

БІОЛОГІЯ

УДК 616.33-022.44-085+615.331

О. В. Вірченко, Т. В. Берегова, О. І. Цирюк

ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНОГО ВПЛИВУ МУЛЬТИПРОБІОТИКА “СИМБІТЕР” ПРИ РОЗВИТКУ ГОСТРИХ УРАЖЕНЬ В СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА ЩУРІВ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка (м. Київ)

Дослідження виконувались в рамках наукової теми №06БФ036-03 “Дослідження механізмів функціонування органів травного тракту та розробка методів їх корекції” № держреєстрації 0106U005755.

Вступ. Виразкова хвороба (ВХ) шлунка і дванадцятипалої кишки є одним з найбільш поширених гастроентерологічних захворювань. Дослідження останніх десятиріч показали важливу роль бактерії *Helicobacter pilory* як етіологічного фактора ульцерогенезу. Використання антибіотиків для ерадикації *H. pilory* є причиною появи дисбактеріозів. Тому пробіотики (за визначенням ВОЗ, живі мікроорганізми, які при застосуванні у відповідних кількостях здійснюють позитивний вплив на здоров'я) рекомендовані для комплексного лікування ВХ і корекції супутніх дисбіозів. Численні дослідження по вивченню властивостей пробіотиків показали їхні унікальні властивості у лікуванні гастроентерологічних хвороб, а саме діареї, хвороби Крона, виразкових колітів, резервуарного ілеїту, синдрому подразненого кишечника, раку кишечника [2-4]. Дані по впливу пробіотиків на структурний стан слизової оболонки шлунка (СОШ) обмежуються роботами Lam E. K. та ін., який досліджував механізми лікувальної дії бактерії *Lactobacillus rhamnosus GG* при експериментальному виразкоутворенні у щурів, викликаному 60% оцтовою кислотою [5], та Konturek P. C. та ін., який вивчав механізми протективної дії *E. coli* штаму Nissle (EcN) і пробіотика *Lacidofil* (95 % *Lactobacillus rhamnosus rosell-11* и 5 % *Lactobacillus acidophilus rosell-52*) при стрес-та етанол-індукованих ураженнях у шлунку щурів [5].

Тому метою роботи було дослідження впливу пробіотиків на структурний стан шлунка щурів, за умов розвитку гострих уражень. Свій вибір ми зупинили на одно-

му з найбільш ефективних сьогодні мультипробіотиків “Симбітер ацидофільний концентрований” (НВК “О. Д. Пролісок”) (далі Симбітер), у склад якого входить концентрована біомаса живих клітин бактерій 14 штамів (лактобацил, біфідобактерій, лактококів, пропіоновокислих бактерій), що знаходяться у мутуалістичних взаємовідносинах. Відповідно до мети були поставлені наступні задачі:

1) дослідження впливу Симбітеру на гоєння нейро-дистрофічних уражень (НДУ) шлунка щурів, викликаних стресом.

2) дослідження профілактичного впливу Симбітеру на розвиток уражень в СОШ щурів, викликаних етанолом.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводилися на білих нелінійних щурах масою 180-200 г з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [7].

Для дослідження лікувальної дії Симбітеру були викликані НДУ СОШ щурів, для чого була використана модель 3-годинного водно-імобілізаційного стресу (ВІС) за Takagi et al., 1964 [8]. Для дослідження динаміки гоєння уражень СОШ тварин було поділено на 9 груп по 10 щурів кожна. Тварин 1-ої групи умертвляли шляхом цервікальної дислокації відразу після закінчення дії стресу; 2-ої і 3-ої груп – через добу після закінчення дії стресу; 4-ої і 5-ої груп – через 2 доби; 6-ої і 7-ої груп – через 3; 8-ої і 9-ої груп – через 4. Тваринам 2, 4, 6, 8-ої груп вводили воду об'ємом 0, 5 мл на щура, а тваринам 3, 5, 7, 9-ої груп водний розчин Симбітеру об'ємом 0, 5 мл з розрахунку 140 мг/кг нерозведеного препарату двічі на добу (per os). В кожній групі тварин визначали розміри уражень СОШ, таким чином ми спостерігали динаміку гоєння виразок та

ерозій, викликаних дією ВІС, в групах щурів, що отримували воду (плацебо) та в групах, що отримували Симбітер.

