

Влияние пробиотических бактерий на пищеварение в кишечнике при коррекции экспериментального дисбиоза у крыс

Л. В. Громова, д.б.н., зав. лабораторией физиологии питания¹

А. С. Алексеева, м.н.с. лаборатории физиологии питания¹

Ю. В. Дмитриева, к.б.н., научный сотрудник лаборатории физиологии питания¹

Е. В. Савочкина, м.н.с. лаборатории физиологии питания¹

А. А. Груздков, д.б.н., вед. научный сотрудник лаборатории физиологии питания¹

М. П. Котылева, м.н.с. лаборатории биомедицинской микробиологии²

Е. И. Ермоленко, д.м.н., зав. лабораторией биомедицинской микробиологии², проф. кафедры физиологии медицинского факультета³

А. Н. Суворов, проф., чл.-корр. РАН, зав. отделом молекулярной микробиологии², зав. кафедрой фундаментальных проблем медицины и медицинской технологии факультета стоматологии и медицинских технологий³

¹ФГБУН «Институт физиологии имени И.П. Павлова» Российской академии наук, г. Санкт-Петербург

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург

³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург

Effect of probiotic bacteria on intestinal digestion in correction of experimental dysbiosis in rats

L. V. Gromova, E. I. Ermolenko, A. S. Alekseeva, Y. V. Dmitrieva, E. V. Savochkina, M. P. Kotyleva, A. A. Gruzdkov, A. N. Suvorov
Institute for Physiology n.a. I.P. Pavlov, Institute for Experimental Medicine, Saint Petersburg State University; Saint Petersburg, Russia

Резюме

На экспериментальной модели дисбиоза у крыс продемонстрированы эффекты пробиотических бактерий *Lactobacillus fermentum* Z и *Enterococcus faecium* L3 на активность кишечных пищеварительных ферментов, участвующих в углеводном обмене.

Ключевые слова: кишечник, пищеварительные ферменты, микробиота, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* Z.

Summary

The effects of probiotic bacteria *Lactobacillus fermentum* Z and *Enterococcus faecium* L3 on the intestinal digestive enzymes, involved in carbohydrate metabolism, are demonstrated using the experimental model of dysbiosis in rats.

Key words: intestine, digestive enzymes, microbiota, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* Z.

Введение

Здоровье человека и его нутритивный статус в значительной степени определяются состоянием кишечной микробиоты [3–7]. В связи с этим поддержание нормального состава кишечной микробиоты и восстановление ее функций после различных нарушений являются важной медицинской и биологической проблемой. В последнее время в клинике для лечения и профилактики дисбиозов кишечника широко применяются пробиотики, содержащие различные штаммы живых молочнокислых бактерий [1, 3, 5, 8, 10]. Несмотря на большие успехи в применении этих препаратов с целью коррекции состава кишечной микробиоты, сравнительно немного известно об их эффектах на восстановление пищеварительной функции

кишечника, оказывающей существенное влияние на общий метаболизм организма и его гомеостаз.

Цель настоящей работы состояла в том, чтобы сопоставить влияние двух штаммов молочнокислых бактерий (*Lactobacillus fermentum* Z и *Enterococcus faecium* L3) на кишечные мембранные ферменты (мальтаза, сахараза, лактаза), участвующие в углеводном обмене, при коррекции экспериментального дисбиоза у крыс.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 24 крысах (Вистар, самцы, масса тела 180–220 г). Содержание, питание и уход за животными осуществляли в соответствии с требованиями комиссии по контро-

лю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии имени И.П. Павлова РАН (г. Санкт-Петербург).

В опытных группах О1 (основная) и О2 (контрольная) крысам сначала в течение трех дней ежедневно внутрижелудочно вводили антимикробные препараты, растворенные в 0,5 мл дистиллированной воды, а затем в течение пяти дней пробиотики в таком же объеме. В основной группе К1 животным сначала аналогичным способом вводили дистиллированную воду (вместо антибиотиков), а затем молоко. В контрольной группе К2 крысам сначала вводили антимикробные препараты (как в опытных группах), а затем молоко (вместо пробиотиков, приготовленных на молоке).

