть до полного исчезновения и, напротив, многократное увеличение ГФУК, ГФМК и ФМК. Некоторые из ФКК можно использовать в качестве маркеров сепсиса [48–50], для мониторинга эффективности терапии, а также для прогноза и неблагоприятного исхода. Наши данные свидетельствуют о многократном достоверном ($p < 0,0000$) повышении уровня таких ФКК, как ГФУК, ГФМК, ФМК и БК в сыворотке крови септических больных по сравнению с фоновыми концентрациями у здоровых людей [33, 48], и у больных с другой патологией (рис. 3). Среди групп сравнения — больные с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), средиземноморской лихорадкой — в состоянии приступа (ФМФ), ИВЛ-ассоциированной пневмонией и больные с сепсисом. На рис. 4 а визуально изображены выраженные различия метаболических профилей ФКК у септических больных ($n=22$, летальность 50%) по сравнению со здоровыми, а ниже на рис. 4 б отражены различия уровней ФКК при сравнении выживших ($n=11$) и умерших ($n=11$) от сепсиса.

Заключение

В онтогенетически сложившейся системе человек-микробиом присутствуют все необходимые объективные условия для формирования метаболической интеграции, а именно:

- организм человека осуществляет свою жизнедеятельность на протяжении всей жизни в тесном контакте с населяющей его микрофлорой;
- высокая скорость размножения микроорганизмов и обновление клеток микробного сообщества предполагает активный метаболический процесс, протекающий в микробиоме, который сравнивают с «метаболическим реактором»;
- относительное постоянство или стабильность биоценозов свидетельствует о существовании механизмов регуляции внутри микробного сообщества;

Литература

1. Beloborodova N. V., Osipov G. A. Small molecules originating from microbes (SMOM) and their role in microbes-host relationship. *Microb. Ecol. Health Disease*. 2000; 12: 12–21.
2. Белобородова Н. В., Осипов Г. А. Гомеостаз малых молекул микробного происхождения и его роль во взаимоотношениях микроорганизмов с организмом хозяина. *Вестник РАМН*. 1999; 7: 25–31.
3. Храмых Т. П., Долгих В. Т. Патогенез интоксикации при геморрагической гипотензии (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2008; 4 (5): 36–39.
4. Матвеева Е. Ю., Власенко А. В., Яковлев В. Н., Алексеев В. Г. Инфекционные осложнения катетеризации центральных вен. *Общая реаниматология*. 2011; 7 (5): 67–74.
5. Мороз В. В., Чурляев Ю. А. Вторичные повреждения головного мозга при тяжелой черепно-мозговой травме М.; 2006: 403.
6. Wightman F., Lighty D. L. Identification of phenylacetic acid as a natural auxin in the shoots of higher plants. *Physiologia Plantarum*. 1982; 55: 17–24
7. Федотчева Н. И., Теплова В. В., Белобородова Н. В. Участие фенольных кислот микробного происхождения в дисфункции митохондрий при сепсисе. *Биологические мембраны*. 2010; 27 (1): 60–66.

- динамический характер напряженности механизмов иммунореактивности, направленных на поддержание симбиотических отношений, свидетельствует в пользу существования взаимной регуляции через систему общих метаболитов и /или сигнальных молекул.

Механизмы интеграции метаболизма могут быть самыми разными — от субстратной конкуренции до активации или блокирования сигнальных каскадов.

В литературе есть отдельные исследования, доказывающие способность некоторых фенольных соединений из приведенного выше перечня (см. таблицу) выступать в роли антиоксидантов, блокировать тирозиназу, NO-синтазу, и др. В недалеком будущем, при наличии достаточного уровня знаний и методов лабораторного мониторинга за ключевыми молекулами, станет возможным эффективное управление этими процессами.

Важно подчеркнуть, что явление интеграции метаболизма человека и микробиома, изучение взаимодействия макро- и микросистем на молекулярном уровне имеют фундаментальное значение в медицине критических состояний, раскрывая новые механизмы гомеостаза и танатогенеза, а главное — новые мишени для цель-ориентированной терапии.

