DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-164-4-111-121

Хемомикробиомный анализ Лактитола*

Торшин И. Ю.[1, 2], Громова О. А.[1, 2], Захарова И. Н.[3], Максимов В. А.[3]

[1] ФИЦ ИУ РАН, Институт Фармакоинформатики, Москва, Россия

[2] Центр хранения и анализа больших данных (ЦХАБД), МГУ, Москва, Россия

[3] ФГБОУ ДПО «Российская Медицинская Академия Непрерывного Профессионального Образования» МЗ РФ, Москва, Россия

Hemomikrobiomny lactitol analysis*

I. Yu. Torshin[1, 2], O. A. Gromova[1, 2], I. N. Zakcharova[3], V. A. Maximov[3]

[1] FRC CSC RAS, Institute of Pharmacoinformatics, 119333, Moscow, Vavilova, 42, Russia

[2] Big Data Storage and Analysis Center (CCHD), Moscow State University, Moscow, Russia

[3] Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education "Russian Medical Academy of Continuous Professional Education" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

Для цитирования: Торшин И. Ю., Громова О. А., Захарова И. Н., Максимов В. А. Хемомикробиомный анализ Лактитола. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019;164(4): 111–121. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-164-4-111-121

For citation: Torshin I. Yu., Gromova O. A., Zakcharova I. N., Maximov V. A. Hemomikrobiomny lactitol analysis. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2019;164(4): 111–121. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-164-4-111-121

Торшин Иван Юрьевич, к.х.н., с.н.с. Институт Фармакоинформатики; *ScopusAuthorID: 7003300274, РИНЦSPIN-код: 1375–1114, AuthorID: 54104, ORCIDiD: 0000–0002–2659–7998, WOSID C-7683–2018*

Громова Ольга Алексеевна, д.м.н., проф., в.н.с., научный руководитель Института Фармакоинформатики; *РИНЦ SPIN-код: 6317–9833, AuthorID: 94901, Scopus Author ID: 7003589812, ORCID iD: https://orcid.org/0000–0002–7663–710X, WOS ID J-4946–2017*

Максимов Валерий Алексеевич, д.м.н., проф., заслуженный деятель науки Российской Федерации, заслуженный врач Российской Федерации, вице-президент научного общества гастроэнтерологов России, профессор кафедры диетологии и нутрициологии

Захарова Ирина Николаевна, д.м.н., профессор, заслуженный врач России, заведующая кафедрой педиатрии; *РИНЦ SPIN-код: 4357–3897, AuthorID: 94901, Scopus Author ID: 6333259, ORCID iD https://orcid.org/0000–0003–4200–4598*

Ivan Yu. Torshin, PhD in Applied Mathematics, leading researcher of the Department of Intellectual Systems; *Scopus Author ID: 7003300274, SPIN-code: 1375–1114 AuthorID: 54104, ORCID iD0000–0002–2659–7998, WOS ID C-7683–2018*

Olga A. Gromova, PhD, Doctor of Medical Sciences, Science Head of the Institute of Pharmacoinformatics, leading researcher of the Department of Intellectual Systems; *SPIN-код: 6317–9833, AuthorID: 94901, Scopus Author ID: 7003589812 ORCID iD: https://orcid.org/0000–0002–7663–710X, WOS ID J-4946–2017*

Irina N. Zakcharova, PhD, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Pediatrics, Honored Doctor of Russia; *AuthorID: 94901, Scopus Author ID: 6333259, ORCID iD https://orcid.org/0000–0003–4200–4598*

✉ *Corresponding author:*
Громова Ольга Алексеевна
Olga A. Gromova
unesco.gromova@gmail.com

* Иллюстрации 2–4 – на цветной вклейке в журнал.

* Illustrations 2–4 are on the colored inset of the Journal.

Резюме

В последнее время все больше внимания уделяется изучению связи состояния микробиома кишечника и состояния как самого кишечника, так и других органов человека. В связи с этим возникает интерес к изучению влияния на микробиом как уже хорошо известных молекул с пребиотическим действием, так и относительно недавно используемого в клинической практике производного лактозы — лактитола.

Молекулы-пребиотики существенно различаются по воздействию на микробиом кишечника человека. Систематического исследования данного вопроса ранее не проводилось. В настоящей работе представлены результаты сравнительного хемомикробиомного анализа лактитола, лактулозы, сорбита, ксилита и фруктозы, проведенного с использованием современных технологий анализа «больших данных». Для каждой из исследованных молекул были получены оценки значений площади под кривой роста для репрезентативной выборки микробиоты человека, включившей 36 бактерий-комменсалов, в т. ч. бифидо- и лактобактерии. Показано, что лактитол в большей, чем молекулы сравнения, степени стимулирует рост популяции бифидобактерий и полезных эубактерий, а также микроорганизмов-продуцентов масляной кислоты, и таким образом в большей, чем молекулы сравнения, степени способствует улучшению состояния толстой кишки.

Ключевые слова: пребиотики, лактитол, микробиом, микробиота человека, площадь под кривой роста, хемоинформатика, интеллектуальный анализ данных, системная биология

Введение

Пребиотики – избирательно ферментируемые вещества или агенты, запускающие специфические полезные изменения как состава, так и/или активности микробиоты желудочно – кишечного тракта. Пребиотические молекулы существенно различаются по воздействию на различных представителей микробиоты человека [1]. Систематического анализа воздействия пребиотиков на микробиом человека ранее не проводилось.

Такого рода систематический анализ оценки спектра полезных и нежелательных эффектов химических соединений может проводиться посредством высокопроизводительных роботизированных скринингов роста бактерий *in vitro* [2]. Однако, данная экспериментальная процедура доступна всего лишь в отдельных исследовательских центрах. Хемомикробиомный скрининг, направленный на оценку активностей исследуемой молекулы по отношению к заданным представителям микробиома, представляет собой важную альтернативу крайне дорогостоящим высокопроизводительным роботизированным скринингам. Хемомикробиомный анализ свойств потенциальных пребиотиков проводится на основании нахождения молекул, структурно схожих с исследуемой молекулой. Затем, посредством методов современной информатики, проводятся количественные расчеты свойств исследуемой молекулы-пребиотика.

Известны различные молекулы-пребиотики. Например, давно известная *лактулоза* метаболизируется микробиотой толстого кишечника, «закисляя» при этом pH среды. Это тормозит рост патогенных бактерий и увеличивает нейтрализацию аммиака, улучшает всасывание кальция и магния [3]. В пищевой и в фармацевтической промышленности повсеместно используются такие заменители сахара, как *фруктоза*, *ксилит* (пищевая добавка E967), *сорбит* (пищевая добавка E420), которые также проявляют пребиотические свойства [4]. Перечисленные молекулы с пребиотическими свойствами могут быть условно названы «пребиотиками 1-го поколения», т.к. стимулируют развитие выраженного метеоризма и воздействуют на синтез короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), не существенно стимулируя бутиратпродуцирующую флору и выработку бутирата (масляной кислоты).

Лактитол можно отнести к «пребиотикам 2-го поколения». Этот дисахарид, синтезируемый из молочного сахара (лактозы), стимулирует рост собственной полезной микрофлоры, тем самым восстанавливая индивидуальный микробиом, а одними из основных продуктов его метаболизма являются такие КЦЖК как бутират и ацетат, проявляющие пребиотические и колонопротекторные эффекты [5]. Лактитол обладает дозозависимым слабительным эффектом. Так, в дозе 20 грамм в сутки лактитол, как правило, вызывает один «мягкий» стул в сутки (в некоторых случаях для этого достаточно половинной дозы – 10 грамм) и используется в качестве осмотического слабительного для лечения функционального запора (группа A06AD по АТХ, A06AD12 – лактитол). В дозе начиная с 0,5–0,7 грамм на кг массы тела в сутки лактитол способен вызвать 2 «мягких» стула в сутки. В таких, более высоких дозах, лактитол используется для уменьшения образования и всасывания аммиака в ЖКТ при лечении печеночной энцефалопатии, печеночной прекомы, комы и гипераммониемии. Более того, результаты транскриптомных и протеомных исследований показали, что лактитол характеризуется уникальными механизмами его переработки внутри организма человека, отличающими его от других молекул-пребиотиков [6].

