Б.А. Кареткин, Е.О. Дорошенко, А.Г. Ланских, Е.А. Терешкова

СОРБИРОВАННЫЕ ПРОБИОТИКИ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

ISBN 978-5-6043843-0-5
9785604384305

ДеЛи

Б.А. Кареткин, Е.О. Дорошенко, А.Г. Ланских, Е.А. Терешкова

СОРБИРОВАННЫЕ ПРОБИОТИКИ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

Москва
ДеЛи
2020

УДК 579.61:579.873.13
ББК 30.16+52.64
С53

Издано при поддержке ООО «АВАН»

***Рецензенты*:**

Проректор по научной работе и развитию регионального здравоохранения, заведующий кафедрой поликлинической терапии, клинической лабораторной диагностики и медицинской биохимии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, д.м.н., профессор ***Баранов Андрей Анатольевич***.

Научный сотрудник лаборатории выживаемости микроорганизмов ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского), к.б.н. ***Лойко Наталья Геннадиевна***.

С53 **Сорбированные пробиотики. Механизм действия /** Кареткин Б.А., Дорошенко Е.О., Ланских А.Г., Терешкова Е.А. – М.: ТД ДеЛи, 2020. – 36 с.

ISBN 978-5-6043843-0-5

В книге рассмотрены особенности микробного сообщества кишечника человека с позиций экологии, описаны особенности биопленок как преобладающей формы существования физиологически активных микроорганизмов в природе. Указанные представления стали основой для создания сорбированных пробиотиков. Представлен механизм их взаимодействия с биопленкой кишечника. Приведены данные по механизму действия сорбированных пробиотиков.

УДК 579.61:579.873.13
ББК 30.16+52.64

© Кареткин Б.А., Дорошенко Е.О., Ланских А.Г., Терешкова Е.А., 2020
© Оформление. ООО «АВАН», 2020

ISBN 978-5-6043843-0-5

Введение

На протяжении всей истории человека он находится в постоянном взаимодействии с окружающим микромиром. С одной стороны, микроорганизмы используются человеком в хозяйственной деятельности с древнейших времен, собственно, задолго до того, как о них стало известно. С другой стороны, в самых ранних письменных источниках можно встретить упоминания об инфекционных заболеваниях, вызванных в том числе микроорганизмами.

Возможность положительно влиять на здоровье человека, воздействуя на его микробиоценоз путем введения «полезных микробов», обсуждается уже более 100 лет, а на практике, если учесть активное использование нашими предками ферментированных кисломолочных продуктов, реализуется не одно тысячелетие.

В настоящее время в мире общепринятым считается определение термина «пробиотики», которое было дано на конференции экспертов Всемирной организации здравоохранении и продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН в Кордове (Аргентина) в 2001 году и подтверждено консенсусом Международной научной ассоциации по пробиотикам и пребиотикам в 2014 году. Согласно этому определению пробиотики – живые микроорганизмы, которые при введении в адекватном количестве оказывают благотворное воздействие на здоровье хозяина [1, 2]. Там же было указано, что польза пробиотиков вообще не ограничена только противодействием кишечным инфекциям.

Пробиотики в качестве лекарственных препаратов применяют в нашей стране не одно десятилетие. Тем не менее, вопрос подтверждения и повышения их эффективности не теряет свою актуальность.

Микробиоценоз и особенности биопленки кишечника

Микробиоценоз (микробный биоценоз, микробиота, микрофлора) человека – это все микроорганизмы (бактерии, археи, простейшие, грибы и микроводоросли), населяющие тело человека [3]. Также можно выделить микробиоценоз отдельных органов, например, микробиоценоз кожи, ротовой полости, кишечника. Последний является самым густонаселенным и содержит, по разным оценкам, примерно 10^{14} клеток бактерий, что значительно больше численности клеток в организме самого человека [4]. Микробиоценоз кишечника объединяет примерно 400–500 культивируемых видов бактерий [5], т.е. тех, что можно обнаружить стандартными микробиологическими методами (посевом). Применение молекулярно-генетических методов позволило обнаружить новые, в том числе, некуль-

тивируемые (персистирующие или покоящиеся) формы. В число этих бактерий входит, например, *Akkermansis muciniphila* [6]. Микробиом – это совокупность генетического материала всех микроорганизмов микробиоты.

Каждая популяция в микробиоценозе находится в постоянном взаимодействии с другими популяциями (как того же, так и остальных видов), а также с организмом хозяина и с объектами неживой природы (газовой атмосферой, частицами пищи, содержимым кишечника и т.д.). Взаимодействие происходит посредством пищевых цепей, а также распределения в пространстве. Необходимо отметить, что под микроорганизмами здесь мы понимаем не видовое разнообразие, а каждую живую клетку. Популяция – это группа организмов одного вида, обитающих на определенном участке пространства, и как правило изолированная от других групп этого вида. Можно утверждать, что в микробном биоценозе популяция соответствует, так называемой, микроколонии.

Как и любое сообщество, микробиоценоз является открытой системой, т.е. постоянно обменивается веществом и энергией с окружающей средой. Как и любое сообщество, микробиоценоз посредством изменения взаимоотношений внутри и взаимодействий с окружающей средой стремится достичь наиболее устойчивого состояния. Для открытой системы данное состояние является, по сути, динамическим равновесием, т.е. при изменении условий сообщество будет «подстраиваться» под них. Очевидно, что для здорового человека такое равновесие должно способствовать улучшению состояния, таким образом, можно говорить о гомеостазе. Особенность микробного сообщества состоит в том, что для него причиной смещения равновесия являются как изменения, привносимые извне (например, изменение химического состава среды в результате приема лекарств или смены пищевого рациона), так и происходящие в организме хозяина (например, вызванные хроническими заболеваниями). То есть живой объект – организм человека – является одновременно средой обитания, тем, что в экологии принято называть биотопом, для своих микробиоценозов, в частности самого густонаселенного – микробного сообщества кишечника. Под биотопом здесь понимают место с определенными условиями, в котором обитают микроорганизмы.

Таким образом, микробиоценоз и человек образуют экосистему. По существу, можно говорить даже о нескольких экосистемах, если рассматривать отдельные органы как отдельные биотопы. Тогда справедливо предположение, что на них действуют те же экологические законы, что и на другие экосистемы.

Пищевые (трофические) взаимодействия играют ключевую роль в поддержании стабильности микробного сообщества, которая в том чис-

ле связана со способностью наиболее полно и рационально утилизировать поступающие питательные вещества. При этом различные члены отвечают за отдельные этапы «переваривания», а продукты жизнедеятельности одной группы могут быть использованы для питания другой, что принято обозначать термином кросс-фидинг. Например, образуемые бифидо- и лактобактериями молочная и уксусная кислоты являются питательными веществами для микроорганизмов, образующих масляную кислоту [7, 8]. Описанная «ярусность» метаболизма обусловливает симбиотические взаимоотношения между микроорганизмами. С другой стороны, в микробных сообществах существует и иной вид взаимоотношений, который связан с конкуренцией за питательные вещества. Так, глюкоза является универсальным субстратом, а усваивать ее будет преимущественно та микробная популяция в сообществе, которая обладает наибольшей скоростью роста (деления клеток) при данных условиях. Виды бифидо- и лактобактерий, выделенные от человека и других млекопитающих, образуют β-галактозидазу и метаболизируют лактозу. Другие, более специфические вещества, например, некоторые олиго- и полисахариды (инулин, галактоолигосахариды, пектин, целлюлоза), могут усваиваться отдельными группами микроорганизмов благодаря наличию у них способности вырабатывать необходимые ферменты. На этой особенности представителей микробиоценоза основана, например, концепция пребиотиков [9, 10]. Наконец, микроорганизмы способны путем образования различных метаболитов создавать вокруг популяции условия, ингибирующие рост конкурентов, но не влияющие либо слабо влияющие на деление их собственных клеток. Этой особенностью, в частности, объясняют антагонистическую активность пробиотиков. Совокупность всех метаболических (как конструктивных, так и энергетических) процессов в микробиоценозе называют метаболом.