Обобщения, представленные в данной статье, основаны на результатах междисциплинарных исследований, полученных благодаря совместной работе с учеными и врачами разных специальностей: анестезиологами-реаниматологами, хирургами, микробиологами, биохимиками, биофизиками, хромато-масс-спектрометристами и др. Автор выражает всем признательность за плодотворное сотрудничество.

Статья подготовлена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007-2013 годы», Государственный контракт с ФГБУ «НИИОР» РАМН № 16.512.11.2227 от «12 июля 2011 г.

8. Harbarth S., Hausteil T. Year in review 2009: Critical Care — infection. *Crit. Care*. 2010; 14 (6): 240–244.
9. Vincent J.-L., Rello J., Marshall J., Silva E., Anzueto A., Martin C. D., Moreno R., Lipman J., Gomersall C., Sakr Y., Reinhart K.; EPIC II Group of Investigators. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*. 2009; 302 (21): 2323–2329.
10. Vincent J.-L., Abraham E. The last 100 years of sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2006; 173 (3): 256–263.
11. Долина О. А., Шкроб Л. О. Коррекция иммунных нарушений у больных с абдоминальным сепсисом. *Общая реаниматология*. 2011; 7 (1): 55–57.
12. Lyte M. (ed.). *Microbial endocrinology*. USA: Springer Science+Business Media; 2010: 323.
13. Cani P. D., Bibiloni R., Knauf C., Waget A., Neyrinck A. M., Delzenne N. M., Burcelin R. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. 2008; 57 (6): 1470–1481.
14. Cani P. D., Neyrinck A. M., Fava F., Knauf C., Burcelin R. G., Tuohy K. M., Gibson G. R., Delzenne N. M. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*. 2007; 50 (11): 2374–2383.