В настоящей работе представлены результаты сравнительного хемомикробиомного анализа лактитола, лактулозы, сорбита, ксилита и фруктозы, проведенного с использованием современных технологий машинного обучения. Современные методы прикладной математики позволяют осуществлять достоверное и верифицируемое прогнозирование фармакологических эффектов молекул. На основании теории анализа размеченных графов [7], теории метрического анализа данных [8, 9], комбинаторной теории разрешимости [10], тополо-

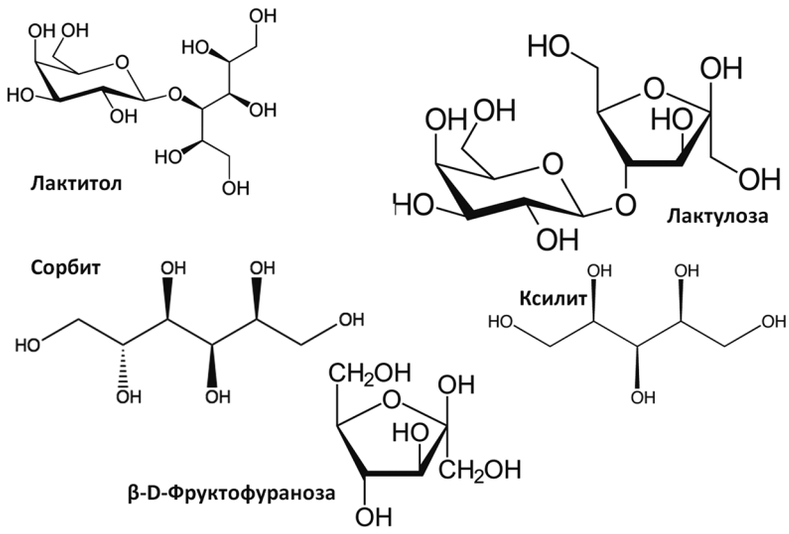


Рисунок 1.
Химические формулы молекул, исследованных в ходе хемомикробиомного анализа.

гической теории анализа плохо-формализованных задач [11] и новейших методов прогнозирования значений числовых переменных [12] нами разработан уникальный метод хемомикробиомного анализа (т.е. прогнозирования эффектов молекул-лигандов на микробиом человека).

Хемомикробиомный анализ лактитола и пребиотических молекул сравнения позволил оценить эффекты лактитола на поддержание позитивной микробиоты человека. Для каждой из исследованных молекул были получены оценки значений площади под кривой роста для 36 микроорганизмов-комменсалов, включая бифидо- и лактобактерии микробиоты. Полученные результаты количественно обосновывают эффекты лактитола на конкретные штаммы позитивной или нейтральной микрофлоры ЖКТ, в т.ч. воздействие на синтез короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК). Полученные результаты также позволяют проводить анализ целесообразности сопровождения той или иной фармакотерапии приемом лактитола с целью укрепления позитивной микробиоты.

Материалы и методы

В настоящей работе был проведен хемомикробиомный анализ молекулы лактитола в сравнении со структурами молекул других пребиотиков (лактулоза, сорбит, ксилит, фруктоза, Рис. 1). Поскольку в водных растворах фруктоза существует в виде смеси таутомеров (динамических изомеров, переходящих друг в друга), в которой преобладает бета-D-фруктопираноза (80%) [13], в настоящем исследовании для анализа эффектов фруктозы использовалась именно бета-D-фруктопираноза.

Для адекватного представления микробиома ЖКТ человека мы использовали репрезентативную выборку бактерий кишечной микробиоты (Таблица 1), описанную в работе [14]. Данная выборка репрезентативна и включает виды представителей микробиоты с учетом их распространенности в различных популяциях человека, численности в кишечнике и филогенетического разнообразия. Выборка включает 36 видов бактерий и 21 род бактерий представляя, в целом, около 80% микробиома ЖКТ. Большинство исследованных штаммов были комменсалами, обнаруженными при относительной численности 1% или более и распространенности не менее 50% в пробах фекалий

Микроорганизм	Описание	УББ	Гр.	Штамм
Bacteroides caccae	Микробиом кишечника, некоторые штаммы – патогенны	2	-	DSM 1447
Bacteroides fragilis	Микробиом ЖКТ, участвует в газообразовании, гнойно-воспалительные заболевания после травм	2	-	DSM 20083
Bacteroides ovatus	Расщепление пищевых волокон, продуцент янтарной и фенилуксусной кислот, осложнения при попадании в другие органы	2	-	DSM 20219
Bacteroides thetaiotaomicron	Гидролизует амилозу, амилопектин, пуллулан, мальтоолигосахариды, поддерживает барьерную функцию слизистой кишечника, некоторые штаммы – оппортунистические	2	-	DSM 25238
Bacteroides uniformis	Микробиом тонкого кишечника, деконъюгируют желчные кислоты	2	-	DSM 15670
Bacteroides vulgatus	Микробиом толстой кишки, продуцируют пропионат, участвуют в биосинтезе витаминов K, B6, B12	1	-	DSM 2544
Bacteroides xylanisolvens	Расщепление ксилана и различных простых сахаров, продуцируют ацетат и пропионат	2	-	ATCC27758

Таблица 1.
Бактерии-комменсалы человека, воздействие на рост которых оценивалось в ходе хемомикробиомного анализа. Сокращения: «УББ», уровень биологической безопасности (см. текст); «Гр.» – грамм-положительные («+») или грамм-отрицательные («-»). Строки в таблице упорядочены по латинским названиям бактерий.

Таблица 1.
(продолжение)

Микроорганизм	Описание	УББ	Гр.	Штамм
Bifidobacterium adolescentis	До 85% микробиома, всасывание и гидролиз жиров, вырабатывают уксусную, молочную, янтарную кислоты, витамины группы В.	1	+	DSM 3992
Bifidobacterium longum	Участвуют в биосинтезе витаминов, входят в состав многих препаратов *про*биотиков	1	+	ED1a
Bilophila wadsworthia	Микробиом ЖКТ, ассоциировано с выраженным газообразованием, избыток при тяжелом аппендиците 16887567	2	-	IAI1
Blautia obeum	Микробиом толстого кишечника (5%), продуцирует уксусную кислоту, аутоиндуктор-2, ограничивает колонизацию холерных вибрионов	1	+	DSM 3376
Clostridium bolteae	Клостридии продуцируют короткоцепочечные жирные кислоты: масляную, изомасляную, валериановую, капроновую, изовалериановую, изокапроновую	1	+	DSM 17629
Clostridium difficile	Инфекции, вызванные токсикогенными штаммами *C. difficile*, являются основной причиной диареи в больницах.	2	+	19495
Clostridium perfringens	Могут вызывать анаэробную гангрену, анитибиотико-ассоциированные диареи, некротический энтерит.	2	+	DSMZ 18205
Clostridium ramosum	Микробиом кишечника, способствует усилению усвоения углеводов и жиров.	2	+	DSM 16839
Clostridium saccharolyticum	Метаболизирует различные сахара для употребления другими представителями микробиоты ЖКТ	1	+	DSM 14610
Collinsella aerofaciens	Ферментируют глюкозу, маннозу, галактозу, фруктозу, мальтозу и лактозу, продуцируют этанол, муравьиную и молочную кислоты.	2	+	ATCC27255
Coprococcus comes	Микробиом ЖКТ	1	+	ATCC29149
Dorea formicigenerans	Ферментируют глюкозу с образованием этанола, муравьиной, уксусной, молочной кислот, CO_2, H_2.	1	+	ATCC27756
Eggerthella lenta	Нормальная микрофлора ЖКТ, деконъюгирует желчные кислоты, участвуют в смешанных инфекциях	2	+	DSM 19024
Escherichia coli	Конкурент условно-патогенной микрофлоры, абсорбируют в кишечнике кислород, вырабатывают витамины группы В, уксусную, муравьиную, молочную, янтарную кислоты), всасывание железа, кальция, магния.	1	1	HM-20
Eubacterium eligens	Типичная нормофлора ЖКТ, метаболизируют углеводы и пептоны с накоплением короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) – масляной, уксусной, муравьиной, используемых энтероцитами, могут синтезировать витамин В12, аминокислоты	1	+	ATCC43860
Eubacterium rectale	Микробиота толстой кишки, основной продуцент масляной кислоты, переработка клетчатки	1	+	DSM 2151
Fusobacterium nucleatum	Бактерии зубного налета, запускают воспалительные процессы, приводящие к образованию атеросклеротических бляшек, артриту и др.	2	-	ATCC-8483
Lactobacillus paracasei	Молочнокислые бактерии, используемые как пробиотики	1	+	ATCC SD5275
Odoribacter splanchnicus	Модулируют концентрацию глюкозы и АД, вырабатывают масляную кислоту, метаболизируют желатин.	2	-	DSM 2079
Parabacteroides distasonis	Метаболизируют целлобиозу, глюкозу, лактозу, D-маннозу, D-мелецитозу, D-рафинозу, L-рамнозу, сахарозу, ксилозу. Определенные штаммы патогенны при ранениях	2	-	DSM 6597
Parabacteroides merdae	Продуцируют внеклеточные ферменты, которые способствуют расщеплению сложных полисахаридов (целлюлоза, гемицеллюлоза, мукополисахариды)	1	-	HM-715
Prevotella copri	Переработка углеводов, вытеснение патогенных бактерий. Выделены при анаэробных инфекциях дыхательных путей.	1	-	HM-722
Roseburia hominis	Регулирует иммунитет, производя антимикробные пептиды, поддерживая барьерную функцию и регулируя Т-лимфоциты	1	+	ATCC49260
Roseburia intestinalis	Продуцируют масляную к-ту, снижены при ожирении, нарушении толерантности к глюкозе, болезни Паркинсона	1	+	-
Ruminococcus bromii	Переработка пищевых крахмалов и усвоение других растительных полисахаридов, один из доминантных видов бактерий толстой кишки	1	+	DSM 756
Ruminococcus gnavus	Продуцирует антибактериальный руминококцин А, действующий против патогенных клостридий 11526013	1	+	DSMZ 1402
Ruminococcus torques	Нормальный компонент микробиоты кишечника (0.5%)	1	+	DSM 3979
Streptococcus salivarius	Регулирует воспалительный ответ, продуцируют бактериоцины против бактерий зубного налёта. Некоторые штаммы считаются оппортунистическими патогенами	2	+	DSM 2243
Veillonella parvula	Пародонтопатогенная бактерия, оказывает антагонистическое действие на кариесогенную микрофлору	2	-	DSM 15643