Для вивчення профілактичної дії Симбітеру тварини були поділені на 2 групи по 10 щурів кожна. Щурам 1-ої групи (контроль) двічі на добу перорально вводили 0, 5 мл води впродовж 7 днів, а тваринам 2-ої групи відповідно 0, 5 мл водного розчину Симбітеру з розрахунку 140 мг/кг. Через добу після останнього введення викликалися ураження СОШ щурів внутрішньошлунковим введенням 1 мл 96% етилового спирту. Через годину після введення спирту тварин умертвляли шляхом цервікальної дислокації.

В обох серіях експериментів стан СОШ досліджували за допомогою гастроскопу і обраховували площі виразок та довжину ерозій методом планіметрії.

Статистична обробка даних здійснювалася у пакеті програм "Statistica 6. 0". Для аналізу виду розподілу даних був використаний W критерій Шапіро-Уїлка. Отримані дані не підлягали нормальному розподілу, тому були використані непараметричні мето-

ди порівняння вибірок. Порівняння непараметричних даних проводилося за допомогою U-критерію Манна-Уїтні для незалежних вибірок. Розраховували медіану (Me) і нижній та верхній квантілі (Me, [н. кв. ; в. кв]). Значущими вважали відмінності при $p \leq 0, 05$.

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті дослідження динаміки гоєння нейро-дистрофічних уражень було встановлено, що у СОШ щурів одразу після закінчення дії ВІС, площа виразок становили 2, 75, [2; 4, 5] мм² (рис. 1). Через день після ВІС площа виразок СОШ у групі щурів, які отримували плацебо, становила 3, 63, [0; 10, 25] мм² і статистично значущо не відрізнялась, але мала тенденцію до зростання в порівнянні з групою щурів, ураження яких досліджувалися одразу після ВІС. На другий день після ВІС площа виразок у щурів, які отримували плацебо, була 4, 5, [0; 6] мм², що статистично значущо не відрізняється від площі виразок одразу після ВІС, але має тенденцію до зниження в порівнянні з площею виразок, які були через добу після стресу.

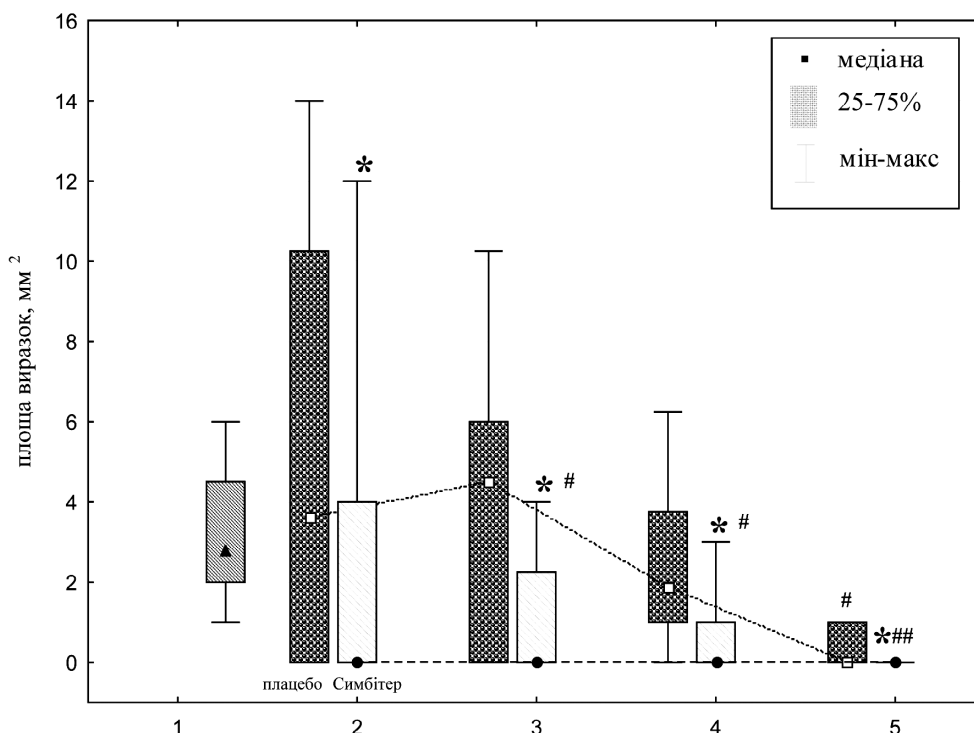


Рис. 1. Вплив мультипробіотика «Симбітер» (140 мг/кг, per os) на динаміку гоєння виразок в СОШ щурів, викликаних водно-імобілізаційним стресом:

- 1 – через 5 хв після стресу (n=10);
- 2 – через добу після стресу (n=20);
- 3 – через 2 доби після стресу (n=20);
- 4 – через 3 доби після стресу (n=20);
- 5 – через 4 доби після стресу (n=20).

