

УДК 615.53.616.34

Н.І.Філімонова, В.О.Пасісниченко, Мохамад Мехді Ельааті

*Національний фармацевтичний університет***ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВІДТВОРЕННЯ ДИСБІОЗУ КИШЕЧНИКА ПІД ВПЛИВОМ ЗАСТОСУВАННЯ НЕСТЕРОЇДНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ**

Розроблена експериментальна модель, адекватна клінічним формам дисбактеріозів кишечника. Для відтворення експериментальної моделі використані морські свинки. В якості етіологічного індуктора застосований диклофенак натрію як поширений у клінічній фармакології представник нестероїдних протизапальних препаратів. На підтвердження відтвореного дисбактеріозу ШКТ за клінічними ознаками свідчила реєстрація погіршеного загального клінічного стану і розвиток гастропатій. Одночасно за мікробіологічними показниками ефективність у відтворенні дисбактеріозу ШКТ контролювалася реєстрацією спрямованих змін у вихідній структурі мікробіоценозів піддослідних тварин, а саме зникнення біфідобактерій і клостридій з одночасною появою піогенноутворюючих транзиторних мікроорганізмів з клінічно доведеними властивостями збудників дисбактеріозів.

Ключові слова: дисбіоз; модель; морські свинки; диклофенак натрію

Одним з методів вивчення складних механізмів розвитку патологічних процесів в організмі є біологічне моделювання. Розроблена на науковій базі та підтверджена прийомами порівняльної фізіології та точними методичними прийомами, що взаємно доповнюють один одного, експериментальна модель тієї чи іншої хвороби може бути з помірною часткою ймовірності порівняна з аналогічним станом людини.

Перспективність комплексної пробіотикотерапії дисбіозів кишечника на доклінічному рівні пов'язана з наявністю адекватної за клінічно-патогенетичними проявами експериментальної моделі. При плануванні врахована відсутність стандартних методик експериментального відтворення дисбіозів кишечника. Впроваджені у доклініку методики відтворення нозологічних кишкових інфекцій не придатні до застосування при моделюванні дисбіозів, перш за все, за відмінністю етіологічних ознак. В експерименті нозологічні кишкові інфекції моделюються на етіологічній основі відповідних збудників [6]. У свою чергу, при дисбіозах ШКТ мікробному фактору належить патогенетичне значення інфекційного обтяження первинного соматичного або ятрогенно обумовленого процесу на основі патогенної активізації змін у співвідношенні

структурних компонентів вихідних екологічних мікробіоценозів.

Лабораторні види тварин за умов морфо-фізіологічної сталості відрізняються природно заданою резистентністю до захворювання на дисбіоз кишечника. Одночасно встановлено, що лабораторні тварин не зовсім достатньо придатні до випробувань клінічно ефективних пробіотиків, включаючи біфідумбактерин, лактобактерин, лінекс тощо. Аналіз стандартних методик експериментальної гастроентерології свідчить про те, що поряд з визнаними методами експериментального відтворення нозологічних кишкових інфекцій останні не придатні до моделювання дисбіозів кишечника.

Враховуючи природну резистентність лабораторних видів тварин до дисбіотичних змін мікропейзажу кишечника, в основу моделювання ми поклали спрямоване пригнічення показників природної стійкості шлунково-кишкового тракту. За мікробіологічними показниками найчастішою причиною у клінічному виникненні дисбактеріозів служать попередні або супутні соматичні захворювання і ферментопатії з боку ШКТ [1, 9, 10]. Серед останніх пріоритетне значення належить гіпо- та анацидним гастритам, клінічні прояви яких безпосередньо пов'язані з закономірними залуженнями вмісту ШКТ.

На рівні доклінічних досліджень доведено, що прогнозована якість здійснюваних експериментів залежить від адекватного за чутливістю

© Н.І.Філімонова, В.О.Пасісниченко, Мохамад Мехді Ельааті, 2012

вибору виду лабораторних тварин. Серед чинної номенклатури лабораторних видів тварин, що універсально використовуються в експериментальній хіміотерапії, пріоритет належить безпородним і лінійним мишам, білим щурам, морським свинкам і кролям [4]. За порівняльним співставленням визначено за доцільне використання в якості моделі при відтворенні експериментального дисбіозу ШКТ саме морських свинок [11]. На користь зазначеного вибору свідчило те, що за притаманними морфо-фізіологічними і алерго-імунологічними властивостями вони відносяться до найбільш чутливих видів лабораторних тварин за природною придатністю до спонтанного виникнення і штучного відтворення інфекційних захворювань ендогенного та екзогенного походження.