от здоровых добровольцев с трех континентов. В репрезентативную выборку были также включены патобионты *Clostridium diffi cile*, *Clostridium perfringens*, *Fusobacterium nucleatum*, энтеротоксигенный штамм *B. fragilis*, пробиотики (бифидо- и лактобактерии) и два вида клостридий-комменсалов (*C. ramosum* и *C. saccharolyticum*). Все 36 видов были найдены в ЖКТ здоровых добровольцев [14]. Исследованные бактерии-комменсалы существенно различаются по эффектам биохимического воздействия на организма человека (Таблица 1).

При проведении хемомикробиомного анализа лактитола, лактулозы, сорбита, ксилита и фруктозы моделировалось воздействие исследованных молекул в концентрации 10 ммоль/л, что приблизительно соответствует приему нескольких грамм пребиотика взрослым пациентом и, одновременно, условиям культивирования бактерий (~1% сахаров). В результате хемомикробиомного анализа прогнозировались (1) значения площади под кривой роста (AUC) до момента перехода роста колонии в стационарную фазу, (2) значения стандартных отклонений значений AUC и (3) значения P статистической значимости отличий AUC от контроля (стандартная среда выращивания бактерий).

Хемомикробиомный анализ

Результаты экспериментов по оценке воздействия различных молекул на рост бактерий, которые имеются в базах данных Human Microbiome Project [15], iHMP [16], PubChem [17] и др., представлены в виде таблиц. Столбцы таких таблиц соответствуют микроорганизмам, а строки – веществам, воздействующим на соответствующий микроорганизм. Пусть задана такая таблица T. В клетках таблицы содержатся значения площади под кривой роста (AUC) при воздействии соответствующего вещества. Таким образом, *j*-ая строка таблицы **T** описывает «профиль» воздействия *j*-ой молекулы на различных представителей микробиома.

Таблица **T** представляет собой исходную выборку информации для обучения алгоритмов хемомикробиомного анализа, в которой *i*-ый столбец таблицы соответствует эффектам воздействия исследованных молекул на *i*-ого представителя микробиома. Столбец $g_i = (X_{ij}, \Delta_{ij})^T$ таблицы $\mathrm{T} = ((\mathrm{X}_{ij}, \Delta_{ij})), i = 1,\ldots,N,\ j = 1,\ldots,n$, соответствующий *i*-ому микроорганизму, содержит информацию о структуре каждой *j*-ой воздействующей молекулы (хемограф X_{ij}) и значение площади под кривой AUC при воздействии данной молекулы, $\Delta_{ij} \in R$. Хемограф (χ-граф) – особая разновидность графа (т.е. математического объекта, являющегося совокупностью множества вершин и множества ребер – связей между вершинами). Хемографом называется конечный, связный, неориентированный, размеченный граф без петель, с кликовым числом не превышающим три.

Данные, представленные в столбцах $\mathrm{g_i}$ таблицы **T**, обрабатываются методами хемоинформационного анализа, основанными на комбинаторной теории разрешимости [7–9]. Комбинаторная теория разрешимости, представляющая собой развитие алгебраического подхода к задачам распознавания, является современным математическим инструментом для исследования признаковых описаний объектов. В применении к анализу хемографов, практически важны *теорема о полноте кортежей инвариантов произвольного хемографа* и *теорема соответствия критерия полноты инварианта критерию разрешимости/регулярности* [8] на основании которых становиться возможным определение и настройка («обучение») функций расстояния между хемографами.

Функция расстояния между хемографами d_χ над бинарными χ-инвариантами определяется как $d_\chi(\mathrm{X}_1, \mathrm{X}_2) = \frac{1}{|\chi|}\sum_{k=1}^{|\chi|} \omega_k \hat{\imath}[k]\hat{\beta}[\mathrm{X}_1]\chi \oplus \hat{\imath}[k]\hat{\mathbf{a}}[\mathrm{X}_2]\chi$, где χ – множество элементарных χ-инвариантов (всех возможных фрагментов химических структур), $\hat{\imath}[]\chi$ – кортеж-инвариант (список фрагментов структур, применимый к структуре любой молекулы), $\hat{\beta}[\mathrm{X}_j]$ – способ вычисления бинарных признаковых описаний для хемографа X_j, соответствующих фрагментам молекулярной структуры из множества χ, ω_k – вес k-го признака. Приведенное выше выражение, отражающее «химическое расстояние» между двумя произвольными молекулами X_1 и X_2, является основой хемоинформационного анализа вообще и хемомикробиомного анализа, в частности.

Расстояние d_χ является настраиваемой метрикой, т.к. содержит произвольно настраиваемые параметры – весá ω_k. Для набора данных, заданных *i*-ым столбцом ($\mathrm{g_i}$) таблицы **T** микробиомного эксперимента, настройка вектора параметров (ω_k) может осуществляться теми или иными методами машинного обучения. Мы используем *метод хемометрического анализа*, который подразумевает использование процедуры согласования пар метрик, одной из которых является «*химическое расстояние*» d_χ, а второй – метрика d_Δ, вычисляемая на основе значений площади под кривой Δ_{ij}, представленных в столбце $\mathrm{g_i}$. Согласование заключается в подборе таких значений весов ω_k, при которых различия между значениями согласуемой пары метрик, d_χ и d_Δ, минимально.

Задача машинного обучения для согласования метрик формулируется как $\arg\min_{(\omega_k)} \left[\mathrm{L}(d_\chi(\mathrm{X}_{ij}, \mathrm{X}_{ij}), d_\Delta(\Delta_{ij}, \Delta_{ij}))\right], i = 1,\ldots,N,\ j = 1,\ldots,n$, где L – используемая функция потерь (дисперсия, стандартное отклонение и т.п.). Соответственно, в результате обучения алгоритма «химическое расстояние» $d_\chi(\mathrm{X}_{i1}, \mathrm{X}_{i2})$ между парой молекул X_{i1} и X_{i2} соответствует различию в значениях площади под кривой Δ_{i1} и Δ_{i2}, отражаемых метрикой $d_\Delta(\Delta_{i1}, \Delta_{i2})$ с точностью до линейного преобразования y_i, т.е. $d_\Delta(\Delta_{i1}, \Delta_{i2}) = y_i(d_\chi(\mathrm{X}_{i1}, \mathrm{X}_{i2})) = a_{\chi\to\Delta} d_\chi(\mathrm{X}_{i1}, \mathrm{X}_{i2}) + b_{\chi\to\Delta}$.

