

## ВПЛИВ ЖОВЧОРЕЗИСТЕНТНОСТІ НА ЗМІНУ ОСНОВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПРОБІОТИКІВ ТА ЇХ БАКТЕРІОЦИНОГЕННОСТІ

*І.Л.Дикий, Н.І.Філімонова, Г.Л.Велікоданов, Н.Ю.Шевельова, В.О.Місюрьова*

Національний фармацевтичний університет

*Ключові слова: пробіотики; бактеріоцини; дисбактеріози; резистентність*

*На прикладі спрямованого мікробіологічного дослідження властивостей біфідумбактерину, біфіколу, колибактерину і лактобактерину як біопрепаратів поширеного клінічного застосування, досліджені деякі проблемні питання в оцінці ефективності пробіотикотерапії дисбактеріозів кишечника. Вивчена селективна здатність колибактерину, лактобактерину, біфідумбактерину і біфіколу як чинних представників пробіотиків гастроентерального застосування до набуття жовчорезистентності. За результатами проведених досліджень доведено, що резистентні варіанти пробіотиків здійснюють культивацийні потенції шляхом утилізаційного використання метаболічно змінених жовчних та жирних кислот зі складу структурних компонентів жовчі. Доведено, що жовчорезистентні варіанти пробіотиків закономірно втрачають за інтегральними ознаками бактеріоциногенності притаманні антагоністичні властивості.*

Нормальна мікрофлора людини являє собою якийсь “екстракорпоральний орган”, що складається з мікроорганізмів, об’єднаних у єдину екологічну систему. Найважливіша функція нормальної мікрофлори — участь у кооперації з організмом хазяїна по забезпеченню колонізаційної резистентності, під якою розуміють сукупність механізмів, що додають стабільність нормальній мікрофлорі і запобігають заселенню організму хазяїна сторонніми мікроорганізмами.

Зміни нормальної мікрофлори призводять до функціональних порушень у кишечнику. Порушуються процеси травлення, всмоктування поживних речовин, регуляція газового складу кишечника, морфокінетична дія, продукція ферментів, що беруть участь у метаболізмі білків, вуглеводів, ліпідів, нуклеїнових кислот; продукція біологічно активних сполук (вітамінів, антибіотиків, гормонів та ін.); порушується водно-

електролітний обмін; пригнічується детоксикація екзогенних і ендогенних субстратів і метаболітів; втрачається здатність активізації різних субстратів і ферментів у кишечнику вмісті [1, 9, 14].

Дисбактеріоз кишечника — це якісна і кількісна зміна нормальної кишкової мікрофлори у бік збільшення числа мікробів-симбіонтів, у нормі відсутніх або присутніх у незначній кількості.

У відповідності з клінічно обґрунтованими висновками до безперечних переваг пробіотикотерапії при лікуванні дисбактеріозів кишечника, перш за все, відноситься те, що за суміщенням ознак мікроекологічної відповідності і лікувально-профілактичної ефективності вона не має паритетної альтернативи у порівнянні з іншими препаратами [8, 12].

За чинним термінологічним визначенням пробіотики — це живі мікроорганізми, що виявляють позитивний вплив на стан організму людини шляхом здійснення

протиінфекційних захисних механізмів, імуномодуляційної дії, підвищення бар’єрних функцій, метаболічних ефектів, відновлення моторики та функції кишечника [2, 6, 11, 13].

Попередньо викладений матеріал за розпорощеністю показників свідчить про поліпотентний фармакологічний потенціал, що узагальнено притаманний пробіотикам. Разом з цим слід вважати обґрунтованим, що за узагальненим знаменником у поєднанні оцінки фармакологічних властивостей пробіотиків служить їх антагоністично спрямована здатність по відношенню до відновлення фізіологічно значущої структури мікробіоценозів кишечника. Саме з цієї позиції досліджений метаболічно спрямований вплив на антимікробні властивості жовчі.

У відповідності з викладеним за мету запланованого дослідження визначено наступне:

1. В умовах спрямованого штучного культивування дослідити селективну здатність обраних пробіотиків до набуття прогресивно зростаючої жовчорезистентності.

