

NEW!

Трансплантация
кишечной
микробиоты

КИШЕЧНАЯ МИКРОБИОТА: ТЕЗИСЫ ИННОВАЦИОННЫХ НАУЧНЫХ СТАТЕЙ



2013/2



Чичерин Игорь Юрьевич,
Президент Научного общества
«Микробиота», к.м.н.



Погорельский Иван Петрович,
Ведущий научный сотрудник
Научно-исследовательского Центра
ФБУ 33 ЦНИИ Минобороны
России, д.м.н., профессор кафедры
микробиологии ФГБОУ ВПО
«ВятГУ»



Дармов Илья Владимирович,
Главный научный сотрудник Научно-
исследовательского Центра ФБУ
33 ЦНИИ Минобороны России,
зав. кафедрой микробиологии
ФГБОУ ВПО «ВятГУ», д.м.н.,
профессор, лауреат Государственной
премии России

Инновационный сборник научных статей «Кишечная микрофлора: взгляд изнутри. Выпуск №1», опубликованный в 2012 г., выявил, с одной стороны, огромный интерес ученых и клиницистов различных специальностей к проблеме эффективного и безопасного восстановления и поддержания кишечной микрофлоры в физиологически активном состоянии, а с другой стороны, – вызвал широкую научную дискуссию.

В последние десятилетия доминирующей тенденцией мировой медицины, в том числе и российской, в области изучения возможности коррекции дисбиотических нарушений в кишечнике было использование пробиотиков на основе живых микроорганизмов – представителей нормальной микрофлоры.

Результаты наших оригинальных исследований (Выпуск №1 вышеуказанного сборника), проведенных в последние годы, убедительно доказали, что традиционное использование живых пробиотических микроорганизмов является не самым эффективным и безопасным путем коррекции микроэкологических нарушений в кишечнике. Выпуск №2 дополнен 8-ю новыми научными статьями. Сделанные в них выводы еще более убедили нас в правильности выбранного пути.

Проблема дисбактериозов вышла далеко за пределы больничных палат и коридоров, став актуальной для всей мировой медицины. Она привлекает пристальное внимание ученых и клиницистов, заставляет искать новые эффективные подходы к коррекции нарушений микробиоценоза кишечника. В научной литературе опубликовано много работ, посвященных состоянию микробиоценоза кишечника у здоровых и больных людей, в которых со всей очевидностью показано, что качественные и количественные изменения состава кишечной микрофлоры сопутствуют многим патологическим состояниям.

Это предопределяет, с одной стороны, необходимость патогенетического лечения основного заболевания, а с другой стороны, – на определенном этапе лечения необходимость стимулирования механизма восстановления микробиоты. При этом чрезвычайно важно, чтобы у лечащего врача появилась уверенность в том, что процесс восстановления нормальной кишечной микрофлоры происходит, а если нет, то как вмешаться в этот процесс наиболее щадящим способом. Ввиду того, что микробиоценоз является эволюционно сложившейся и саморегулирующейся системой, довольно чувствительной к различным эндогенным и экзогенным воздействиям, вмешательство лечащего врача должно быть аккуратным, но адекватным состоянию больного.

Многочисленные публикации авторитетных специалистов свидетельствуют о необходимости включения пробиотиков в схемы лечения ряда патологических состояний. Однако до настоящего времени все еще не удается решить проблему дисбактериозов. Механизм действия пробиотиков до конца не выяснен. В результате налицо несоответствие между сложившимся представлением об эффективности пробиотиков и растущим распространением дисбактериозов, выявляемых у большей части населения России.

Новейший микробиологический подход к изучению проблемы, связанной с разработкой средств и методов коррекции нарушений микробиоценоза кишечника, позволил приоткрыть тайну функционирования микробно-тканевого комплекса, определяющего здоровье или болезнь.

В наших экспериментах впервые в мире получены убедительные доказательства того, что пробиотические микроорганизмы сертифицированных препаратов гибнут, преодолевая естественные барьеры желудочно-кишечного тракта, и до толстой кишки доходит лишь десятитысячная доля процента от их исходной численности. Те же остаточные количества пробиотических микроорганизмов, которые достигли толстой кишки в жизнеспособном состоянии, являются чужеродными для естественной микрофлоры, не приживаются в биопленке кишечника и отторгаются, оказывая негативное воздействие на иммунную систему и макроорганизм в целом.

Для научно обоснованной оценки потенциальной эффективности пробиотиктерапии необходимо было существенно повысить методический уровень исследований. Были разработаны способы изучения выживания пробиотических микроорганизмов в экспериментах *in vitro* с использованием модельных сред, а также в организме экспериментальных животных. Впервые протестирован и внедрен в практику метод дифференциации пробиотических и индигенных микроорганизмов одного вида в кишечном содержимом *in vivo*.

Предложена модель экспериментального антибиотико-ассоциированного дисбактериоза у лабораторных животных, с использованием которой было доказано, что основным действующим компонентом восстановления нормальной микрофлоры кишечника при дисбиотических состояниях являются продукты жизнедеятельности пробиотических микроорганизмов – экзометаболиты, а клетки, их производящие, наоборот, «тормозят» процесс эффективного восстановления.

Нами впервые введено в научный оборот понятие «скорость восстановления (угнетения)» кишечной микрофлоры. Научная новизна исследований подкреплена подачей 5 заявок на предполагаемые изобретения.

Важно отметить следующее: выполненные нами исследования являются современной научной базой для разработки биотехнологии нового класса стандартизованных пробиотических препаратов на основе экзометаболитов микроорганизмов.

Следует особо подчеркнуть, что наиболее эффективным и безопасным путем коррекции микроэкологических нарушений в кишечнике является восстановление его собственной микрофлоры, сформированной в процессе онтогенеза, а не попытка его заселения «хорошими», но чужими для него микроорганизмами. Добиться этого, по нашему убеждению, можно путем использования пребиотиков и метаболитных пробиотиков, а также их сочетанием.

Исследования пребиотической активности фруктоолиго- и фруктополисахаридов (в составе препарата СТИМБИФИД), а также ферментированных пищевых волокон (в составе препарата РЕКИЦЕН-РД), проведенные нами в условиях *in vitro* и *in vivo*, показали их высокую эффективность в коррекции дисбиотических нарушений кишечника как во время антибиотиктерапии, так и после нее.

Впервые продемонстрирована необходимость повышения колонизационной резистентности слизистой оболочки кишечника с целью профилактики и лечения кишечных инфекций на примере псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза, достичь которого можно за счет стимуляции размножения собственной (индигенной) микрофлоры путем использования пребиотиков и метаболитных пробиотиков – метабиотиков.

Изучение механизма действия различных субстанций при пересадке кала экспериментальным животным (метод трансплантации кишечной микробиоты –ИМТ) впервые позволило установить, что основным компонентом, ответственным за высокий клинико-лабораторный эффект у реципиента, являются не микробные клетки фекальных масс донора, а экзометаболиты, которые они производят. При этом показана наибольшая эффективность метода ИМТ при пероральном пути введения микробных экзометаболитов.

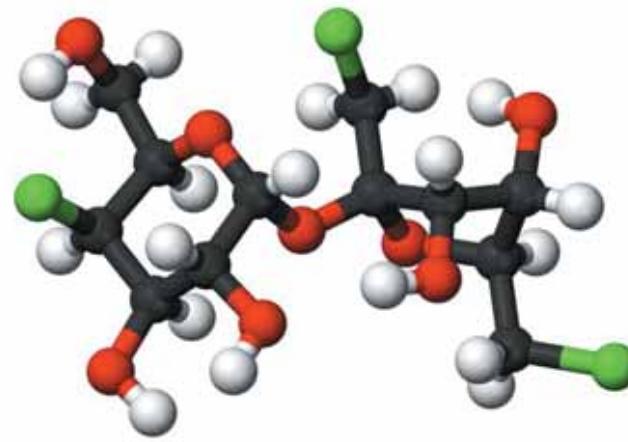
Объединение научных статей по некоторым аспектам проблемы восстановления микробиоты и подготовленной нами справочной информации в одном сборнике помогут заинтересованным читателям более глубоко проникнуть в суть проблемы, использовать выводы и наши рекомендации в своей научно-исследовательской и лечебной практике.

*С глубоким уважением, от коллектива соавторов
И.Ю. Чичерин, И.П. Погорельский и И.В. Дармов.*

Комментарии, вопросы и пожелания
Вы можете высылать на электронный адрес
E-mail: microbiota2012@mail.ru

Бесплатную электронную версию Сборника инновационных научных статей Вы можете скачать по адресу:
<http://gastroportal.ru/files/mikroflora.pdf>

СОДЕРЖАНИЕ



Раздел 1. Пробиотики

1. Выживаемость пробиотических микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте	4
2. Заместительное действие пробиотиков: миф или реальность	5
3. Биосовместимость пробиотических и индигенных микроорганизмов	6
4. Влияние пробиотических и индигенных (автоштаммов) микроорганизмов на иммунную систему и макроорганизм в целом	7
5. Антибиотикочувствительность пробиотических микробов коммерческих препаратов	9
6. От чего зависит эффективность пробиотиков: утверждали одно, оказалось другое	10
7. Трансплантация кишечной микробиоты (IMT – Intestinal Microbiota Transplantation)	11

NEW!

NEW!

Раздел 2. Пребиотики

8. Гастроэнтерологический симпозиум. Новые подходы к терапии заболеваний желудочно-кишечной системы. Коррекция и профилактика дисбактериоза	16
9. Эффективность пребиотиков в коррекции микроэкологических нарушений в кишечнике	21
10. Клинико-лабораторное обоснование одновременного применения пребиотиков и антибиотикотерапии	22

Раздел 3. Противоинфекционная активность пребиотиков и метаболитных пробиотиков

20

Раздел 4. Список научных статей, опубликованных в инновационном сборнике «Кишечная микрофлора: взгляд изнутри. Выпуск №2, 2013 г.»

24

Уважаемые коллеги!

Каждый исследователь, клиницист, поставивший перед собой цель изучения эффективности пробиотиков в коррекции дисбиотических нарушений в кишечнике, а также изучения кишечной микрофлоры в целом, по нашему глубокому убеждению, должен попытаться ответить на следующие важнейшие вопросы:

- какое количество пробиотических микроорганизмов, принятых перорально, доходит до основного ареала обитания нормальной микрофлоры – толстой кишки в жизнеспособном состоянии, т.е. какова их выживаемость при транзите по желудочно-кишечному тракту?
- добравшись до кишечника, пробиотические микробы встречаются с огромным многообразием себе подобных – представителями микрофлоры «хозяина». Будут ли они нейтральны друг к другу (биосовместимы) или их взаимодействие будет носить антагонистический характер?
- способны ли пробиотические микроорганизмы колонизировать слизистую оболочку кишечника (приживаться в ней) или нет, иными словами, заместительное действие пробиотиков: миф или реальность?
- пробиотические микробные культуры являются универсальными представителями нормофлоры кишечника или чужеродными для микробиоценоза «хозяина»?
- способна ли иммунная система отличить индигенную микрофлору кишечника (автоштаммы) от пробиотических микроорганизмов, а также как они влияют на иммунную систему и макроорганизм в целом?
- насколько целесообразно и обосновано одновременное применение пробиотиков на основе живых микробов и антибиотикотерапии?
- если эффективность традиционных пробиотиков не всегда находит подтверждение у клиницистов и ученых – ее в одних случаях регистрируют, в других – опровергают, тогда крайне важно понять, какая именно субстанция пробиотиков отвечает за их клинико-лабораторный эффект?
- одним из наиболее принципиальных вопросов данной проблемы является вопрос о целесообразности и обоснованности попыток заселения кишечника пробиотическими микроорганизмами или восстановления и поддержания в физиологически активном состоянии собственной индигенной микрофлоры.
- многочисленные зарубежные клинические исследования последних лет (более 500) выявили высокую эффективность трансплантации (пересадки) кишечной микробиоты от здорового донора больному пациенту с воспалительными заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Правомочно ли утверждать, что наблюдаемый эффект связан с предполагаемой «пересадкой» микробных клеток, или за ярко выраженный позитивный результат отвечает другая субстанция микробной суспензии донора?

Предложенные Вашему вниманию вопросы стали алгоритмом нашей научно-исследовательской деятельности по изучению кишечной микрофлоры и обоснованию путей по наиболее безопасной и эффективной коррекции микроэкологических нарушений в кишечнике.



Раздел 1. ПРОБИОТИКИ

1. Выживаемость пробиотических микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте

Дисбактериозы являются актуальной проблемой медицины, привлекающей пристальное внимание научных и профильных врачей-клиницистов, ежедневно сталкивающихся с микроэкологическими нарушениями при клинической патологии различного происхождения.

Среди множества средств коррекции нарушений микрофлоры кишечника пробиотики занимают особое место в связи с теми эффектами (общего характера, гуморальными и клеточными), которые регистрируются как объективно, так и субъективно — улучшением самочувствия больного.

В то же время не решен вопрос о выживаемости пробиотических микроорганизмов при их пероральном применении в ходе продвижения по пищеварительному тракту, что предопределяет необходимость проведения микробиологических исследований в данном направлении.

Установлено, что за время инкубирования бифидобактерий и лактобактерий в желудочном соке и дуоденальном содержимом, равном среднему времени пребывания смешанной пищи в пищеварительном тракте человека, происходит значительное сокращение количества жизнеспособных пробиотических микроорганизмов, вплоть до единичных клеток в случае бифидобактерий.

Предварительный этап исследований содержал оценку выживаемости бифидобактерий и лактобактерий в условиях *in vitro*, имитирующих пищеварение в желудке и кишечнике человека.

Выполненные нами исследования по оценке выживаемости пробиотических микроорганизмов в составе 23 отечественных и зарубежных препаратов представляют несомненный интерес.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что на численность пробиотических микроорганизмов отрицательное влияние оказывают кислая и сменяющая ее щелочная модельные среды, имитирующие *in vitro* условия пищеварения у человека. При этом выживаемость микробов в условиях *in vitro* снижается на 3-5 порядков (0,1-0,001%) от их исходной численности.

Иключение составляют спорообразующие бактерии *B. cereus* и *B. subtilis*, *B. licheniformis*, составляющие основу соответствующих коммерческих пробиотических препаратов, которые проявили явную устойчивость к отрицательному воздействию модельных сред, имитирующих условия транзита пробиотиков по желудочно-кишечному тракту человека.

Естественно, что в условиях *in vivo* на пробиотические микроорганизмы воздействует гораздо больше, чем в эксперименте, факторов, приводящих к гибели значительной части их популяций.

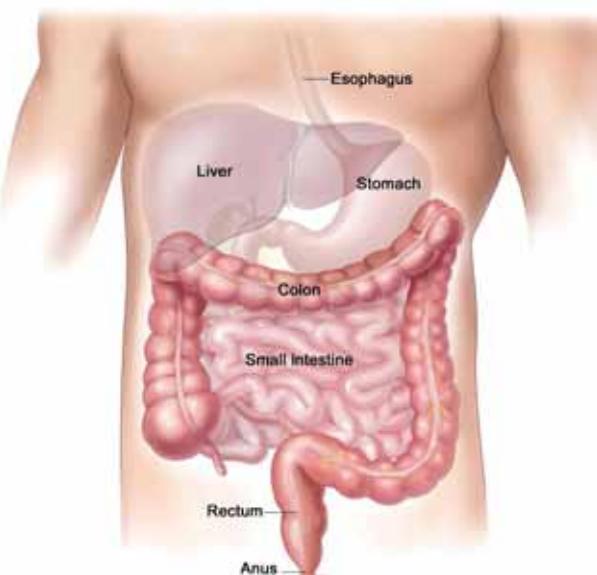
Сдерживающим фактором в плане реализации исследований по оценке выживаемости пробиотических микроорганизмов в пищеварительном тракте человека и экспериментальных животных является отсутствие методического подхода, позволяющего идентифицировать в фекалиях пробиотические микроорганизмы, принятые регос с профилактической или лечебной целью, и отличать их от собственных микроорганизмов нормальной микрофлоры, в частности бифидобактерий и лактобактерий.