15. Fredborg M., Theil R. K., Jensen B. B., Purup S. Intestinal bacteria metabolites alter gene expression of nutrient transporters in human intestinal epithelial cells. In: 8-h INRA-Rowett Symposium on Gut Microbiology «Gut microbiota – friend or foe?», 17–20 June 2012. Clemons-Ferrand, France; 2012: 86.
16. Tlaskalova-Hogenova H., Stepankova R., Kozakova H., Hudcovic T., Vannucci L., Tuckova L., Rossmann P., Hrnecir T., Kverka M., Zakostelska Z., Klimesova K., Pribylova J., Bartova J., Sanchez D., Fundova P., Borovska D., Srutkova D., Zidek Z., Schwarzer M., Drastich P., Funda D. P. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol. Immunol.* 2011; 8 (2): 110–120.
17. Morowitz M. J., Carlisle E. M., Alverdy J. C. Contributions of intestinal bacteria to nutrition and metabolism in the critically ill. *Surg. Clin. North Am.* 2011; 91 (4): 771–785.
18. Deith E., Lu Q., Feketeova E., Hauser C. J., Xu D. Z. Intestinal bacterial overgrowth induces the production of biologically active intestinal lymph. *J. Trauma.* 2004; 56 (1): 105–110.
19. Bäckhed F., Ding H., Wang T., Hooper L. V., Koh G. Y., Nagy A., Semenkovich C. F., Gordon J. I. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101 (44): 15718–15723.
20. Stappenbeck T. S., Hooper L. V., Gordon J. I. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99 (24): 15451–15455.
21. Маргелис Л. Роль симбиоза в эволюции клетки. М.: Мир; 1983: 351.
22. Бухарин О. В., Гинцбург А. Л., Романова Ю. М., Эль-Резистан Г. И. Механизмы выживания бактерий. М.: Медицина; 2005: 367.
23. Белобородова Н. В., Вострикова Т. Ю. Особенности микрофлоры зева у детей в отделениях интенсивной терапии. *Антибиотики и химиотерапия.* 1998; 43 (8): 16–22.
24. Shimizu K., Ogura H., Goto M., Asahara T., Nomoto K., Morotomi M., Yoshiya K., Matsushima A., Sumi Y., Kuwagata Y., Tanaka H., Shimazu T., Sugimoto H. Altered gut flora and environment in patients with severe SIRS. *J. Trauma.* 2006; 60 (1): 126–133.
25. Белобородова Н. В., Архитова А. С., Белобородов Д. М., Бойко Н. Б., Мелько А. И., Оленин А. Ю. Хромато-масс-спектрометрическое определение низкомолекулярных соединений микробного происхождения в сыворотке крови больных сепсисом. *Клин. лаб. диагностика.* 2006; 2: 3–6.
26. Белобородова Н. В., Ходакова А. С., Байрамов И. Т., Оленин А. Ю. Микробный путь образования фенолкарбоновых кислот в организме человека. *Биохимия.* 2009; 74 (12): 1657–1663.
27. Wishart D. S., Knox C., Guo A. C., Eisner R., Young N., Gautam B., Hau D. D., Psychogios N., Dong E., Bouatra S., Mandal R., Sinelnikov I., Xia J., Jia L., Cruz J. A., Lim E., Sobsey C. A., Shrivastava S., Huang P., Liu P., Fang L., Peng J., Fradette R., Cheng D., Tzur D., Clements M., Lewis A., De Souza A., Zuniga A., Dawe M., Xiong Y., Clive D., Greiner R., Nazryova A., Shaykhdudinov R., Li L., Vogel H. J., Forsythe I. HMDB: a knowledgebase for the human metabolome. *Nucleic Acid Res.* 2009; 37 (Database issue): D603–D610.
28. Разумовский А. Ю., Рачков В. Е., Белобородова Н. В., Потапова Т. В., Поздоровкина В. В. Содержание токсических метаболитов ЛЖК в крови и индола в моче после различных шунтирующих операций у детей с внепеченочной портальной гипертензией. *Анналы хирургии.* 1998; 6: 50–54.
29. Белобородова Н. В., Белобородов С. М. Метаболиты анаэробных бактерий (летучие жирные кислоты) и реактивность макроорганизма. *Антибиотики и химиотерапия.* 2000; 2 (45): 28–36.
30. Кцюян Ж. А., Осипов Г. А., Саркисян Н. Н., Карагезян К. Г. Спектр и уровень содержания низкомолекулярных соединений микробного происхождения при периодической болезни. *Вестник РАМН.* 2002; 2: 41–45.
31. Истратов В. Г., Кулешов С. С., Макарова А. В. Хромато-масс-спектрометрическое исследование токсических метаболитов анаэробов при неклостридиальной анаэробной инфекции. Раны и раневая инфекция. М.; 1988: 223–224.
32. Белобородова Н. В., Байрамов И. Т., Оленин А. Ю., Федотчева Н. И. Экзометаболиты некоторых анаэробных микроорганизмов микрофлоры человека. *Биомедицинская химия.* 2011; 57 (1): 95–105.