2. Визначити можливий вплив набутої жовчорезистентності на

**І.Л.Дикий** — доктор мед. наук, професор кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Таблиця

## Селективний вплив жовчорезистентності на бактеріоциногенну функцію пробіотиків

Поточний пасаж	Вміст жовчі в МПБ, %	Тест-мікроб	Антимікробна активність бактеріоцинів, мкг/мл			
			Колібактерин	Лактобактерин	Біфідумбактерин	Біфікол
Контроль	-	S.aureus	27,3±2,8	34,4±5,2	32,6±3,2	25,7±3,4
		P.aerugenosa	60,6±7,8	56,4±6,6	53,5±6,7	43,2±4,8
10	20	S.aureus	38,5±4,4	44,7±5,8	47,6±5,3	38,4±4,7
		P.aerugenosa	78,3±5,0	73,8±5,5	70,8±7,5	65,8±5,5
25	35	S.aureus	44,4±5,7	52,7±6,7	58,4±6,6	82,7±7,4
		P.aerugenosa	84,7±6,2	86,6±7,2	90,7±7,8	105,4±7,7
40	50	S.aureus	77,5±8,5	90,2±7,8	88,5±10,4	112,7±8,5
		P.aerugenosa	104,5±8,8	110,0±8,4	120,5±14,4	138,4±10,3
50	75	S.aureus	137,6±11,7	118,6±9,2	118,4±9,6	147,5±14,4
		P.aerugenosa	184,4±14,0	210,7±12,6	167,8±11,4	210,7±16,8
75	100	S.aureus	>500	>500	>500	>500
		P.aerugenosa	>500	>500	>500	>500

параметри вихідної здатності культивованих варіантів пробіотиків до продукування бактеріоцинів.

3. На основі рівневого співставлення показників антимікробної активності вихідних зразків жовчі та відповідних до них супернатантів після спрямованого культивування мікробіологічно оцінити метаболічний вплив обраних пробіотиків на обмін жовчних кислот.

### Матеріали та методи

В якості тестованої мікробіологічної моделі використаний колекційний набір референтних штамів, включаючи: S.aureus ATCC 25923, P. aerugenosa ATCC 25853. Серед пробіотиків до дослідження залучені біфікол, біфідобактерин, колібактерин, лактобактерин.

Штучне індукування жовчорезистентності у застосованих пробіотиків здійснено шляхом спрямованого селекційного культивування у присутності постійних або послідовно зростаючих субактивних концентрацій, відповідних жовчі, у поживному середовищі [4, 5].

В якості бактеріоцинів використані стерильні фільтрати бульйону Мюллера-Хінтона, отримані в результаті 7-добового культивування відповідних пробіотиків. Концентраційне дозування бак-

теріоцинів визначено на основі сухого залишку. Синергізм за антимікробними властивостями між жовчю і експериментальними зразками бактеріоцинів досліджений за чинною методикою відповідного суміщення у поживному середовищі діючих і субактивних концентрацій порівнювальних препаратів.

Статистичне узагальнення отриманих результатів здійснено за програмою Statistica 6.0 [3].

### Результати та їх обговорення

В аналітичній оцінці антимікробного потенціалу першочергове значення належить антагоністично спрямованій здатності пробіотиків до продукування бактеріоцинів з антибіотикоподібними властивостями. У визначенні перспективності пробіотикотерапії як позитивний показник слід враховувати те, що в антиінфекційному плані бактеріоциногенноздатні представники нормальної мікрофлори паритетно поєднують антимікробні і дезінтоксикаційні ефекти. На відміну від представників інших груп фармакологічних препаратів, що виготовлені за асептичними технологіями GMP, пробіотики принципово відрізняються вмістом в якості діючих субстанцій життєздатних бактерій зі складу нормальної мікрофлори.

У поширеному спектрі властивостей, що притаманні пробіотикам, пріоритетне значення належить їх антагоністичній активності у конкурентному відновленні автохтонних мікробіоценозів. При цьому поряд з безперечними перевагами у порівнянні з представниками алохтонів у конкурентних виявах адгезивних, колонізуючих і імуномодельючих властивостей особливе значення має здатність пробіотиків до продукції бактеріоцинів з антибіотикоподібною дією у відношенні патогенних представників транзиторних мікроорганізмів [6, 9].