Таким образом, основным фактором окружающей среды для микробиоценоза кишечника является ее химический состав, определяемый как веществами, привносимыми извне, так и образуемыми организмом хозяина и самими микроорганизмами.

Пространственная организация популяций в микробном сообществе играет не менее важную роль в ее способности сохранять равновесие. Конкуренция за место обитания является более острой, чем конкуренция за питательные вещества. Биопленки считаются наиболее устойчивой формой существования микроорганизмов. Именно в этой форме, а не в виде свободных клеток, они чаще всего находятся в природе [11]. Исторически сложилось, что исследования образования биопленок проводили преимущественно с чистыми культурами патогенов на поверхностях из неорга-

нических материалов или полимеров. Согласно общепринятой концепции формирование биопленки начинается с успешного закрепления (адгезии) одиночной (планктонной) бактериальной клетки на макрообъекте (рис. 1). Данный этап является обратимым, т.е. клетка может открепиться от поверхности и опять перейти в планктонное состояние. Ключевым является следующий этап – формирование в результате адгезии делящихся бактерий друг с другом так называемой микроколонии. Далее начинается рост микроколонии как вдоль поверхности субстрата, так и над ней. Образование микробами слизистых веществ – полисахаридов сложной природы, поддерживает стабильность биопленки. В результате клеточного деления, происходящего в биопленке при благоприятных условиях, образуется «избыточное» количество клеток, которые переходят к планктонной форме существования и могут в дальнейшем стать основой для формирования новых биопленок [12, 13]. Из сказанного можно сделать вывод, что микроколония, в сущности, является структурной единицей биопленки.

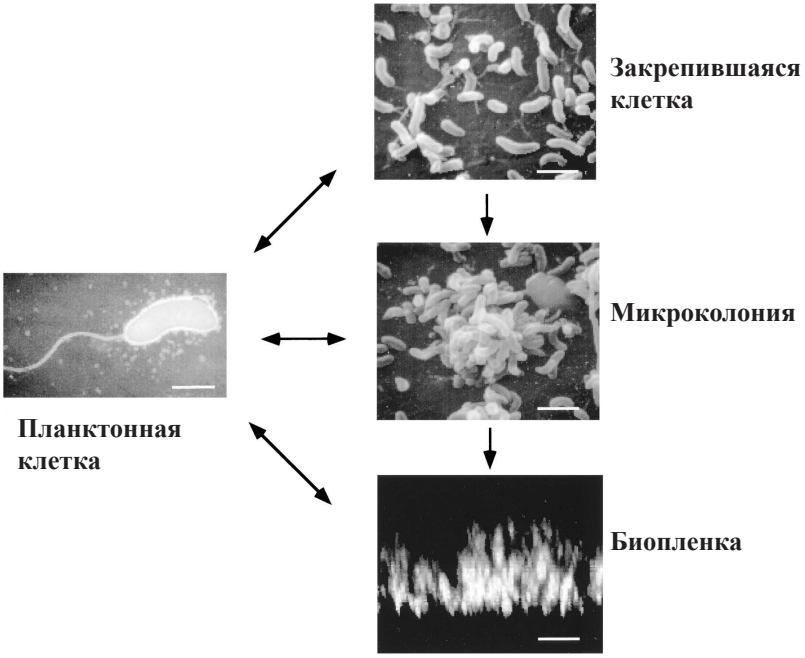

Рис. 1. Механизм формирования биопленок на примере *Vibriocholera*.
По Watnik P., Kolter R., 2000.

Как показали молекулярно-генетические исследования, если клетка не перестроит свои экспрессионные механизмы, биопленка не образуется. При этом для закрепления необходима экспрессия генов, отвечающих за синтез пилей (ультраструктур на клеточной стенке бактерий, отвечающих за адгезию) или жгутиков, а для формирования биопленки должно произойти репрессирование этих генов и одновременная индукция генов, отвечающих за синтез экзополисахаридов, которые служат матриксом для дальнейшего «скрепления» клеток в биопленке [12]. Регуляция образования и поддержания равновесного состояния в биопленках осуществляется посредством нескольких сигнальных молекул, однако эти механизмы в настоящее время изучены не полностью [14]. Регуляция жизнедеятельности биопленок посредством сигнальных молекул, влияющих на экспрессию генов, является основой формирования так называемого quorum sensing.

Как указано выше, биотоп (применительно к микробиоценозу) – это место с определенными условиями, в котором обитают микроорганизмы. В организме человека существует множество биотопов с оптимальными для жизни различных микроорганизмов условиями, что приводит к формированию различных микробиоценозов. В микробиценозе кишечника особую роль играет муцин, выполняющий функцию связующего вещества, а также выступающий в роли источника питательных веществ для пристеночной микрофлоры. Таким образом, можно выделить два биотопа – просветный (т.е. расположенный в химусе, содержимом кишечника) и пристеночный (т.е. расположенный в слое муцина). Последний, в сущности, и является биопленкой кишечника. Представители микробиоценоза, способные постоянно обитать в пристеночном биотопе, относятся к так называемой индигенной (облигатной, постоянной) микрофлоре. Если микроорганизмы не могут внедриться либо длительно существовать в пристеночном биотопе, их относят к транзиторным [15].

Изучение биопленки кишечника – уникального объекта – является значительно более сложной задачей, нежели исследования биопленок *in vitro*. В настоящее время широкое распространение получили молекулярно-генетические методы исследования: флюоресцентная in situ гибридизация (fluorescence in situ hybridization, FISH) и количественная полимеразная цепная реакция (quantitative PCR, qPCR). FISH позволяет визуализировать отдельные группы микроорганизмов по специфическим последовательностям 16S-рРНК. Для этого проводят гибридизацию фиксированного препарата – например, биопсии с зондом – состоящим из комплементарного специфическому участку 16S-рРНК праймера (комплементарная определенному участку РНК или ДНК последовательность нуклеотидов)

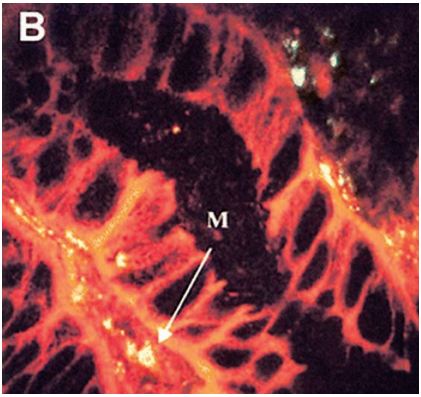

Рис. 2. Микроколонии (М) бифидобактерий в биопленке кишечника здорового человека (FISH, окрашена желтым). По Macfarlane S. et al., 2004.

и флуоресцентного красителя. Так, для рода *Bifidobacterium* используют последовательность нуклеотидов Bif164 (5'-CATCCGGCATTACCACCC-3'). Применение данного метода в течение последних двух десятилетий позволило подтвердить закономерности, установленные для моновидовых биопленок, и для биопленок кишечника. В исследовании [16] было установлено, что у здорового человека в биопленке кишечника преобладают микроорганизмы двух групп *Bacteroides* и *Bifidobacterium*. Показано, что бифидобактерии находятся в биопленке в виде микроколоний (рис. 2).

Уникальным свойством биопленок является способность к выделению в окружающую среду клеток бактерий, образовавшихся в результате увеличения численности микробных популяций в благоприятных условиях. Исследование колонизации частиц пищи в кишечнике человека [17] показало, что на них также формируются биопленки близкие по микробному составу к пристеночному биотопу. Толщина таких пленок составляет около 20 мкм, причем в верхней ее части локализованы в основном энтеробактериии и бактероиды (см. рис. 3), в то время как саму частицу покрывают преимущественно микроколонии бифидобактерий (см. рис. 4).