Для изучения выживаемости пробиотических микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных необходимо было разработать методику получения маркированных производных этих микроорганизмов. Маркерный признак должен помочь выявить их и идентифицировать в фекалиях при высеивании последних на селективную плотную питательную среду, на которой микроорганизмы индигенной микрофлоры расти не будут.

Таким образом удовлетворяет плотная питательная среда с антибактериальным препаратом, на котором способны расти R⁺ (устойчивые к этому препарату) микроорганизмы. В качестве селективного антибактериального препарата в экспериментах был использован рифампицин.

Полученные мутанты пробиотических бифидобактерий и лактобактерий, устойчивые к рифампицину (Rif^r-мутанты), стабильно сохраняли признак антибиотикорезистентности.

Получены экспериментальные данные о существенном — на 4-7 порядков снижении численности поступающих в организм подопытных животных пробиотических микроорганизмов, подтверждающие ранее полученные на модельных средах *in vitro* данные о снижении количества жизнеспособных пробиотических микроорганизмов на 3-5 порядков.



Таким образом, впервые разработана универсальная методика получения маркированных производных пробиотических микроорганизмов, позволяющая дифференцировать поступающие в организм пробиотические микроорганизмы от соответствующих штаммов собственной кишечной микрофлоры.

На основе разработанной методики удалось получить убедительные доказательства того, что выживаемость пробиотических микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных в итоге составляет менее 0,0001% от их исходной численности при пероральном поступлении.

2. Заместительное действие пробиотиков: миф или реальность

Еще в 2003 г. E. Lebenthal и Y. Lebenthal в научной статье под символическим названием «Пробиотики: концепция лечебного применения, ожидающая своего признания» констатировали, что «... без рационально спланированных клинических испытаний трудно пропагандировать идею лечения пробиотиками. На сегодняшний день, — уверяли авторы, — имеется превосходная идея профилактического и лечебного применения пробиотиков, истинную конструктивность которой, однако, еще предстоит доказать».

В соответствии с Отраслевым стандартом «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ 91599.11.0004-2003), утв. приказом № 231 МЗ РФ от 09.06.2003 г., одним из основных механизмов действия пробиотиков является заместительная терапия, предназначенная для восполнения сниженного уровня соответствующего микроорганизма. По определению Большого медицинского словаря, под заместительным действием понимают введение в организм вещества, естественная выработка которого понижена или прекращена.

Таким образом, для того, чтобы заместительная терапия могла реализоваться, необходимо выполнение, как минимум, двух условий. Во-первых, пробиотические микроорганизмы должны достигнуть толстой кишки в жизнеспособном состоянии в количестве, достаточном для преодоления колонизационной резистентности слизистой оболочки кишечника. Во-вторых, они должны прижиться в пристеночном слое (биопленке) и стать составной частью микробиоценоза кишечника.

Бессспорно, что интегративным показателем реализации двух вышеперечисленных условий, т.е. существования заместительной терапии как таковой, должно быть бактериовыделение с калом соответствующего пробиотического микроорганизма после окончания курса пробиотикотерапии.

По нашему глубокому убеждению, для изучения возможности приживления пробиотических микроорганизмов в слизистой оболочке кишечника необходимо выполнение как минимум трех условий: во-первых, они должны быть выделены из организма тех видов животных и человека, для которых будут предназначены, т.е. должны быть гомопробиотическими; во-вторых, они должны находиться в физиологически активном состоянии; и в-третьих, должны применяться в условиях глубокого дисбиоза кишечника, т.е. в условиях «свободной ниши для заселения».

Приведены результаты изучения приживаемости пробиотических микроорганизмов — гомологичных



бифидобактерий и лактобактерий в кишечнике экспериментальных конвенциональных белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом. В экспериментах использовали культуры бифидобактерий и лактобактерий, выделенные от мышей линии BALB/c (гомопробиотические), на основе которых были получены устойчивые к рифампицину (Rif^r) спонтанные мутанты.

Введенные перорально конвенциональным белым мышам, в том числе с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом, маркованные гомопробиотические бифидобактерии и лактобактерии не приживаются в кишечнике животных и элиминируются соответственно к 3 и 5 суткам после прекращения перорального введения животным.

Нами было сделано предположение о том, что одной из причин отсутствия приживаемости пробиотических микроорганизмов могла быть их низкая концентрация в толстой кишке из-за негативного влияния агрессивных эндогенных сред при их транзите по желудочно-кишечному тракту (кислотность желудка, сменяющая ее щелочная среда тонкой кишки, желчь, ферменты, иммуноглобулины и т.д.).

Проведенные нами ранее исследования позволили утверждать, что кислотность желудочного сока может быть отнесена к разряду критических факторов, негативно влияющих на жизнеспособность пробиотических микроорганизмов, а также наряду с широким использованием кислотоустойчивых капсул с сухими коммерческими пробиотиками, представлялось целесообразным изучить выживаемость и приживаемость пробиотических микроорганизмов в пищеварительном тракте экспериментальных животных:

- во-первых, в условиях подавления секреции желудочного сока;
- во-вторых, при использовании спорообразующих микроорганизмов, которые устойчивы к естественным эндогенным факторам желудочно-кишечного тракта.

Представлены результаты изучения приживаемости гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий, выделенных от белых мышей линии BALB/c, в кишечнике конвенциональных белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом в условиях подавления секреции желудочного сока препаратом Париет (ингибитором протонного насоса в желудке, блокирующим финальную стадию продукции кислоты).

Логично предположить, что устранение кислотного барьера (имитация использования кислотоустойчивых капсул) на пути пробиотических микроорганизмов при пероральном введении будет способствовать сохранению максимально возможного их количества как в желудке лабораторных животных, так и в кишечнике.

В процессе применения ингибитора протонной помпы удалось повысить pH в содержимом желудка экспериментальных животных до значений, близких к нейтральным (6,1-6,9 ед. pH), что привело к увеличению концентрации гомопробиотических микроорганизмов в толстой кишке в 5 раз по сравнению с контролем (без блокады продукции соляной кислоты). Наличие их более высоких концентраций в кишечном содержимом позволяет утверждать, что микроорганизмы успешно преодолевают кислотный барьер желудка, и вся популяция гомопробиотических микроорганизмов имеет потенциальную возможность для приживления.

Установлено, что функционально активные гомопробиотические рифамициноустойчивые бифидобактерии и лактобактерии, введенные перорально конвенциональным белым мышам с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом и медикаментозным подавлением секреции желудочного сока, не приживаются в кишечнике нового хозяина и элиминируются к 10 суткам после прекращения их введения.

С другой стороны, использование спорообразующих микробов пробиотика Биоспорин, устойчивых к бактерицидному действию факторов желудочно-кишечного тракта, позволяет добиться высоких концентраций бацилл в кишечном содержимом животных (10^5 - 10^6 КОЕ·г⁻¹), значительно превышающих таковые у представителей нормофлоры при дисбиозе. В конечном итоге, несмотря на количественные преимущества, приживления бацилл в биопленке кишечника также не происходит, и они отторгаются к 14 суткам после прекращения их введения.

Несмотря на специально созданные условия в организме экспериментальных животных – фактическое устранение кислотного барьера в желудке, использование спорообразующих бацилл, а также значительное уменьшение (конкуренции) численности естественной кишеч-

ной микрофлоры в процессе инициированного дисбиоза кишечника, которые, казалось бы, должны обеспечить сохранение численности популяции вводимых гомопробиотических микроорганизмов и их внедрение в микробиоценоз кишечника, не привело к ожидаемому результату. В действительности приживления не произошло.

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что при дисбактериозах следует стимулировать восстановление собственной микрофлоры кишечника, а не полагаться на заместительное действие поступающих извне в кишечник пробиотических микроорганизмов, которые с неизбежностью отторгаются эволюционно сложившейся кишечной микрофлорой. Следовательно, полученные результаты являются основанием для корректировки взглядов на существующий принцип заместительного действия пробиотикотерапии на основе живых микроорганизмов.

3. Биосовместимость пробиотических и индигенных микроорганизмов

Организм взрослого человека обильно заселен различного вида микроорганизмами, из числа которых более 60 % колонизируют кишечник. Многообразие видового состава кишечной микрофлоры и ее взаимодействие со сложно организованной структурой внутренней поверхности слизистой оболочки кишечника явились основанием объединения микроорганизмов и стенки кишечника в единый микробно-тканевой комплекс.

Функционирование единого микробно-тканевого комплекса обусловлено не только работой кишечника, находящегося под постоянным нейро-гуморальным контролем, но и межклеточными взаимодействиями в микробных популяциях.

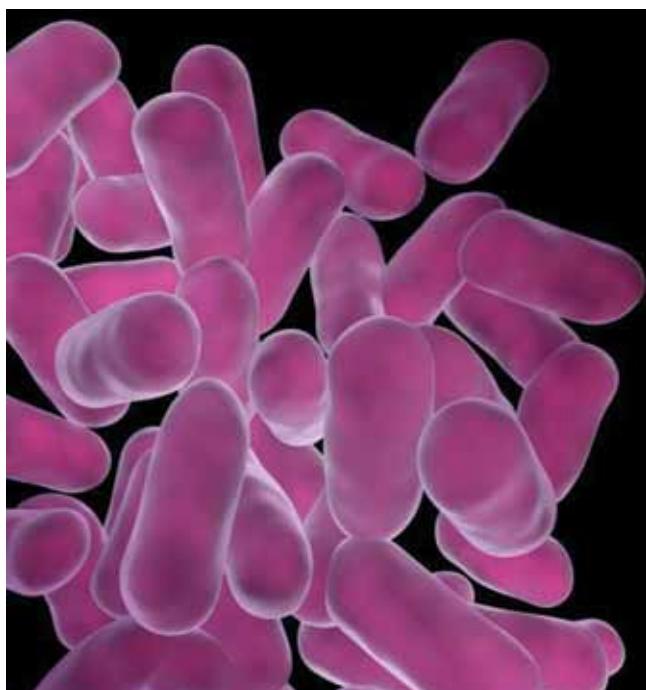
Для коррекции и восстановления численности и качественного состава кишечной микрофлоры на протяжении длительного периода используют пробиотики – живые микроорганизмы (представители нормальной микрофлоры) и вещества микробного происхождения.

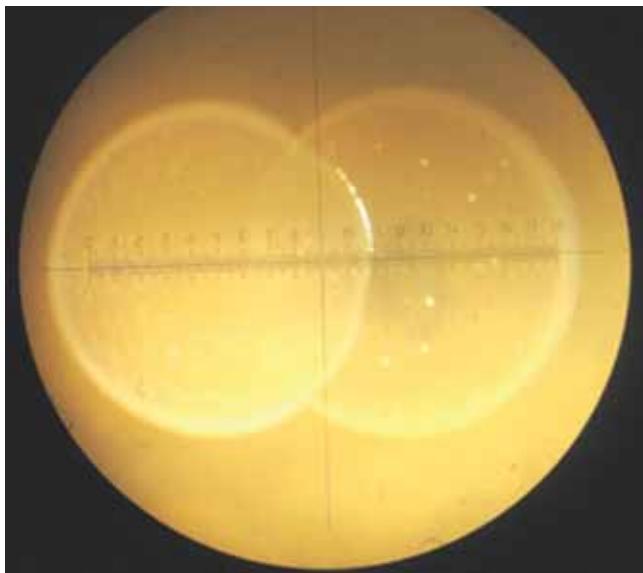
Возможные причины недостаточной эффективности пробиотиков при дисбиотических нарушениях кишечной микрофлоры указаны в работах Н.А. Глушановой и Б.А. Шендерова, в которых одной из главных выделена чужеродность пробиотических микроорганизмов для пациентов, которым они предназначались.

Авторами выявлено 3 типа микробных взаимоотношений: биосовместимость (отсутствие антагонизма), бионесовместимость по типу «пробиотик против хозяина» (подавление роста индигенных лактобацилл), бионесовместимость по типу «хозяин против пробиотика» (угнетение роста пробиотических бактерий).

В выполненных Н.А. Глушановой и Б.А. Шендеровым исследованиях с использованием штамма лактобацилл *L. acidophilus* Ep 317/402 и 335 культур свежевыделенных лактобацилл человека при их совместном культивировании на плотной питательной среде биосовместимость микроорганизмов была выявлена в 15,2 % случаев, бионесовместимость по типу «пробиотик против хозяина» – в 62,3 % случаев и бионесовместимость по типу «хозяин против пробиотика» – в 22,5 % случаев.

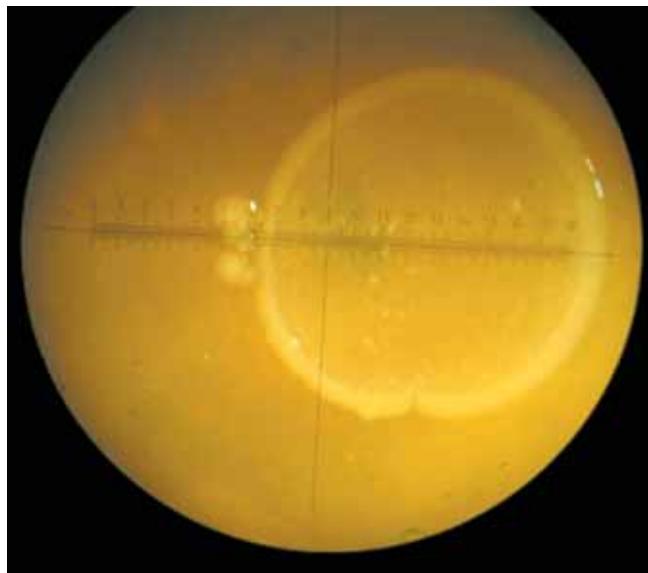
С учетом экспериментальных данных о возможности антагонизма между пробиотическими штаммами лактобактерий и бифидобактерий и собственной





1

Рисунок – Микрофотографии биосовместимых (1) и бионесовместимых (2) культур лактобактерий при постановке теста с бульонными культурами (1, 2; x10)



2

микрофлорой кишечника, в результате чего происходит элиминация пробиотических бактерий из организма нового хозяина после прекращения их применения, было целесообразно провести более расширенные исследования по оценке взаимоотношений между различными категориями пробиотических микроорганизмов в экспериментах *in vitro*.

Представлены результаты изучения взаимоотношений микроорганизмов, входящих в состав коммерческих пробиотических препаратов, с микроорганизмами, выделенными из кишечного содержимого людей и животных, при их совместном культивировании на плотных питательных средах.

В настоящей работе микроорганизмы 23 коммерческих пробиотических препаратов были протестированы на биосовместимость с 8 клиническими изолятами микроорганизмов, выделенных из фекалий больных с различными заболеваниями желудочно-кишечного тракта.

Из полученных результатов следует, что в 94 случаях (51,1 %) взаимодействие коммерческих пробиотических препаратов с микроорганизмами клинических изолятов характеризовалось биосовместимостью, в 67 случаях (36,4 %) – бионесовместимостью по типу «пробиотик против хозяина» с формированием различной выраженности зон ингибирования роста микроорганизма хозяина, и в 23 случаях (12,5 %) – бионесовместимостью по типу «пробиотик против хозяина» с экспансивным ростом пробиотических микроорганизмов, чего в опытах Н.А. Глушановой и Б.А. Шендерова отмечено не было.

На следующем этапе была исследована биосовместимость изолятов индигенной микрофлоры, выделенных из одного биотопа 23 разных людей, а именно: протестировано 26 изолятов бифидобактерий (*B. bifidum*, *B. adolescens*, *B. longum*, *B. breve*), 28 изолятов лактобактерий (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*), 19 изолятов эшерихий (17 лактозонегативных изолятов и 2 гемолитических изолятов).

При изучении взаимоотношений изолятов лактобактерий кишечного происхождения, выделенных от разных людей, можно утверждать, что среди лактобактерий антигостищеские взаимоотношения различной выраженности встречаются от 23 % до 46 % случаев. Среди выделенных нами бифидобактерий и эшерихий кишечного происхождения бионесовместимость внутри

пупла указанных микроорганизмов составляет 34,6 % и 31,6 % соответственно.