З урахуванням природної стійкості свинок до сталого збереження компонентної структури мікробіоценозів ШКТ в основу моделювання експериментального дисбіозу покладено спрямоване подолання органної і системної резистентності піддослідних тварин. За здійсненим теоретичним співставленням серед факторів, потенційно здатна спрямовано моделювати характерні для клінічних форм дисбіозів морфо-фізіологічні, ферментативні, мікробіологічні та імунодепресивні зсуви, пріоритетність вибору надана диклофенаку натрію. При цьому на користь здійсненого вибору свідчили наступні побічні властивості, притаманні диклофенаку натрію [3, 5, 8, 11, 12]:

- реєстрована ulcerогенна активність;
- етіотропна здатність до ініціації гастропатій;
- суттєвість ферментопатичного потенціалу, спрямованого на індукування гіпоацидних та анацидних гастритів;
- виражена імунодепресивна активність;
- пригнічення гемопоєзу;
- дисфункційний вплив на фагоцитарну систему.

Одночасно у контексті обґрунтованості застосування диклофенаку натрію в якості етіологічного фактора моделювання експериментальних дисбіозів ШКТ не обходять поза увагою новітні дані про наявність у зазначеного представника НПЗП широкого спектра помірних або фонових антимікробних властивостей [2]. Останнє дозволяє прогнозувати, що при пероральному застосуванні диклофенаку натрію поряд з переліченими фармакологічними вадами на мікробіологічному рівні може виявлятися здатність до дисбіотично значущих змін у вихідній структурі мікробіоценозу ШКТ.

Метою роботи служила розробка експериментальної моделі дисбіозу кишечника в резуль-

таті застосування нестероїдних протизапальних засобів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Моделювання дисбіозу кишечника здійснено за авторською методикою. За нівелюванням статевих розбіжностей у дослідях по моделюванню дисбіозів кишечника використано 20 морських свинок середньою масою 280-300 г, які були розподілені на 2 групи. Піддослідні тварини утримувались у віварії Національного фармацевтичного університету згідно зі стандартними санітарними нормами на необхідному харчовому раціоні. Диклофенак натрію був використаний у лікарській формі таблеток, що містили 50 мг діючої речовини. У відповідності з визначеним напрямком штучного моделювання дисбактеріозу кишечника піддослідним тваринам щодобово внутрішньошлунково вводили в дозі 20 мг/кг досліджуваній протизапальний препарат. Застосування диклофенаку натрію здійснювалось на протязі 20 діб. На підтвердження відтвореного дисбіозу ШКТ за клінічними ознаками свідчила реєстрація погіршеного загальноклінічного стану і розвиток гастропатій. Одночасно за мікробіологічними показниками ефективність у відтворенні дисбіозу ШКТ контролювалась реєстрацією спрямованих змін у вихідній структурі мікробіоценозів піддослідних морських свинок.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами постійно здійснюваного клінічного спостереження підтвердженій прогресуючий негативний вплив диклофенаку натрію на загальний клінічний стан і формування лікарськозалежних гастропатій.

Серед продромальних ознак загального клінічного вмісту як наслідок зростаючого інтоксикаційного впливу диклофенаку натрію простежені адинамія і початкові прояви у формуванні анорексії. Початкові ознаки загальних токсичних виявів набували максимуму вираженості у піддослідних тварин на 20 добу з часу спрямованого індукування диклофенаком натрію дисбіозів ШКТ.

Одночасно за гастроентерологічними ознаками у тварин з прогресуючими обтяженнями спостерігались варіативні прояви проносів і запорів, здуття черевної порожнини, відмова від їжі.

Об'єктивним діагностичним критерієм у підтвердженні індукованого дисбіозу кишечника служать результати мікробіологічних досліджень, що у порівняльному співставленні з контролем демонструють зміни у структурі мікробіоценозів кишечника (табл.).

Таблиця

**ПОРІВНЯЛЬНІ ВІДМІНИ У СТРУКТУРІ
МІКРОБІОЦЕНОЗІВ КОНТРОЛЬНОЇ ГРУПИ
І ПІДДОСЛІДНОЇ ГРУП МОРСЬКИХ
СВИНОК НА 20 ДОБУ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Тест-мікроби	Кількість мікробів в 1г матеріалу з кишечника	
	Контрольна група, n=10	Піддослідна група, n=10
Біфідобактерії	10 ^{3*}	-
Бактероїди	10 ^{7*}	10 ^{2*}
Клостридії	10 ^{4*}	-
<i>E. coli</i>	10 ^{8*}	10 ^{2*}
<i>K. pneumoniae</i>	-	10 ^{6**}
<i>P. aeruginosa</i>	-	10 ^{6**}
<i>P. mirabilis</i>	10 ^{2*}	10 ^{8*}
<i>C. albicans</i>	-	10 ^{4**}

Примітка: *P<0,001; **P<0,01

За результатами проведених мікробіологічних досліджень підтверджена індуктивна здатність диклофенаку натрію до експериментального моделювання у морських свинок дисбіозу кишечника. Так, наприклад, було встановлено, що під впливом диклофенаку натрію зі структури мікробіоценозів, у першу чергу, зникають біфідобактерії і клостридії. При цьому кількісне представництво кишкової палички зменшувалось у 4 рази. Ці зміни в структурі мікробіоценозів відповідають другому ступеню розвитку дисбіозу. Одночасно за даними здійсненого мікробіологічного тестування у компонентних складових структури піддослідних свинок простежена поява піогенноутворюючих транзитних мікроорганізмів з клінічно доведеними властивостями збудників дисбіозів. За варіативним представництвом останнє стосується *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*. Разом з цим також підтверджено збільшення питомої ваги *P. mirabilis* (табл.).