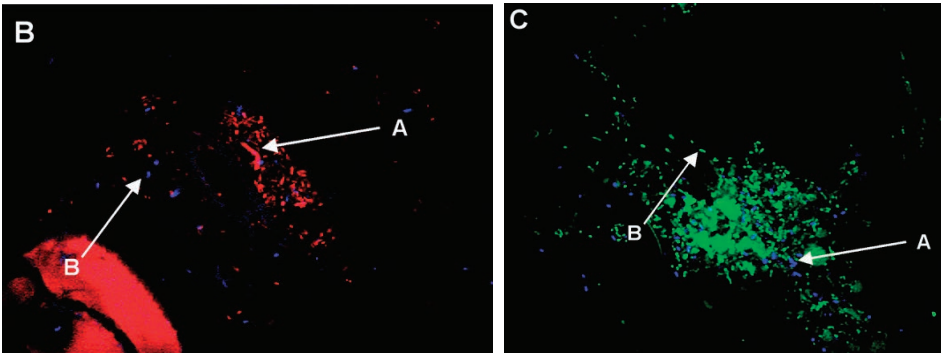

Рис. 3. Колонизация частицы пищи представителями микробиоценоза кишечника. FISH. Слева: представители группы *Eubacterium rectale – Clostridium coccoides* окрашены красным (А), бифидобактерии – синим (В). Справа: большое число бактероидов окрашено зеленым (В), бифидобактерии – синим (А). По Macfarlane S., Macfarlane G.T., 2006.

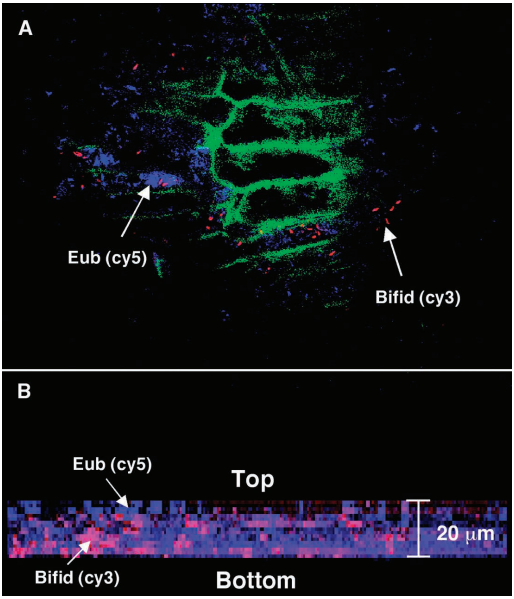

Рис. 4. FISH бактерий на растительных клетках в образцах, полученых из кала человека.
A: Бифидобактерии окрашены красным, остальные – синим. Растительные клетки автофлюоресцируют зеленым.
B: Биопленка на частице пищи, бифидобактерии образуют колонии вблизи субстрата. По Macfarlane S., Macfarlane G.T., 2006.

Исследование биопсии кишечника собак, полученной после лечения воспаления кишечника, показало, что у них бифидобактерии также распределены между муцином и просветом (рис. 5), хотя адгезии на клетки эпителия и не обнаружено [18].

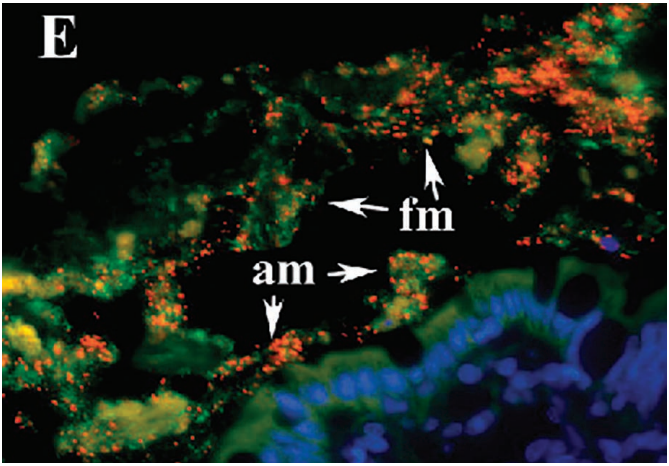

Рис. 5. Бифидобактерии (окрашены красным) в биопсии толстого кишечника собаки после лечения воспалительной болезни кишечника.
am – клетки в муцине, fm – клетки в просвете. Колоноциты окрашены синим.
По White R. et al., 2017.

Формирование биопленки кишечника начинается в момент рождения. Главным источником доминирующих микроорганизмов (бифидобактерий и бактероидов) для ребенка является его мать. При этом кесарево сечение и искусственное вскармливание сильно влияет на состав микробиоты. У детей, рожденных путем кесарева сечения, хуже происходит становление микрофлоры кишечника по сравнению с детьми, родившимися через естественные родовые пути матери. Кроме этого, микроорганизмы могут поступить от других членов семьи, а также из кишечника домашних животных [19, 20]. Рассмотрим подробнее роль, которую играют бифидобактерии в организме человека.

Роль бифидобактерий в организме человека

Бифидобактерии являются основными представителям индигенной микрофлоры человека.

Приоритет открытия бифидобактерий принадлежит ученику И.И. Мечникова Анри Тисье (Henry Tissier). Изучая микрофлору кишечника здорового ребенка, находящегося на грудном вскармливании, Тисье в период с 1899 по 1900 годы установил, что микрофлора на 98% состоит из грамположительных анаэробных бесспоровых палочек, имеющих раздвоения (бифуркацию) на одном или двух концах. Выделенный им новый вид микробов Тисье назвал *Bacillus bifidus communis* (на латыни bifidus означает расщепленный, раздвоенный). Тисье утверждал, что этот микроорганизм необходим для здоровья ребенка [21, 22]. В 1924 году датский микробиолог Сигурд Орла-Йенсен (Sigurd Orla-Jensen) предположил, что *Bacillus bifidus* следует классифицировать как отдельный вид в составе рода называемого *Bifidobacterium* [21, 22]. В настоящее время по результатам проведенных современных генетических исследований род *Bifidobacterium* отнесен к семейству *Actinomycetaceae* [22].

Исторически сложилось так, что работы Тиссье в последующие годы не получили развития. Интерес к бифидобактериям в мире вновь возник в 50-е годы прошлого века после Второй мировой войны [21].

В нашей стране систематические исследования бифидобактерий начались благодаря Галине Ивановне Гончаровой. Именно ею выделен от здорового человека, изучен, описан производственный штамм *Bifidobacterium bifidum* 1 и создан на его основе первый отечественный препарат, содержащий бифидобактерии, – «сухой бифидумбактерин». Результаты этой работы нашли отражение в диссертационном исследовании, защищенном в 1970 году [21]. Производственный штамм *Bifidobacterium bifidum* 1 применяется в широком масштабе во всех

возрастных группах в составе препаратов с 1972 года включен в государственную коллекцию Российской Федерации. Многолетние исследования Г.И. Гончаровой, посвященные бифидофлоре человека и применению препарата бифидумбактерин, обобщены в последующем диссертационном исследовании на соискание ученой степени доктора наук [23].

Наиболее благоприятной средой обитания вида *Bifidobacterium bifidum* является организм человека.

Функциям бифидобактерий в микрофлоре и в организме человека посвящено большое количество исследований и публикаций. Для того чтобы подчеркнуть значимость бифидобактерий для человека, можно отметить лишь несколько функций: бифидобактерии образуют основу микрофлоры, потому что надежно прикрепляются к слизистой оболочке кишечника и определяют основные ниши сосуществования для других микроорганизмов; стабилизируют биопленку кишечника; укрепляют эпителиальный барьер кишечника, необходимы для созревания эпителиоцитов; белок клеток бифидобактерий содержит все незаменимые аминокислоты, включая триптофан [24, 25, 26, 27].

Функции бифидофлоры разнообразны, но основной является поддержание здоровья человека, а в более узком, но специфическом понимании, микроэкологического статуса занимаемого биотопа [27].

Представители рода *Bifidobacterium* обладают высоким адаптивным потенциалом, благодаря которому способны колонизировать организм человека, являясь в кишечнике доминантной микрофлорой, а в других биотопах – представителем нормальной микрофлоры [27].