Таким образом, проведенные нами исследования дают основание говорить о том, что выделенные от различных людей основные представители нормальной кишечной микрофлоры при их совместном выращивании проявляют разнонаправленные – как антигостищеские, так и нейтральные (биосовместимые) взаимоотношения.

Весьма вероятно, что выявленный в наших экспериментах *in vitro* антиготизм между микроорганизмами индигенной микрофлоры, выделенными из одного биотопа разных людей, может отражать проявляемое *in vivo* сочетанное действие видовой, тканевой и индивидуальной специфичности микроорганизмов в виде выраженной несовместимости с индигенной микрофлорой нового хозяина и невозможности кардинальной смены микробного пейзажа.

4. Влияние пробиотических и индигенных (автоштаммов) микроорганизмов на иммунную систему и макроорганизм в целом

Известно, что положительный эффект пробиотиков, сконструированных зачастую на основе микроорганизмов, выделенных из нормальной кишечной микрофлоры, даже при длительном применении носит транзиторный характер, а порой и полностью отсутствует. В то же время в инструкциях по медицинскому применению сертифицированных препаратов Бифидумбактерин и Лактобактерин есть рекомендации по увеличению доз принимаемых препаратов в 5 раз с профилактической целью и в 5-10 раз при воспалительных заболеваниях.

Но как отразится увеличение дозы принимаемого пробиотического препарата в 5, 10 или даже в 100 раз на состоянии пациента? Возможны ли какие-то нежелательные последствия в этом случае?

Изучено влияние больших доз пробиотика Бифидумбактерин и микроорганизмов автофлоры кишечника при пероральном введении на организм белых мышей и показатели клеточного иммунитета.

Субпопуляции лимфоцитов выделяли из цельной крови белых мышей, используя моноклональные антитела, меченные флуорохромами: anti-mouse CD45-PE-Cy5.5, anti-mouse CD3e-PE-Cy7, anti-mouse CD8a-APC, anti-mouse IFN gamma-FITC, anti-mouse Ly-49C/I/F/H-PE; а также антивидовые изотипические контроли: Rat IgG1 K isotype control FITC, Golden Syrian Hamster IgG isotype control PE.

В ходе наблюдения за животными отмечено, что в то время, как животные, которым перорально в повышающихся концентрациях вводили культуру собственных индигенных бифидобактерий (автоштаммы), в течение всего периода наблюдений оставались активными, подвижными, с чистой шерстью и хорошо поедали корм, животные, получавшие монокультуру регидратированных бифидобактерий в аналогичных дозах, испытывали явный дискомфорт: животные внешне были неопрятными, малоактивными, плохо поедали корм.

Таким образом, животные, которым перорально вводили повышающиеся концентрации автоштаммов бифидобактерий, вполне удовлетворительно перенесли данную бактериальную и антигенную нагрузку.

С другой стороны, установлено, что пероральное введение белым мышам больших доз пробиотика Бифидумбактерин приводит к ухудшению общего состояния животных, в частности к транслокации бактерий в брюшную полость у отдельных животных с развитием перитонита и их гибелью. У оставшихся в живых животных на коже появились локальные участки выпадения шерсти (рисунок).

Выявлены субпопуляционные сдвиги и изменения функциональной активности лимфоцитов у белых мышей, свидетельствующие об иммунобиологической перестройке в организме животных на фоне энтерального введения больших доз пробиотиков и микроорганизмов нормальной микрофлоры.

У выживших животных в крови обнаружена статистически достоверная продукция Т-лимфоцитами и NK-клетками γ-интерферона, свидетельствующая о направленности иммунного ответа преимущественно по



Рисунок – Внешний вид животного с локальным участком выпадения шерсти на коже брюшной стенки

клеточному пути развития с одновременной стимуляцией противомикробной активности макрофагов.

С расширением спектра используемых в клинической практике пробиотиков стали появляться сведения о том, что принципы современной заместительной терапии, состоящие в применении больших доз пробиотика длительными курсами, могут быть причиной недостаточной эффективности лечения дисбиотических состояний и возникновения побочных эффектов.

Так, при пероральном приеме пробиотиков, являющимся физиологическим путем введения антигенов и других биологически активных веществ в организм, наблюдается развитие выраженной макрофагальной реакции, что характерно для начала процесса иммунизации. Важно при этом отметить, что длительное использование высоких доз пробиотических микроорганизмов (и, соответственно, их антигенов) может привести к истощению адаптационных резервов организма.

Таким образом, пробиотические микроорганизмы и, в определенной степени, синбиотики могут оказывать отрицательное влияние на иммунную систему и макроорганизм в целом.

Ответная реакция микроорганизмов кишечной микрофлоры проявляется незамедлительно. Стремясь сохранить гомеостаз внутренней среды организма хозяина, крайне необходимого для поддержания жизнедеятельности, они осуществляют весьма эффективную дифференциацию представителей нормофлоры от экзогенных, в том числе условно-патогенных, симбионтов.

В масштабе целостного организма за функцию распознавания «своего» и «чужого» отвечает иммунная система, защищающая посредством различных механизмов врожденного и приобретенного иммунитета организм хозяина и обеспечивая гомеостаз его внутренней среды. Именно на иммунную систему падает главная нагрузка по устранению нарушенный гомеостаза, вызванных антигенным воздействием.

Сопоставляя полученные ранее результаты ответной реакции лимфоцитов морских свинок, контактирующих *in vitro* с большими дозами пробиотических микроорганизмов из коммерческих препаратов Бифидумбактерин и Лактобактерин, с результатами ответной реакции лимфоцитов, взаимодействующих с автоштаммами гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий, выделенными из фекалий морских свинок и взятых в тех же дозах, можно заметить существенные различия.

Совершенно очевидно, что на собственную микрофлору (автофлору) организма клетки иммунной системы морских свинок реагируют спокойно, т.е. в пределах «нормальной» реакции. Действительно, увеличение дозы автоштаммов бифидобактерий в 10 раз повлекло за собой увеличение числа погибших лимфоцитов в 1,4 раза, а в случае автоштаммов лактобактерий – в 1,1 раза. В то же время при постановке лимфоцитотоксического теста с пробиотическими бифидобактериями и лактобактериями при 10-кратном увеличении дозы этих микроорганизмов отмечалось соответствующее увеличение числа разрушенных лимфоцитов в 6,3 и 4,5 раза.

Патологическая реакция лимфоцитов на пробиотические микроорганизмы – это признание их чужеродности по отношению к организму нового хозяина – морских свинок. Это означает, что автоштаммы бифи-

добротерий и лактобактерий, доминирующие в кишечнике морских свинок, не являются чужеродными и не инициируют повреждения их клеточных мембран.

Таким образом, в очередной раз можно подтвердить правомочность вывода, связанного с обоснованием необходимости поддержания и восстановления собственной микрофлоры кишечника, а не с попыткой его заселения «хорошими», но чужеродными для него микроорганизмами.

5. Антибиотикочувствительность пробиотических микробов коммерческих препаратов

Антибиотики и химиотерапевтические препараты являются основными средствами борьбы с инфекционными заболеваниями бактериальной природы. Однако обилие указанных препаратов часто сопровождается их бессистемным использованием, что не только снижает эффективность применения антимикробных препаратов различных классов, но и приводит к ряду побочных эффектов.

К последним следует отнести токсические реакции, поражения паренхимы печени, поражения почек, поражения периферической нервной системы и органов кроветворения, дисбактериозы (дисбиозы), аллергизирующее действие и иммунодепрессивные состояния.

К сожалению, порой даже самые безопасные антибактериальные препараты оказывают отрицательное влияние на организм больного и могут вызвать гибель не только патогенных микроорганизмов в естественных биотопах, но и представителей нормальной микрофлоры человека, вызывая дисбиотические нарушения в кишечнике.

Одной из наиболее частых причин развития дисбактериоза кишечника является широкое применение антибактериальных средств в соответствии со структурой заболеваемости и современными лечебными стандартами.

Как осложнение антибиотикотерапии в первую очередь развивается так называемая антибиотико-ассоциированная диарея. По разным данным, ее диагностируют в 4,9 - 25 % случаев.

В этой связи информация об антибиотикорезистентности (антибиотико-чувствительности) пробиотических микроорганизмов имеет немаловажное значение для врача-клинициста, назначающего больному с лечебной или профилактической целью тот или иной пробиотический препарат. Это тем более важно, что в инструкциях по применению пробиотических препаратов часто содержатся однозначные рекомендации относительно применения пробиотиков как на фоне, так и после антибиотикотерапии.

В основе таких рекомендаций должны лежать принципы доказательной медицины, а сами рекомендации должны учитывать данные экспериментального изучения чувствительности пробиотических микроорганизмов к различным антибактериальным препаратам.

Цель настоящего исследования – оценка чувствительности пробиотических микроорганизмов, входящих в состав коммерческих пробиотических препаратов, к основным антибактериальным соединениям, используемым для экстренной профилактики и лечения системных бактериальных инфекций.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что большинство пробиотических микроорганизмов в 95% случаев чувствительны в опытах *in vitro* к представителям основных классов антимикробных препаратов в концентрациях в плотных питательных средах, соответствующих максимальным концентрациям препаратов в крови.

Лишь некоторые пробиотические микроорганизмы устойчивы к 1-4 антибактериальным препаратам:

- к одному антибиотику:

Бификол – к рифампицину,

Линекс – к ампициллину;

- к двум антибиотикам:

Бактисубтил – к хлорамфениколу и бисептолу,

Колибактерин – к рифампицину и бисептолу,

Лактобактерин – к доксициклину и налидиксовой кислоте (неграму);

- к трем антибиотикам:

Примадофилус Бифидус – ампициллину, доксициклину и налидиксовой кислоте (неграму);

- к четырем антибиотикам:

Бифиформ – к гентамицину, рифампицину, бисептолу и налидиксовой кислоте (неграму).

Одновременный прием антибактериальных препаратов с пробиотиками очевидно возможен, но с учетом оценки чувствительности или резистентности пробиотических микроорганизмов к планируемым к назначению антибактериальным препаратам.

О необходимости именно такого подхода свидетельствуют данные Б.А. Шендерова, определившего концентрацию антибиотиков в фекалиях людей после орального введения терапевтических доз лекарства. [Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание: в 3 т. Том 1: Микрофлора человека и животных и ее функции. – М.: Изд-во ГРАНТЪ, 1998. – 288 с.]





Так, концентрация в фекалиях ампициллина может достигать $480 \text{ мкг} \cdot \text{г}^{-1}$, канамицина – $1000\text{--}24000 \text{ мкг} \cdot \text{г}^{-1}$, пефлоксацина – $122\text{--}645 \text{ мкг} \cdot \text{г}^{-1}$, рифампицина – $142\text{--}354 \text{ мкг} \cdot \text{г}^{-1}$, хлорамфеникола – $500\text{--}5000 \text{ мкг} \cdot \text{г}^{-1}$, ципрофлоксацина – $185\text{--}2200 \text{ мкг} \cdot \text{г}^{-1}$ и т.д.

Указанные концентрации антибиотиков во много раз превосходят минимальную подавляющую концентрацию препарата, определенную для чувствительного микроорганизма, например, для пробиотического микроорганизма или представителей нормальной микрофлоры, что не может не сказаться на эффективности пробиотикотерапии.

Необходимо подчеркнуть, что с учетом высокой чувствительности микроорганизмов пробиотиков, входящих в состав коммерческих препаратов, к антибактериальным средствам еще более актуальным становится использование пребиотиков, обладающих устойчивостью к антибиотикам, что позволяет их совместное использование.

6. От чего зависит эффективность пробиотиков: утверждали одно, оказалось другое

Считается, что основным действующим началом пробиотических препаратов являются живые микробные клетки. Поэтому все биотехнологические приемы по разработке и производству пробиотиков направлены

на получение высококонцентрированных суспензий пробиотических микроорганизмов, сред высушивания и стабилизации свойств лиофилизованных микроорганизмов, поддержание и доставку в дистальные отделы желудочно-кишечного тракта пробиотических микроорганизмов в максимально возможном жизнеспособном состоянии, в том числе в инкапсулированной форме.

Однако, значительная часть авторов отмечает противоречивость данных об эффективности многих разработанных и испытанных пробиотиков и делает вывод о том, что лишь отдельные из большого числа клинических испытаний пробиотиков дали приемлемые оценки их эффективности.

Таким образом, в связи с вышеизложенным, особенно с противоречивостью данных о действительной эффективности пробиотических препаратов, представляется крайне важным изучение вклада в пробиотический эффект каждого в отдельности компонента (субстанции) коммерческих пробиотиков для обоснования подходов к повышению безопасности, профилактического и лечебного эффекта данного класса иммунобиологических препаратов.

С этой целью провели сравнительное изучение эффективности различных компонентов жидких нативных культур гомопробиотических лактобактерий и бифидобактерий в коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у конвенциональных белых мышей с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбактериозом.

В качестве компонентов жидких пробиотиков, приготовленных на основе *Lactobacillus plantarum* и *Bifidobacterium bifidum* исследовали:

- Нативную культуру («жидкий пробиотический комплекс») – цельный жидкий препарат (1);
- Нативные живые клетки – выделенный центрифугированием из варианта 1 осадок клеток (2);
- Инактивированные клетки – те же клетки из варианта 2 только инактивированные (то, что происходит в реальных условиях при транзите клеточной массы по ЖКТ), (3);

Таблица

Нативные культуры и их компоненты, введенные per os	Скорость увеличения общего количества кишечной микрофлоры соответственно вводимому пробиотическому микроорганизму ...			
	<i>L. plantarum</i>		<i>B. bifidum</i>	
	KOE $\cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$	Кратность к контролю	KOE $\cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$	Кратность к контролю
Нативная культура («жидкий пробиотический комплекс»)	$4,1 \cdot 10^5$	41,4	$6,8 \cdot 10^5$	61,8
Нативные живые клетки	$1,1 \cdot 10^4$	1,1	$7,2 \cdot 10^3$	0,7
Инактивированные клетки	$1,1 \cdot 10^3$	0,1	$3,6 \cdot 10^2$	0,03
Надосадочная жидкость	$6,5 \cdot 10^7$	6566	$6,9 \cdot 10^7$	6273
Жидкая питательная среда (контроль)	$9,9 \cdot 10^3$	1	$1,1 \cdot 10^4$	1
Биоряженка «Целебная радуга» (контроль)	$3,6 \cdot 10^5$	36,4	$3,5 \cdot 10^5$	31,8

- Надосадочную жидкость – надосадочная часть при получении варианта 2 (4);
- Жидкую питательную среду (контроль), (5);
- Биоряженку «Целебная радуга» (контроль), (6).

Полученные результаты исследований позволили рассчитать скорости восстановления кишечной микрофлоры у подопытных животных под влиянием перорального введения нативных культур гомопробиотических макроорганизмов и соответствующих компонентов нативных культур.

Данный показатель, впервые введенный нами в научный оборот для оценки скорости восстановления (или угнетения) микрофлоры, определяется как частное от деления разницы значений концентраций микроорганизмов в 1 г фекалий в конце и начале экспериментов на 14 (количество дней между двумя временными точками определения концентрации микроорганизмов в фекалиях животных), и характеризует скорость восстановления фекальной микрофлоры ($KOE \cdot g^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$) под влиянием стимулирующих факторов (таблица).

Как следует из представленных в таблице данных, скорость восстановления общего содержания микрофлоры в кишечнике белых мышей под влиянием перорального введения нативных культур гомопробиотических микроорганизмов в 40-60 раз выше, чем в контроле.

При этом необходимо подчеркнуть следующее: достаточно удалить из нативных культур центрифугированием клеточный компонент, как скорость восстановления кишечной микрофлоры возрастает еще примерно в 100-150 раз (итого до 6500 раз по отношению к контролю).