ВИСНОВКИ

Запропонований оптимально наблизений до клінічної інфектології спосіб ятрогенного відтворення дисбіозу кишечника у морських свинок на основі перорального застосування диклофенаку натрію.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Белоусова О.Ю. Дисбактериоз кишечника как фактор риска развития хронических заболеваний кишечника у детей / Белоусова О.Ю. // Здоровье ребенка. – 2011. – № 1(28). – С. 73-75.
2. Викторов А.П. Безопасность современных нестероидных противовоспалительных препаратов: [между Сциллой и Харибдой] // Укр/ревматол. журн. – 2002. – № 4. – С. 12-22.
3. Нестероїдні протизапальні препарати у ХХІ сторіччі: [користь/ризик] / О.П. Вікторов, Т.Ю. Дмитрієва, О.Є. Бази́ка, С.І. Дзяк // Укр. ревматол. журн. – 2005. – №2 (20). – С. 3-7.
4. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте:[метод. рекоменд.] – Архангельск: СГМУ, 2002.
5. Насонова В.А. Вольтарен (диклофенак натрия) в ревматологии в начале ХХІ века / В.А. Насонова // РМЖ. – 2004. – №12. – С. 1380-1385.
6. Осипова И.Г. Экспериментально-клиническое изучение споровых пробиотиков: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – М., 2006. – 48 с.
7. Шварц Г.Я. Современные нестероидные противовоспалительные средства. — М.: Реафарм, 2004. — 40 с.
8. Dysbiosis in inflammatory bowel disease / С.Р. Tamboli, С. Neut, P. Desreumaux, J.F. Colombel // Gut. – 2004. – №53. – P.1-4.
9. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease / S.J. Ott, M. Vusfeld, D.F. Wenderoth et al. // Gut. — 2004. — №53. — P. 685-693.
10. Intestinal microecology and quality of life in irritable bowel syndrome patients / J.M. Si, Y.C. Yu, V.J. Fan, S.J. Chen // World J. Gastroenterol. – 2004. – №10. – P. 1802-1805.
11. Balancing benefits and harms: the example of non-steroidal anti-inflammatory drugs / P. Dieppe, С. Bartlett, P. Davey // BMJ – 2004. – Vol. 329. – P. 31-34.
12. Proton pump inhibitors exacerbate NSAID-induced small intestinal injury by inducing dysbiosis / J.L. Wallace, S. Syer, E. Denou et al. // Gastroenterol. – 2011. – №141(4). – P.1314- 1322.

УДК 615.33:616.34

Н.И.Филимонова, В.А.Пасисниченко, Мохамад Мехди Ельаати

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ ДИСБИОЗА КИШЕЧНИКА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПРИМЕНЕНИЯ НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Разработана экспериментальная модель, адекватная клиническим формам дисбактериозов кишечника. Для воспроизведения экспериментальной модели использованы гвинейские свинки. В качестве этиологического индуктора был использован диклофенак натрия как распространенный в клинической фармакологии представитель нестероидных противовоспалительных препаратов. Подтверждением воспроизведенного дисбактериоза ЖКТ по клиническим признакам служила регистрация ухудшения общего клинического состояния и развитие гастропатий. Одновременно по микробиологическим показателям эффективность воспроизведения дисбактериоза ЖКТ контролировалась регистрацией направленных изменений в исходящей структуре микробиоценозов подопытных гвинейских свинок, а именно исчезновением бифидобактерий и клостридий с одновременным появлением пиогеннообразующих транзиторных микроорганизмов с клинически доказанными свойствами возбудителей дисбактериозов.

Ключевые слова: дисбиоз, модель, морские свинки, диклофенак натрия.

UDC 615.33:616.34

N.I. Filimonova, V.A. Pasisnychenko, Mohamad Mehdi Elaati

AN EXPERIMENTAL REPRODUCTION OF INTESTINAL DYSBIOSIS UNDER THE INFLUENCE OF NSAIDS

The aim of the research was development of experimental model relevant to clinical forms of intestinal dysbiosis. The Guinean pigs were used for reproduction of the experimental model. As an etiological inducer diclofenac sodium was used, as common in clinical pharmacology representative of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Confirmation of gastrointestinal dysbiosis reproduced on clinical grounds served as a general deterioration of the registration of clinical status and the development of gastropathy.

At the same time on microbiological efficacy in the gastrointestinal tract dysbiosis playing confirmed the disappearance of bifidobacteria and clostridia with the simultaneous appearance of transient microorganisms with clinically proven properties dysbacterioses pathogens.

Key words: dysbiosis, model, the Guinean pigs, diclofenac sodium

Адреса для листування:
м. Харків, вул. Мельнікова, 12,
НФАУ, кафедра мікробіології,
вірусології та імунології
Тел. (057) 706-30-67
E-mail: misvaleryvalery@gmail.com

Надійшла до редакції:
09.12.2011