В целом, на первом этапе хемомикробиомного анализа для *i*-го микроорганизма,

описываемого столбцом g_i таблицы **T**, проводится «обучение» алгоритмов для вычисления химических расстояний d_χ. На втором этапе, для исследуемой молекулы X рассчитываются расстояния $d_\chi(X, X_{ij})$ до всех хемографов X_{ij} столбца $g_i = (X_{ij}, \Delta_{ij})^T$ и, по формуле $d_\Delta = y_i(d_\chi)$, вычисляются оценки расстояний d_Δ от искомого значения Δ_X до известных значений Δ_{ij} столбца g_i. Затем, для каждой j-ой молекулы по формуле $\Delta_{Xj} = d^{-1}(d_\Delta, \Delta_{ij})$ вычисляются оценки искомого значения площади под кривой роста микроорганизма, образующие множество чисел $A = \{\Delta_{X_1}, \Delta_{X_2}, ...\Delta_{Xj}, ..., \Delta_{Xn}\}$, к которому применяется оператор $\hat{\varphi}(x)$ для формирования эмпирической функции распределения (э.ф.р.), так что $\hat{\varphi}(x)A = \sup\left|\{B \subseteq A \mid \forall a \in B : a \le x\}\right| / \left|A\right|$, $x \in R$. С использованием полученной э.ф.р. $\hat{\varphi}(x)A$ искомое значение площади под кривой Δ_X вычисляется как математическое ожидание $\hat{\varphi}(x)A$, а точность вычисления Δ_X – как стандартное отклонение $\hat{\varphi}(x)A$. Представленные далее в тексте и на рисунках оценки площади под кривой были получены как математическое ожидание и дисперсия соответствующей эмпирической функции распределения. Аналогичным образом проводится оценка значений статистической значимости (P) и стандартных значений площади под кривой.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного нами хемомикробиомного анализа были получены прогнозы значений площади AUC под кривой роста. Для дальнейшего анализа были отобраны только те данные, которые соответствовали значениям AUC, статистически значимо отличающимся от контрольных экспериментов ($P<0.05$ при сравнении со стандартной средой выращивания бактерий) и со значениями стандартных отклонений значений AUC, не превышающими погрешность метода (в среднем, 0.2 у.е. площади под кривой). Полученные результаты суммированы на Рис. 2 (*на цветной вклейке в журнал*).

В среднем по репрезентативной выборке микробиоты лактитол в большей степени поддерживал рост всех бактерий-комменсалов.

При последующем рассмотрении результатов хемомикробиомного анализа мы использовали значения «уровня биобезопасности» (УББ), которые известны для всех штаммов микроорганизмов, перечисленных в Таблице 1. Значения УББ приблизительно соответствуют различию между «патогенными» и «непатогенными» штаммами, но с весьма практической точки зрения – необходимым мерам безопасности при проведении экспериментов с данным штаммом.

Как известно, *уровень биобезопасности 1 (УББ-1)* соответствует микроорганизмам, которые не вызывают заболевания у здоровых людей и полностью соответствует стандартным правилам работы в лаборатории. Используется для работы с микроорганизмами, которые не вызывают развитие инфекций у здоровых взрослых.

Уровень биобезопасности 2 (УББ-2) соответствует микроорганизмам с умеренной потенциальной опасностью. Это включает в себя различные микробы, которые вызывают легкие заболевания у людей, но трудно переносятся воздушно-капельным путем. При выполнении стандартных микробиологических процедур с этими возбудителями можно работать на открытых лабораторных столах, особенно если используются первичные барьеры, такие как защитная маска, халат и перчатки. Возможно использование боксов биологической безопасности и безопасной центрифуги [18]. Заметим, что все четыре патобионта (*Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Fusobacterium nucleatum*, энтеротоксигенный штамм *B. fragilis*), вошедшие в репрезентативную выборку микробиоты (Таблица 1), соответствуют уровню биобезопасности УББ-2.

Одним из центральных обобщающих результатов хемомикробиомного анализа является установление достоверных корреляций между уровнем биобезопасности и эффектами различных пребиотиков на рост бактерий-комменсалов (Рис. 3 *на цветной вклейке*). Диаграмма на Рис. 3 наглядно иллюстрирует кардинальные отличия между лактитолом и рассмотренными пребиотическими молекулами сравнения. А именно, лактулозе, сорбиту, ксилиту, фруктозе соответствуют бóльшие значения площади под кривой роста бактерий-комменсалов уровня УББ-2, чем в случае комменсалов уровня УББ-1 (т.е. отмечаются положительные значения наклона корреляционной прямой). Среди исследованных молекул только в случае лактитола было отмечено отрицательное значение наклона корреляционной прямой (–0.02). Иначе говоря, в то время как другие пребиотики преимущественно поддерживают рост бактерий-комменсалов уровня УББ-2, *лактитол в одинаковой мере поддерживает рост и комменсалов уровня УББ-1, и комменсалов уровня УББ-2.*

Воздействие исследованных пребиотиков на рост патогенных штаммов

Несмотря на очевидные полезные эффекты многих представителей бактерий-комменсалов уровня УББ-2 (см. далее), данный уровень включает такие очевидно патогенные бактерии, как *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens DSM 756*, *Fusobacterium nucleatum DSM 15643* и др. Важно подчеркнуть, что *лактитол не поддерживал рост этих патогенных бактерий в большей мере, чем тот или иной пребиотик сравнения.*

C. difficile (лактитол AUC=0.837, молекулы сравнения AUC=0.611…0.863) входят в состав нормальной микрофлоры ЖКТ, найдена в кишечнике 50% новорожденных, и у 3–15% здоровых детей старше 2 лет и взрослых. Количество *Clostridium difficile* в составе нормальной микрофлоры кишечника здорового взрослого человека не должно превышать 0,01–0,001%. Инфекции, вызванные токсико-

генными штаммами *C. diffi cile*, являются основной причиной диареи в больницах. Токсикогенные штаммы продуцируют токсин А (энтеротоксин), токсин В (цитотоксин). *Clostridium diffi cile* – достаточно распространенная причина (30% случаев) антибиотик-ассоциированной диареи (ААД) – одного из осложнений, встречающееся у 5–25% пациентов, принимающих антибиотики. У пациентов, получающих ингибиторы протонной помпы или Н2-блокаторы, применяемые для подавления кислотопродукции в желудке, частота диарей, ассоциированных с инфекцией Clostridium diffi cile, увеличивается на 65%.

C.perfringens DSM 756 (лактитол AUC=0.423, молекулы сравнения AUC=0.152…0.469) относят к условно-патогенной микрофлоре человека. Они представлены в кишечнике 25–35% здоровых людей. *Clostridium perfringens*, серотип А, а также некоторые другие виды клостридий, при попадании в не подвергшиеся первичной хирургической обработке раны или раневые карманы могут вызывать анаэробную гангрену. *Clostridium perfringens*, серотип F, может быть причиной некротического энтерита «А05.2 Пищевое отравление, вызванное *Clostridium perfringens* (*Clostridium welchii*)» (некротический энтерит), «В96.7 *Clostridium perfringens* как причина болезней, классифицированных в других рубриках».

Не поддерживал лактитол и рост *Bacteroides fragilis* в большей степени, чем молекулы сравнения: *Bacteroides fragilis HM-20* лактитол AUC= 0.868, молекулы сравнения AUC=0.641…0.831), *Bacteroides fragilis enterotoxigenic ATCC43860* (лактитол AUC=0.501, молекулы сравнения AUC= 0.323…0.597), *Bacteroides fragilis nontoxigenic DSM 2151* (лактитол AUC=0.774, молекулы сравнения AUC=0.549…0.764). Основное место обитания *B. fragilis* – толстая кишка, составляет около половины всех микробных клеток в экскрементах здоровых людей. Нарастание содержания *B. fragilis* в кишечнике человека коррелирует с выраженностью газообразования [19]. В норме *B. fragilis* и другие бактероиды отсутствуют во внутренних органах, изолированных от кишечника (почки, селезенка, легкие, сердце и др.). После травм, оперативных вмешательств, инструментальных исследований, при распаде опухолей, перитоните бактероиды, попадая в кровь, стимулируют развитие различных гнойно-воспалительных заболеваний. Абнормальное возрастание колонии бактероидов наблюдается при хроническом язвенном колите, хроническом тонзиллите, цервиците, эндометрите и инфекциях малого таза, а также простатите и уретрите. Поэтому, в МКБ-10 введена рубрика «В96.6 *Bacteroides fragilis* как причина болезней, классифицированных в других рубриках».

Bilophila wadsworthia ATCC49260 (лактитол AUC= 0.805, молекулы сравнения AUC= 0.679…0.819) – нормальная флора ЖКТ, иногда встречается в слюне. Нарастание содержания *Bacteroides fragilis* и *Bilophila wadsworthia* ассоциировано с выраженным газообразованием. Несмотря на то, что *Bilophila wadsworthia* составляет менее 0,01% нормальной желудочно-кишечной микробиоты человека, она является третьим наиболее распространенным анаэробом, среди обнаруживаемых в микробиоте у пациентов с тяжелым течением аппендицита – перитонитом и др. [20].