Примітка: * – $p < 0, 05$ відносно групи щурів, яким вводили плацебо такий самий термін, # – $p < 0, 05$ відносно 1 групи щурів, # # – $p < 0, 01$ відносно 1 групи щурів.

Через три дні після ВІС площа виразок у щурів, які отримували плацебо, становила 1, 88, [1; 3, 75] мм², що статистично значущо не відрізняється від такої у групі щурів, яких умертвляли одразу після закінчення дії стресу, але має тенденцію до зниження в порівнянні з нею, а також в порівнянні з площею виразок СОШ, яка досліджувалася через дві доби після ВІС. На четверту добу після стресу площа виразок СОШ щурів, які отримували плацебо, становила 0, [0; 1] мм², що значущо менше в порівнянні з площами виразок одразу та через 3 доби після стресу ($p < 0, 05$). Таким чином отримані результати свідчать про позитивну динаміку гоєння стрес-індукованих виразок у СОШ щурів, при чому через 4 доби після стресу виразки практично повністю загоюються (рис. 1). Вивчення лікувальної дії мультипробіотика «Симбітер» показало його виражений позитивний вплив на динаміку гоєння стрес-індукованих уражень

СОШ щурів. Статистичний аналіз отриманих даних показав, що лікувальний вплив мультипробіотика на гоєння виразок СОШ спостерігається вже на 1-у добу після ВІС. Так у групі щурів, що отримували Симбітер впродовж 1 доби, площа виразок становила 0, [0; 4] мм² і була значущо менша, ніж у групі з плацебо ($p < 0, 05$), а також мала тенденцію до зменшення в порівнянні з групою, НДУ якої досліджувались одразу після ВІС. На другу та третю добу площа виразок у щурів, яким вводили Симбітер, становила 0, [0; 2, 25] мм² та 0, [0; 1] мм² відповідно, що значущо менше за площу виразок щурів, яким вводили воду впродовж 2 та 3 днів, а також щурів, ураження СОШ яких досліджували одразу після стресу ($p < 0, 05$). На 4-у добу якщо у групі щурів, яким вводили плацебо, спостерігали виразки у СОШ площею 0, [0; 1] мм², то у групі, якій вводили Симбітер відбувалося їх повне загоєння (рис. 2).