За очікуваними результатами запланована серія досліджень узагальнено підпорядкована визначенню перспективності застосування пробіотикотерапії як дієздатного засобу при лікуванні дисбактеріозів ШКТ. При цьому враховане наступне. Антагоністичні функції пробіотиків як типових представників нормальної мікрофлори ШКТ оптимально виявляються в умовах сталого морфологічного і ферментативного гомеостазу відповідного топону. Одночасно за клінічним призначенням пробіотики застосовуються як мікробіологічний коректор спрямованої дії при дисбактеріозах кишечника. У свою чергу, за походженням дисбактеріо-

зи виникають як мікробіологічні ускладнення попередньо перенесених і супутніх інфекційних або соматичних захворювань кишечника. З викладеного виходить актуальним визначення у питанні про можливий вплив ферментопатій на антагоністичні властивості пробіотиків.

Дослідження виконані за методикою, запропонованою проф. Диким І.Л., яка за змістом підпорядкована селективній адаптації представників алохтонних ентеробактерій до спрямованого штучного культивування в умовах натуральної та збагаченої до 200% бичачої жовчі [3, 4].

За результатами здійсненого культивування доведено, що колібактерину, лактобактерину, біфідумбактерину і біфіколу як типовим представникам алохтонів із пробіотичними властивостями узагальнено притаманна культивувальна здатність до селективної адаптації та зростаючих концентрацій жовчі у поживному середовищі з фінальним набуттям розвитку на натуральній жовчі (табл.). При цьому за предметним аналізом отриманих результатів слід вважати, що набуття культуральної пристосованості обраних пробіотиків пов'язане з прогресивним розвитком жовчорезистентності. Здійснений культивувальний ефект у набутті пробіотиками жовчорезистентності закономірно супроводжувався послідовним зниженням та втратою притаманних їм бактеріоциногенних властивостей. Так, за результатами, які статистично узагальнені у табл., доведено, що зростаюча культивувальна адаптація пробіотиків до зростаючих концентрацій жовчі у МПБ в межах 20-75% супроводжується зниженням антистафіло-

кової активності бактеріоцинів у середньому у 5 разів, а проти синьогнійної — відповідно у 4,5 разів. У свою чергу, на рівні штучно заданої адаптації до культивування на цілісному субстраті бичачої жовчі резистентні варіанти пробіотиків практично втрачають природно притаманну бактеріоциногенну здатність. Останнє однак не пригнічує загальний фізіологічний потенціал жовчорезистентних варіантів досліджуваних моно- і бінарних пробіотиків.

За інтерпретаційним аналізом узагальненим висновком з оцінки отриманих результатів досліджень виходить наступне. В умовах клініко-патогенетичного перебігу соматичних і інфекційних захворювань печінки та жовчного міхура з показниками супутніх проявів дисбактеріозу ШКТ лікувально-профілактичне застосування пробіотикотерапії слід оцінювати як безперспективне.

Визначаючи пріоритетний вплив жовчорезистентності на зміну основних властивостей пробіотиків та їх бактеріоциногенність, недоцільно залишати поза увагою наступне. За притаманними властивостями пробіотики виявляють схильність до кислотних ознак оточуючого середовища. У свою чергу, жовч як біологічний субстрат відрізняється лужними показниками рН. Аналітичним висновком з цього виходить, що за умов спрямованого культивування на жовчі або персистенції у жовчних шляхах печінки та жовчному міхурі пробіотики не здатні до спрямованих виявів притаманних бактеріоциногенних властивостей.

На рівні обгрунтованої відмови пробіотикам як самостійно значущого засобу у лікуванні дис-

бактеріозів кишечника перспективним стає їх фармакологічне суміщення з препаратами, що здатні до підвищення кислотності вмісту кишечника.

В аналітичному контексті оцінки представлених результатів доцільно враховувати те, що втрачаючи природно притаманну бактеріоциногенну здатність в умовах селективної адаптації до натуральної жовчі, варіанти досліджуваних пробіотиків зберігають, тим не менш, культивувальну здатність до росту і розмноження. Останнє прогностично підтверджує вищевикладене посилення про те, що пробіотики зі складу алохтонних представників ентеробактерій здатні до спрямованого метаболізму жовчних, жирних, сечових кислот і холіну.