33. Beloborodova N. V., Olenin A. Yu., Khodakova A. S. Phenylcarboxylic acids as potential markers for diagnosis of sepsis in cardiac surgery patients. *Archive Euromedica.* 2011; 1 (2): 20–26. <http://www.eanw.de/daten/arhiv-medica-1-2-2011-web.pdf>
34. Белобородова Н. В., Оленин А. Ю., Ходакова А. С., Черневская Е. А., Хабиб О. Н. Происхождение и клиническое значение низкомолекулярных фенольных метаболитов в сыворотке крови человека. *Анестезиология и реаниматология.* 2012; 5: 37–41.
35. Chernevskaya E. A., Beloborodova N. V. The relation between phagocytic activities of neutrophils and microbial metabolites in blood. XXXII International Congress of the SOMED, St. Peterburg-Probiotics-2009. *Гастрэнтерология Санкт-Петербурга.* 2009; 4: 17.
36. Besselink M. G., van Santvoort H. C., Buskens E., Boermeester M. A., van Goor H., Timmerman H. M., Nieuwenhuijs V. B., Bollen T. L., van Ramshorst B., Witteman B. J., Rosman C., Ploeg R. J., Brink M. A., Schaapherder A. F., Dejong C. H., Wahab P. J., van Laarhoven C. J., van der Harst E., van Eijck C. H., Cuesta M. A., Akkermans L. M., Goosen H. G., Dutch Acute Pancreatitis Study Group. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2008; 371 (9613): 651–659.
37. Meijer K., de Vos P., Priebe M. G. Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: what relevance for health? *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2010; 13 (6): 715–721.
38. Vella A., Farrugia G. D-lactic acidosis: pathologic consequence of saprophytism. *Mayo Clin. Proc.* 1998; 73 (5): 451–456.
39. Ku W. H., Lau D. C. Y., Huen K. F. Probiotics provoked D-lactic acidosis in short bowel syndrome: case report and literature review. *J. Paediatr. (Hong Kong).* 2006; 11: 246–254.
40. Koletzko S., Waag K. L., Koletzko B. Recurrent D-lactic acidosis with encephalopathy in a boy with short-bowel syndrome. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 1994; 119 (13): 458–462.
41. Forni L. G., McKinnon W., Lord A. G., Treacher D. F., Peron J.-M. R., Hilton P. J. Circulating anions usually associated with the Krebs cycle in patients with metabolic acidosis. *Crit. Care.* 2005; 9 (5): R591–R595.
42. Ливанов Г. А., Александров М. В., Васильев С. А., Батоцыренова А. В., Батоцыренов Б. В., Лодягин А. Н., Луцкий М. А., Носов А. В. Метаболическая десинхронизация при критических состояниях. *Общая реаниматология.* 2006; 2 (1): 42–46.
43. Данилов И. А., Овечкин А. М. Полиорганная недостаточность: состояние проблемы и современные методы лечения с использованием низкопоточных мембранных технологий. *Общая реаниматология.* 2011; 7 (6): 66–69.
44. Федотчева Н. И., Теплова В. В., Оленин А. Ю., Белобородова Н. В. Метаболиты цикла трикарбоновых кислот при цитопатической гипоксии. Рецепция и внутриклеточная сигнализация. Пуццино; 2009: 634–638.
45. Jenner A. M., Raftier J., Halliwell B. Human faecal water content of phenolics: the extent of colonic exposure to aromatic compounds. *Free Radic. Biol. Med.* 2005; 38 (6): 763–772.
46. Теплова В. В., Федотчева Н. И., Белобородова Н. В. Роль циннамовой и бензойных кислот в дисфункции митохондрий при сепсисе. Рецепция и внутриклеточная сигнализация. Пуццино; 2009: 628–634.
47. Fedotcheva N. I., Kazakov R. E., Kondrashova M. N., Beloborodova N. V. Toxic effects of microbial phenolic acids on the functions of mitochondria. *Toxicol. Lett.* 2008; 180 (3): 182–188.
48. Beloborodova N. V., Khodakova A. S., Olenin A. J. Are phenylcarboxylic acids really markers in severe sepsis? *Crit. Care.* 2009; 13 (4): 41.
49. Beloborodova N. V., Khodakova A. S., Olenin A. Y., Ovseenko S. T. Phenylcarboxylic acids in blood as new markers for sepsis diagnostics. *Intensive Care Med.* 2009; 35 (Suppl 1): S84.
50. Белобородова Н. В., Оленин А. Ю., Ходакова А. С. Патент «Способ лабораторной диагностики сепсиса» №2423704 от 10. 07. 2011.