Следовательно, наличие живых пробиотических бактериальных клеток в «жидком пробиотическом комплексе» явно отрицательно сказывается на восстановлении кишечной микрофлоры при дисбиозе. Эффект от введения живых пробиотических микроорганизмов в виде отдельного компонента не отличается от контроля, т.е. живые клетки, которым ранее отводилась



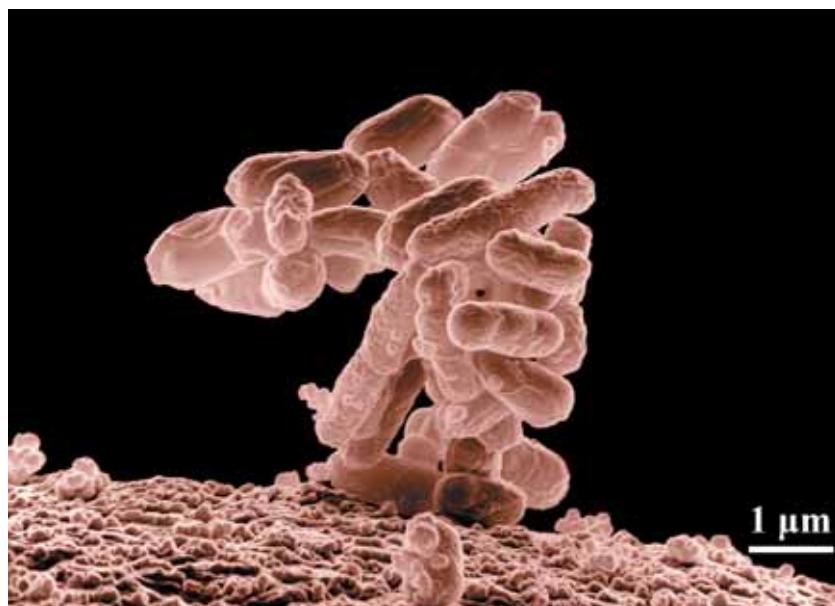
ведущая роль в коррекции дисбиотических нарушений кишечника, в наших исследованиях практически не работают.

В случае же с инактивированными микробными клетками, что может происходить в реальных условиях под воздействием агрессивных эндогенных факторов желудочно-кишечного тракта, четко прослеживается угнетение восстановления кишечной микрофлоры: скорость восстановления микрофлоры в 10-300 раз меньше, чем в контроле.

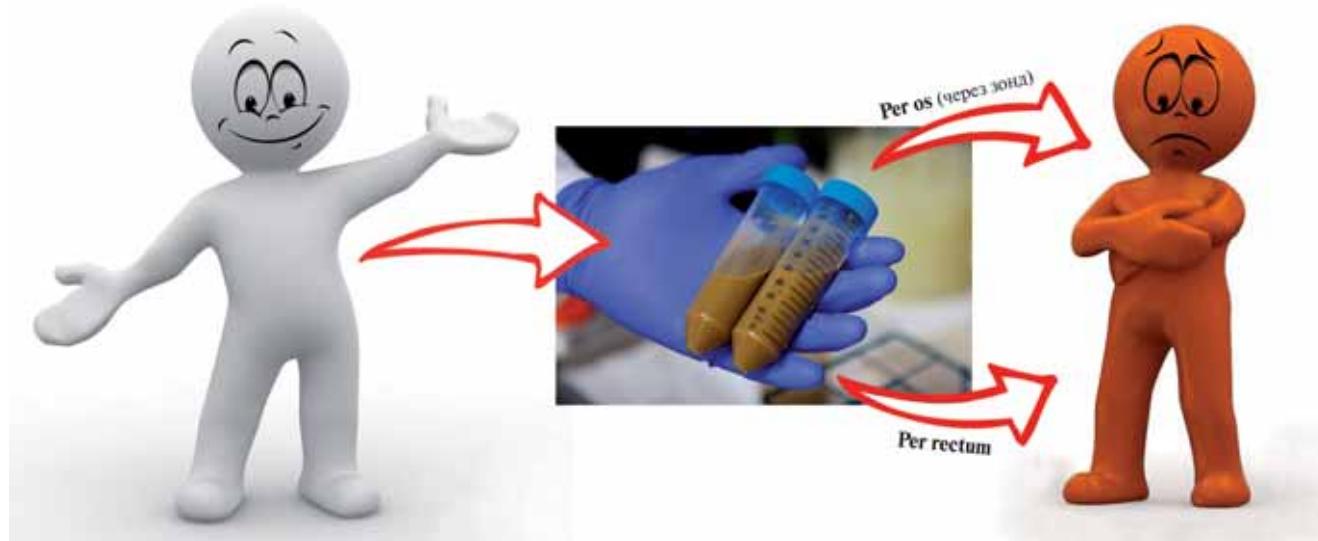
Скорость восстановления общего содержания микрофлоры в кишечнике животных под воздействием перорального введения надосадочной жидкости относительно контроля возрастает до 6500 раз. Аналогичный стимулирующий эффект надосадочной жидкости установлен и в отношении восстановления численности лактобактерий, бифидобактерий и эшерихий собственной кишечной микрофлоры животных.

Таким образом, получены убедительные доказательства того, что основным действующим компонентом восстановления нормальной микрофлоры кишечника при дисбиотических состояниях являются продукты жизнедеятельности пробиотических микроорганизмов – экзометаболиты, а клетки, их производящие, наоборот «тормозят» процесс эффективного восстановления.

Полученные результаты являются научной базой экспериментально обоснованной разработки биотехнологий нового класса стандартизованных пробиотических препаратов на основе биологически активных микробных экзометаболитов, лишенных ряда недостатков, присущих современным пробиотическим препаратам, содержащим живые, в том числе лиофилизированные микроорганизмы.



7. Трансплантация кишечной микробиоты (IMT – Intestinal Microbiota Transplantation)



Широкие возможности коррекции дисбиотических нарушений микробиоценоза кишечника, в том числе при инфекционной патологии, открываются в связи с разработкой и внедрением в практику весьма оригинальной технологии.

Так, опубликованы результаты испытания способа лечения кишечной инфекции путем пересадки кала. Суть способа, который получил название IMT – Intestinal Microbiota Transplantation или FMT – Fecal Microbiota Transplantation (трансплантация кишечной микробиоты – ТКМ), состоит во введении в желудочно-кишечный тракт больного взвеси фекалий, взятых от здорового донора.

В итоге проведения указанной манипуляции происходит довольно быстро восстановление нормальной кишечной микрофлоры. Согласно публикации в журнале New England Journal of Medicine [2013г.], участниками клинико-лабораторных испытаний под руководством гастроэнтеролога J.J. Keller стали 43 пациента, страдающих манифестной формой рецидивирующей диареи, вызванной бактериями Clostridium difficile.

Части пациентов (16 человек) через duодекальный зонд в желудочно-кишечный тракт вводили супензию

фекалий здорового донора, а другой части пациентов (26 человек) был назначен ванкомицин. В первой группе после первой же процедуры ТКМ полностью выздоровели 13 пациентов и еще двое после второй процедуры. В контрольной группе пациентов поправились только семеро, остальные члены этой группы сами высказались за проведение процедуры ТКМ.

Способ лечения рецидивирующей диареи, осуществленный под руководством гастроэнтеролога из Амстердамского университета J.J. Keller, известен уже на протяжении свыше 50 лет из публикаций, число которых, особенно на протяжении 2011–2013 гг., уже превысило 500. И тем не менее, клинико-лабораторные испытания способа, выполненные группой клиницистов под руководством J.J. Keller, впервые были проведены по всем правилам метода случайной выборки.

Отчет о положительном клиническом применении процедуры ТКМ представили также специалисты из Henry Ford Hospital в Детройте [2012г.]. Из 49 пациентов, страдавших от тяжелой рецидивирующей диареи, вызванной C. difficile, которая не поддавалась стандартным методам лечения, полностью поправились 43 пациента. При этом в течение 3 месяцев после процедуры ТКМ у пациентов не развилось никаких осложнений или побочных эффектов.

Гастроэнтерологами выражена надежда, что процедура ТКМ будет широко применяться для лечения пациентов с высоким риском клоstrидиоза. Особо следует отметить, что, согласно данным отчета, в настоящее время при терапии кишечной инфекции, вызванной C. difficile, применяются ванкомицин и метронидазол, а в тяжелых случаях – удаляют пораженную часть кишечника оперативным путем.

Успех в лечении рецидивирующей диареи, вызванной C. difficile, предопределил масштабирование процедуры ТКМ для профилактики диабета и лечения паркинсонизма. Научной основой лечебной эффективности «калотерапии» при указанных заболеваниях является гипотеза Т. Borody из Центра расстройств пищеварения в Новом Южном Уэльсе, согласно которой при нарушении состава кишечной микробиоты в кровоток попадают различные микробные антигены, вызываю-



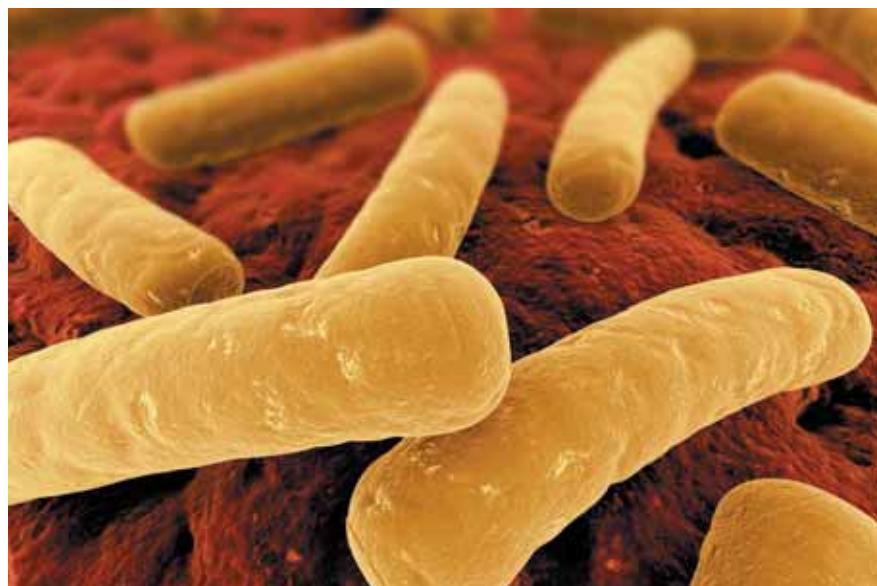
щие избыточную реакцию иммунной системы и оказывающие влияние на развитие паркинсонизма и аутоиммунных заболеваний.

Вместе с тем, как считает гастроэнтеролог из Миннесотского университета в Миннеаполисе А. Khoruts [2010г.], пациентов, прошедших процедуру пересадки кишечной микрофлоры уже не надо убеждать в ее эффективности, однако широкое медицинское сообщество нуждается в том, чтобы самостоятельно пройти путь к восприятию необходимости внедрения процедуры в медицинскую практику.

Микробиолог С. Lee из университета в Гамильтоне, штат Онтарио, убеждена [2013г.], что при положительных отзывах об эффективности трансплантации кишечной микрофлоры здорового донора посредством введения в желудок суспензии фекалий через зонд, вставленный в носоглотку, процедура может вызвать естественное не-приятие в сравнении с аналогичным введением суспензии фекалий посредством клизмы в прямую кишку.

В этой связи закономерна постановка вопроса о возможности модификации способа введения в желудок больным фекалий донора с целью изменения отношения к самой процедуре и замене неприглядности фекалий на эстетичные капсулы с соответствующим лечебным содержимым.

Предложенная на рассмотрение научной общественности оригинальная технология нормализации кишечной микрофлоры при различных дисбиотических состояниях, в том числе при тяжелой диарее, вызванной *C. difficile*, путем «пересадки кишечной микробиоты», безусловно не оставит равнодушным ни одного гастроэнтеролога или микробиолога, причастного к решению проблем клинической гастроэнтерологии.

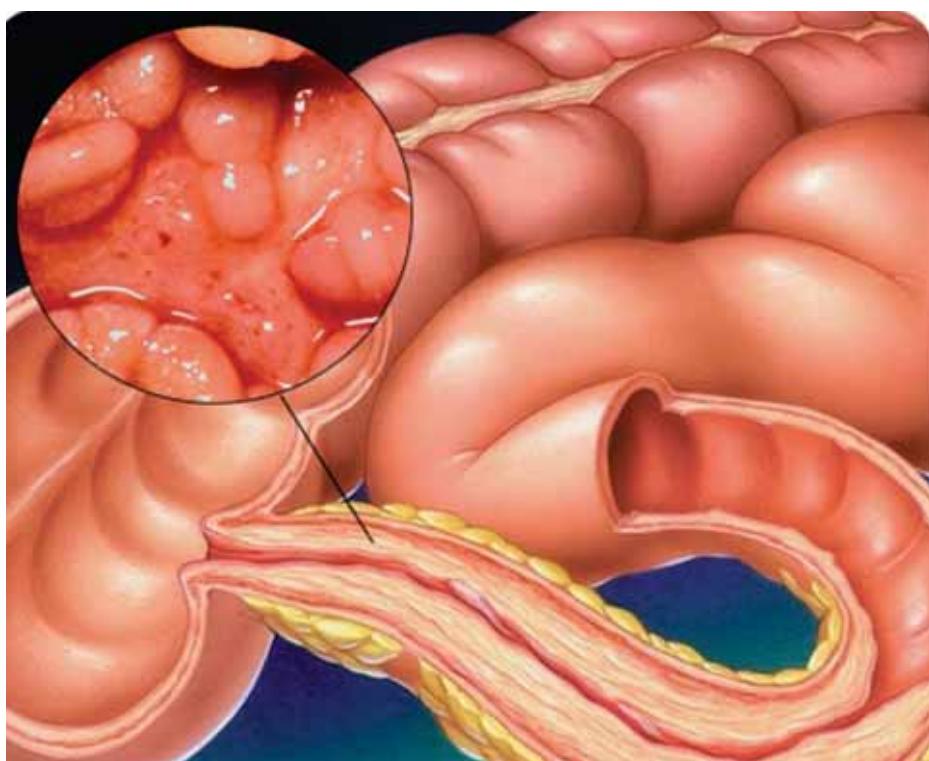


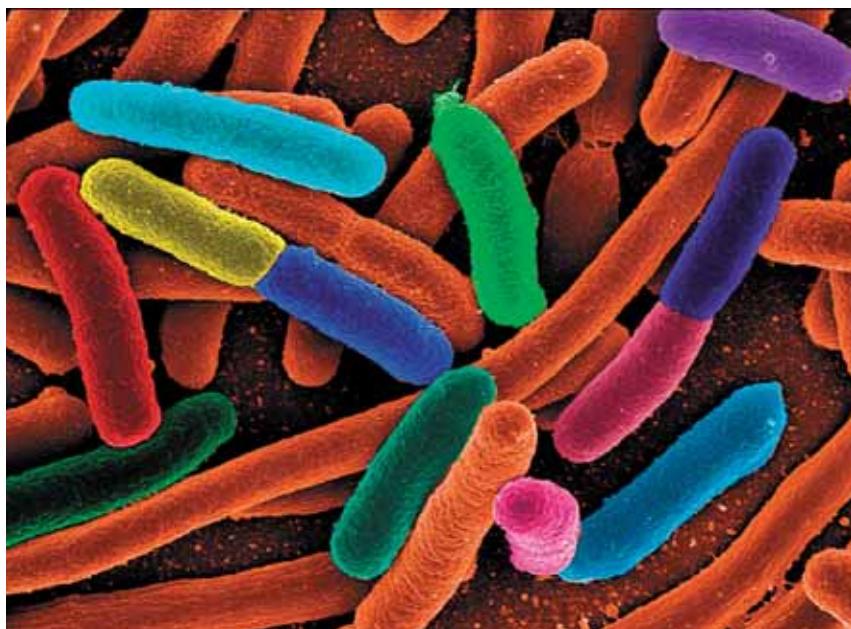
Действительно, при современной тактике ведения больных с тяжелыми кишечными инфекциями практически невозможно добиться хоть какого-то улучшения в первые сутки лечения. В то же время, как отмечено в публикациях [2013г.], у большинства пациентов уже через несколько часов после проведения процедуры ТКМ появился аппетит, значительно улучшилось общее состояние. Через неделю пациенты были полностью здоровы. В дальнейшем в течение 3 месяцев после процедуры ТКМ у них не развилось никаких осложнений или побочных эффектов такого метода лечения.