Хемомикробиомный анализ показал, что лактитол и молекулы сравнения оказывали схожее действие на рост *F. nucleatum DSM 15643* (лактитол AUC=0.820, молекулы сравнения AUC=0.626…0.818). *F. nucleatum polymorphum* и *animalis* – доминирующий вид среди 400 видов бактерий зубного налета человека. *Fusobacterium nucleatum* часто является причиной различных заболеваний десен и других мягких тканей ротовой полости человека. Некоторые подвиды (*F. nucleatum polymorphum* и *animalis*) способны проникать между клетками стенок кровеносных сосудов и, перемещаясь с кровотоком, достигать различные части организма хозяина, образуя там колонии. Эти колонии запускают воспалительные процессы, которые могут привести к образованию атеросклеротических бляшек, эрозии костной и хрящевой ткани суставов при артрите или заболеваниях легких, а также провоцировать заболевания мозга, печени, инфекций репродуктивных органов.

Воздействие исследованных пребиотиков на рост лакто- и бифидобактерии микробиоты

Хемомикробиомный анализ показал, что все исследованные пребиотики в одинаковой мере поддерживали рост *Lactobacillus paracasei ATCC SD5275* (AUC=0.711…0.791, нет статистически значимых различий). Среди исследованных молекул только лактитол оказывал существенно большее влияние на рост штамма бифидобактерий *Bifidobacterium adolescentis DSM 20083* (лактитол AUC=0.639, молекулы сравнения AUC=0.11..0.12) и штамма *Bifidobacterium longum DSM 20219* (лактитол AUC=0.642, молекулы сравнения AUC=0.17…0.18). Действительно, о действии молекул сравнения на данные штаммы бифидобактерий в базе данных PUBMED информации не имеется.

Бифидобактерии – важнейший представитель микробиома человека (удельный вес в составе микробиоценозов составляет до 85%). Бифидобактериям принадлежит ведущая роль в нормализации микробиоценоза кишечника, поддержании неспецифической резистентности организма, улучшении процессов всасывания и гидролиза жиров, белкового и минерального обмена. Бифидобактерии вырабатывают уксусную, молочную, янтарную кислоты, синтезируют аминокислоты, белки, витамины В1, В2, В6, В12, РР и фолаты. Дефицит бифидобактерий является одним из патогенетических факторов хронических расстройств пищеварения. Большая часть бифидобактерий располагается в толстой кишке, формируя пристеночную и просветную, динамичную микробиоту.

Бифидогенные факторы, преимущественно углеводного происхождения, влияют на заселение пищеварительного тракта новорожденного бифидобактериями, которые являются для них наиболее естественными и полноценными симбионтами. Дети на искусственном вскармливании

без соответствующей коррекции препаратами-про- и пребиотиками имеют дисбиотические нарушения микрофлоры разной степени. Отклонения в составе микрофлоры детей, находящихся на искусственном вскармливании бывают настолько существенны, что это сопровождается выраженной клинической симптоматикой (чаще всего, в виде хронической диареи) [19].

Кроме бифидо- и лактофлоры, лактитол оказывал выраженное положительное воздействие на рост эубактерий *Eubacterium eligens DSM 3376* (лактитол AUC=0.782, молекулы сравнения AUC=0.236…0.416) и *Eubacterium rectale DSM 17629* (лактитол AUC=0.594, молекулы сравнения AUC=0.189…0.529). Эубактерии являются типичной нормофлорой ЖКТ и составляют значительную часть от всех населяющих желудочно-кишечный тракт микроорганизмов. *Эубактерии метаболизируют углеводы с накоплением КЦЖК – масляной, уксусной, муравьиной*, используемых энтероцитами. КЦЖК полезны для колоноцитов (клеток эпителия слизистой оболочки толстой кишки), увеличивая выработку энергии и деление клеток. Большинство видов эубактерий (28 из 30) являются сахаролитическими, то есть способными ферментировать углеводы с накоплением смеси короткоцепочечных жирных кислот [19]. Отдельные штаммы сахаролитических эубактерий также могут синтезировать витамины, в частности кобаламин, аминокислоты (аланин, валин, изолейцин), расщеплять целлюлозу, участвовать в обмене стероидных гормонов. Эубактерии *Eubacterium rectale* входят в состав микробиома толстой кишки и являются основными продуцентами масляной кислоты, чрезвычайно важной для здоровья кишечника.

Воздействие исследованных пребиотиков на синтез масляной кислоты и других короткоцепочечных жирных кислот микробиотой

Важным различием между комменсалами уровней УББ-1 и УББ-2 является *преобладание продуцентов масляной кислоты (бутират-аниона) и других короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) именно среди комменсалов уровня УББ-1*. Бутират-анион способствует улучшению митохондриального дыхания, предотвращению чрезмерной аутофагии и нарушений морфологии колоноцитов [21].

Лактитол поддерживает рост эубактерий *Eubacterium rectale DSM 17629* (лактитол AUC=0.594, молекулы сравнения AUC=0.189…0.529), которые входят в состав микробиома толстой кишки и являются основными продуцентами масляной кислоты (наряду с *Eubacterium ramulus*, *Eubacterium hallii*, *Roseburia faecis*, *Roseburia cecicola*, *Faecalibacterium prausnitzii* и *Coprococcus*). Употребление в пищу большого количества клетчатки увеличивает количество *Eubacterium rectale* в кишечнике. Наоборот, при переходе с растительной на животную пищу количество бактерий кишечника, отвечающих за усвоение растительных полисахаридов (*Eubacterium rectale*, *Ruminococcus bromii* и *Roseburia*) уменьшается.

В продукции масляной кислоты также участвуют непатогенные клостридии *Clostridium bolteae DSM 15670* (лактитол AUC=0.828, молекулы сравнения AUC=0.583…0.826). *Clostridium bolteae* входят в состав нормальной микрофлоры кишечника, кожи и полости рта человека и продуцируют короткоцепочечные жирные кислоты: *масляную, изомасляную, валериановую, капроновую, изовалериановую, изокапроновую* [19]. *Clostridium saccharolyticum DSM 2544* (лактитол AUC=0.732, молекулы сравнения AUC=0.554…0.737) метаболизируют различные сахара для употребления другими представителями микробиома ЖКТ.

В синтезе других КЦЖК участвуют определенные комменсалы уровня УББ-2. Например, *Collinsella aerofaciens DSM 3979* (лактитол AUC=0.681, молекулы сравнения AUC=0.298…0.683) ферментируют глюкозу, маннозу, галактозу, фруктозу, мальтозу и лактозу, не ферментируют арабинозу, ксилозу, мелизитозу, растворимый крахмал, гликоген, маннитол, сорбитол, инозитол или эритритол [22]. *Parabacteroides distasonis DSM 20701* (лактитол AUC=0.685, молекулы сравнения AUC=0.416…0.683) метаболизируют целлобиозу, глюкозу, лактозу, D-маннозу, D-мелецитозу, D-рафинозу, L-рамнозу, сахарозу, ксилозу, но не глицерин, маннитол или сорбитол.

Важной ролью комменсалов уровня УББ-2 является *переработка сложных полисахаридных цепей, поступающих с пищей (в частности, пищевых волокон)*. Бактероиды *B. xylanisolvens HM-722* (лактитол AUC=0.852, молекулы сравнения AUC=0.593…0.812) участвуют в расщеплении ксилана, продуцируют ацетат и пропионат [23]. Bacteroides ovatus ATCC-8483 (лактитол AUC=0.640, молекулы сравнения AUC=0.221…0.827), нормальные обитатели кишечника человека (1..3%), расщепляют длинные цепи полисахаридов пищевых волокон и продуцируют янтарную и фенилуксусную кислоты. Парабактероиды *Parabacteroides merdae 19495* (лактитол AUC=0.807, молекулы сравнения AUC=0.518…0.781) продуцируют внеклеточные ферменты, которые способствуют расщеплению сложных полисахаридов (целлюлоза, гемицеллюлоза, мукополисахариды) [24].

Таким образом, лактитол в бóльшей степени, чем молекулы сравнения, стимулирует бутират-продуцирующие микроорганизмы. Это является одним из важнейших факторов положительного эффекта лакитола.

Воздействие исследованных пребиотиков на рост комменсалов, участвующих в регуляции врожденного иммунитета

Иммуномодулирующие эффекты исследованных представителей микробиома связаны, в частности, с увеличением продукции масляной кислоты. Ингибируя сигнальные пути IFN-γ/STAT1 и HDAC [25], бутират–анион является критическим медиатором воспалительного ответа толстой кишки [26]. В дополнение к упоминаемым выше эубактериям и др., в синтезе масляной кислоты также принимают участие *Roseburia intestinalis DSM 14610* (лактитол AUC=0.489, молекулы срав-

нения AUC=0.244…0.397). *Roseburia intestinalis* продуцируют бутират-анион, необходимый для реконструктивных процессов в кишечной стенке посредством восстановления популяции колоноцитов. При ожирении и нарушении толерантности к глюкозе характерно уменьшение содержания видов, активно вырабатывающих бутират (*Roseburia intestinalis*, *Faecalibacterium prausnitzii* и др.). Сниженное содержание *Roseburia intestinalis* в кишечнике также отмечено у пациентов с болезнью Паркинсона [26].