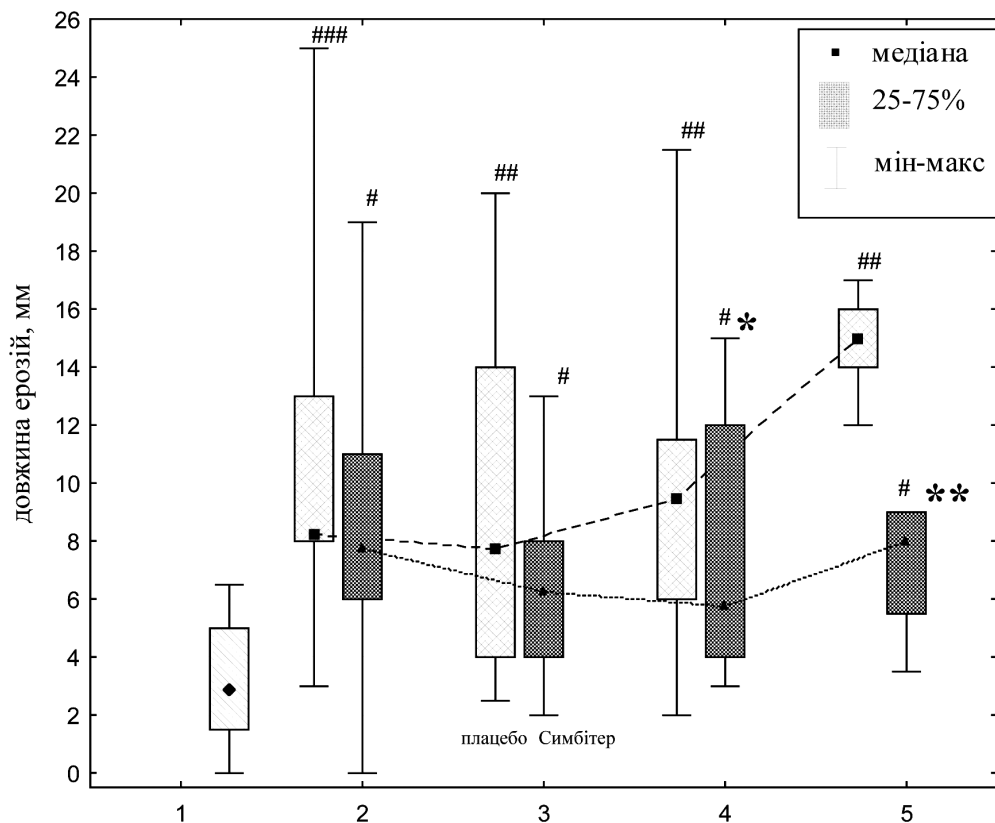


Рис. 2. Вплив мультипробіотика «Симбітер» (140 мг/кг, per os) на динаміку гоєння ерозій в СОШ щурів, викликаних водно-імобілізаційним стресом:

- 1 – через 5 хв після стресу (n=10);
- 2 – через добу після стресу (n=20);
- 3 – через 2 доби після стресу (n=20);
- 4 – через 3 доби після стресу (n=20);
- 5 – через 4 доби після стресу (n=20).

Примітка: * – $p < 0, 05$ відносно групи щурів, яким вводили плацебо такий самий термін, ** – $p < 0, 01$ відносно групи щурів, яким вводили плацебо такий самий термін, # – $p < 0, 05$ відносно 1 групи щурів, # # – $p < 0, 01$ відносно 1 групи щурів, # # # – $p < 0, 001$ відносно 1 групи щурів.

В результаті дослідження динаміки гоєння НДУ було виявлено, що довжина ерозій у СОШ щурів одразу після стресу, становила 2, 88, [1, 5; 5] мм. Через добу після ВІС довжина ерозій була більшою в 2, 9 рази порівняно з довжиною ерозій, які досліджувалися одразу після стресу ($p < 0, 001$). Довжина ерозій на другу добу – 7, 75, [4; 14] мм, що в 2, 7 рази більше за довжину ерозій одразу після стресу ($p < 0, 01$). Довжина ерозій через 3 доби після ВІС становила 9, 5, [6; 11, 5] мм, що в 3, 29 рази більше, ніж одразу після стресу ($p < 0, 01$). Також необхідно зазначити, що спостерігається зростання центральної тенденції даної вибірки, тобто розміри ерозій на третю добу збільшуються, що корелює із зниженням розмірів виразок у цієї групи щурів. Щодо довжини ерозії на 4-ту добу, то вона становила 15, [14; 16] мм і була значущо більша, ніж одразу та через 3 доби після стресу, відповідно в 5, 2 ($p < 0, 01$) та 1, 56 ($p < 0, 05$) рази. Отже, розміри ерозії через 4 доби збільшуються, що корелює із гоєнням виразок. Введення Симбітеру зумовило пришвидшення гоєння ерозій в СОШ щурів. Так, довжина ерозій у шлунках щурів, яким вводили Сим-

бітер, через 1-у та 2-і доби після ВІС мала тенденцію до зменшення, порівняно зі щурами, яким вводили воду, а на 3-ю та 4-у добу була значущо менша відповідно у 1, 65 ($p < 0, 05$) і 1, 88 рази ($p < 0, 01$) (рис. 2).

Таким чином через 4 доби після дії ВІС ми спостерігали гоєння виразок у СОШ щурів, що отримували плацебо, і виражене пришвидшення їх лікування при застосуванні мультипробіотика «Симбітер» (рис. 1). Що стосується ерозій, через 4 доби після ВІС у СОШ їх залишалася значна кількість, як в групі щурів, яким вводили плацебо, так і в групі, яким вводили мультипробіотик, проте введення Симбітера також здійснювало позитивний вплив на гоєння ерозивних уражень СОШ щурів (рис. 2).