References

1. Beloborodova N. V., Osipov G. A. Small molecules originating from microbes (SMOM) and their role in microbes-host relationship. *Microb. Ecol. Health Disease.* 2000; 12: 12–21.
2. Beloborodova N.V., Osipov G.A. Homeostasis of small molecules originating from microbes and its role in microbial relations with the host. *Vestnik RAMN.* 1999; 7: 25–31. [In Russ.].
3. Khramykh T.P., Dolgikh V.T. Pathogenesis of intoxication in hemorrhagic hypotension (experimental study). *Obshchaya Reanimatologiya.* 2008; 4 (5): 36–39. [In Russ.].
4. Matveyeva E.Yu., Vlasenko A.V., Yakovlev V.N., Alekseyev V.G. Infectious complications of central venous catheterization. *Obshchaya Reanimatologiya.* 2011; 7 (5): 67–74. [In Russ.].
5. Moroz V.V., Churlyayev Yu.A. Secondary brain injuries in severe brain injury. Moscow; 2006. 403. [In Russ.].
6. Wightman F., Lighty D. L. Identification of phenylacetic acid as a natural auxin in the shoots of higher plants. *Physiologia Plantarum.* 1982; 55: 17–24
7. Fedotcheva N.I., Teplova V.V., Beloborodova N.V. Involvement of phenolic acids originating from microbes in mitochondrial dysfunction in sepsis. *Biologicheskiye Membrany.* 2010; 27 (1): 60–66. [In Russ.].
8. Harbarth S., Hauste T. Year in review 2009: Critical Care – infection. *Crit. Care.* 2010; 14 (6): 240–244.
9. Vincent J.-L., Rello J., Marshall J., Silva E., Anzueto A., Martin C. D., Moreno R., Lipman J., Gomersall C., Sakr Y., Reinhart K.; EPIC II Group of Investigators. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA.* 2009; 302 (21): 2323–2329.