Согласно представленным в работе [2013г.] данным, кишечная микробиота у больных с рецидивирующей диареей клостридиальной (*C. difficile*) этиологии характеризуется выраженной депривацией. Естественно, что снижение микробиологического биоразнообразия существенно меняет функционирование пищеварительного тракта больных и оказывается на их самочувствии. Это и предопределило решение гастроэнтерологов заменить в результате трансплантации микробиоты доноров индигенную обедненную микробиоту больных, предполагая, что «пересаженная» микробиота доноров приживется в новом биотопе.

Однако, как показано в выполненных нами исследованиях [2012-2013 гг.], даже гомопробиотические бифидобактерии и лактобактерии, находящиеся в функционально активном состоянии и вводимые перорально конвенциональным белым мышам, в том числе с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом, не приживаются в кишечнике нового хозяина и элиминируются соответственно к 3 и 5 суткам после прекращения их введения животным.

Именно экспериментальные данные ставят под сомнение существующий принцип заместительного действия пробиотикотерапии на основе живых микроорганизмов, а также заместительного действия ми-





кробиоты доноров при ее трансплантации в кишечник больных с выраженным нарушениями нормальной кишечной микрофлоры.

Очевидно, что положительный эффект процедуры ТКМ, связанной с введением через зонд в желудок пациентов водной суспензии фекалий (30-50 г), обусловлен не самими микроорганизмами фекальной микрофлоры, поскольку эффект от проведенной процедуры был зафиксирован уже через 2 часа. Этот срок явно недостаточен для значительного размножения «пересаженной микрофлоры донора» и сопряженного с этим положительного эффекта восстановления собственной микрофлоры кишечника больных.

Таблица

Влияние надосадочной жидкости и индигенной микрофлоры белых мышей-доноров на скорость восстановления кишечной микрофлоры у конвенциональных белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом

Группа животных	Скорость восстановления кишечной микрофлоры							
	Общее количество микробов		Бифидобактерии		Лактобациллы		Эшерихии	
	KOE • г ⁻¹ • сут ⁻¹	кратность к контролю	KOE • г ⁻¹ • сут ⁻¹	кратность к контролю	KOE • г ⁻¹ • сут ⁻¹	кратность к контролю	KOE • г ⁻¹ • сут ⁻¹	кратность к контролю
Белые мыши, получавшие <i>per os</i> надосадочную жидкость фекалий доноров	9,8 • 10 ⁸	1139	9,1 • 10 ⁶	4789	6,8 • 10 ⁷	3238	7,2 • 10 ³	36
Белые мыши, получавшие <i>per rectum</i> надосадочную жидкость фекалий доноров	1,5 • 10 ⁸	174	2,4 • 10 ⁵	126	1,9 • 10 ⁶	90	1,6 • 10 ³	7,9
Белые мыши, получавшие <i>per os</i> реусспендированную кишечную микрофлору доноров	1,5 • 10 ⁶	1,7	2,3 • 10 ⁴	12,1	1,8 • 10 ⁵	8,6	3,0 • 10 ²	1,5
Белые мыши, получавшие <i>per rectum</i> реусспендированную кишечную микрофлору доноров	2,0 • 10 ⁶	2,3	2,8 • 10 ⁴	14,7	2,0 • 10 ⁵	9,5	5,2 • 10 ²	2,6
Белые мыши: самовосстановление кишечной микрофлоры (контроль)	8,6 • 10 ⁵	1	1,9 • 10 ³	1	2,1 • 10 ⁴	1	2,0 • 10 ²	1

С большой долей вероятности можно утверждать, что успешный опыт лечения кишечной инфекции скорее всего связан с компонентами фекалий, в частности, с микробными экзометаболитами. Разнонаправленный характер физиологических эффектов низкомолекулярных метаболитов микрофлоры кишечника рассмотрен в работе под руководством Минушкина О.Н. [2010г.].

Так, короткоцепочечные жирные кислоты (уксусная, пропионовая, масляная) участвуют в энергообеспечении эпителия; пропионовая кислота и пропионат обладают антибактериальным действием, осуществляют поставку субстратов глуконеогенеза, а в совокупности с масляной кислотой и бутиратом участвуют в регуляции пролиферации и дифференцировки эпителия; ацетат и бутират поставля-

ют субстраты липогенеза; формиат активизирует фагоцитоз; пропионат и пропионовая кислота блокируют адгезию патогенов к слизистой; короткоцепочечные жирные кислоты и их соли, ГАМК и глутамат регулируют моторную активность кишечника; β-аланин – как поставщик субстратов для синтеза коферментов; масляная кислота и бутират усиливают местный иммунитет; короткоцепочечные жирные кислоты и их соли участвуют в поддержании ионного обмена.

Приведенный перечень микробных экзометаболитов, а также наличие различных сигнальных (мессенджерных) молекул и других не идентифицированных метаболитов, поступающих в содержимое кишечника в процессе жизнедеятельности нормальной кишечной

микрофлоры, и их физиологических эффектов на уровне целостного организма свидетельствуют о больших потенциальных возможностях как микробных экзометаболитов, так и других компонентов кишечного содержимого в защите кишечника и организма от патогенных микроорганизмов.

Формирование колонизационной резистентности слизистой оболочки кишечника и поддержание его нормального биоценоза является одной из приоритетных функций микроорганизмов нормальной микрофлоры, но осуществляются они за счет микробных экзометаболитов. Данное утверждение является следствием проведенных нами исследований при изучении протективной и лечебной активности надосадочной жидкости лактобацилл (экзометаболитов) при экспериментальном псевдотуберкулезе и кишечном иерсиниозе.

В наших экспериментах [2012-2013 гг.] показана высокая эффективность влияния микробных экзометаболитов на восстановление нарушений нормальной кишечной микрофлоры как при антибиотико-ассоциированном дисбактериозе, так и при инфекционной кишечной патологии. По-видимому, естественным будет проведение экспериментов на лабораторных животных с целью коррекции нарушения микробиоценоза кишечника при различных модификациях введения фекалий, полученных от здоровых животных.

В опытах на конвенциональных белых мышах с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбактериозом изучено влияние компонентов фекалий здоровых белых мышей-доноров – микроорганизмы индигенной микрофлоры и надосадочной жидкости водной суспензии фекалий при введении рег os и рег rectum на восстановление нормальной кишечной микрофлоры.

Наиболее выраженный стимулирующий эффект восстановления в короткие сроки нормальной кишечной микрофлоры у конвенциональных белых мышей оказывает надосадочная жидкость водной суспензии фекалий белых мышей-доноров при пероральном введении (таблица).

Скорость восстановления общего содержания микрофлоры в кишечнике у конвенциональных белых мышей под воздействием перорального введения надосадочной жидкости водной суспензии фекалий белых мышей-доноров относительно контроля возрастает в 1139 раз. Одновременно отмечается ускорение восстановления относительно контроля бифидобактерий в 4789 раз, лактобацилл – в 3238 раз, эшерихий – в 36 раз.

При введении надосадочной жидкости водной суспензии фекалий белых мышей-доноров в кишечник через прямую кишку мышам-реципиентам с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом скорость восстановления нормальной кишечной микрофлоры была выше относительно контроля по общему содержанию микроорганизмов в 174 раза, по бифидобактериям – в 126 раз, по лактобациллам – в 90 раз, по эшерихиям – почти в 8 раз, но значительно уступала



аналогичным показателям при введении надосадочной жидкости рег os.

Более низкая скорость восстановления нормальной кишечной микрофлоры выявлена у животных, которым вводили рег os изолированные от животных-доноров фекальные микроорганизмы (без надосадочной жидкости), а также у животных, которым эти же микроорганизмы вводили рег rectum.

По нашему мнению, значительно меньшая эффективность самих микробных клеток доноров связана, с одной стороны, непродолжительным периодом синтеза экзометаболитов до момента гибели клеток-продуцентов в процессе их транзита по агрессивной среде ЖКТ мышей-реципиентов, а с другой стороны, с отсутствием их приживаемости в слизистой оболочке кишечника этих мышей, что неоднократно показано в опубликованных нами исследованиях.

Таким образом, нами в очередной раз подтверждена доминирующая роль микробных экзометаболитов в процессе восстановления нормофильтры с использованием метода трансплантации кишечной микрофлоры, что является экспериментальным обоснованием возможности создания нового класса лекарственных средств – метабиотиков, обладающих высоким потенциалом противоинфекционной активности в ЖКТ.

И наконец, одним из самых заслуживающих внимания вопросов рассматриваемой проблемы является правомочность термина «трансплантация», т.е. «пересадка с целью приживления». Каждый пациент имеет свой уникальный (индивидуальный) штаммовый пейзаж индигенной кишечной микробиоты, постоянство которого обеспечивается иммунной системой индивидуума, что показано нами с использованием лимфоцитотоксического теста. На наш взгляд, штаммовый пейзаж генетически детерминирован, и ни какие тривиальные процедуры не способны «обновить» его состав. Очевидно, что и в данном случае речь может идти не о «пересадке микробиоты с целью приживления», а о высокой клинико-лабораторной эффективности экзометаболитов «трансплантируемой» микробной культуры донора, находящейся в активном метаболическом состоянии.

Раздел 2. ПРЕБИОТИКИ



8. ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЧЕСКИЙ СИМПОЗИУМ.

Коррекция и профилактика дисбактериоза. Новые подходы к терапии заболеваний желудочно-кишечной системы*

Гастроэнтерологический симпозиум «Новые подходы к терапии заболеваний желудочно-кишечной системы», проходивший в рамках Российского национального конгресса «Человек и лекарство», привлек внимание самых разных специалистов – терапевтов, педиатров, врачей общей практики. Интерес к этой тематике связан с тем, что существуют теснейшие связи между нарушениями микробиоценоза кишечника и органическими или функциональными патологиями не только желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), но и других органов и систем организма.

Причины дисбактериоза

В симбиозе с организмом человека существует 10^{14} (сто миллиардов) клеток микроорганизмов (в 100 раз больше количества собственных клеток человека). Практически ни один биохимический процесс, ни одна функция организма не обходится без их прямого или опосредованного участия, то есть это главный биогенный фактор, определяющий здоровье или развитие заболеваний. Как поддерживать нормальный биоценоз человеческого организма, как корректировать его изменения? Этим вопросам был посвящен симпозиум «Новые подходы к терапии заболеваний желудочно-кишечной системы».

Увеличение частоты и тяжести острых инфекционных заболеваний, латентное течение и хронизация воспалительных процессов, которые многими специалистами связываются с нарушениями нормальной микрофлоры, или дисбактериозами, заставляют клиницистов искать новые и эффективные приемы их коррекции. В числе докладчиков были выдающиеся специалисты в этой области: заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., профессор Н.М. ГРАЧЕВА, д.м.н., профессор М.Д. АРДАТСКАЯ и др.

В докладах подчеркивалось, что дисбактериоз – это синдром, сопутствующий многим патологическим состояниям. Это означает, что дисбактериоз является следствием патологического процесса.

Поэтому начинать надо с патогенетического лечения основной патологии. Так, при синдроме раздраженного кишечника в первую очередь необходимо проводить мероприятия, направленные на коррекцию моторно-эвакуаторной функции кишечника (применение миотропных спазмолитиков, блокаторов Na/Ca-каналов и т.д.); при воспалительных заболеваниях кишечника, в частности НЯК, – на купирование воспаления (препараты 5-АСК или глюокортикоидные гормоны и т.д.).

В ряде случаев правильно назначенное лечение основного заболевания уже приводит к нормализации кишечного микробиоценоза или способствует его восстановлению. Так, М.Д. Ардатская считает, что «при купировании моторноэвакуаторных расстройств кишечника происходит восстановление окислительно-восстановительного потенциала внутривиполостной среды, что, в свою очередь, способствует повышению активности и численности облигатных микроорганизмов и приводит к нормализации баланса аэробных и анаэробных популяций микроорганизмов».

И еще один ключевой момент: «выбор терапии должен быть корректным и направлен на то звено нарушенной регуляции, которое утратило возможность самовосстановления». Известно, что для коррекции, профилактики и регуляции кишечного микробиоценоза сегодня используются пробиотики (бифидо- и лактобактерии, энтерококки); пребиотики (неперевариваемые вещества, стимулирующие активность определенных микроорганизмов); синбиотики (комбинация пробиотиков и пребиотиков); микробные метаболиты.

В последнее время учёные и клиницисты все чаще затрагивают проблему эффективности таких распространенных препаратов, как пробиотики. Безопасность их использования – достаточно хорошо установленный факт. Но, к сожалению, с расширением спектра показаний для их назначения стала появляться информация о том, что их положительный эффект даже при длительном применении нередко носит транзиторный характер, а порой и полностью отсутствует. Одной из главных причин этих «провалов» многие авторы считают чужеродность для человека входящих в их состав микроорганизмов, высокую видовую, индивидуальную и анатомическую специфичность автохтонной микрофлоры пациентов.

Некоторые специалисты считают, что коллективный иммунитет биопленки практически сводит на нет результат коррекции дисбактериозов пробиотиками. Несомненно, они создают эффект, но не всегда и не такой, как предполагалось. Микрофлора, выращенные искусственно, являются инородными, как инородны пересаживаемые человеку органы и ткани других людей – доноров – или животных. Они отторгаются вследствие биологической несовместимости.

Есть проблемы и у биотехнологических пробиотиков – они «не имеют „пароля“ для входа микробов внутрь биопленки кишечника и поэтому пребывают в нем транзиторно, как микрофлора пищи».

Кроме того, широкое лечебно-профилактическое применение пробиотиков имеет еще ограничивающий фактор – экономический, связанный с высокой стоимостью препаратов.

Представления об уникальности индивидуального микробного или штаммового пейзажа микрофлоры человека привели в последние годы к разработкам

*Ссылка для цитирования: Сателлитный симпозиум. Коррекция и профилактика дисбактериоза. Новые подходы к терапии заболеваний желудочно-кишечной системы. Под ред. Н.А. Токаревой. Эффект фармакотерапия. Гастроэнтерология.- 2011.- №3.- С. 77-84.

концепции создания индивидуальных пребиотиков на основе аутоштаммов и аутоассоциаций симбиотических микроорганизмов.

Пребиотики для нормализации микрофлоры кишечника

В последнее время для профилактики и коррекции микроэкологических нарушений в пищеварительном тракте все шире стали использоваться пребиотики (термин появился в начале 1990-х гг.). Это препараты немикробного происхождения, способные оказывать позитивный эффект на организм хозяина путем селективной стимуляции роста или активизации метаболической функции нормальной микрофлоры. Пребиотики относятся к различным фармакотерапевтическим группам (пищевые волокна – целлюлоза, гемицеллюлоза, пектины; олигосахариды – 2–10 углеводных остатков природного или синтетического происхождения), но обладают общим свойством – селективно стимулировать рост и развитие нормальной микрофлоры кишечника. Особенно популярные среди этих препаратов – поли- и олигофруктаны, соевые олигосахариды, галактоолигосахариды, получаемые из природных источников или с помощью биотехнологических или синтетических методов.

Сегодня существует широкий спектр препаратов для коррекции, профилактики и регуляции кишечно-го микрооценоза. Врач общей практики, к которому в первую очередь обращается пациент с проблемами, так или иначе связанными с дисбактериозом, должен хорошо ориентироваться во всех этих новинках, предлагаемых производителем. И главным «путеводителем» для специалиста должны быть серьезные сравнительные клинические исследования.