В качестве антимикробных препаратов использовались ампициллин и метронидазол, обладающие широким спектром действия. Препараты вводились перорально в нетоксических дозах: 15 мг ампициллина и 10 мг метронидазола на одно животное. В качестве пробиотических бактерий в группе О1 применялись молочнокислые бактерии *Lactobacillus fermentum* Z (патент РФ № 2412239), а в группе О2 — *Enterococcus faecium* L3 (патент РФ № 2220199), предназначенные для производства молочнокислых пищевых продуктов, а также для лечения и профилактики дисбиозов кишечника. Пробиотики готовились в виде молочнокислых заквасок и вводились в дозе 81 г КОЕ/мл, которая в пересчете на массу тела крысы соответствует максимальной дозе, применяемой на людях в клинике.

В конце экспериментов у крыс отбирали пробы фекалий для бактериологического анализа, а после декапитации животных пробы химуса и слизистой оболочки из различных отделов тонкой кишки (без двенадцатиперстной) и из толстой кишки для определения в них активности кишечных карбогидраз.

В гомогенатах кишечной слизистой оболочки и химуса определяли активность мальтазы (НФ 3.2.1.20), сахаразы (НФ 3.2.1.48) и лактазы (НФ 3.2.1.23) в соответствии с методиками описанными ранее [1, 8]. Активность ферментов выражали в мкмоль в минуту на грамм влажного веса ткани (удельная активность) и в мкмоль в минуту на участок кишки (интегральная активность). По удельной активности судили о ферментативной активности усредненного энтероцита, а по интегральной активности — о суммарной ферментативной активности, приходящейся на участок кишечника.

Состав кишечной микробиоты анализировался бактериологическими методами, как указано ранее [1, 8].

Статистическая обработка проводилась с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверными считались изменения при уровне значимости $P < 0,05$.

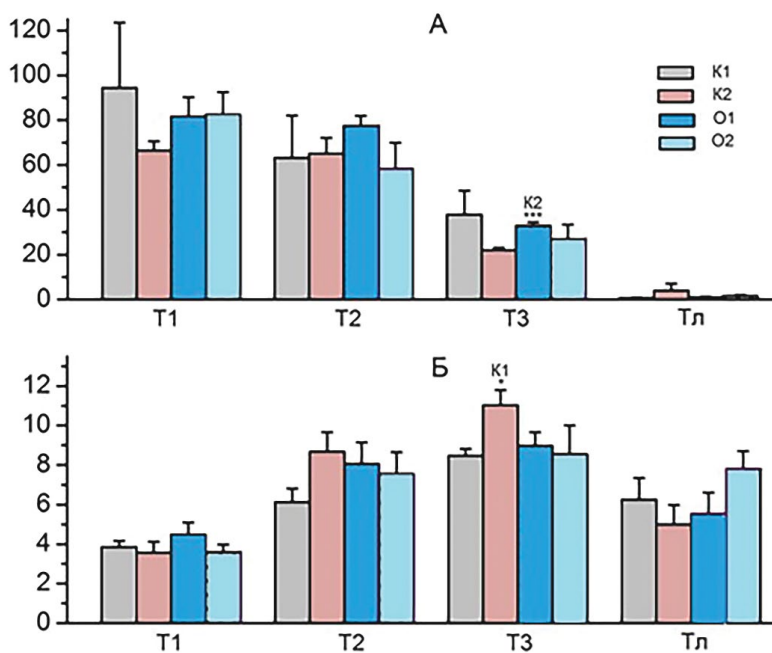


Рисунок 1. Активность мальтазы в слизистой оболочке (А) и химусе (Б) различных отделов кишечника крыс.

По вертикалям: интегральные активности ферментов (мкмоль в минуту на участок кишки). Обозначения: О1 — введение антибиотиков (три дня) и затем лактобацилл (пять дней); О2 — введение антибиотиков (три дня) и затем энтерококков (пять дней); К1 — введение воды (три дня) и затем молока (пять дней); К2 — введение антибиотиков (три дня) и затем молока (пять дней). Т1, Т2, Т3 — проксимальный, медиальный и дистальный участки тонкой кишки; Тл — толстая кишка; * — $P < 0,05$; *** — $P < 0,0027$ по отношению к контролям К1 и К2.