Наступним етапом роботи було дослідження профілактичного впливу Симбітеру на розвиток уражень в СОШ щурів, викликаних етанолом. Так, було встановлено, що площа виразок у слизовій оболонці шлунка щурів, яким перед експериментальним етаноловим виразкоутворенням упродовж 7 днів вводили плацебо, була 10, 5; [4; 12, 5] мм², а довжина ерозій – 4; [0; 5] мм.

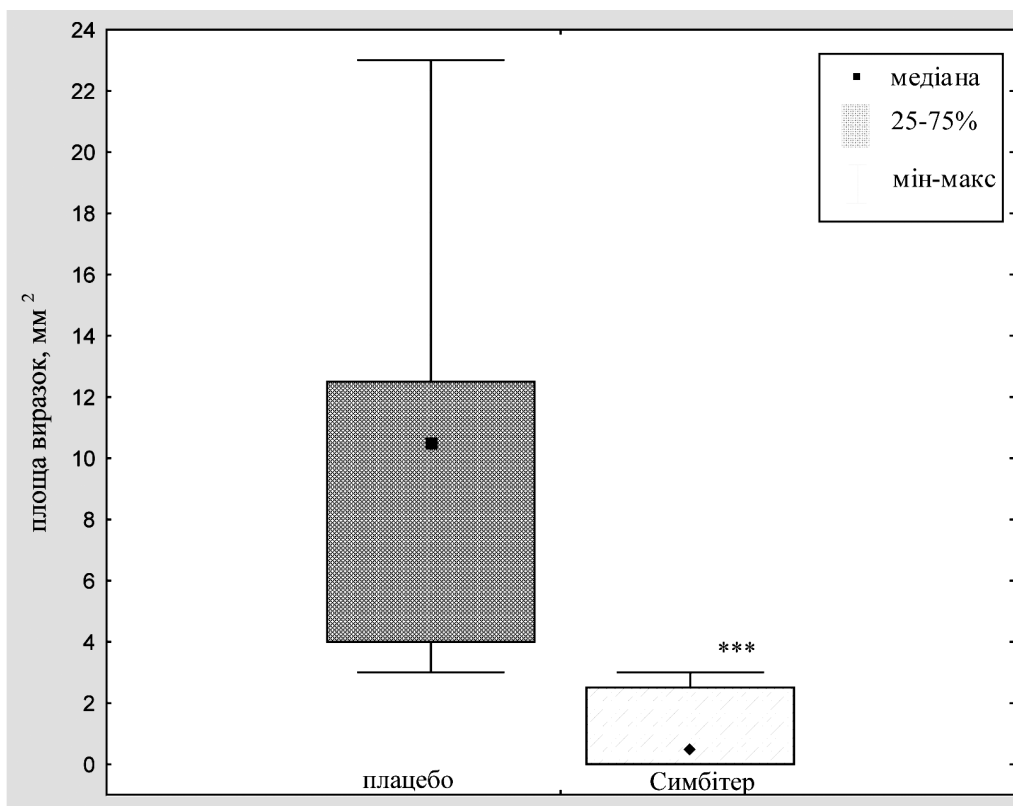


Рис. 3. Профілактичний вплив мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» (140 мг/кг, per os) на утворення виразок в СОШ щурів, викликаних введенням 96% етилового спирту :

1 – введення води впродовж 7 діб (n=10);

2 – введення мультипробіотика «Симбітер» впродовж 7 діб (n=10).

Примітка: ***– $p < 0, 001$ відносно групи щурів, яким вводили плацебо.

Профілактичне введення Симбітеру спричинило зменшення загальної площі виразок в шлунку в середньому в 7, 4 рази ($p < 0, 001$), а ерозій в 2, 96 рази ($p < 0, 05$) порівняно з тва-

ринами контрольної групи (рис. 3 і рис. 4). Візуально також спостерігалось зменшення крововиливів в СОШ тварин, яким проводили профілактику Симбітером.