10. Vincent J.-L., Abraham E. The last 100 years of sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 173 (3): 256–263.
11. Dolina O.A., Shrob L.O. Correction of immune disorders in patients with abdominal sepsis. *Obshchaya Reanimatologiya.* 2011; 7 (1): 55–57. [In Russ.].
12. Lyte M. (ed.). *Microbial endocrinology.* USA: Springer Science+ Business Media; 2010: 323.
13. Cani P.D., Bibiloni R., Knauf C., Waget A., Neyrinck A.M., Delzenne N.M., Burcelin R. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes.* 2008; 57 (6): 1470–1481.
14. Cani P.D., Neyrinck A.M., Fava F., Knauf C., Burcelin R.G., Tuohy K.M., Gibson G.R., Delzenne N.M. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia.* 2007; 50 (11): 2374–2383.
15. Fredborg M., Theil R.K., Jensen B.B., Purup S. Intestinal bacteria metabolites alter gene expression of nutrient transporters in human intestinal epithelial cells. In: 8–h INRA-Rowett Symposium on Gut Microbiology «Gut microbiota – friend or foe?», 17–20 June 2012. Clermont-Ferrand, France; 2012: 86.
16. Tlaskalova-Hogenova H., Stepankova R., Kozakova H., Hudcovic T., Vannucci L., Tuckova L., Rossmann P., Hrcir T., Kverka M., Zakostelska Z., Klimesova K., Pribylova J., Bartova J., Sanchez D., Fundova P., Borovska D., Srutkova D., Zidek Z., Schwarzer M., Drastich P., Funda D.P. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol. Immunol.* 2011; 8 (2): 110–120.
17. Morowitz M.J., Carlisle E.M., Alverdy J.C. Contributions of intestinal bacteria to nutrition and metabolism in the critically ill. *Surg. Clin. North Am.* 2011; 91 (4): 771–785.
18. Deith E., Lu Q., Feketeova E., Hauser C.J., Xu D.Z. Intestinal bacterial overgrowth induces the production of biologically active intestinal lymph. *J. Trauma.* 2004; 56 (1): 105–110.
19. Bäckhed F., Ding H., Wang T., Hooper L.V., Koh G.Y., Nagy A., Semenkovich C.F., Gordon J.I. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101 (44): 15718–15723.
20. Stappenbeck T.S., Hooper L.V., Gordon J.I. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99 (24): 15451–15455.
21. Margulis L. *The role of symbiosis in cell evolution.* Moscow: Mir; 1983: 351.
22. Bukharin O.V., Gintsburg A.L., Romanova Yu.M., El-Registan G.I. *Mechanisms of bacterial survival.* Moscow: Meditsina Publishers; 2005: 367. [In Russ.].
23. Beloborodova N.V., Vostrikova T.Yu. The specific features of the pharyngeal microflora in children in intensive care units. *Antibiotiki i Khimioterapiya.* 1998; 43 (8): 16–22. [In Russ.].
24. Shimizu K., Ogura H., Goto M., Asahara T., Nomoto K., Morotomi M., Yoshiya K., Matsushima A., Sumi Y., Kuwagata Y., Tanaka H., Shimazu T., Sugimoto H. Altered gut flora and environment in patients with severe SIRS. *J. Trauma.* 2006; 60 (1): 126–133.
25. Beloborodova N.V., Arkhipova A.S., Beloborodov D.M., Boiko N.B., Melko A.I., Olenin A.Yu. Chromatographic mass spectrometric determination of low-molecular-weight compounds of microbial origin in the serum from patients with sepsis. *Klin. Lab. Diagnostika.* 2006; 2: 3–6. [In Russ.].
26. Beloborodova N.V., Khodakova A.S., Bairamov I.T., Olenin A.Yu. The microbial pathway in the formation of phenylcarboxylic acids in the human body. *Biokhimiya.* 2009; 74 (12): 1657–1663. [In Russ.].
27. Wishart D.S., Knox C., Guo A.C., Eisner R., Young N., Gautam B., Hau D.D., Psychogios N., Dong E., Bouatra S., Mandal R., Sinelnikov I., Xia J., Jia L., Cruz J.A., Lim E., Sobsey C.A., Shrivastava S., Huang P., Liu P., Fang L., Peng J., Fradette R., Cheng D., Tzur D., Clements M., Lewis A., De Souza A., Zuniga A., Dawe M., Xiong Y., Clive D., Greiner R., Nazyrova A., Shaykhdinov R., Li L., Vogel H.J., Forsythe I. HMDB: a knowledgebase for the human metabolome. *Nucleic Acid Res.* 2009; 37 (Database issue): D603–D610.
28. Razumovsky A.Yu., Rachkov V.E., Beloborodova N.V., Potapova T.V., Pozdorokhina V.V. The content of toxic metabolites of blood volatile fatty acids and urinary indole in children with extrahepatic portal hypertension after different bypass surgeries. *Annaly Khirurgii.* 1998; 6: 50–54. [In Russ.].
29. Beloborodova N.V., Beloborodov S.M. Metabolites of anaerobic bacteria (volatile fatty acids) and macroorganism responsiveness. *Antibiotiki i Khimioterapiya.* 2000; 2 (45): 28–36.
30. Ktsoyan Zh.A., Osipov G.A., Sarkisyan N.N., Karagezyan K.G. The spectrum and level of low-molecular-weight compounds of microbial origin in periodic disease. *Vestnik RAMN.* 2002; 2: 41–45. [In Russ.].