Нормальный баланс бифидобактерий в кишечнике (количество и состав) обеспечивает здоровье человека. Уменьшение количества бифидобактерий в кишечнике может привести, в частности, к развитию аллергических заболеваний, ожирения, воспалительных заболеваний кишечника, функциональных кишечных нарушений, нарушению функционирования оси кишечник–мозг с развитием депрессии и когнитивных нарушений [24, 26]. Восстановление баланса бифидобактерий в кишечнике обеспечивается применением бифидобактерий в качестве пробиотика [24].

Бифидобактерии являются строгими анаэробами, т.е. их рост в присутствии даже небольших количеств кислорода невозможен, в обычных условиях окружающей среды вне организма-хозяина они не живут. Поэтому очень важно, чтобы в организм человека поступали именно те бифидобактерии, которые для него характерны.

В исследовании [28] было показано, что биологические свойства бифидобактерий варьируют в зависимости от состояния микробиоценоза кишечника человека. Культуры бифидобактерий, выделенные при эубиозе кишечника (нормальном состоянии микрофлоры), обладали более выраженной колонизирующей способностью и характеризовались высокими значениями биоплёнкообразующей и антагонистической активностей по сравнению со штаммами, обнаруживаемыми при дисбиозе кишечника. Снижение биологических свойств представителей бифидобактерий при дисбиозе кишечника, возможно, объясняет их элиминацию на фоне гиперколонизации условно-патогенными микроорганизмами микробиоценоза кишечника.

В этом же исследовании [28] было изучено взаимное влияние выделяемых в окружающую среду метаболитов (экзометаболитов) доминирующих видов бифидобактерий и условно-патогенных микроорганизмов в отношении продукции ингибиторов лизоцима и способности формировать биоплёнку. Так, экзометаболиты *B. bifidum* вида в большинстве случаев встречающегося при эубиозе, оказывали ингибирующий эффект в отношении антилизоцимной активности, снижали биоплёнкообразование представителей условно-патогенной микрофлоры и стимулировали эти показатели у представителей индигенной микрофлоры [28]. На основании проведенных исследований было сделано заключение о том, что представители бифидобактерий в микробиоценозе кишечника человека выполняют роль барьера для условно-патогенных микроорганизмов, распознавая и препятствуя их биоплёнкообразованию, снижая антилизоцимную активность. Как следствие этого наблюдается снижение персистентного потенциала и колонизации условно-патогенными микроорганизмами в условиях микрофлоры (микробиоты) кишечника. Напротив, бифидобактерии стимулируют биологические свойства индигенных бактерий, имеющих значение в реализации колонизационной резистентности толстого кишечника человека [28]. Это исследование является еще одним обоснованием введения в организм человека бифидобактерий в качестве пробиотика с лечебной и профилактической целью.

Вид *B. bifidum* и в настоящее время сохраняет лидирующие позиции в кишечном микробиоценозе и необходим для нормального функционирования организма человека [27, 28, 29]. Вид *B. bifidum* является доминирующим видом у лиц с эубиозом (нормальным составом микрофлоры) и с начальными степенями дисбиоза 1–2 степени. При глубоких нарушениях в микросимбиоценозе (3-я степень дисбиоза) выявляемость вида *B. bifidum* снижается [27].

В литературе имеется много данных, свидетельствующих о том, что *B. bifidum* может взаимодействовать с человеком и с микроорганизмами микрофлоры кишечника с помощью различных механизмов, в частности, активировать иммунитет человека, прилипать к слизистой оболочке кишечника с ее внеклеточными структурами и метаболизировать гликаны, такие как муцин [29]. Примечательно, что вид *Bifidobacterium bifidum* является единственным представителем среди всех признанных видов бифидобактерий, способным к росту посредством метаболизма муцина [30, 31]. Причем метаболизм муцина, осуществляемый *B. bifidum*, может активировать выработку муцина, тем самым увеличивая глубину слоя слизи, обволакивающей слизистую оболочку, и, таким образом усиливая функцию эпителиального барьера [32].

Применение бифидобактерий как пробиотиков имеет длительную историю, но актуально и в настоящее время. Изучение механизмов взаимодействия характерных для человека бифидобактерий вида *B. bifidum* и определенных штаммов данного вида с организмом человека является по-прежнему значимым, поскольку конечной целью является улучшение состояния здоровья человека.

Сорбированные пробиотики. Механизм действия

В кишечнике человека биопленка уже сформирована, поэтому ее заселение значительно сложнее, чем заселение свободной поверхности. Известно, что микроколонии существенно легче внедриться в биопленку, чем свободной клетке [33, 34]. Показано, что определенная концентрация планктонных клеток в объеме среды (в химусе) создает при контакте с локальным участком эпителия их определенную поверхностную (локальную) концентрацию. Более того, лишь при достаточных локальных концентрациях адгезировавшая планктонная клетка сможет сформировать микроколонию, и, как следствие, в дальнейшем колонизировать данный локальный участок пристеночного биотопа.

Исследования, проведенные Григорьевым А.В., Абрамовым Н.А. и соавт. (1992, 1994), показали, что при введении суспензии препаратов-пробиотиков, содержащих планктонные клетки микроорганизмов, создать объемные концентрации, которые необходимы для достижения требуемой поверхностной концентрации для формирования микроколонии, практически невыполнимо. Таким образом, в случае применения таких препаратов, они будут действовать лишь в течение непродолжительного времени прохождения по кишечнику вместе с химусом. Иными словами, колонизация будет носить затухающий характер.

Установлено, что введение микроколонии, включающей 20 и более клеток бифидобактерий, обеспечивает достижение локальной концентрации, необходимой для колонизации поверхности 100 мкм^2, т.е. такая уже сформированная микроколония позволит бифидобактериям включиться в биотоп на локальном участке слизистой.

Для создания микроколоний с требуемыми параметрами были использованы хорошо известные свойство бактерий адгезировать на поверхностях и способ иммобилизации бактерий на твердые носители. В качестве таких носителей были взяты сорбенты, разрешенные к применению в медицине, – активированные угли растительного происхождения. В качестве пробиотика был использован хорошо изученный и применявшийся уже более 20 лет при производстве лекарственных препаратов штамм *Bifidobacterium bifidum* 1. Сорбент обеспечивает стабилизацию и сохранение большей жизнеспособности и соответственно большей активности фиксированных на нем микробных клеток бифидобактерий. Для создания микроколонии из 20 и более микробных клеток подобраны тип активированного угля, способный адгезировать бифидобактерии, что зависит от его физико-химических характеристик, а также размер частиц угля.

В исследованиях было показано, что частицы данного сорбента определенного размера не обладают деструктивной активностью в отношении пробиотических микроорганизмов и не оказывают повреждающего действия на слизистую кишечника, способствуют упорядочиванию ультраструктуры клеток эпителия, нормализации структуры микроциркуляторного русла подлежащей мезенхимы, стабилизируют пролиферативные процессы в составе мигрирующих соединительнотканных клеток.

Механизм колонизации биопленки кишечника сорбированными бифидобактериями включает следующие этапы (рис. 6):

I. Микроколония внедряется в биопленку кишечника.

II. Микроколония закрепляется (адгезирует) на локальном участке поверхности слизистой оболочки. Процесс адгезии обусловлен физическим и физико-химическим взаимодействием с поверхностью слизистой как микробных клеток, так и самого угля, что делает связь более прочной. При этом достигается требуемая локальная концентрация бифидобактерий.

III. Оказавшись в наиболее благоприятных условиях, бифидобактерии начинают расти вокруг частицы угля и образуют продукты жизнедеятельности (метаболиты), концентрации которых становятся достаточно большими, чтобы обеспечить включение микроорганизмов в биотоп. Происходит рост популяции бифидобактерий в биопленке.

IIIа. Интенсивный рост бифидобактерий приводит к высвобождению их избытка в просвет кишечника. Образовавшаяся микроколония движется вместе с пищей и может вновь внедриться в биопленку. Таким образом реализуется репродукционный цикл одной микроколонии.