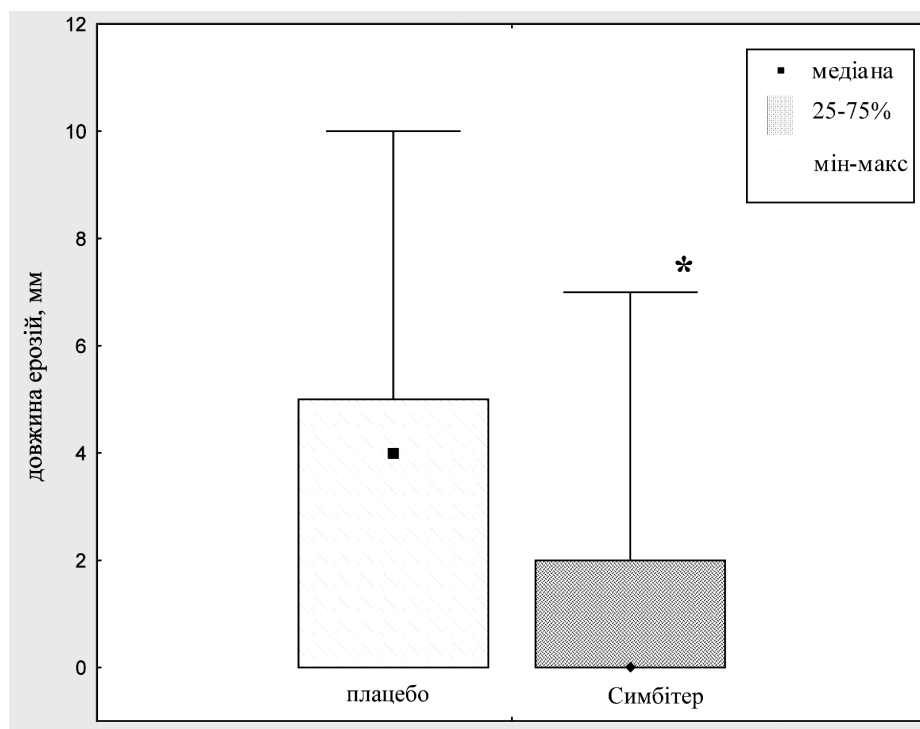


Рис. 4. Профілактичний вплив мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» (140 мг/кг, per os) на утворення ерозій в СОШ щурів, викликаних введенням 96% етилового спирту:

1 – введення води впродовж 7 діб (n=10);

2 – введення мультипробіотика «Симбітер» впродовж 7 діб (n=10).

Примітка: * – $p < 0, 05$ відносно групи щурів, яким вводили плацебо.

Таким чином отримані дані свідчать про значний профілактичний вплив Симбітеру на розвиток уражень в СОШ щурів, викликаних етанолом.

Механізми профілактичної та лікувальної дії пробіотиків повністю не встановлені. За даними Р. С. Konturek et al. позитивний профілактичний вплив пробіотиків на гоєння уражень СОШ здійснюється завдяки протизапальній, антиапоптичній і вазодилаторній дії [6]. В їхній роботі також зазначається, що введення пробіотиків стимулює синтез простагландину E2, який забезпечує захист від уражень СОШ, а також пригнічує експресію прозапального фактора ФНП- α [6]. В роботі Lam E. K. et al. було показано, що введення *L. rhamnosus* GG стимулює експресію фактора росту ендотелію судин (VEGF) і посилює рівень фосфорилування епідермального фактора росту (EGF). Крім цього спостерігалася підвищена експресія антиапоптичного фактору - Bcl-2 білку. Отже, за Lam E. K. et al. *L. rhamnosus* покращує лікування виразкових уражень СОШ через зменшення апоптозу клітин, по відношенню до

проліферації, і через стимулювання ангиогенезу в стінці шлунка [5].

Також варто взяти до уваги той факт, що метаболіти нормальної мікрофлори – коротколанцюгові жирні кислоти є фізіологічно активними речовинами. Дані літератури свідчать, що вони після всмоктування в кров знижують тонічну активність блукаючих нервів, внаслідок чого знижується секреція кислоти у шлунку. Це створює сприятливі умови для гоєння НДУ СОШ [1].

Аналіз літературних даних показав універсальність дії пробіотичних штамів бактерій, яка здійснюється за рахунок взаємодії ліпополісахаридів клітинних оболонок бактерій з TLR-рецепторами епітеліальних клітин шлунково-кишкового тракту [9]. Така взаємодія сприяє посиленню бар'єрної функції стінки травного тракту, імунореактивності організму, забезпечує запуск різноманітних протизапальних механізмів.

Висновки. Одержані дані свідчать про значний позитивний лікувально-профілактичний вплив мультипробіотика «Симбітер» на розвиток гострих уражень

СОШ щурів. Результати роботи є науковим підтвердженням доцільності використання пробіотиків в лікуванні і профілактиці рецидивів виразкової хвороби шлунку.