Эффективность современных препаратов

Сравнительной оценке клиникобактериологической эффективности современных про- и пребиотических препаратов в коррекции дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта был посвящен доклад заслуженного деятеля науки РФ, д.м.н., профессора, руководителя клинического отдела Н.М. Грачевой и ее коллег из МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского А.А. Авакова и А.И. Соловьевой. Профессор кафедры гастроэнтерологии Учебно-научного медицинского центра Управления делами Президента РФ, д.м.н. М.Д. Ардатская рассказала об исследовании по сравнению эффективности Стимбифика, Линекса и Лактусана на основе результатов изучения метаболитов индигенной микрофлоры кишечника.

Не противопоставляя пребиотики (с усовершенствованием биотехнологических процессов появились препараты, обладающие высокой клинической эффективностью) и пребиотики, докладчики напомнили слушателям, что «крайне важной является необходимость восстановления собственной микрофлоры кишечника, в частности бифидофлоры, а не вынужденное заселение его чужими штаммами».

Оба доклада были выстроены на данных последних (2010 г.) клинико-лабораторных исследований эффективности современных препаратов в коррек-



Н.М. Грачева, руководитель клинического отдела ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского, профессор

ции дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта. При исследованиях обращалось особое внимание на корректирующее действие пребиотиков Стимбифика и Лактусана (лактулоза), а также пребиотика Линекса на микрооценоз кишечника. Сравнительному изучению подлежали динамика клинических проявлений, бактериологическая картина содержимого кишечника, биохимические аспекты жизнедеятельности кишечной микрофлоры. Также изучалось количественное и качественное содержание метаболитов индигенной микрофлоры (короткоцепочечных жирных кислот – КЖК) в кале у пациентов на фоне приема этих препаратов.

Результаты проведенных бактериологических исследований показали, что у больных до начала лечения в 100% случаев был выявлен дисбактериоз кишечника

(1–3-й степени выраженности). После окончания курса лечения (2 недели) Стимбифидом у 30% пациентов отмечались нормальные показатели кишечной флоры; у 70% – слабо выраженные явления дисбактериоза 1-й степени. Содержание микроорганизмов индигенной микрофлоры в фекалиях значительно возросло (бифидобактерии: до 10^8 у 80%, до 10^9 у 20%; лактобактерии: до 10^6 у 55%; E. coli: до 10^8 у 60% пациентов), а выделение условнопатогенных микроорганизмов (гемолизирующих эшерихий, клебсиелл, стафилококков, цитробактеров, грибов рода Candida) полностью прекратилось.

У пациентов, получавших лечение Линексом, до начала лечения дисбактериоз кишечника (1-й и 2-й степени) был выявлен в 95% случаев; после окончания курса лечения (2 недели) число пациентов с дисбактериозом кишечника сократилось до 30%, у 70% наблюдалась нормализация микрофлоры. При этом (в отличие от применения Стимбифика) значительно возросло количество лактобактерий (до 10^6 у 45%, до 10^7 у 50% пациентов), умеренно – бифидобактерий (до 10^8 у 80%, до 10^9 у 10% пациентов) и E. coli (до 10^8 у 90% пациентов). В то же время в отношении элиминации условно-патогенных микроорганизмов на фоне и после окончания терапии получены худшие результаты, чем у Стимбифика.

На фоне терапии Лактусаном также наблюдались положительные сдвиги со стороны кишечной микрофлоры, хотя и в значительно меньшей степени – отмечено лишь исчезновение случаев выраженного дисбактериоза 3-й степени и возрастание числа лиц с 1-й степенью дисбактериоза. Влияние Лактусана на содержание индигенных микроорганизмов проявилось лишь незначительным увеличением количества бифидобактерий (до 10^8 у 45%).

Одновременно с первым этапом изучалось (методом ГЖХ-анализа) количественное и качественное содержание КЖК – исходно, на 7-й и 14-й дни. Данные исследования показывали, что до лечения во всех подгруппах отмечается достоверное снижение суммарного абсолютного содержания кислот – признак сниженной активности (или численности) облигатной микрофлоры. А после курса лечения тремя исследуемыми препаратами начинается его плавное увеличение, которое дости-

гает своего максимума к 14-му дню лечения. Наиболее выраженным этот показатель был в группе пациентов, принимавших Стимбифид.

Докладчики подчеркивали еще один интересный момент: исходно можно было выделить 2 типа изменения профиля КЖК: I тип – повышение относительного содержания пропионовой (C3) и масляной кислот (C4) (по сравнению с контролем), II тип – рост количества уксусной кислоты (C2). Это связано с резкой активизацией анаэробных микроорганизмов (бактероидов, пропионибактерий, фузобактерий, эубактерий и клостридий, продуцирующих C3 и C4, или аэробных микроорганизмов, продуцирующих C2), которые представляют факультативную и остаточную микрофлору. Значения анаэробных индексов (AI – отношение суммы концентраций пропионовой и масляной кислот к концентрации уксусной кислоты) показывают изменения среды обитания микрофлоры в пользу либо анаэробов (I тип), либо аэробов (II тип).

У пациентов с I типом изменения профиля кислот к 7-му дню лечения препаратом Стимбифид (AI +0,135 ед.) происходила нормализация уровня C3, отмечались достоверное снижение уровня C4 и повышение уровня C2. У пациентов, принимавших Линекс (AI +0,064 ед.) и Лактусан (AI +0,56 ед.), с аналогичными изменениями профиля кислот к этому же периоду наблюдалась достоверное снижение уровня C4, тенденция к повышению уровня C2, а также к снижению содержания C3.

К концу терапии (14-е сутки) у пациентов (I тип), принимавших Стимбифид (AI +0,170 ед.) и Линекс (AI +0,191 ед.), профиль C2–C4 кислот нормализовался, что свидетельствовало о восстановлении соотношения аэробных/анаэробных популяций бактерий. У пациентов, принимавших Лактусан (AI +0,126 ед.), хотя и наметился прогресс, однако нормальных значений данные параметры не достигали, следовательно, факультативные анаэробные микроорганизмы все еще сохраняли повышенную активность. Разность этих значений с нормой: Стимбифид +0,018 ед.; Линекс +0,190 ед.; Лактусан +0,055 ед.

В подгруппе пациентов со II типом к концу лечения Стимбифидом также наблюдалась нормализация профиля C2–C4, а вот у Линекса результаты хуже – отмечена нормализация уровня C3 при достоверно положительных изменениях относительного содержания C2 и C4 (но не значений нормы).

При приеме Лактусана происходила нормализация уровней C2 и C3 при достоверном положительном изменении содержания C4.

Разность значений AI с нормой: Стимбифид +0,011 ед.; Линекс +0,059 ед.; Лактусан +0,030 ед., что свидетельствует о восстановлении среды обитания индигенной микрофлоры (при приеме Стимбифида и Лактусана) или о тенденции к ее восстановлению в случае с Линексом.

Учеными также были рассмотрены отношение абсолютного содержания изовалериановой кислоты к валериановой (изоС5/C6) и уровень изокислот (изоСn), образующиеся в результате жизнедеятельности микро-

организмов, утилизирующих пептиды. Исходно у пациентов эти параметры были повышенны, что свидетельствовало о чрезмерной протеолитической активности условно-патогенных микроорганизмов. Результаты терапии красноречиво показали, что у всех пациентов наблюдалась нормализация (или тенденция к ней) процессов протеолиза и естественная элиминация остаточных микроорганизмов. Но эффективность этих процессов более выражена у тех больных, кто принимал Стимбифид.

Выступавшие представили данные по сравнительной оценке розничной стоимости тестируемых препаратов (из расчета на двухнедельный курс). В августе прошлого года курс Стимбифида пациенту обходился в 259 рублей, Лактусана – в 279 рублей, а Линекса – в 978 рублей! И это при том, что, по мнению ученых, все три препарата являются эффективными средствами для восстановления нарушений микробиоценоза кишечника, но при применении Стимбифида наблюдается наиболее отчетливый положительный клинический эффект (менее выраженный – у Лактусана).

Докладчиками было подчеркнуто, что на фоне лечения Стимбифидом выделение из кишечника условно-патогенных микроорганизмов полностью прекратилось, а при использовании Линекса и Лактусана – сохранялось. В отличие от применения Линекса и Лактусана, проведение 2-недельного курса Стимбифида приводило к длительному – до 2 месяцев – пребиотическому эффекту после лечения. После проведенного курса лечения у пациентов отмечалось плавное нарастание суммарного абсолютного содержания КЖК, но наиболее выраженное было у тех, кто получал Стимбифид.

При использовании Стимбифида отмечается более выраженная динамика повышения метаболической активности облигатной микрофлоры, в том числе бифидо- и лактобактерий (по сравнению с «заселяемыми извне» микроорганизмами пробиотика). Стимбифид в равной степени эффективно корrigирует различные типы нарушений (анаэробный и аэробный) состава микроорганизмов, в то время как Линекс максимально эффективен при I типе, а Лактусан – при II.

Таким образом, был сделан вывод, что Стимбифид, Линекс и Лактусан являются эффективными средствами для восстановления нарушений микробиоценоза кишечника. Эффект от их применения (по ряду показателей, характеризующих восстановление качественного состава микроорганизмов, баланса аэробных/анаэробных популяций микроорганизмов, восстановления внутрипросветной среды обитания, процессов протеолиза) отмечается к 7-му дню использования. Докладчики подчеркнули, что они считают целесообразным использование пробиотиков в постоянном режиме, а также сочетанный курсовой прием с пробиотиками для достижения максимального эффекта лечения и профилактики нарушений микробиоценоза кишечника.

Эффективность Стимбифида в терапии у детей

В ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (заместитель директора по научной работе, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор Н.А. Семина) было проведено клиническое исследование эффектив-



М.Д. Ардатская, профессор кафедры гастроэнтерологии ФГУ «Учебно-научный медицинский центр» УД Президента РФ

ности Стимбифика в комплексной терапии острых кишечных инфекций (ОКИ) у детей.

Дело в том, что по распространенности ОКИ стоят на втором месте после острых респираторных вирусных заболеваний, причем наиболее высокая заболеваемость регистрируется у детей раннего возраста: 2,46 случая заболевания в год на 1 ребенка в возрасте до 3 лет. По данным ВОЗ, ежегодно в мире от ОКИ и их осложнений умирают более 5 млн детей.

В патогенезе острых кишечных инфекций особое место занимает нарушение нормальной микрофлоры кишечника, регистрируемое у 95–97% больных. Поэтому в комплексной терапии ОКИ особое место следует отводить своевременной и эффективной коррекции дисбиотических нарушений – применению пробиотических и пребиотических препаратов. Но в остром периоде ОКИ пробиотики оказались эффективными только в отношении ротавирусной инфекции, а при бактериальных кишечных инфекциях результаты были неоднозначными. Исследователи из ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора в комплексной терапии ОКИ бактериальной природы использовали пребиотик Стимбифид.

Под наблюдением находились 60 детей, больных ОКИ (от 6 месяцев до 6 лет). Сопоставив динамику клинических симптомов ОКИ, исследователи установили, что включение Стимбифика в схему терапии основной группы детей с первых дней заболевания позволило быстрее купировать гастроинтестинальные симптомы. При этом специалисты отметили хорошую переносимость препарата (как в монотерапии, так и в комбинации с Бифидумбактерином), а также отсутствие каких-либо негативных побочных, в том числе аллергических, реакций.

При монотерапии Стимбифидом было отмечено повышение клинической эффективности на 20%, а также улучшение микроэкологического пейзажа, в том числе восстановление нормального уровня бифидобактерий у 50% больных, нормальной кишечной палочки – также у 50% пациентов. Положительные изменения в составе облигатной микрофлоры способствовали элиминации *E. coli* с измененной ферментативной активностью у 30% пациентов, *Staphylococcus aureus* – у всех больных этой группы, уменьшению уровня дрожжевых грибов – у 30%.

Еще более явный эффект был достигнут у пациентов, принимавших Стимбифид в комплексе с препаратом бифидобактерий: дефицит бифидобактерий ликвидирован у 70% больных, нормализация уровня *E. coli* достигнута у 50% детей, а также у всех пациентов – полная элиминация условнотоксичных бактерий (*клебасиелла*, цитробактер) и *St. aureus*. В группе пациентов, принимавших только пробиотик, содержащий бифидобактерии, у 60% детей сохранялся дефицит лакто- и бифидобактерий, уровень нормальной кишечной палочки не изменился, как и количество дрожжевых грибов и *St. aureus*. После окончания лечения среди детей, получавших Стимбифид, не было выявлено ни одного пациента с 3-й степенью дисбактериоза (для сравнения: в группе, получавшей пробиотик в виде монотерапии, выраженность микроэкологических нарушений не изменилась и

не было ни одного случая восстановления эубиоза).

Резюмируя полученные результаты, исследователи отметили: «Включение в комплексную терапию ОКИ у детей 1–12 лет Стимбифика в возрастных дозировках курсом не менее 14 дней повышает эффективность терапии и способствует сокращению длительности диарейного синдрома и метеоризма. Использование Стимбифика в остром периоде ОКИ у детей (как в виде монотерапии, так и в сочетании с препаратом бифидобактерий) оказывает положительное влияние на состояние микроэкологии толстой кишки, обеспечивая восстановление нормального уровня бифидобактерий, повышение уровня нормальной кишечной палочки, а также элиминацию условнотоксичных микроорганизмов. Для повышения эффективности биоценозкорrigирующего потенциала монотерапии Стимбифидом необходимо увеличение длительности курса приема препарата до 30 дней».

В многочисленных медицинских исследованиях показано, что фруктоолигосахариды, содержащиеся в Стимбифиде, не только прекрасно защищают и восстанавливают микрофлору кишечника, но и на 20% увеличивают усвоение кальция, что особенно важно для детей в период формирования скелета. Они эффективно повышают иммунитет, снижая частоту респираторных и вирусных инфекций, улучшают умственную деятельность и общее самочувствие, способствуют нормализации массы тела. Стимбифид рекомендован к применению с 6 месяцев жизни и практически не имеет противопоказаний.

Коррекция заболеваний легких Стимбифидом

Выступавшая на симпозиуме с докладом профессор М.Д. Ардатская рассказала о клинических испытаниях Стимбифика, проведенных в Учебно-научном медицинском центре Управления делами Президента РФ. Этот пребиотик показал высокую клиническую эффективность в коррекции нарушений микробиоценоза у пациентов с хроническими и острыми заболеваниями легких на фоне и после проведения антибактериальной терапии (АБТ).

Было проведено несколько исследований. К примеру, ученые рассматривали возможности препарата в группе здоровых лиц, но с выявленным дефицитом облигатной флоры (бифидобактерий – в 50%, лактобактерий – в 30% случаев). Результаты бактериологического исследования были весьма показательными: после 18 дней приема отмечено повышение количества бифидобактерий до нормальных значений у 4 человек (из 5), лактобактерий – у 3 (из 3). У 1 человека со сниженной численностью бифидобактерий их количество возросло на 1 порядок (с 10^6 до 10^7). Повышение числа микроорганизмов остаточной флоры не было выявлено ни у одного человека. ГЖХ-анализ показал повышение абсолютного содержания кислот, что также говорит о восстановлении численности и активности облигатных представителей толстокишечной микрофлоры.

Второе исследование включало две группы больных (обострение хронического бронхита и острые пневмо-



О.Н. Минушкин, главный гастроэнтеролог
Главного медицинского управления УД
Президента РФ, профессор

ний) с разными вариантами лечения: 2А – Стимбифид на фоне антибактериальной терапии (АБТ); 2Б – группа сравнения (только антибактериальные препараты). Основу схем лечения в обеих группах составили антибактериальные средства широкого спектра действия в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов (полусинтетические пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды). У 86,7% и 90% больных исходно были выявлены симптомы кишечной диспепсии, в основном связанные с предшествующим приемом антибиотиков, сопутствующей патологией и т.д.

У пациентов 2А группы на фоне 10-дневного курса лечения, кроме эффекта терапии основного заболевания, отмечены положительные сдвиги в клинической симптоматике: болевой симптом купирован у 13,3% (исходно – 26,7%), урчание – у 33,3% (исходно – 40%), метеоризм – у 26,7% (исходно – 40%). Нормализовалась консистенция стула и частота дефекаций у 46,7% (исходно – 67,7%); периодическое послабление сохранилось после лечения у 13,3%. Время транзита карболена по пищеварительному тракту увеличилось с $14,5 \pm 4,5$ ч до $19,3 \pm 3,7$ ч.