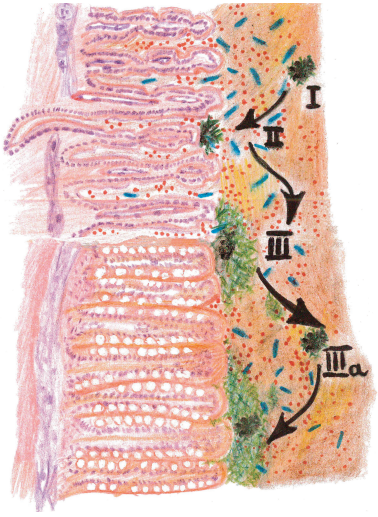

Рис. 6. Репродуктивный цикл микроколонии бифидобактерий, сорбированных на угле

Очевидно, что при поступлении в организм достаточного количества таких микроколоний на локальных участках слизистой оболочки кишечника будет происходить самовоспроизведение популяции бифидобактерий вследствие включения их в пристеночный биотоп. В таком случае колонизация бифидобактериями пристеночного биотопа кишечника будет носить репродуктивный характер.

Экспериментально установлено, что активность препарата, содержащего такие микроколонии, для достижения указанного эффекта должна быть при пероральном введении не менее 50 млн колониеобразующих единиц в разовой дозе.

Число колониеобразующих единиц (КОЕ) – это количество живых клеток, которые вырастут при посеве на специальную питательную среду. Для препаратов данный показатель является обязательным и контролируется в каждой серии в соответствии с требованиями и по методике, приведенной в нормативной документации.

Одна микроколония сорбированнного пробиотика образует одну КОЕ.

Благодаря созданным на частицах активированного угля микроколониям бифидобактерий обеспечивается направленное (таргетное) воздействие на пристеночный биотоп кишечника.

Таким образом, механизм действия сорбированного пробиотика заключается в усилении эффекта прикрепления вводимых представителей нормальной микрофлоры, создания их высоких пристеночных концентраций, необходимых для поддержания репродуктивного типа размножения вносимой микробной популяции с целью восстановления строения и функции биопленки.

Кратность введения сорбированного пробиотика определяется условиями, которые существуют в живом организме, и могут, например,

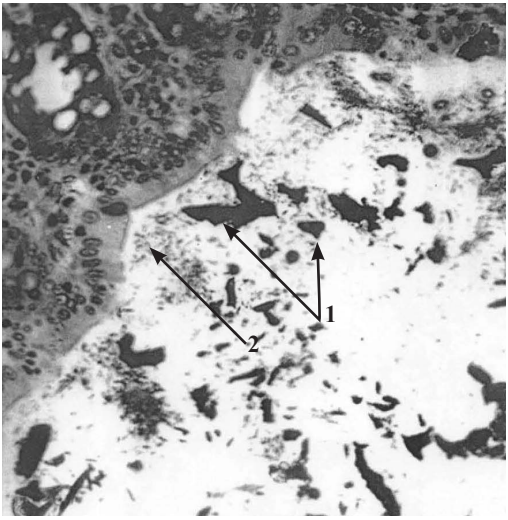

Рис. 7. Микроскопия слизистой кишечника животного, получавшего препарат с бифидобактериями, сорбированными на угле: частицы угля (1), колонизация слизистой бифидобактериями (2).

противодействовать заселению пристеночного биотопа микроколониями бифидобактерий (усиление моторики кишечника, кишечная инфекция, антибактериальная терапия и др.)

В результате проведенных исследований был создан первый сорбированный пробиотик Бифидумбактерин форте®, содержащий не менее 50 млн колониеобразующих единиц бифидобактерий, сорбированных на частицах активированного угля в 1 пакете/капсуле.

Исследования Бифидумбактерина форте®, проведенные на животных, показали, что введение сорбированных бифидобактерий позволило повысить уровень колонизации слизистой в 50–100 раз по сравнению с результатами, полученными при введении такого же количества живых клеток несорбированных бифидобактерий [35]. Показано внедрение частиц угля, несущих бифидобактерии в пристеночный биотоп, благодаря чему происходила его колонизация (рис. 7).

Флюоресцентная *in situ* гибридизация является одним из современных молекулярно-генетических методов исследования биопленки кишечника. Ее применение позволяет визуализировать локализацию отдельных групп бактерий в муциновом слое или просвете. Совместно с М.Г. Дивашуком нами получено изображение микроколонии бифидобактерий, сорбированных на угле, в высоком разрешении (рис. 8) с применением указанного метода. Полученные результаты, в сущности, предваряют дальнейшие исследования колонизации биопленки микроколониями бифидобактерий на угле на современном мировом уровне.

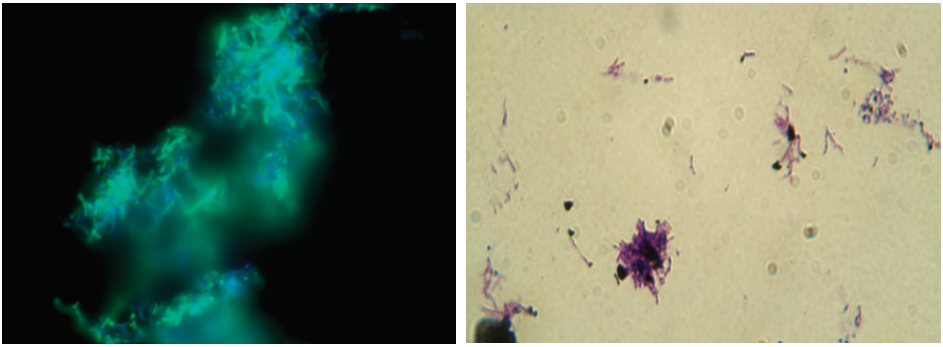

Рис. 8. Слева: Микроколонии бифидобактерий, образованные путем сорбции на частицу угля. Бифидобактерии окрашены флюоресцентными красителями DAPI (контраст, голубой) и FAM (зонд с праймером Bif164, зеленый). Увеличение в 2500 раз. Справа: частица угля с сорбированными на ней бифидобактериями. Фиксированный препарат, окраска по Граму. Увеличение 100×.

В дальнейшем были разработаны и зарегистрированы усиленный сорбированный пробиотик Пробифор®, содержащий не менее 500 млн КОЕ бифидобактерий, сорбированных на частицах активированного угля в 1 пакете/капсуле, а также поликомпонентный сорбированный пробиотик Флорин® форте, который содержит не менее 50 млн колониеобразующих единиц бифидобактерий, сорбированных на частицах активированного угля, и не менее 50 млн КОЕ лактобактерий в 1 пакете/капсуле.

В настоящее время сорбированные пробиотики в соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации выделены в отдельную группу [36].

Механизмы действия и эффективность сорбированных пробиотиков, выявленные в результате клинических исследований и научных исследований применения препаратов у человека

Применение сорбированных пробиотиков в клинической практике, начиная с 1994 года, подтвердило, что механизм таргетной (направленной) доставки и колонизации пристеночной биопленки кишечника микроколониями бифидобактерий, сорбированных на частицах активированного угля, повышает эффективность и расширяет возможности пробиотической терапии, позволяя использовать эту группу препаратов при самых разных заболеваниях и клинических ситуациях. Препараты не имеют возрастных

ограничений, могут использоваться в периоды беременности и грудного вскармливания.

По результатам многоцентровых рандомизированных, двойных слепых сравнительных и плацебо-контролируемых клинических исследований у взрослых и детей действия первого сорбированного пробиотика Бифидумбактерин форте®, проведенных для регистрации препарата, в которых проанализированы клинико-лабораторные данные 482 человек, выявлены преимущества сорбированного пробиотика. Особенности механизма действия сорбированных бифидобактерий позволили сократить длительность интоксикационного периода и дисфункций кишечника у больных инфекционного, неинфекционного и хирургического профиля с патологией желудочно-кишечного тракта, а также сократить курсовые дозы препарата в 10–100 раз (по условным дозам) по сравнению с препаратом Бифидумбактерин, содержащим единичные клетки бифидобактерий, и при необходимости использовать сорбированный препарат совместно с антибиотиками и нитрофуранами [37].