Перспективи подальших досліджень. Результати досліджень будуть покладені в основу широкого впровадження пробіотиків в клінічну практику як засобів профілактики рецидивів виразкової хвороби шлунку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Берегова Т. В. Значення коротколанцюгових жирних кислот і лактату в регуляції шлункової секреції / Т. М. Т. В. Берегова, Фалалеєва // Фізіологічний журнал. - 2006. - Т. 52, № 3. - С. 41-50.
2. Delcenserie V. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract / V. Delcenserie, D. Martel, M. Lamoureux [et al.] // Curr Issues Mol Biol. - 2008. - Vol. 10, № 1-2. - P. 37-54.
3. Chermesh I. Probiotics and the gastrointestinal tract: where are we in 2005? / I. Chermesh, R. Eliakim // World J Gastroenterol. - 2006. - Vol. 12, № 6. - P. 853-857.
4. Limdi J. K. Do probiotics have a therapeutic role in gastroenterology? / J. K. Limdi, C. O'Neill, J. McLaughlin // World J Gastroenterol - 2006 - Vol. 12, № 34 - P. 5447-5457.
5. Lam E. K. Probiotic Lactobacillus rhamnosus GG enhances gastric ulcer healing in rats / E. K. Lam, L. Yu, H. P. Wong [et al.] // Eur J Pharmacol. - 2007. - Vol. 565, № 1-3. - P. 171-179.
6. Konturek P. C. Gastroprotective effects of probiotics: myth or reality? / P. C. Konturek, T. Brzozowski, K. Loffler [et al.] // 5th international symposium on cell/tissue injury and cytoprotection/organoprotection. - Yalta, Ukraine. - 17-19 September, 2008.
7. Rozemond H. Laboratory animal protection: the European Convention and the Dutch Act. / H. Rozemond // Vet Q. - 1986. - Vol. 8, № 4. - P. 346-349.
8. Takagi K. Studies on the Drugs for Peptic Ulcer. A Reliable Method for Producing Stress Ulcer in Rats / K. Takagi, Y. Kasuya, K. Watanabe // Chem Pharm Bull (Tokyo). - 1964. - Vol. 12 - P. 465-472.
9. Winkler P. Molecular and cellular basis of microflora-host interactions / P. Winkler, D. Ghadimi, J. Schrezenmeir [et al.] // J. Nutr. - 2007. - Vol. 137. - P. 756-772.

УДК 616.33-022.44-085+615.331

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ МУЛЬТИПРОБИОТИКА «СИМБИТЕР» ПРИ РАЗВИТИИ ОСТРЫХ ПОРАЖЕНИЙ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА КРЫС

Вирченко А. В., Береговая Т. В., Цирюк Е. И.

Резюме. Исследована лечебно-профилактическая роль мультипробиотика «Симбитер» при развитии острых поражений слизистой оболочки желудка крыс. Показано, что введение Симбитера значительно ускоряет заживление язв и эрозий, вызванных действием водно-иммобилизационного стресса. Профилактическое введение Симбитера оказывает положительное влияние на развитие поражений слизистой оболочки желудка крыс, вызванных 96% этиловым спиртом. Таким образом, результаты работы есть научным подтверждением целесообразности использования пробиотиков в лечении и профилактике рецидивов язвенной болезни желудка.

Ключевые слова: мультипробиотик, язвенная болезнь желудка, водно-иммобилизационный стресс.

UDC 616.33-022.44-085+615.331

The INVESTIGATION of TREATMENT and PROPHYLACTIC INFLUENCE of PROBIOTIC "SYMBITER" on DEVELOPMENT of GASTRIC MUCOSA LESIONS in RATS

Virchenko O. V., Beregova T. V., Tsyryuk O. I.

Summary. Treatment and prophylactic action of multiprobiotic "Symbiter" on development of acute gastric mucosa lesions in rats was investigated. It was shown that introduction of Symbiter accelerates cicatrization of ulcers and erosions, caused by water immobilization stress, considerably. Prophylactic introduction of Symbiter exerts positive influence on development of gastric mucosa lesions in rats, caused by 96% ethanol. Therefore results of our study are research confirmation of expediency of probiotic application in the treatment and prevention of gastric ulcer.

Key words: probiotic, gastric ulcer, water immobilization stress.

Стаття надійшла 4.02.2010 р.