Помимо синтеза масляной кислоты, исследованные представители микробиома проявляют и более специфические иммуномодулирующие эффекты. Например, *Blautia obeum DSM 25238* (лактитол AUC=0.718, молекулы сравнения AUC= 0.232…0.667), один из основных компонентов микробиома толстого кишечника человека (5%), ограничивает колонизацию холерных вибрионов. Данный эффект осуществляется за счет повышения экспрессии гена luxS, кодирующего синтазу аутоиндуктора 2 (АИ-2). Молекула АИ-2 усиливает формирование бактериальных пленок нормальной микробиоты, предотвращает адсорбцию холерных вибрионов и подавляет оперон tcp холерных вибрионов, участвующий в синтезе холерного токсина [27].

Лактитол поддерживает рост руминококков *Ruminococcus bromii ATCC27255* (лактитол AUC=0.692, молекулы сравнения AUC=0.410…0.630), *R. gnavus ATCC29149* (лактитол AUC=0.796, молекулы сравнения AUC=0.084…0.731) и *R. torques ATCC27756* (лактитол AUC=0.775, молекулы сравнения AUC=0.579…0.769), которые являются одним из доминантных видов бактерий толстой кишки человека (7-е место по распространенности). Руминококки участвуют в переработке пищевых крахмалов и в усвоении других растительных полисахаридов. При переходе с растительной на животную пищу в ЖКТ быстро снижается размер популяции *Ruminococcus bromii*, *Roseburia* и *Eubacterium rectale*. Снижение популяции руминококков соответствует снижению антибактериального иммунитета, т.к. руминококки продуцируют антибактериальное соединение руминококцин А, активный против патогенных клостридий [28].

Комменсалы *Roseburia hominis DSM 16839* (лактитол AUC=0.483, молекулы сравнения AUC=0.105…0.155) регулируют иммунитет, производя *антимикробные пептиды,* поддерживая барьерную функцию и регулируя Т-лимфоциты [29], может использоваться как пробиотик для лечения язвенных колитов.

Бактерия-комменсал уровня УББ-2, *Streptococcus salivarius DSMZ 20560* (лактитол AUC=0.722, молекулы сравнения AUC=0.722…0.885), является одним из первых колонизаторов ротовой полости человека, верхних дыхательных путей и кишечника после рождения. Стрептококки *S. Salivarius* способствуют барьерному иммунитету слизистых и регулируют воспалительный ответ. В частности, *некоторые штаммы S. salivarius продуцируют бактериоцины, которые относятся к классу лантибиотиков* – антимикробных полипептидов, содержащих редкие тиоэфирные аминокислоты лантионин и метиллантионин. *S. salivarius* обладает потенциалом в качестве пробиотика в микробиоме полости рта, снижая зубной налет за счет продуцирования бактерироцинов против *Streptococcus mutans*, вызывающих разрушение зубов [30], способствуя снижению халитоза (плохой запах изо рта) [31].

Таким образом, лактитол в большей мере стимулирует иммуномодулирующие микроорганизмы, чем молекулы сравнения.

Другие полезные функции исследованных комменсалов микробиоты ЖКТ, активность которых поддерживается пребиотиками

Упоминаемые выше бифидобактерии вырабатывают уксусную, молочную, янтарную кислоты, синтезируют аминокислоты, белки, витамины B1, B2, B6, B12, PP и фолаты. Лактитол также поддерживает рост штаммов кишечной палочки *E. coli ED1a* (лактитол AUC=0.922, молекулы сравнения AUC=0.711…0.923) и *E.coli IA11* (лактитол AUC=0.856, молекулы сравнения AUC=0.601…0.856), которые вырабатывают витамины B1, B2, B3, B5, B6, биотин, B9, B12, КЦЖК (уксусную, муравьиную, молочную, янтарную), участвуют в обмене холестерина, билирубина, холина, желчных кислот, оказывает влияние на всасывание железа, кальция, магния. *E. coli* являются основными конкурентами условно-патогенной микрофлоры в отношении заселения ими кишечника. Кроме того, *E. coli ED1a* и *E. coli IA11*, равно как и другие непатогенные штаммы *E. coli*, *абсорбируют из просвета кишечника кислород, который мешает метаболизму анаэробных бифидо- и лактобактерий.*

Комменсалы уровня УББ-2 способствуют всасыванию жиров. Так, *Clostridium ramosum DSMZ 1402* (лактитол AUC=0.685, молекулы сравнения AUC=0.236…0.751) входящие в состав кишечной флоры человека, при диете с высоким содержанием жиров способствуют усилению усвоения углеводов и жиров [32]. *Eggerthella lenta DSM 2243* (лактитол AUC=0.898, молекулы сравнения AUC=0.537…0.858), обитающая у здоровых людей в толстой и тонкой кишке, содержит гидролазу желчных кислот, активация которой способствует колонизации стенок кишечника лактобактериями [33].

Заключение

Пребиотические молекулы существенно различаются по воздействию на различные бактерии микробиоты человека, по-разному влияют на микробиом. Анализ воздействия произвольного пребиотика на спектр представителей микробиоты важен для комплексной оценки его пребиотического действия.

Сравнительный хемомикробиомный анализ лактитола, лактулозы, сорбита, ксилита и фруктозы, проведенный с использованием современных

технологий искусственного интеллекта, позволил получить оценки значений площади под кривой роста для 36 организмов-комменсалов и вычислить профили воздействия пребиотиков на микробиоту (Рис. 4 *на вклейке*).

Лактитол отличается более благоприятным спектром воздействия на микробиом, чем другие исследованные пребиотики.

Во-первых, лактитол в большей, чем молекулы сравнения, степени стимулирует рост популяции бифидобактерий и полезных эубактерий.

Во-вторых, лактитол в большей, чем молекулы сравнения, степени стимулирует микроорганизмы-продуценты масляной и других коротокоцепочечных жирных кислот, что способствует снижению воспаления в ЖКТ и эффективному восстановлению популяции колоноцитов.

В-третьих, лактитол в большей, чем молекулы сравнения, степени способствует росту бактерий комменсалов, синтезирующих аутоиндуктор-2 (способствует формированию биопленок полезной микробиоты), руминококцин А, бактериоцинов и других антибактериальных пептидов (способствуют гибели патогенных клостридий и кариогенных бактерий, вызывающих разрушение зубов).

Таким образом, результаты хемомикробиомного анализа позволяют утверждать, что лактитол способствует росту бутират-продуцирующей флоры, улучшающей состояние колоноцитов, предотвращает негативные последствия синдрома повышенной проницаемости кишечника на соматическое здоровье (развитие неалкогольной жировой болезни печени, инсулинорезистентности, хронического воспаления, аллергических заболеваний, патологий кожи и др.). Лактитол, поддерживая здоровье микробиома, не вызывает привыкания. Практически единственный побочный эффект лактитола – дозозависимый метеоризм. При этом, чрезмерный метеоризм при приеме лактитола, как правило, отмечается упациентов с дисбактериозом и синдромом раздраженного кишечника. Детоксикационный эффект лактитола, отсутствие негативного воздействия на липидный и гликемический профили крови, отсутствие значимых побочных эффектов и делают лактитол важным инструментом в терапии дисбактериозов ЖКТ. Высокая безопасность и дозозависимый слабительный эффект позволяют эффективно использовать лактитол для лечения запоров. Отметим, что эффективная (достижение одного мягкого стула в сутки) и хорошо переносимая пациентом доза лактитола для лечения запора подбирается индивидуально. Согласно действующей инструкции по медицинскому применению (ИМП) (ЛСР-003898/07–211118) лактитол для лечения запора применяют в дозе 20 г в сутки, однако в ИМП отмечено, что в ряде случаев для получения необходимого эффекта достаточно бывает и 10 г лактитола в сутки. В то же время, в некоторых исследованиях описано, что для достижения одного мягкого стула в сутки некоторым пациентам с запорами потребовалось назначение 40 г лактитола в сутки [34]. Увеличение выработки масляной кислоты, происходящее при ферментации лактитола, способствует восстановлению барьерной функции кишечника и улучшению трофики колоноцитов. Последнее позволяет рассматривать применение лактитола как перспективное направление в профилактике и лечении заболеваний печени и других состояний, связанных с всасыванием токсинов из кишечного транзита.

Авторы приносят глубокую благодарность проф. Борису Аркадьевичу Шендерову за консультирование статьи по вопросам микробиологии.

Работа выполнена по гранту № 17-07-01419 РФФИ.