Сравнительное изучение эффективности Бифидумбактерина форте® и Бифидумбактерина у 93 детей с перинатальной патологией также подтвердило особенности колонизации кишечника сорбированными бифидобактериями: быстрое нарастание частоты обнаружения и содержания бифидобактерий; увеличение числа случаев нарастания популяционного уровня типичных эшерихий, уменьшение количества условно-патогенных бактерий. Применение бифидобактерий вида *B. bifidum* в составе микроколоний оказалось более эффективным, чем применение единичных клеток. При одинаковой суточной дозе для достижения эффекта понадобился в 2 раза более короткий курс лечения Бифидумбактерином форте® по сравнению с Бифидумбактерином (7 и 14 дней соответственно) [38].

Формирование нормального микроэкологического статуса у новорожденного ребенка является очень важной задачей. Имеется опыт применения Бифидумбактерина форте® для профилактики развития дисбиотических состояний у новорожденного ребенка [39]. Для этого Бифидумбактерин форте® назначался внутрь в лечебных дозах женщинам за 10 дней до родов и в течение 10 дней после родов при грудном вскармливании. Проведено комплексное клинико-микробиологическое обследование новорожденных в раннем неонатальном периоде. Группу сравнения составили дети от матерей, не получавших пробиотики. Исследование микробиоценоза кишечника проводили по общепринятой методике. К моменту выписки из родильного отделения у 86% детей, матери которых получали Бифидумбактерин форте®, отмечалось достижение показателей эубиоза кишечника по ос-

новным параметрам, в группе сравнения эубиоз достигнут у 12,7% детей. У новорожденных из основной группы отмечалась более выраженная колонизации кишечника бифидобактериями 9,3 lg КОЕ/г, что было на порядки выше аналогичных показателей у новорожденных группы сравнения (4,8 lg КОЕ/г) [39].

Известно, что у новорожденных детей рожденных путем кесарева сечения хуже происходит становление микрофлоры кишечника [19]. В связи с этим детям, рожденным путем кесарева сечения с оценкой по шкале Апгар не ниже 6/7 баллов, назначали Бифидумбактерин форте® во время пребывания в родильном доме. Группа сравнения пробиотик не получала. После применения сорбированного пробиотика бифидобактерии в количестве 10^9 КОЕ/г и выше выявлялись у 75% детей, лактобактерии 10^7 КОЕ/г и выше – у 80%. У 85% детей отмечено подавляющее действие на золотистый стафилококк. У детей, получавших сорбированный пробиотик по отношению к группе сравнения, к моменту выписки из роддома лучше происходило восстановление массы тела после ее первоначальной убыли [40].

Использование только одного вида бифидобактерии бифидум (штамм *B. bifidum* 1) в микроколониях позволяет восстанавливать три основных компонента индигенной микрофлоры кишечника (бифидобактерии, лактобактерии, типичная кишечная палочка) и одновременно элиминировать условно-патогенную микрофлору, что показано и на примере применения Бифидумбактерина форте® у больных гемобластозами, перенесших полихимиотерапию и трансплантацию костного мозга. На фоне основной терапии индигенная микрофлора была значительно подавлена, а условно-патогенная повышена. Применение Бифидумбактерина форте® в течение 15 дней привело к значительному улучшению или восстановлению микрофлоры кишечника. Улучшение основных количественных и качественных показателей микрофлоры сопровождалось нормализацией стула, что указывало не восстановление функций микрофлоры. При медленной положительной динамике требуется более длительный курс сорбированного пробиотика [41].

Еще одной особенностью сорбированных пробиотиков, которая впервые была отмечена в статье, опубликованной в 1996 году, является способность при приеме внутрь улучшать микробиоценоз не только кишечника, но и других биотопов, что сопровождается улучшением и клинического состояния пациентов. Так, у женщин репродуктивного возраста, страдающих воспалительными заболеваниями гениталий, установлено, что Бифидумбактерин форте® при приеме внутрь обеспечивает коррекцию не только дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта, но и вагинальной микрофло-

ры, что сопровождается более ранним исчезновением интоксикации и болевого синдрома, чем без применения пробиотика [42].

Липополисахариду (ЛПС) грамотрицательных бактерий кишечника придается большое значение в патогенезе различных заболеваний. У детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта инфекционного, аллергического и смешанного генеза при оценке взаимосвязи между отдельными представителями микробиоценоза и наличием ЛПС в плазме крови выявлена положительная зависимость между увеличением Гр– бактерий в кишечном содержимом и эндотоксином плазмы и отрицательная корреляция между обнаружением ЛПС в крови и нормальным содержанием бифидобактерий в кишечнике ($p < 0,05$) [7]. При включении в схему терапии Бифидумбактерина форте® после 10–15 дней его приема происходило снижение уровня Гр– бактерий, увеличение количества нормофлоры и повышение уровня секреторного IgA, указывающего на улучшение состояния иммунной системы слизистых оболочек [43].

Возможность применения даже индигенных (основных, постоянных) микроорганизмов микробиоценоза кишечника человека при аллергических заболеваниях требует отдельного изучения в каждом конкретном случае. Имеются исследования, в которых показан положительный эффект применения сорбированных бифидобактерий при аллергических заболеваниях. Так, обследование детей с аллергическими дерматозами выявило у них наличие дисбиоза желудка, тонкой и толстой кишок, усугубляющего иммунопатологический процесс. Применение в комплексном лечении Бифидумбактерина форте® курсом 2–3 недели улучшало общее состояние больных, сокращало на 5–7 дней кожные проявления аллергии, на 2–3 дня кишечные расстройства. Комплексная пробиотическая коррекция с применением Бифидумбактерина форте® носит иммунокорригирующий характер и является эффективной патогенетической терапией при алергопатологии [44].

Большая часть аллергодерматозов представлена экземой [45]. В научном исследовании [45] выявлено положительное влияние Бифидумбактерина форте®, включенного в комплексную терапию взрослых больных с микробной экземой, не только на микробиоценоз кишечника, но и на микробиоценоз кожи, а также на иммунологические показатели. Установлено, что многокомпонентная терапия больных микробной экземой, включающая Бифидумбактерин форте®, ведет к более быстрому разрешению клинических проявлений экзематозного процесса, препятствует появлению рецидивов/обострений заболевания, способствует увеличению продолжительности клинической ремиссии при хроническом процессе, что существенно улучшает качество жизни больных. Рекомендовано исполь-

зование пробиотика Бифидумбактерин форте® для коррекции дисбиотических нарушений кожи и кишечника при микробной экземе [45].

У взрослых пациентов с бронхиальной астмой при выявленных нарушениях состава кишечной микрофлоры включение в комплексное лечение Бифидумбактерина форте® способствовало снижению частоты приступов и улучшению качества жизни в связи с улучшением деятельности респираторного и желудочно-кишечного трактов [46].

Общеизвестно, что в структуре инфекционной патологии острые респираторные вирусные инфекции занимают приоритетное положение по количеству заболевших и ущербу, наносимому не только здоровью человека, но и экономике страны. В педиатрии острые респираторные заболевания считаются одной из основных проблем в связи с широкой распространенностью, высокими показателями заболеваемости, разнообразной этиологической структурой, отсутствием специфических мер профилактики большинства инфекций [47].

В конце 90-х годов прошлого века с разрешения и под контролем государственных регулирующих организаций проводились клинические и научные исследования по изучению действия увеличенных доз сорбированных бифидобактерий.

Эффективность и безопасность увеличенных доз Бифидумбактерина форте® и его иммуномодулирующие свойства в лечении ОРЗ у детей показаны в открытом сравнительном рандомизированном исследовании, в которое было включено 107 детей, госпитализированных в стационар [48].