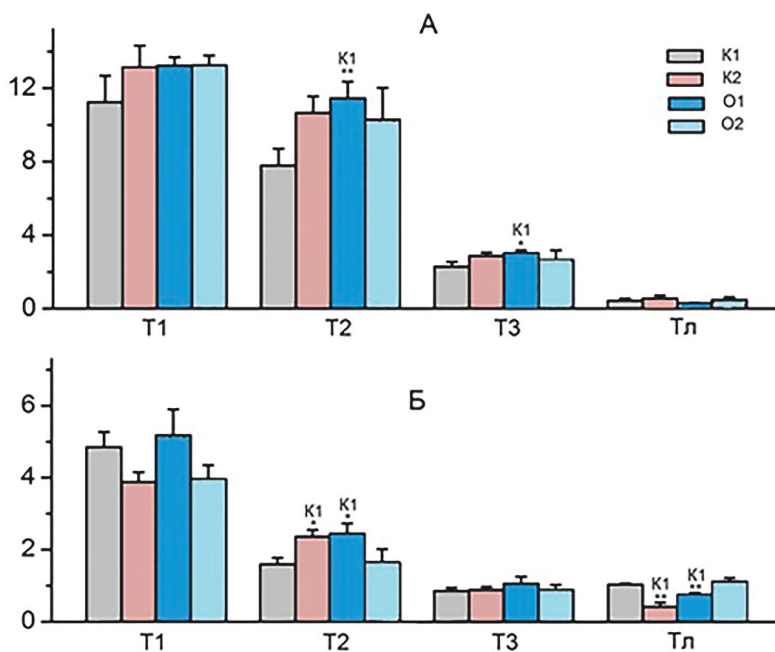


Рисунок 2. Активность сахаразы в слизистой оболочке (А) и химусе (Б) различных отделов кишечника крыс.

По вертикалям: интегральные активности ферментов (мкмоль в минуту на участок кишки). Обозначения какие же, как в подписи к рис. 1. * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,02$ по отношению к контролю К1.

Результаты исследования и их обсуждение

Физиологическое состояние животных и бактериологический анализ. При введении антимикробных препаратов

и на ранних сроках после их отмены у крыс опытных групп О1 и О2, получавших пробиотики, а также в контроле К2 (получавших молоко вместо пробиотика) отмечались признаки диспепсии:

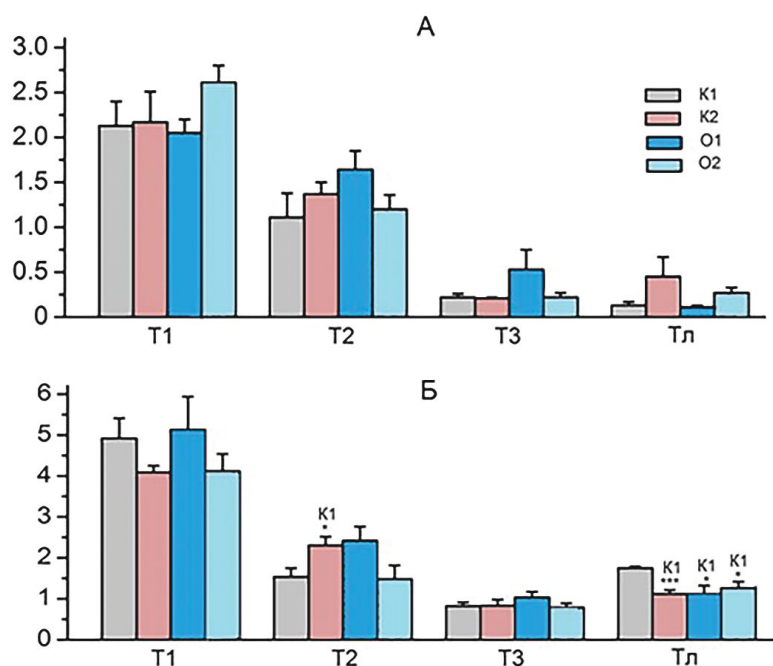


Рисунок 3. Активность лактазы в слизистой оболочке (А) и химусе (Б) различных отделов кишечника крыс.
По вертикалям: интегральные активности ферментов (мкмоль в минуту на участок кишки).
Обозначения такие же, как в подписи к рис. 1. * — $P < 0,05$; *** — $P < 0,0027$ по отношению к контролю K1.