Литература | References

1. *Gibson, G.R.; Probert, H.M.; van Loo, J.; Rastall, R.A.; Roberfroid, M. B.* Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. Nutr. Res. Rev. 2004, 17, 259–275
2. *Vasquez KS, Shiver AL, Huang KC.* Cutting the Gordian Knot of the Microbiota. Mol Cell. 2018 Jun 7;70(5):765–767. doi: 10.1016/j.molcel.2018.05.034. Epub 2018 Jun 7. PubMed ID:29883604
3. *Shawcross DL, Jalan R.* Treatment of hepatic encephalopathy: it's not lactulose.BMJ. 2004 Jul 10;329(7457):112; author reply 112. doi: 10.1136/bmj.329.7457.112. PubMed ID:15242927
4. *Maguire A, Rugg-Gunn AJ.* Xylitol and caries prevention – is it a magic bullet? Br Dent J. 2003 Apr 26;194(8):429–36. doi: 10.1038/sj.bdj.4810022. PubMed ID:12778091
5. *Grimble GK, Patil DH, Silk DB.* Assimilation of lactitol, an 'unabsorbed' disaccharide in the normal human colon. Gut. 1988 Dec;29(12):1666–71. PubMed ID:3220306
6. *Andersen JM, Barrangou R, Hachem MA, Lahtinen SJ, Goh YJ, Svensson B, Klaenhammer TR.* Transcriptional analysis of prebiotic uptake and catabolism by Lactobacillus acidophilus NCFM.PLoS One. 2012;7(9): e44409. doi: 10.1371/journal.pone.0044409. Epub 2012 Sep 19. PubMed ID:23028535
7. *Torshin I. Y., Rudakov K. V.* On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs: Part 2. local completeness of invariants of chemographs in view of the combinatorial theory of solvability // Pattern Recognition and Image Analysis. – 2014. – Vol. 24, no. 2. – P. 196–208.
8. *Torshin I. Yu, Rudakov K. V.* On metric spaces arising during formalization of problems of recognition and classification. Part 2: Density properties. Pattern Recognit. Image Anal. (2016) Vol. 26. № 3. p. 483–496.
9. *Torshin I. Y., Rudakov K. V.* On metric spaces arising during formalization of recognition and classification problems. Part 1: Properties of compactness. Pattern Recognition and Image Analysis, 2016, Vol 26, № 2, p. 274–284.
10. *Torshin I. Y.* On solvability, regularity, and locality of the problem of genome annotation. Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications). 2010. T. 20. № 3. p. 386–395.

11. *Torshin I. Yu, Rudakov K. V.* On the theoretical basis of metric analysis of poorly formalized problems of recognition and classification. Pattern Recognition and Image Analysis (2015). Vol. 25. № 4. p. 577–587.
12. *Torshin I. Yu, Rudakov K. V.* On the procedures of generation of numerical features over the splits of a set of objects and the problem of prediction of numeric target variables. Pattern Recognition and Image Analysis (2019). Vol. 29. № 3. p. 65–75.
13. *Barclay T, Ginic-Markovic M, Johnston MR, Cooper P, Petrovsky N.* Observation of the keto tautomer of D-fructose in D(2) O using (1) H NMR spectroscopy.Carbohydr Res. 2012 Jan 10;347(1):136–41. doi: 10.1016/j.carres.2011.11.003. Epub 2011 Nov 12. PubMed ID:22129837
14. *Maier L, Pruteanu M, Kuhn M, Zeller G, Telzerow A, Anderson EE, Brochado AR, Fernandez KC, Dose H, Mori H, Patil KR, Bork P, Typas A.* Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. Nature. 2018 Mar 29; 555(7698):623–628. doi: 10.1038/nature25979. PMID: 29555994
15. A framework for human microbiome research.Nature. 2012 Jun 13;486(7402):215–21. doi: 10.1038/nature11209. PubMed ID:22699610
16. The Integrative Human Microbiome Project: dynamic analysis of microbiome-host omics profiles during periods of human health and disease.Cell Host Microbe. 2014 Sep 10;16(3):276–89. doi: 10.1016/j.chom.2014.08.014. PubMed ID:25211071
17. *Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, Li Q, Shoemaker BA, Thiessen PA, Yu B, Zaslavsky L, Zhang J, Bolton EE.* PubChem 2019 update: improved access to chemical data. Nucleic Acids Res. 2019 Jan 8;47(D1): D1102-D1109. doi: 10.1093/nar/gky1033. PubMed ID:30371825
18. *Barkham TM.* Laboratory safety aspects of SARS at Biosafety Level 2.Ann Acad Med Singapore. 2004 Mar;33(2):252–6. PubMed ID:15098644
19. *Алешкин В. А., Афанасьев С. С., Караулов А. В., Воропаева Е. А., Афанасьев М. С., Алешкин А. В., Несвижский Ю. В., Гостищев В. К., Дятлов И. А., Евсегнеева И. В., Фирстова В. В., Леванова Л. А., Кафарская Л. И., Амерханова А. М., Макаров О. В., Борисова О. Ю., Селькова Е. П., Лахтин В. М., Шемякин И. Г., Феклисова Л. В.* МИКРОБИОЦЕНОЗЫ И ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА. М., 2015.

    Aleshkin V. A., Afanasyev S. S., Karaulov A. V. et al. MICROBIOCENOSIS AND HUMAN HEALTH. Moscow, 2015.
20. *Baron EJ.* Bilophila wadsworthia: a unique Gram-negative anaerobic rod.Anaerobe. 1997 Apr-Jun;3(2–3):83–6. doi: 10.1006/anae.1997.0075. PubMed ID:16887567
21. *Donohoe DR, Garge N, Zhang X, Sun W, O'Connell TM, Bunger MK, Bultman SJ.* The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon.Cell Metab. 2011 May 4;13(5):517–26. doi: 10.1016/j.cmet.2011.02.018. PubMed ID:21531334
22. *Kassinen A, Krogius-Kurikka L, Makivuokko H, Rinttila T, Paulin L, Corander J, Malinen E, Apajalahti J, Palva A.* The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects.Gastroenterology. 2007 Jul;133(1):24–33. doi: 10.1053/j.gastro.2007.04.005. Epub 2007 Apr 14. PubMed ID:17631127
23. *Ulsemer P, Toutounian K, Schmidt J, Karsten U, Goletz S.* Preliminary safety evaluation of a new Bacteroides xylanisolvens isolate.Appl Environ Microbiol. 2012 Jan;78(2):528–35. doi: 10.1128/AEM.06641–11. Epub 2011 Nov 18. PubMed ID:22101046
24. *Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA.* Diversity of the human intestinal microbial flora.Science. 2005 Jun 10;308(5728):1635–8. doi: 10.1126/science.1110591. Epub 2005 Apr 14. PubMed ID:15831718
25. *Zimmerman MA, Singh N, Martin PM, Thangaraju M, Ganapathy V, Waller JL, Shi H, Robertson KD, Munn DH, Liu K.* Butyrate suppresses colonic inflammation through HDAC1-dependent Fas upregulation and Fas-mediated apoptosis of T cells.Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2012 Jun 15;302(12): G1405–15. doi: 10.1152/ajpgi.00543.2011. Epub 2012 Apr 19. PubMed ID:22517765
26. *Zeng H, Lazarova DL, Bordonaro M.* Mechanisms linking dietary fiber, gut microbiota and colon cancer prevention. World J Gastrointest Oncol. 2014 Feb 15;6(2):41–51. doi: 10.4251/wjgo.v6.i2.41. PubMed ID:24567795
27. *Hsiao A, Ahmed AM, Subramanian S, Griffin NW, Drewry LL, Petri WA Jr, Haque R, Ahmed T, Gordon JI.* Members of the human gut microbiota involved in recovery from Vibrio cholerae infection.Nature. 2014 Nov 20;515(7527):423–6. doi: 10.1038/nature13738. Epub 2014 Sep 17. PubMed ID:25231861
28. *Dabard J, Bridonneau C, Phillipe C, Anglade P, Molle D, Nardi M, Ladire M, Girardin H, Marcille F, Gomez A, Fons M.* Ruminococcin A, a new lantibiotic produced by a Ruminococcus gnavus strain isolated from human feces. Appl Environ Microbiol. 2001 Sep;67(9):4111–8. PubMed ID:11526013
29. *Patterson AM, Mulder IE, Travis AJ, Lan A, Cerf-Bensussan N, Gaboriau-Routhiau V, Garden K, Logan E, Delday MI, Coutts AGP, Monnais E, Ferraria VC, Inoue R, Grant G, Aminov RI.* Human Gut Symbiont Roseburia hominis Promotes and Regulates Innate Immunity. Front Immunol. 2017 Sep 26;8:1166. doi: 10.3389/fimmu.2017.01166. eCollection 2017. PubMed ID:29018440
30. *Burton JP, Drummond BK, Chilcott CN, Tagg JR, Thomson WM, Hale JD, Wescombe PA.* Influence of the probiotic Streptococcus salivarius strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial.J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875–84. doi: 10.1099/jmm.0.056663–0. Epub 2013 Feb 28. PubMed ID:23449874
31. *Burton JP, Chilcott CN, Moore CJ, Speiser G, Tagg JR.* A preliminary study of the effect of probiotic Streptococcus salivarius K12 on oral malodour parameters.J Appl Microbiol. 2006 Apr;100(4):754–64. doi: 10.1111/j.1365–2672.2006.02837.x. PubMed ID:16553730
32. *Mohandas, Rajesh; Poduval, Rajiv D.*; Unnikrishnan, Dilip; Corpuz, Marilou (2001). "Clostridium ramosum Bacteremia and Osteomyelitis in a Patient with Infected Pressure Sores". Infectious Diseases in Clinical Practice. 10 (2): 123–24. doi:10.1097/00019048–200102000–00010.
33. *Moser SA, Savage DC.* Bile salt hydrolase activity and resistance to toxicity of conjugated bile salts are unrelated properties in lactobacilli. Appl Environ Microbiol. 2001 Aug;67(8):3476–80. PMID: 11472922
34. *Ардатская М. Д. и др.* Клинико-метаболическая эффективность лактитола в терапии хронического запора (результаты неинтервенционной проспективной наблюдательной программы "OSMOAID") // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2018. – № . 2. – С. 149–160.