#### ВИСНОВКИ

1. В умовах спрямованого штучного культивування *in vitro* досліджена селективна здатність колібактерину, лактобактерину, біфідумбактерину і біфіколу як чинних представників пробіотиків гастроентерального застосування до набуття жовчорезистентності. На рівні здійснення селективних ефектів пасованих варіантів доведена здатність обраних пробіотиків до культивування на натуральних (100%) зразках жовчі.

2. Встановлено, що резистентні варіанти пробіотиків здійснюють культивувальні потенції шляхом утилізаційного використання метаболічно змінених жовчних та жирних кислот зі складу структурних компонентів жовчі.

3. Доведено, що жовчорезистентні варіанти пробіотиків закономірно втрачають за інтегральними ознаками бактеріоциногенності притаманні антагоністичні властивості.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Белобородова Н.В. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 1998. — Т. 43, №9. — С. 44-48.
2. Бондаренко В.М., Чупринина Р.П., Аладышева Ж.И., Мацулевич Т.В. // *Эксперим. и клин. гастроэнтерол.* — 2004. — №3. — С. 83-87.
3. Боровиков В. *STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов.* — 2-е изд. — С.Пб.: Питер, 2003. — 688 с.

4. Дикий И.Л. Гепатотропные свойства и адаптивная изменчивость *Proteus*: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Ташкент, 1977. — 26 с.
5. Кігель Н.Ф., Рожанська О.М., Науменко О.В. //Вісник аграрної науки. — 2002. — №8. — С. 59-62.
6. Мосийчук С.М., Хоменко М.Б., Михайлова Т.С. и др. //Укр. мед. часопис. — 2006. — № 2 (52) — III/IV. — С. 10-20.
7. Салливан А., Норд К. //Клиническая микробиол. и антимикробная химиотерапия. — 2003. — Т. 5, №3. — С. 275-284.
8. Collins M.D. //Am. J. Clin. Nutr. — 1999. — Vol. 69 (suppl). — P. 1052S-1057S.
9. Finegold S.M., Sutter V.L., Mathisen G.E. //N. Y.: Academic Press, 1983. — P. 3-11.
10. Lewis S.J., Burmeister S. //J. Clin. Nutr. — 2005. — №59 (6). — P. 776-780.
11. Lin M.Y., Chen T.W. //J. Food Drug Anal. — 2000. — №8. — P. 97-102.
12. Naidu A.S., Bidlack W.R., Clemens R.A. //Crit. Rev. Food Sci. Nutr. — 1999. — №39 (1). — P. 13-126.
13. Pereira D.I., Gibson G.R. //Appl. Environ. Microbiol. — 2002. — №68 (9). — P. 4689-4693.
14. Senna V., Sawada K., Mitsuoka T. //Microbiol. Immunol. — 1984. — №28. — P. 975-986.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,  
вул. Мельникова, 12. Тел. (057) 706-30-67.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 21.10.2008 р.

### Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України

Про підозрювану побічну дію препарату, діючою речовиною якого є **апротинін** (Інгібітори протеїназ. Код АТС В02А В01)

Хворій П. (61 рік) з діагнозом: загострення хронічного панкреатиту для зменшення активності ферментів підшлункової залози було призначено препарат, діючою речовиною якого є апротинін (внутрішньовенно, крапельно по 200 000 АтрОд 1 раз на добу). Одночасно пацієнтка приймала цефтриаксон, платифілін, спазмалгон, даларгін, церукал, но-шпу. Після першого введення препарату, діючою речовиною якого є апротинін, у хворої виникло запаморочення, задуха, артеріальний тиск знизився до 80/50 мм рт. ст. Препарат, діючою речовиною якого є апротинін, було відмінено. Реакцію купірували за допомогою адреналіну, преднізолону, дофаміну, мезатону, глюкози, фізіологічного розчину. Після вжитих заходів зазначені явища минули без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому невідомі.

Інформація надійшла від Луганського регіонального відділення ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України.

---

Просимо про виникнення будь-якої підозрюваної побічної дії при застосуванні ліків обов'язково повідомляти у відділ фармакологічного нагляду ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України за адресою: 01042, м. Київ, вул. Чигоріна, 18, тел./факс 286-7505.  
E-mail: [vigilance@pharma-center.kiev.ua](mailto:vigilance@pharma-center.kiev.ua).