В группе сравнения 2Б отмечалось нарастание симптомов кишечной диспепсии после проведения АБТ.

Болевой симптом констатирован у 30% (исходно – 20%), урчание – у 7 человек (исходно – у 4), метеоризм – у 6 человек (исходно – у 4). Кашицеобразный стул и увеличение частоты дефекаций зафиксированы у 80% (исходно – у 60%). Патологические примеси в кале (слизь) выявлены у 40% (исходно – 20%).

Исходно у пациентов обеих групп бактериологическое исследование показало в составе микрофлоры (главной, факультативной и остаточной) толстой кишки снижение количества бифидо- и лактобактерий (100% в обеих подгруппах); появление кишечной палочки с измененными свойствами (лактозонегативной, гемолитической) – у 40% (2А) и у 70% (2Б); факультативных и условно-патогенных энтерококков – у 53,3% (2А) и 60% (2Б); золотистого стафилококка – у 2 пациентов из каждой подгруппы; повышенного количества клостридиальной флоры – у 33,3% (2А) и 40% (2Б); грибов рода *Candida* – у 40% (2А) и 70% (2Б).

А вот ситуация после лечения: у пациентов основной (2А) группы отмечено: увеличение количества облигатной флоры (бифидобактерий, лактобактерий) – у 46,7%, нормализация – у 13,3%, уменьшение выявления неполноценной и гемолизирующей кишечной палочки – у 20%, клостридий – у 20%.

Уменьшилось также количество условно-патогенных энтеробактерий у 26,7% и грибов рода *Candida* у 40%. В группе 2Б: микробиологический статус сохранился или имел тенденцию к ухудшению показателей – дальнейшее снижение количества облигатной молочнокислой флоры, сохранилась (или увеличилась у 30% пациентов) частота выявления неполноценной и гемолизирующей кишечной палочки, клостридий, условно-патогенных энтеробактерий, грибов рода *Candida*.



А.А. Аваков, старший научный сотрудник
клинического отдела ФГУН МНИИЭМ
им. Г.Н.Габричевского, к.м.н.

Исходно в группе 2А 1-я степень дисбактериоза констатирована у 6,7% больных, 2-я степень – у 73,3%, 3-я степень – у 20%. После комплексного лечения: 1-я степень установлена у 33,3%, 2-я – у 53,3%, 3-я – у 13,4%. Исходные показатели в группе 2Б: 1-я степень констатирована у 10% больных, 2-я степень – у 70%, 3-я степень – у 20%.

После проведения АБТ: 1-я степень – 10%, 2-я – 50%, 3-я – 40%.

Методом газо-жидкостного хроматографического анализа были исследованы КЖК в кале больных исследуемых подгрупп до и после курсов лечения. Результаты изучения абсолютного содержания КЖК (С2–С6) также оказались вполне предсказуемыми.

Исходно абсолютная концентрация КЖК у больных была снижена в 2,5–3 раза по сравнению с нормой. Более того, при заболеваниях легких исходно наблюдалось изменение профиля С2–С4, выражавшееся в снижении доли уксусной и масляной кислот и повышении доли пропионовой кислоты. Значения АИ отклонены в область резко отрицательных значений (-0,681 и -0,644 ед. соответственно).

По мнению М.Д. Ардатской, «данний феномен может быть объяснен косвенным воздействием на микрофлору, обусловленным легочной патологией (развитие гипоксии), за счет изменения циркуляции водорода. Неполное высвобождение H_2 в легких, обусловленное наличием патологии, приводит к возврату и накоплению его в полости кишечника. Это, в свою очередь, вызывает смещение окислительно-восстановительного потенциала внутрипросветной среды в сторону резко отрицательных значений, при которых блокируются ферредоксинсодержащие ферменты, обеспечивающие жизнедеятельность облигатных анаэробов. На этом фоне начинают активно продуцировать условнопатогенные анаэрообы, в частности штаммы условно-патогенных бактериоидов».

На фоне проводимой комплексной терапии у больных группы 2А была отмечена тенденция к повышению абсолютной концентрации КЖК (тенденции к восстановлению микробиоценоза кишечника), при этом в группе 2Б она практически не изменялась на фоне лечения АБ. В основной группе явно просматривалась тенденция к формированию нормального профиля кислот: достоверно повышались доли уксусной и масляной кислот при снижении доли пропионовой кислоты. АИ смещались в сторону нормальных значений.

А в группе 2Б увеличивалась доля пропионовой кислоты, возрастало содержание масляной кислоты (за счет активизации остаточной анаэробной микрофлоры и, в частности, условно-патогенных штаммов рода *Clostridium*). Соответственно, значения АИ отклонялись в более отрицательные области, то есть дисбаланс между аэробными/анаэробными популяциями микроорганизмов нарастал.

Стимбифид и микроэкологические нарушения

В серии следующих испытаний подобным образом была оценена эффективность Стимбифига в коррекции микроэкологических нарушений, возникших вследствие АБТ. Специалисты и пациенты высоко оценили этот пробиотик.

«Можно констатировать высокую эффективность Стимбифига в качестве средства профилактики и коррекции нарушений микробиоценоза. Препарат эффективно стимулирует рост числа бифидобактерий у практически здоровых лиц как с измененным составом кишечной микрофлоры, так и без него. Он является препаратом, который обеспечивает профилактику и коррекцию дисбиотических нарушений во время проведения антибактериальной терапии и после нее. Происходят положительные сдвиги в составе экосистемы толстой кишки, заключающиеся в изменении метаболической активности и родового состава толстокишечной микрофлоры, нормализации анаэробно-аэробных взаимоотношений, восстановлении внутриполостного окислительно-восстановительного потенциала внутрипросветной среды. Этот пребиотик устраняет явления кишечной диспепсии, опосредованно приводит к устранению болевого синдрома и восстановлению двигательной активности кишечника. Он характеризуется хорошей переносимостью и отсутствием побочных эффектов. Все это позволяет рекомендовать Стимбифиг для применения с целью стимуляции роста облигатной флоры у практически здоровых лиц, а также для профилактики и восстановления нарушений микробиоценоза, связанных с проведением антибактериальной терапии».

9. Эффективность пребиотиков в коррекции микроэкологических нарушений в кишечнике

Пребиотики – это препараты или биологически активные добавки немикробного происхождения, не перевариваемые в кишечнике, способные оказывать позитивный эффект на организм через стимуляцию роста и/или метаболической активности нормальной кишечной микрофлоры.

Предварительные исследования пребиотической активности фруктолиго- и фруктополисахаридов в составе препарата Стимбифиг показали, что уже через одни сутки после начала перорального введения препарата Стимбифиг животным опытных групп с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом кишечника общее содержание фекальнойной микрофлоры как у белых мышей, так и у морских свинок превысило почти в 1000 раз аналогичный показатель у животных контрольных групп, не получавших пребиотик Стимбифиг.

В дальнейшем были получены результаты сравнительного изучения эффективности пребиотика Стимбифиг и веществ пищевого назначения с пребиотическим действием (Лактит МС, Лайтесс и Лайтесс ультра) в коррекции нарушений микробиоценоза кишечника белых мышей с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбактериозом. Восстановление собственной микрофлоры кишечника у животных оценивали при пероральном введении сравниваемых веществ.

Лактит МС – синтетический углеводородный спирт, произведенный из молочного сахара, полученного из молочной сыворотки. Лайтесс – полисахарид, состоящий из остатков глюкозы, используется как пищевая добавка и как источник растворимых пищевых волокон. Лайтесс ультра –

порошкообразная усовершенствованная полидекстроза, представляет собой полимер соединенных остатков глюкозы с остатками сорбита. Все выше-перечисленные вещества обладают различной пребиотической активностью, которая была оценена в наших исследованиях.

Наиболее выраженный стимулирующий эффект восстановления нормальной кишечной микрофлоры у подопытных животных оказывает пребиотик Стимбифиг: под влиянием препарата скорость восстановления общего количества индигенных микроорганизмов составляет $2,3 \cdot 10^9$ КОЕ • г⁻¹ • сут.⁻¹.

Пребиотический эффект восстановления индигенной микрофлоры у подопытных животных при пероральном введении полисахарида Лайтесс, полидекстрозы Лайтесс ультра менее выражен в сравнении с аналогичным эффектом пребиотика Стимбифиг: скорость восстановления общего количества кишечной микрофлоры меньше в 10,9 и 10,0 раз соответственно.

Синтетический углеводородный спирт Лактит МС характеризуется наименьшей пребиотической эффективностью и по скорости восстановления общего количества кишечной микрофлоры уступает пребиотику Стимбифиг в 100 раз.

Многочисленными исследованиями установлено, что пребиотическим эффектом обладает большое число соединений, в том числе полисахариды (пектины, декстрин, инулин и др.), пищевые волокна трав, злаковых (отруби, Рекицен-РД и др.), фруктов и т.д.

В связи с тем, что пищевые волокна проявляют ряд положительных физиологических эффектов, в частности стимулируют моторную деятельность кишечника, оказывают благоприятное воздействие на некоторые метаболические реакции организма человека, представляется актуальным изучение взаимоотношения пребиотических микроорганизмов лактобактерий и бифидобактерий с ферментированными пищевыми волокнами препарата Рекицен-РД, а также влияния указанных пищевых волокон на выживаемость и размножение лактобактерий и бифидобактерий в условиях *in vitro*.





Препарат Рекицен-РД кроме указанных эффектов обладает пребиотическим действием. Связано это с тем, что ферментированные пищевые волокна являются селективным стимулятором роста представителей нормальной микрофлоры кишечника, а содержащиеся в препарате короткоцепочечные жирные кислоты обеспечивают энергией рост и размножение нормальной микрофлоры.

Из полученных результатов можно заключить, что в условиях *in vitro* наблюдается более интенсивный рост бактерий на ферментированных пищевых волокнах Рекицена-РД, чем на пищевых волокнах обычных пшеничных отрубей: лактобактерий в 4,9 раз, бифидобактерий – в 3,7 раз.

Ферментированные пищевые волокна препарата Рекицен-РД, использованные пробиотическими лактобактериями и бифидобактериями в качестве субстрата, обеспечивают не только колонизацию, рост и размножение микроорганизмов, но и сохранение их жизнеспособности в процессе хранения в течение 14 дней при температуре (5±2) °C.

Одновременно изучено влияние ферментативных пищевых волокон Рекицена-РД на восстановление нормальной микрофлоры в кишечнике белых мышей и морских свинок с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбактериозом.

Скорость восстановления общего содержания кишечной микрофлоры относительно контроля возрастает у белых мышей в 761 раз, а у морских свинок – в 717 раз при одновременном возрастании у морских свинок бифидобактерий в 6600 раз. Аналогичный стимулирующий эффект Рекицена-РД установлен в отношении других представителей кишечной микрофлоры белых мышей и морских свинок.

Таким образом, в наших экспериментах получены убедительные доказательства высокой пребиотической активности фруктоолиго- и фруктополисахаридов (в составе препарата Стимбицид), ферментированных пищевых волокон на основе пшеничных отрубей (в составе препарата Рекицен-РД), а также других пищевых веществ, стимулирующих восстановление собственной индigenной микрофлоры при микроэкологических нарушениях в кишечнике.

10. Клинико-лабораторное обоснование одновременного применения пребиотиков и антибиотикотерапии

Опубликованные результаты клинико-лабораторного исследования эффективности современных про- и пребиотических препаратов в коррекции дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта, в числе которых фигурирует пребиотик Стимбицид, дают основание говорить о высокой эффективности данного пребиотического препарата в купировании и/или уменьшении выраженности болевого и диспепсического симптомокомплекса, развившегося на фоне антибактериальной терапии.

Подтверждением позитивного влияния пребиотика Стимбицид на микробиоценоз кишечника экспериментальных животных – белых мышей и морских свинок являются результаты настоящего исследования. Так, под влиянием перорального введения животным контрольных групп антибиотика гентамицина у них развились выраженные изменения микробиоценоза кишечника.

У животных опытных групп, получавших наряду с антибиотиком гентамицином пребиотик Стимбицид, практически не было выявлено существенных изменений кишечной микрофлоры, что благоприятно сказалось на внешнем облике экспериментальных животных и их активности.

Анализ динамики восстановления кишечной микрофлоры при антибиотико-ассоцииированном дисбактериозе у белых мышей и морских свинок показал, что скорость восстановления микрофлоры на фоне применения пребиотика Стимбицид у белых мышей была выше контрольных значений в 6100 раз, а у морских свинок в 550 раз.

Необходимо подчеркнуть, что пребиотический препарат Стимбицид, судя по результатам его испытания на экспериментальных животных с дисбиотическими изменениями кишечной микрофлоры, характеризуется хорошей переносимостью и является высокоэффективным средством профилактики и коррекции дисбиотических нарушений как во время введения животным антибиотика гентамицина, так и после его отмены.

Это особенно важно с учетом полученных нами данных о том, что большинство пробиотических микроорганизмов **в 95% случаев чувствительны** в опытах *in vitro* к представителям основных классов антимикробных препаратов.

Таким образом, с учетом положительного клинического опыта применения пребиотика Стимбицид на фоне антибактериальной терапии у больных с воспалительными заболеваниями бронхолегочной системы в условиях стационара «Учебно-научного медицинского центра Управления делами Президента РФ», а также полученных нами результатов, можно заключить, что Стимбицид является высокоэффективным средством профилактики и коррекции дисбиотических нарушений как во время антибиотикотерапии, так и после ее отмены.

Раздел 3. Противоинфекционная активность пребиотиков и метаболитных пробиотиков

К числу инфекционных заболеваний, при которых возникают выраженные дисбиотические изменения в кишечной микрофлоре, относятся псевдотуберкулез и кишечный иерсиниоз – острые зоонозные бактериальные инфекционные болезни, вызываемые микроорганизмами *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica* соответственно.

Для данных болезней характерны фекально-оральный механизм передачи возбудителя, полиморфизм клинических проявлений, поражения желудочно-кишечного тракта и т.д.

Летальность при септической форме псевдотуберкулеза может достигать 25–50 %. Одним из важнейших этапов псевдотуберкулеза как инфекционного заболевания является колонизация слизистых оболочек. Скорость реализации инвазивного потенциала возбудителя псевдотуберкулеза играет определяющую роль при взаимодействии с организмом хозяина, а в дальнейшем – в проникновении через слизистые оболочки во внутреннюю среду чувствительного организма.

Для кишечного иерсиниоза характерны полиморфизм клинической симптоматики, нередко стертая картина начальных проявлений болезни, сходство клинических проявлений с другими заболеваниями кишечника различной этиологии. Однако, при септической форме летальность может достигать 30–60 %.

При естественном (энтеральном) пути введения вирулентных штаммов *Y. enterocolitica* в чувствительный организм, как и при энтеральном введении бактерий близкородственного псевдотуберкулезного микробы (*Y. pseudotuberculosis*), важнейшим этапом инфекционного процесса является взаимодействие возбудителя со слизистой оболочкой кишечника.

Высокая колонизационная резистентность слизистой оболочки кишечника и ее сопротивляемость к колонизации патогенными и условно-патогенными микроорганизмами является составной частью защитных механизмов кишечника в норме.

Повысив колонизационную резистентность слизистой оболочки кишечника за счет стимуляции индигенной микрофлоры, обеспечив бионесовместимость по типу «хозяин против патогена», можно купировать развитие патологического процесса на ранней стадии вышеуказанных инфекций, предотвратив адгезию, инвазию и колонизацию слизистой возбудителями псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза.

При этом важно отметить, что при кишечном иерсиниозе, также как и при псевдотуберкулезе, возникают выраженные дисбиотические изменения в составе кишечной микрофлоры. Очень часто с микроэкологическими нарушениями в консорциуме нормальной кишечной микрофлоры ассоциируются возникающие и усугубляющиеся метаболические нарушения, кото-

рые провоцируют прогрессирование патологического состояния с быстрым летальным исходом.