маслянистая консистенция фекалий, в некоторых случаях понос или полифекалия. Введение животным в группах O1 и O2 в течение пяти дней пробиотиков ускоряло устранение симптомов диспепсии по сравнению с контролем K2. При бактериологическом анализе фекалий в конце опытов у животных, получавших пробиотики, обнаружено повышенное количество резидентных представителей нормальной микрофлоры (лактобациллы, бифидобактерии, энтерококки) и сниженное количество условно патогенных бактерий (эшерихии, протей, клебсиеллы) по сравнению с контролем K2. При этом влияние энтерококков на перечисленные показатели было более выраженным, чем в случае лактобацилл. Эти результаты хорошо согласуются с данными нашего предыдущего исследования в отношении эффективности пробиотических энтерококков при коррекции микробиоты после экспериментального дисбиоза у крыс [1, 8].

Масса тела животных и морфометрические показатели тонкой кишки. После введения лактобацилл (группа O1), так же как и в контроле K2 (в отсутствие пробиотика) у крыс не наблюдалось изменения прироста массы тела, тогда как при введении

энтерококков (группа O2) данный параметр был повышен (на 9%, $P < 0,01$) по сравнению с контролем K1 (без антимикробных препаратов и без пробиотиков). Сходная в основном закономерность наблюдалась в отношении изменения массы кишечной слизистой оболочки, определенной в конце опытов у животных всех групп. Так, после применения лактобацилл масса слизистой оболочки в кишечнике не отличалась от таковой в контроле K1, а после применения энтерококков она была выше, чем в K1 (в проксимальном участке тонкой кишки на 15%, $P < 0,01$). Однако в контроле K2 (без пробиотика) масса слизистой оболочки была тоже повышенной по сравнению с K1 (в медиальном и в дистальном участках тонкой кишки на 19% [$P < 0,01$] и на 21% [$P < 0,05$] соответственно). Таким образом, исследованные пробиотические бактерии проявляли специфические эффекты в отношении изменения массы тела животных и массы кишечной слизистой оболочки.

Вместе с тем мы не обнаружили влияния пробиотических бактерий в отношении восстановления массы химуса. В конце опытов у крыс, получавших пробиотики (группы O1 и O2),

и в контроле K2 (без пробиотика) масса химуса была повышенной во многих отделах кишечника по сравнению с таковой в контроле K1. По-видимому, при столь непродолжительных сроках (как в наших опытах) применения пробиотических бактерий после спровоцированного дисбиоза еще не успевает проявиться их стимулирующее влияние на восстановление моторной активности кишечника.

Активность кишечных ферментов. Мальтаза — кишечная мембранная дисахаридаза, у взрослых крыс она играет ключевую роль в энергетическом обмене [2, 10]. В отличие от контроля K2 (без пробиотика), введение пробиотических бактерий, в особенности лактобацилл, ускоряло восстановление активности этого фермента в слизистой оболочке (в мкмоль в минуту на участок кишки) во многих отделах кишечника (рис. 1). В отношении восстановления активности мальтазы в химусе (в мкмоль в минуту на участок кишки) оба пробиотика были одинаково эффективны (рис. 1).