Применение увеличенных доз Бифидумбактерина форте® коротким курсом 2–5 дней у детей с бактериальными осложнениями ОРВИ (пневмония, бронхит, синусит, синдром крупа) оказывало дезинтоксикационный и антипирогенный эффект, сокращало длительность катаральных явлений, лихорадки и интоксикации в 1,5–2,3 раза по сравнению с группой пациентов, получавшей только базисную терапию, на 25% уменьшало риск повторных ОРЗ. Иммунобиологический эффект Бифидумбактерина форте® выражался в оптимизации количественных и функциональных характеристик В- и Т-клеточных систем иммунитета, в интерфероиндуцирующем действии, что создает возможность прямого киллинга вирусов и бактерий и защиту от возбудителей инфекций. Изучение функциональных характеристик антител показало возрастание до 100% доли высокоавидных антител, которые обладают способностью связываться с антигенами микроорганизмов с формированием иммунных комплексов, которые выводятся из организма. Полученные результаты свидетельствовали о возрастании защитных свойств иммунной системы ребенка [48, 49].

Аналогичные дозы сорбированных бифидобактерий в лечении детей, больных инфекционным мононуклеозом приводят к быстрому купированию основных симптомов заболевания (интоксикация, лихорадка, отек слизистых ротоглотки, наложения на миндалинах), снижают содержание атипичных мононуклеаров и геномов Эпштейн-Бар вируса в крови. Бифидумбактерин форте®, который сначала применялся в увеличенных дозах для коррекции состояния микробиоценоза кишечника и иммунной системы у детей с инфекционным мононоклеозом, в результате клинических наблюдений более чем 300 детей разных возрастных групп стал применяться как базисный патогенетический препарат при данной патологии [50, 51].

В последние годы получены новые данные о клинической и иммунологической эффективности Бифидумбактерина форте® в обычных дозах, установленные при применении препарата для профилактики ОРЗ у часто болеющих детей школьного возраста в составе комплексного санаторного лечения [47, 52, 53]. После курса применения Бифидумбактерина форте®, в отличие от группы сравнения, получавшей только стандартное лечение, отмечено достоверное ($p<0,05$) улучшение состава и функциональной активности не только фекальной микрофлоры (эшерихий, бифидобактерий, лактобацилл, нормализация продукции основных метаболитов кишечной микрофлоры), но и микрофлоры верхних дыхательных путей (восстановление качественно-количественного соотношения типичных для этого локуса альфа-гемолитического стрептококка, нейссерий, а также снижение частоты выделения бактерий транзиторной группы и обсемененности *S. aureus,* нормализация совокупной функциональной активности бактерий). До начала оздоровительного лечения фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови была сниженной в 100% случаев. У получавших Бифидумбактерин форте® наблюдалось нарастание способности фагоцитов поглощать и переваривать бактериальные клетки, что свидетельствовало об улучшении их функциональной активности. В динамике наблюдения отмечено улучшение состоянии мукозального иммунитета. Катамнестическое наблюдение в течение 3 месяцев после проведенного лечения в санатории показало, что применение Бифидумбактерина форте® сокращало частоту инфекций верхних дыхательных путей, среднюю продолжительность респираторных заболеваний на 2,26 дня, уменьшало величину лихорадки, частоту случаев с кашлем и назначением антибактериальной терапии. Эффективность подтверждена уменьшением количества детей, болевших ОРЗ более одного раза в течение трех месяцев зимнего сезона. Сокращение частоты, длительности и выраженности клинических проявлений ОРЗ в течение 3 месяцев после лечения

у получавших Бифидумбактерин форте® ассоциировалось с ликвидацией (в отличие от группы контроля) гастроинтестинальных жалоб, что является значимым клиническим фактором, поскольку дети обеих групп в санатории не получали специального лечения по поводу гастроэнтерологической патологии. Включение Бифидумбактерина форте® в комплекс оздоровительных мероприятий позволило обеспечить более долгосрочный результат до конца зимнего сезона [52].

В клинической практике было замечено, что увеличение дозы сорбированных бифидобактерий при применении Бифидумбактерина форте® способствует укорочению сроков исчезновения основных клинических проявлений острых кишечных инфекций [54].

В связи с этим был создан препарат Пробифор® с увеличенным на порядок в 1 пакете/капсуле по сравнению с Бифидумбактерином форте® содержанием сорбированных бифидобактерий (500 млн КОЕ по сравнению с 50 млн КОЕ). Подобранная на основании клинических исследований доза сорбированных бифидобактерий в препарате Пробифор® позволяет использовать его в качестве основного этиопатогенетического средства для лечения острых кишечных инфекций различной этиологии [55, 56, 57, 58, 59]. Благодаря возможности применения Пробифора® во время беременности Пробифор® становится препаратом выбора в случае развития ОКИ у беременной женщины. Кроме того, препарат может оказывать благоприятное воздействие на вагинальный биотоп.

В 2000 году Пробифор® стал победителем Первого открытого конкурса профессионалов фармацевтической отрасли «Платиновая унция» в номинации «Открытие года» как лучшая Российская научная разработка лекарственного препарата.

Проведенные многоцентровые рандомизированные, контролируемые клинические исследования с участием более 250 пациентов показали, что применение увеличенных доз сорбированных *B. bifidum* 1 в составе препарата Пробифор® для лечения острых кишечных инфекций различной этиологии приводит к элиминации возбудителя, исчезновению в короткие сроки (1–5 дней, в зависимости от тяжести процесса) основных клинических проявлений заболевания – интоксикации, лихорадки, диареи, болевого синдрома, метеоризма, способствует репарации слизистой оболочки кишечника, восстановлению микробиоценоза кишечника. Во всех исследованиях отмечено абортивное течение инфекционного процесса при раннем назначении сорбированного пробиотика, его выраженное антидиарейное и антитоксическое действие. В педиатрической практике разработан метод биоценозсберегающей терапии острых кишечных инфекций с приме-

нением Пробифора®, рекомендованный министерством здравоохранения Российской Федерации [58, 59].

По эффективности лечения бактериальных острых кишечных инфекций при курсе лечения 1–2 дня Пробифор® не уступал офолоксацину. В группе больных, получавших пробиотик, имела место наибольшая клиническая эффективность в разрешении колитического синдрома. Пробифор® все пациенты переносили хорошо, побочных нежелательных реакций не зарегистрировано. В группе сравнения отмечено развитие побочных нежелательных реакций [56].

В исследовании [57] представлен клинический случай, когда пациент с острым шигеллезом, вызванным *S. sonnei*, поступивший в стационар с лихорадкой до 39,6 °С, выраженной интоксикацией, рвотой, водянистым стулом до 10 раз в сутки, и получивший при поступлении Пробифор (по 3 пакета 2 раза с интервалом в 2 часа), выписан по собственному желанию на следующие сутки в связи со значительным улучшением состояния – нормализация температуры (36,5 °С), изчезновение рвоты, диареи.

При изучении биоптатов дистальных отделов слизистой оболочки толстой кишки (СОТК), полученных при ректороманоскопическом исследовании с информированного согласия пациентов, установлено, что применение Пробифора® оказывало выраженное действие на процессы репарации в СОТК, способствовало выраженному угасанию воспаления в СОТК, гистологически у этих больных определялся катаральный колит в стадии обратного развития патологического процесса. В этом же исследовании показана нецелесообразность применения увеличенных доз *B. bifidum* 1 в составе Бифидумбактерина, содержащего единичные клетки бифидобактерий [55].

Аналогичные положительные результаты влияния Пробифора® на СОТК были получены у детей с хронической патологией желудочно-кишечного тракта при применении пробиотика в течение 10 дней. Воспалительные процессы в толстой кишке купировались только на фоне применения сорбированного пробиотика, в отличие от группы сравнения, получавшей только базисную терапию [60].

Способность сорбированных бифидобактерий улучшать состояние слизистой оболочки кишечника, а также снижать уровень эндогенной интоксикации, было показано и у пациентов с язвенным колитом. Пробифор® назначался длительными курсами. Комплексная терапия язвенного колита у 42 взрослых пациентов с включением Пробифора® тридцатидневными курсами в период обострения и для поддержания ремиссии один раз в три месяца оказалась эффективной в восстановлении кишечной микрофлоры, нормализации показателей эндогенной интоксикации, способствовала со-

хранению клинико-эндоскопической ремиссии в течение года у 78,6% наблюдаемых больных [61, 62].