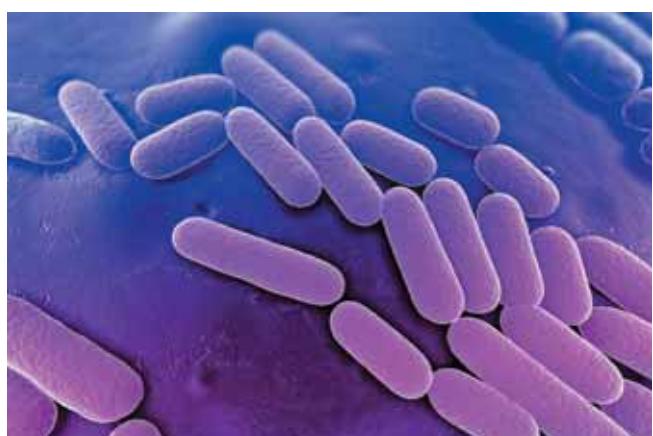
Полученные нами ранее результаты дали основание заключить, что основной вклад в эффективность пробиотических препаратов вносят продукты жизнедеятельности микроорганизмов – экзометаболиты. С учетом полученных результатов, а также клинико-экспериментальных данных об эффективности пребиотика Стимбифид в коррекции микроэкологических нарушений в кишечнике были поставлены специальные эксперименты по оценке возможности использования пребиотического влияния на микрофлору кишечника конвенциональных белых мышей, противостоящую адгезии, колонизации и инвазии иерсиний псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза.

Конвенциональных белых мышей инфицировали перорально культурами псевдотуберкулезного и иерсиниозного микробов и оценивали развитие инфекционных процессов.

Впервые в прямых опытах установлено, что пребиотик Стимбифид и надосадочная жидкость нативной культуры лактобактерий, введенные животным перорально, как и введенный внутримышечно гентамицин, полностью купировали развитие инфекционного процесса. В указанных группах все животные выжили, в контроле – 100% погибли.

В отличие от антибиотика гентамицина пребиотик Стимбифид и надосадочная жидкость нативной культуры лактобактерий, введенные перорально, предотврали развитие дисбактериоза кишечника у животных.

Повышение колонизационной резистентности слизистой оболочки кишечника экспериментальных животных под влиянием пребиотика Стимбифид и микробных экзометаболитов, содержащихся в надосадочной жидкости нативной культуры пробиотических лактобактерий *L.plantarum* 8Р-АЗ, является научной основой нового подхода в лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта инфекционной природы, основывающегося на избирательном стимулирующем влиянии на рост и активацию метаболической активности индигенной кишечной микрофлоры.



Раздел 4. Список научных статей, опубликованных в инновационном сборнике «Кишечная микрофлора: взгляд изнутри. Выпуск №2, 2013 г.»

Глава 1. ПРОБИОТИКИ

- 1.Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А. *Выживаемость микроорганизмов пробиотиков в условиях *in vitro*, имитирующих процесс пищеварения у человека.*
- 2.Чичерин И.Ю., Дармов И.В., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Гаврилов К.Е. *Выживаемость бифидобактерий и лактобактерий в условиях *in vitro* в желудочном соке и duodenальном содержимом людей.*
- 3.Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Ердякова А.С., Погорельский И.П., Лундловских И.А. *Сравнительная оценка выживаемости микроорганизмов пробиотиков в составе коммерческих препаратов в условиях *in vitro*.*
- 4.Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Тетерина И.С. *Экспериментальное изучение чувствительности микроорганизмов пробиотиков к антибактериальным препаратам.*
- 5.Ердякова А.С., Чичерин И.Ю., Лундловских И.А., Погорельский И.П. *Экспериментальная оценка лимфоцитотоксического действия бифидобактерий и лактобактерий.*
- 6.Чичерин И.Ю., Дармов И.В., Богачева Н.А., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Шевцов Н.А. *Исследование влияния больших доз пробиотика Бифидумбактерин и микроорганизмов аутофлоры кишечника на организм белых мышей и показатели клеточного иммунитета.*
- 7.Дармов И.В., Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Дурнев Е.А. *Выживаемость микроорганизмов пробиотиков в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных.*
- 8.Чичерин И.Ю., Дармов И.В., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Гаврилов К.Е. *Заместительное действие пробиотиков: миф или реальность.*
- 9.Чичерин И.Ю., Дармов И.В., Погорельский И.П., Лундловских И.А. *Коррекция экспериментального антибиотико-ассоциированного дисбактериоза у морских свинок пробиотиком Биоспорин.*
- 10.Погорельский И.П., Чичерин И.Ю., Лундловских И.А. *Экологическая и функциональная маргинальность пробиотических микроорганизмов.*
- 11.Чичерин И.Ю., Лундловских И.А., Погорельский И.П., Гаврилов К.Е., Янов С.Н., Дармов И.В. *Влияние подавления секреции желудочного сока препаратом Париет на приживаемость бифидобактерий и лактобактерий в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных.*
- 12.Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Бессолицына Е.А., Дармов И.В., Шабалина М.Р. *Микроорганизмы пробиотиков и индигенной микрофлоры человека и животных: характер взаимодействия при совместном культивировании на плотной питательной среде.*
- 13.Погорельский И.П., Чичерин И.Ю., Лундловских И.А., Дармов И.В., Маракулин И.В. *Экспериментальное изучение лимфоцитотоксического действия аутотрансплантируемых гомопробиотических бифидобактерий и лактобактерий.*
- 14.Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Дармов И.В., Лундловских И.А., Гаврилов К.Е. *Пробиотики: вектор развития.*

Глава 2. ПРЕБИОТИКИ

- 15.*Гастроэнтерологический симпозиум. Новые подходы к терапии заболеваний желудочно-кишечной системы. Коррекция и профилактика дисбактериоза.*

16.Грачева Н.М., Малышев Н.А., Чичерин И.Ю., Аваков А.А., Паргин О.С., Щербаков И.Т., Соловьева А.И., Герасимова Н.В. *Фруктоолигосахариды и фруктополисахариды в комплексном лечении больных желудочно-кишечными заболеваниями с явлениями дисбактериоза кишечника.*

17.Ардатская М.Д., Чичерин И.Ю., Стражев С.В., Минушкин О.Н. *Эффективность фруктоолиго- и фруктополисахаридов в коррекции и профилактике нарушений микробиоценоза кишечника.*

18.Чичерин И.Ю., Дармов И.В., Погорельский И.П., Лундловских И.А. *Микрофлора кишечника белых мышей и морских свинок при экспериментальном антибиотико-ассоциированном дисбактериозе и возможность ее коррекции пробиотиком Стимбифид.*

19.Чичерин И.Ю., Дармов И.В., Лундловских И.А., Погорельский И.П., Маракулин И.В. *Протективная активность пробиотика Стимбифид, предотвращающая развитие нарушений микробиоценоза кишечника экспериментальных животных на фоне антибиотикотерапии.*

20.Бредихин В.Н., Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Лещенко А.А., Лазыкин А.Г. *Микроэкологические изменения в кишечнике при дисбактериозе: экспериментальное обоснование возможности коррекции дисбиотических изменений пробиотиком Стимбифид.*

21.Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Дармов И.В., Маракулин И.В. *Сравнительная оценка способности пищевых веществ с пробиотическим действием и пробиотика Стимбифид к восстановлению кишечной микрофлоры у конвенциональных белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом.*

22.Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Дармов И.В., Лундловских И.А., Кулемин Л.М., Гаврилов К.Е., Дурнев Е.А. *Ферментированные пищевые волокна препарата Рекицен-РД: пробиотический эффект в условиях *in vitro**

23.Чичерин И.Ю., Кулемин Л.М., Дармов И.В., Лундловских И.А., Погорельский И.П. *Рекицен-РД в коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у белых мышей и морских свинок с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбактериозом*

Глава 3. ПРОТИВОИНФЕКЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕБИОТИКОВ И МЕТАБОЛИТНЫХ ПРОБИОТИКОВ

24.Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Дармов И.В., Маракулин И.В. *Экспериментальный псевдотуберкулез: оценка возможности профилактики, лечения и коррекции дисбиотических нарушений кишечной микрофлоры*

25.Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Бессолицына Е.А., Дармов И.В., Шабалина М.Р. *Колонизационная резистентность слизистой оболочки кишечника при экспериментальном иерсиниозе*

26.Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундловских И.А., Дармов И.В., Малов А.А. *Антибактериальная активность и состав надосадочной жидкости нативной культуры Lactobacillus plantarum 8P-A3*

ГЛАВА 4. СПРАВОЧНАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ДИССЕРТАЦИОННЫХ РАБОТАХ РФ ЗА 2000-2012 ГГ., ПОЛНОСТЬЮ ИЛИ ЧАСТИЧНО ПОСВЯЩЕННЫХ ВОПРОСАМ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ.

Рекицен-РД

ГЛУБОКОЕ ОЧИЩЕНИЕ ОРГАНИЗМА ОТ «ШЛАКОВ» – СРЕДСТВО №1 В РОССИИ

17 лет на рынке

Рекицен-РД –

единственная в стране биодобавка, вошедшая по итогам 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011 и 2012 гг. в "Сто лучших товаров России", награжденная 14 золотыми медалями и специальным дипломом ЮНЕСКО

Связывает и выводит из организма токсины микробов, спирты, соли тяжелых металлов

Восстанавливает уровень нормальной микрофлоры кишечника при дисбактериозе

Проявляет высокую эффективность при запорах, изжоге, пищевых расстройствах, алкогольной интоксикации и диабете

Под его воздействием очищаются кожные покровы при угревой сыпи, псориазе, аллергодерматозах

В отличие от большинства энтеросорбентов не выводит из кишечника полезные вещества

Препарат уникален двумя взаимодополняющими друг друга функциями - проводит эффективную глубокую очистку организма от шлаков и одновременно насыщает организм пищевыми волокнами, микроэлементами, витаминами Е, В1, В2, В3, В4, В5, В7, В12, Н, К, РР, D2, аминокислотами, ферментами, пектином - полезными веществами, входящими в его состав



ЖУРАВЛЕВ Валентин Андреевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, Почетный академик Международной академии медицинских наук, организатор и первый ректор Кировской государственной медицинской академии.

Как один из организаторов здравоохранения Кировской области с гордостью констатирую факт разработки и появления в нашем регионе в середине 90-х годов удивительного и высокоэффективного препарата **Рекицен-РД**, в апробации которого принимали участие ведущие медицинские учреждения области. В НИИ микробиологии МО РФ продемонстрирована высокая сорбционная активность **Рекицена-РД** в отношении различных токсинов патогенных микроорганизмов. Исследования, проведенные в КГМА, показали высокую эффективность **Рекицена-РД** при различных пищевых токсикоинфекциях у пациентов различного возраста, в том числе при сальмонеллезе у детей. Отмечена высокая противовоспалительная активность препарата. Многолетняя апробация **Рекицена-РД** показала, что он является уникальным по своей структуре и механизмам действия.



БОНДАРЕНКО Виктор Михайлович, Академик РАЕН и РАМН, доктор медицинских наук, профессор. Председатель Комитета Медицинских иммунобиологических препаратов Минздравсоцразвития РФ.

При изучении **Рекицена-РД** получены позитивные данные об его способности инактивировать бактериальные протеазы, а также связывать эндотоксин – ЛПС патогенных и условнопатогенных энтеробактерий, в том числе, шигелл, сальмонелл, патогенных кишечных палочек и клебсиелл, что указывает на возможные механизмы профилактического и лечебного действия препарата при острых и хронических кишечных инфекциях и дисбактериозах.



ШЕНДЕРОВ Борис Аркадьевич, доктор медицинских наук, профессор, руководитель группы пробиотики и продукты функционального питания "ГУ МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, президент Российской Ассоциации "Эпидбиомед".

Биологически активная добавка **Рекицен-РД**, состоящая на 60% из ферментированных пищевых волокон, прекрасно зарекомендовала себя при лечении дисбактериоза кишечника в качестве эффективного стимулятора роста нормальной микрофлоры кишечника - лакто- и бифидобактерий, а также в качестве препарата, обладающего выраженной антитоксической активностью. Данное свойство препарата играет важную роль при лечении различных отравлений и пищевых токсикоинфекций.



САНДАКОВА Елена Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ФУВ Пермской государственной медицинской академии.

Рекицен-РД способствует восстановлению нарушенного микробиоценоза кишечника. Чрезвычайно важными являются его противовоспалительное действие и иммунотропный эффект. Отсутствие повреждающего действия на плод, позволяет применять его с первого триместра беременности для регуляции работы кишечника, устранивая весьма характерные для этого периода запоры. Он незаменим в комплексном лечении беременных с невынашиванием, обусловленным генитальной инфекцией, т.к. восстанавливая кишечный биоценоз, **Рекицен-РД** способствует нормализации влагалищной флоры.

Поставки в аптеки в РФ: ЗАО ЦВ «Протек» и ЗАО НПК «Катрен»

Подробная информация на сайте: www.rekicen.ru

Аптечная справочная по г. Москве и МО: (495) 995-995-1

Новейшая Российская разработка на основе фруктоолигосахаридов – Стимбифид увеличивает содержание полезных бифидобактерий в кишечнике до 10^{10} (!) в 1 г, что превышает аналогичные показатели при использовании традиционного бифидумбактерина в 10 раз!

10¹⁰

СТИМБИФИД

СТИМУЛЯТОР БИФИДОБАКТЕРИЙ



СОГР № RU.77.99.11.003.Е.002068.01.12
ТУ 9330-002-50168265-05 с изм.

ВЫСОКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИ ДИСБАКТЕРИОЗЕ КИШЕЧНИКА

Уникальный состав для быстрого и эффективного восстановления нормальной микрофлоры кишечника:

• Фруктополисахариды и фруктоолигосахариды

Растительные волокна – фруктополисахариды (инулин) и получаемые на их основе фруктоолигосахариды (олигофруктоза) содержатся во многих фруктовых и овощных культурах, и, таким образом входят в наш повседневный рацион на протяжении многих столетий. Они не перевариваются в желудке и тонкой кишке и доходят до толстой кишки в практически неизменном виде, где они селективно стимулируют рост полезных бифидобактерий. Таким образом, инулин и олигофруктоза являются **эксклюзивным питанием для бифидобактерий** – основного компонента облигатной микрофлоры кишечника.

Специально разработанная формула Стимбифига, содержащего уникальную композицию длинных (GFn, n=2-60) и коротких цепочек (GFn, n=2-8) фруктосахаридов, обеспечивает снабжение бифидобактерий эксклюзивным питанием по всей длине толстой кишки, чем достигается:

- **Пребиотический эффект.** Многократный рост собственной бифидофлоры кишечника, вслед за которым возрастает содержание лактобацилл и кишечной палочки.
- Эффект диетического (пищевого) волокна. Способствуют увеличению массы стула и частоты дефекаций.
- Увеличение резистентности слизистых оболочек к воспалительным факторам.
- Нормализация липидного обмена и массы тела.
- Повышение сопротивляемости организма и улучшение самочувствия.
- Значительное повышение усвоения кальция.

• Витаминно-минеральный комплекс «Immunity» для улучшения работы ЖКТ и иммунной системы

Витамины: биотин, С, Е, В₁, В₂, В₃, В₅, В₆, В_C, В₁₂. Микроэлементы: Se (селен), Zn (цинк).

Показания к применению:

- дисбактериозы (дисбиозы) кишечника и их профилактика
- острые и хронические кишечные инфекции и их профилактика
- аллергические заболевания и иммунодефицитные состояния
- поддержание и восстановление микробиоты кишечника во время и после антибиотико- и химиотерапии
- хронические колиты
- функциональные расстройства работы кишечника

Поставки в аптеки в РФ: ЗАО ЦВ «Протек»

Подробная информация на сайте: www.disbak.ru

Аптечная справочная по г. Москве и МО: (495) 995-995-1