Сахараза — кишечная мембранная дисахаридаза, участвующая в углеводном обмене, но ее вклад в энергетический обмен у крыс, содержащихся на стандартном рационе, несущественен [2, 10]. Введение пробиотиков не оказывало влияния на восстановление активности сахаразы в слизистой оболочке тонкой и толстой кишки (рис. 2). При этом в случае применения лактобацилл наблюдалось заметное повышение данной активности в тонкой кишке (медиальный и дистальный участки). Однако при восстановлении данной активности в химусе оба пробиотика были эффективными. Кроме того, лактобациллы проявляли наилучший эффект в химусе проксимального участка тонкой кишки, а энтерококки в химусе медиального участка тонкой кишки.

Лактаза — кишечная мембранная дисахаридаза, у взрослых крыс участвует в углеводном обмене, но ее вклад в энергетический обмен несущественный [2, 10]. В контроле K2 (в отсутствие пробиотика) по сравнению с контролем K1 активность лактазы в слизистой оболочке кишечника (медиальный участок тонкой кишки и толстая кишка) имела тенденцию

к повышению (рис. 3). Применение пробиотиков способствовало нормализации этой активности в толстой кишке, тогда как в тонкой кишке активность лактазы характеризовалась тенденцией к повышению по сравнению с контролем K1 (в медиальном и дистальном участках в случае лактобацилл и в проксимальном участке в случае энтерококков). В химусе в отсутствие пробиотика (контроль K2) активность лактазы была снижена в проксимальном участке тонкой кишки и в толстой кишке и повышена в медиальном участке тонкой кишки. Применение пробиотиков способствовало восстановлению этой активности в химусе проксимального (в случае лактобацилл) и медиального (в случае энтерококков) участков тонкой кишки. Однако в отношении восстановления активности лактазы в химусе толстой кишки оба пробиотика были неэффективными.

Выводы

1. Пробиотические молочнокислые бактерии *Lactobacillus fermentum* Z и *Enterococcus faecium* L3 эффективны для коррекции функциональных параметров кишечника, нарушенных вследствие кишечного дисбиоза.

2. Действие различных штаммов бактерий на активность кишечных карбогидраз имеет специфические особенности, которые следует учитывать при выборе пробиотиков в случае персонализированной терапии или для разработки новых лекарственных средств.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-15-10085.

Список литературы

1. Ермоленко Е. И., Донец В. Н., Дмитриева Ю. В., Ильясов Ю. Ю., Суворова М. А., Громова Л. В. Влияние пробиотических энтерококков на функциональные характеристики кишечника крыс при дисбиозе, индуцированном антибиотиками. // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11. Медицина. — 2009. Вып. № 1. — С. 157–167.
2. Тимофеева Н. М., Иезуитова Н. Н., Громова Л. В. Современные представления о всасывании моносахаридов, аминокислот и пептидов в тонкой кишке млекопитающих. // Успехи физиологических наук. — 2000. — Т. 31, № 4. — С. 24–37.

3. Ткаченко Е. И., Успенский Ю. П. Питание, микробиоценоз и интеллект человека. // СПб. — 2006. — 560 с.
4. Уголев А. М. Теория адекватного питания и трофология. // Л.: Наука. — 1991. — 272 с.
5. Шендеров Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. // М.: Издательство Грантъ. — 1998. — Т. 1 (Микрофлора человека и животных и ее функция). — 288 с.
6. Cani P. D., Delzenne N. M. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. // Current Pharmaceutical Design. — 2009. — V. 15. — P. 1546–1558.
7. Claus S. P., Ellero S. L., Berger B. et al. Colonization-induced host-gut microbial metabolic interaction. // MBio. — 2011. — V. 2, № 2: e00271–10.
8. Ermolenko E., Gromova L., Borshchov Yu., Voeikova A., Karaseva A., Ermolenko K., Gruzdkov A., Suvorov A. Influence of different probiotic lactic acid bacteria on microbiota and metabolism of rats with dysbiosis. // Fisiologia Microbiota, Food and Health. — 2013. — V. — 32, № 2. — P. 41–49.
9. Goldin B. R., Gorbach S. L. Clinical indication for probiotics: An Overview. // Clinical Infectious Diseases. — 2008. — V. 46. — P. 96–100.
10. Lin A. H., Nichols B. L., Quezada-Calvillo R., Avery S. E., Sim L., Rose D. R., Naim H. Y., Hamaker B. R. Unexpected high digestion rate of cooked starch by the Ct-maltase-glucosylase small intestine mucosal a-glucosidase subunit // Plos One. — 2012. — V. 7, № 5: e35473.