31. Istratov V.G., Kuleshov S.S., Makarova A.V. Chromatographic mass spectrometric study of toxic metabolites from anaerobes in non-clostridial anaerobic infection. *Rany i Ranevaya Infektsia.* Moscow, 1988. 223–224. [In Russ.].
32. Beloborodova N.V., Bairamov I.T., Olenin A.Yu., Fedotcheva N.I. Exometabolites from some anaerobic microorganisms of the human microflora. *Biomeditsinskaya Khimiya.* 2011; 57 (1): 95–105. [In Russ.].
33. Beloborodova N.V., Olenin A.Yu., Khodakova A.S. Phenylcarboxylic acids as potential markers for diagnosis of sepsis in cardiac surgery patients. *Archive Euromedica.* 2011; 1 (2): 20–26. <http://www.eanw.de/daten/archiv-medica-1-2-2011-web.pdf>
34. Beloborodova N.V., Olenin A.Yu., Khodakova S.S., Chernevskaya E.A., Khabib O.N. The origin and clinical value of low-molecular-weight phenolic metabolites in human serum. *Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2012; 5: 37–41. [In Russ.].
35. Chernevskaya E.A., Beloborodova N.V. The relation between phagocytic activities of neutrophils and microbial metabolites in blood. XXXII International Congress of the SOMED, St. Petersburg-Probiotics-2009. *Gastroenterologiya Sankt-Peterburga.* 2009; 4: 17.
36. Besslink M.G., van Santvoort H.C., Buskens E., Boermeester M.A., van Goor H., Timmerman H.M., Nieuwenhuijs V.B., Bollen T.L., van Ramshorst B., Witteman B.J., Rosman C., Ploeg R.J., Brink M.A., Schaapherder A.F., Dejong C.H., Wahab P.J., van Laarhoven C.J., van der Harst E., van Eijck C.H., Cuesta M.A., Akkermans L.M., Gooszen H.G., *Dutch Acute Pancreatitis Study Group.* Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2008; 371 (9613): 651–659.
37. Meijer K., de Vos P., Priebe M.G. Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: what relevance for health? *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2010; 13 (6): 715–721.
38. Vella A., Farrugia G. D-lactic acidosis: pathologic consequence of saprophytism. *Mayo Clin. Proc.* 1998; 73 (5): 451–456.
39. Ku W.H., Lau D.C.Y., Huen K.F. Probiotics provoked D-lactic acidosis in short bowel syndrome: case report and literature review. *J. Paediatr. (Hong Kong).* 2006; 11: 246–254.
40. Koletzko S., Waag K.L., Koletzko B. Recurrent D-lactic acidosis with encephalopathy in a boy with short-bowel syndrome. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 1994; 119 (13): 458–462.
41. Forni L.G., McKimmon W., Lord A.G., Treacher D.F., Peron J.-M.R., Hilton P.J. Circulating anions usually associated with the Krebs cycle in patients with metabolic acidosis. *Crit. Care.* 2005; 9 (5): R591–R595.
42. Livanov G.A., Aleksandrov M.V., Vasilyev S.A., Batotsyrenova Kh.V., Batotsyrenov B.V., Lodyagin A.N., Lutsyk M.A., Nosov A.V. Metabolic desynchronization in critical conditions. *Obshchaya Reanimatologiya.* 2006; 2 (1): 42–46. [In Russ.].
43. Danilov I.A., Ovechkin A.M. Multiple organ dysfunction: the state-of-the-art and current treatments using low-current membrane technologies. *Obshchaya Reanimatologiya.* 2011; 7 (6): 66–69. [In Russ.].
44. Fedotcheva N.I., Teplova V.V., Olenin A.Yu., Beloborodova N.V. Tricarboxylic acid cycle metabolites in cytopathic hypoxia. *Retseptsiya i Vnutrikletochnaya Signalizatsiya.* Pushchino; 2009. 634–638. [In Russ.].
45. Jemmer A.M., Rafters J., Halliwell B. Human faecal water content of phenolics: the extent of colonic exposure to aromatic compounds. *Free Radic. Biol. Med.* 2005; 38 (6): 763–772.
46. Teplova V.V., Fedotcheva N.I., Beloborodova N.V. Role of cinnamic and benzoic acids in mitochondrial dysfunction in sepsis. *Retseptsiya i Vnutrikletochnaya Signalizatsiya.* Pushchino; 2009: 628–634. [In Russ.].
47. Fedotcheva N.I., Kazakov R.E., Kondrashova M.N., Beloborodova N.V. Toxic effects of microbial phenolic acids on the functions of mitochondria. *Toxicol. Lett.* 2008; 180 (3): 182–188.
48. Beloborodova N.V., Khodakova A.S., Olenin A.Yu. Are phenylcarboxylic acids really markers in severe sepsis? *Crit. Care.* 2009; 13 (4): 41.
49. Beloborodova N.V., Khodakova A.S., Olenin A.Yu., Ovsenko S.T. Phenylcarboxylic acids in blood as new markers for sepsis diagnostics. *Intensive Care Med.* 2009; 35 (Suppl 1): S84.
50. Beloborodova N.V., Olenin A.Yu., Khodakova A.S. Patent «A laboratory diagnosis of sepsis» No. 2423704 dated July 10, 2011. [In Russ.].

Поступила 29.05.12