    Ardatskaya M. D., Butorova L. I., Grigorieva Y. V., Loginov V. A., Loshchinina Y. N., Cheremushkin S. V. Clinical-metabolic efficiency of lactitol in the therapy of chronic constipation (results of the non-interventional prospective observation program "OSMOAID"). Experimental and Clinical Gastroenterology. 2018;(2):149–160. (In Russ.)

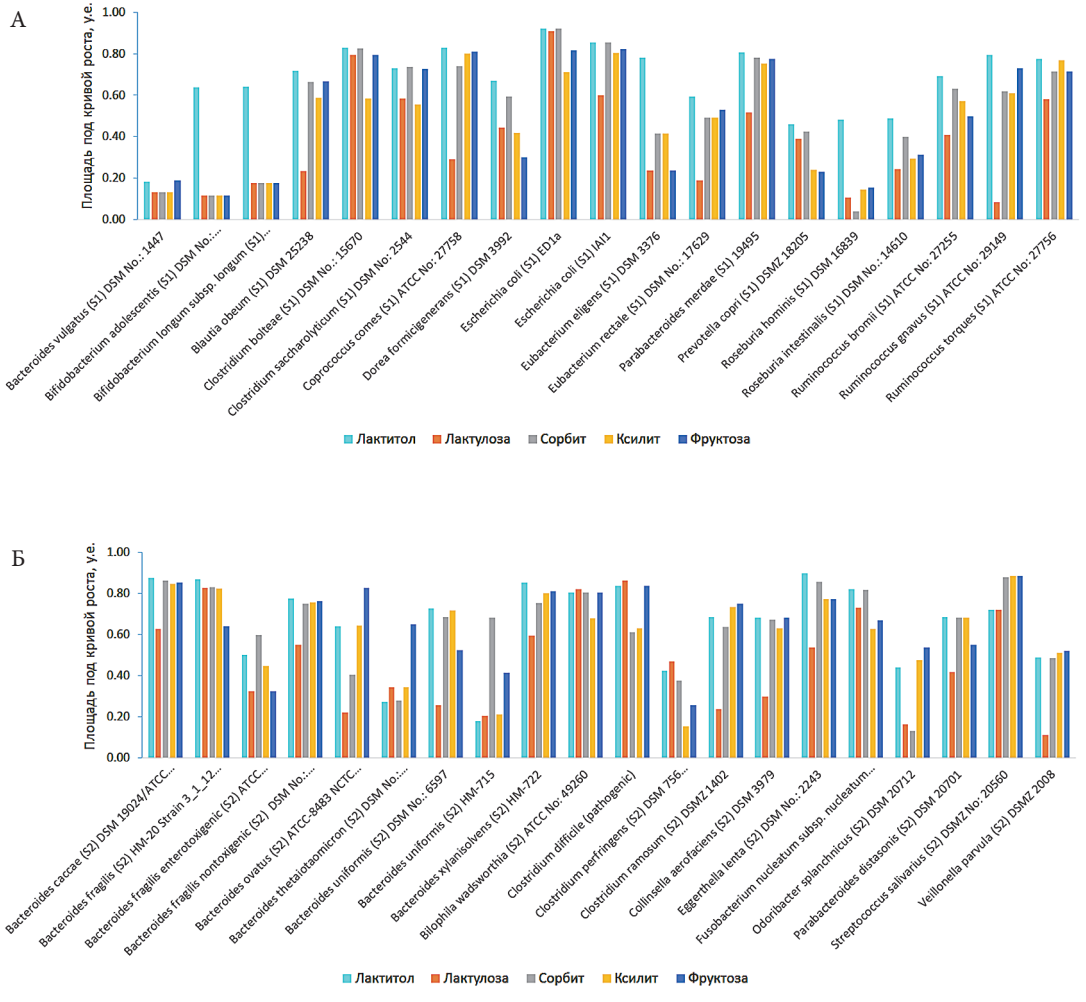
К статье

Хемомикробиомный анализ Лактитола (стр. 111–121)

To article

Hemomikrobiomny lactitol analysis (p. 111–121)

Рисунок 2.
Значения площади под кривой, статистически значимо отличающиеся от контроля, полученные в результате проведения хемомикробиомного анализа.
(А) Штаммы, соответствующие уровню биобезопасности УББ-1 (*см. текст*).
(Б) Штаммы, соответствующие уровню биобезопасности УББ-2.



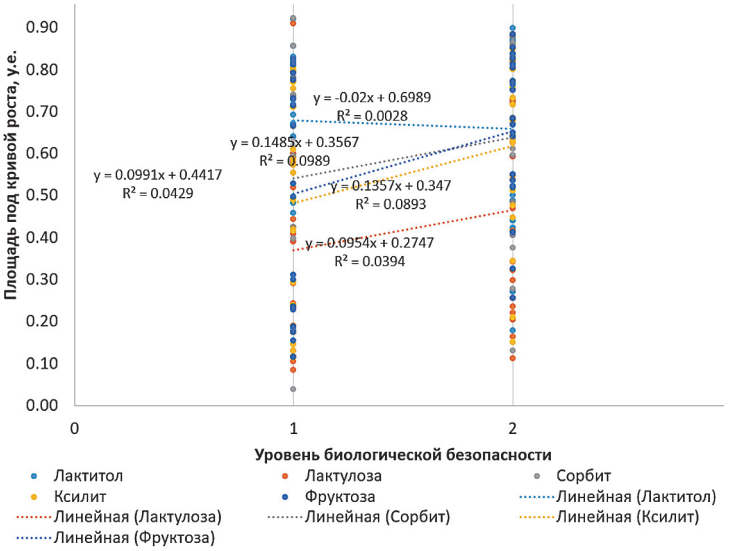


Рисунок 3.
Корреляции между уровнем биобезопасности и эффектам различных пребиотиков на рост бактерий-комменсалов микробиома ЖКТ человека. R^2, значения квадрата коэффициента корреляции.

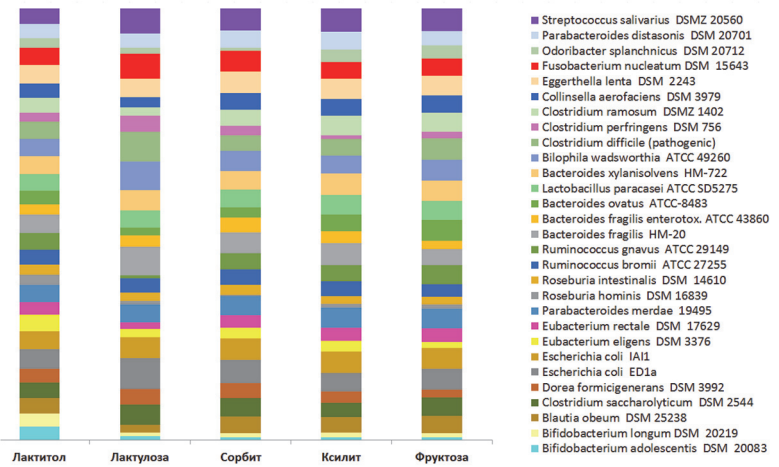


Рисунок 4.
Профили воздействия исследованных пребиотиков на микробиоту. Ширина каждого прямоугольника пропорциональна соответствующему значению площади под кривой роста соответствующего комменсала.