Сорок лет эндоскопии в России

В 2017 году Российское эндоскопическое общество (РЭНО) отмечает 40-летие существования эндоскопии как официально признанной Минздравом страны медицинской специальности. На сегодняшний день в России работают порядка 9 тысяч сертифицированных врачей-эндоскопистов, большая часть которых являются также хирургами.

Об этом было заявлено на VIII Научно-практической конференции «Актуальные вопросы эндоскопии», проходившей 30–31 марта в Санкт-Петербурге. В мероприятии приняли участие 1 389 специалистов — врачей и медсестер из 79 регионов России и 15 стран мира.

Эндоскопия существует практически в любой медицинской специальности: в хирургии, терапии, онкологии, гастроэнтерологии, колопроктологии. Метод ведет свою историю с начала XIX века. До этого осмотр внутренних органов без хирургического вмешательства был невозможен, а из неинвазивных методов обследований врачам были доступны только пальпация (прощупывание), перкуссия (выстукивание) и аускультация (прослушивание). С 1806 года начинают появляться аппараты для осмотра внутренних органов, состоящие из полых металлических трубок. Со временем совершенствуются способы освещения: сначала свеча, затем зеркала, линзы и спиртовая лампа и позже более безопасный метод с использованием электрической лампочки. В 1979 году в США создается первый электронный эндоскоп. Появление электронной видеэндоскопии дало возможность сразу нескольким специалистам видеть весь процесс исследования, увеличивать изображение, рассматривать его в контрастном свете и сохранять в компьютерной базе данных. В начале XXI века пациентам стали доступны такие исследования, как конфокальная эндоскопическая лазерная микроскопия (использование в качестве эндоскопа лазерного зонда-микроскопа) или капсульная колоноскопия (видеокапсула для передачи изображения на компьютер).

Сегодня с помощью эндоскопии можно не только проводить диагностику, но и сразу же брать биопсию, а также проводить лечебные манипуляции. Такое исследование, как, например, ко-

лоноскопия, проведенная на ранней стадии, способна сохранить жизнь 9 из 10 больных раком кишечника, позволив начать лечение раньше. Поэтому специалисты рекомендуют проходить это обследование всем, кто находится в группе риска, основные факторы которого — возраст старше 40 лет, хронические заболевания ЖКТ и наличие родственников, страдавших раком или полипами толстой и прямой кишки.

«Главное в эндоскопии — это ранняя диагностика, — уверен глава РЭНО, профессор Михаил Павлович Королев. — Например, ранний рак не требует ни химиотерапии, ни облучений. Сегодня пришел больной с полипом или аденомой, которые ему немедленно удалили, а завтра он уже пошел на работу. Короткий койко-день, отсутствие инвалидности, отсутствие больничных листов и прекрасный функциональный результат».

Исследования стали эффективнее, а также мягче и комфортнее для пациента: появилась возможность использования внутривенного наркоза, а сами методики стали безболезненными и нетравматичными. В ведущих клиниках России, как и во всем мире, в 80 процентов операций врачи применяют различные методы малоинвазивных исследований внутренних органов (эндоскопий): кардиоскопия, бронхоскопия, гастроскопия, цистоскопия, нефроскопия, кольпоскопия, ректороманоскопия, колоноскопия... Актуальными эти исследования становятся при выявлении раковых и предраковых новообразований. Статистика смертности от онкологических заболеваний в России неуклонно растет, а заболеваемость составляет на сегодняшний день порядка 500 тысяч новых случаев ежегодно. Благодаря своему постоянному совершенствованию эндоскопическая диагностика и хирургия повышают выявляемость заболеваний на ранней стадии, предотвращают развитие многих болезней, в том числе смертельных, увеличивая процент спасенных жизней.

Российское эндоскопическое Общество (РЭНО)
<http://www.endoscopia.ru/>