При функциональном заболевании кишечника для получения положительного эффекта лечения понадобился короткий курс Пробифора®. Результаты применения Пробифора® (в течение 5 дней) и Бифидумбактерина форте® (в течение 12 дней) у больных с синдромом раздраженного кишечника показали, что включение препаратов в комплексное лечение СРК приводило к уменьшению или исчезновению клинической симптоматики по сравнению с плацебо. В группах больных, принимавших Пробифор® и Бифидумбактерин форте®, не зависимо от преобладания запоров или диареи количество дефекаций нормализовалось у всех обследованных. Применение Пробифора® в течение 5 дней у 100% больных приводило к полному купированию всех клинических симптомов синдрома раздраженного кишечника. Применение Пробифора® и Бифидумбактерина форте® способствовало восстановлению нормального микробного пейзажа толстой кишки, элиминации патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и улучшению ферментативных процессов, о чем свидетельствовала положительная динамика показателей копрограммы. По данным контрольных эндоскопических исследований у всех больных, у которых была выявлена гиперемия слизистой оболочки толстой кишки до лечения, после терапии она исчезла при применении Пробифора® или Бифидумбактерина форте® и сохранилась у 56,7 % больных получавших плацебо [63].

В многоцентровых клинических рандомизированных, пострегистрационных исследованиях Пробифора® при хронических заболеваниях желудочно-кишечного тракта проанализированы клинико-лабораторные результаты 205 пациентов. Исследования проводились в 2000 году в соответствии с действующими в Российской Федерации требованиями для проведения клинических исследований пробиотиков. В исследования включались пациенты с различными заболеваниями желудочно-кишечного тракта: с гастродуоденитом, гастритом, дуоденитом, постгастрорезекционными расстройствами, синдромом раздраженного кишечника, глютеновой энтеропатией, неспецифическим язвенным колитом, дивертикулами различной локализации, с воспалительными процессами в кишечнике, не относящимся к болезни Крона и язвенному колиту, с хроническим панкреатитом, с патологией печени и желчевыводящих путей. Общим для всех больных было заболевание желудочно-кишечного тракта продолжительностью от 1 года и более с наличием дисбиотических нарушений в фекальной микрофлоре. При анализе динамики клинических проявлений учитывались главным образом те симптомы, в развитии которых ведущее значение принадлежит нарушению кишечного микробиоценоза.

Несмотря на различие по ряду приведенных характеристик у наблюдаемых контингентов больных, в отчетах всех учреждений у лиц, получавших Пробифор®, общими были следующие положения:

- положительная клинико-лабораторная оценка применения Пробифора® у больных с хроническими заболеваниями пищеварительного тракта;
- исчезновение симптомов интоксикации в первые 2–5 дней приёма Пробифора®;
- ликвидация болевого синдрома и пальпаторной болезненности живота практически у всех больных;
- нормализация кишечных расстройств (частоты, консистенции, исчезновение примеси слизи в фекалиях);
- восстановление или улучшение фекальной микрофлоры;
- восстановление большинства показателей копрограммы;
- улучшение показателей при динамическом исследовании УЗИ, ректороманоскопии, эндоскопии верхних и нижних отделов желудочно-кишечного тракта;
- краткость курса применения – от 5 до 14 дней;
- отсутствие каких-либо побочных действий и нежелательных реакций.

Еще одним аспектом положительного действия Бифидумбактерина форте® и Пробифора® является их применение для подготовки к операции и в послеоперационном периоде. Препараты способствуют уменьшению количества послеоперационных осложнений [64, 65, 66].

Положительный опыт применения Пробифора® отмечен и при применении в стоматологической практике. Причем здесь проявилось свойство сорбированных пробиотиков при приеме внутрь восстанавливать микробиоценоз в различных биотопах.

Назначение Пробифора® для предоперационной подготовки пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом способствовало улучшению микрофлоры ротовой полости в области предполагаемого оперативного вмешательства, что сопровождалось гладким течением послеоперационного периода и укорочением сроков эпителизации операционной раны по сравнению с применением только стандартной терапии (на 7–9 дни и 10–14 дни в группах соответственно) [67].

Приведенные примеры эффективности и механизмов действия сорбированных пробиотиков Бифидумбактерин форте® и Пробифор®, имеющих разную активность, но содержащих только бифидобактерии, полученные в клинической практике, показывают возможность и потенциал пробиотической терапии с помощью микроколоний только одного штамма бифидобактерий, характерного для человека. Наличие препаратов с разной актив-

ностью позволяет комбинировать их при лечении пациента, использовать как в стандартных методах лечения, так и осуществлять индивидуальную терапию конкретного больного. Перспективным являются и дальнейшие научные исследования для изучения механизмов действия сорбированных пробиотиков в клинической практике с целью повышения эффективности лечения и профилактики различных заболеваний.

Микроколонии бифидобактерий, имеющие собственный механизм действия, можно сочетать с другими индигенными микроорганизмами микробиоценоза кишечника человека, обладающими установленной безопасностью для человека, создавая на основе научных исследований поликомпонентные препараты с определенными свойствами.

Так, добавление к микроколониям штамма *B. bifidum* 1 установленного количества отечественного штамма с многолетней историей *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 позволило создать препарат Флорин® форте. Лактобактерии подобраны таким образом, чтобы они работали в синергизме с микроколониями бифидобактерий. Флорин® форте приобрел направленное действие на осмотическую диарею, вирусные острые кишечные инфекции, в первую очередь на ротавирусную инфекцию. Показана возможность его назначения как этиопатогенетического средства при ротавирусной инфекции пациентам с развившейся лактазной недостаточностью [68]. Флорин® форте может применяться при различных заболеваниях, что отражено в опубликованном обзоре о клиническом действии препарата, а также в инструкции по применению препарата [68].

По данным периодически обновляемых отчетов по безопасности за весь период от даты международной регистрации Бифидумбактерина форте®, Пробифора®, Флорина® форте, сведений о нежелательных реакциях, развившихся при применении препаратов на территории Российской Федерации и на территории других стран, в которых разрешено применение, полученных в ходе клинических исследований, неинтервенционных исследований и спонтанного репортирования, включая данные от медицинских и фармацевтических работников, потребителей, пациентов, уполномоченных органов государств, и данных, опубликованных в медицинской литературе, не было.

Литература

1. Report of a Joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food. – Cordoba, 2001. – 34 p.
2. Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G.R., Merenstein D.J., Pot B., Morelli L., Canani R.B., Flint H.J., Salminen S., Calder P.C., Sanders M.E. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2014. – Vol. 11, N 8. – P. 506–514.
3. Peterson J. et al. The NIH Human Microbiome Project // Genome Res. – 2009. – Vol. 19, N 12. – P. 2317–2323.
4. Tancrède C. Role of human microflora in health and disease // Eur J Clin Microbiol Infect Dis. – 1992. – Vol. 11, N 11. – P. 1012–1015.
5. Probert H.M., Gibson G.R. Bacterial biofilms in the human gastrointestinal tract // Curr. Issues Intest. Microbiol. – 2002. – Vol. 3. – P. 23–27.
6. de Vos W.M. Microbial biofilms and the human intestinal microbiome // NPJ Biofilms Microbiomes. – 2015. – Vol. 25. – 1:15005.
7. Macfarlane S., Hopkins M. J., Macfarlane G. T. Bacterial growth and metabolism on surfaces in the large intestine // Microbial Ecology in Health and Disease. – 2000. – Vol. 12, N 2. – P. 64–72.
8. Muñoz-Tamayo R., Laroche B., Walter E, Doré J., Duncan S.H., Flint H.J., Leclerc M. Kinetic modelling of lactate utilizationand butyrate production by key human colonic bacterial species // FEMS Microbiol Ecol. – 2011. – Vol. 76. – P. 615–624.
9. Gibson G, Roberfroid M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics // J. Nutr. – 1995. – Vol. 125. – P. 1401–1412.
10. Hutkins R.W., Krumbeck J.A., Bindels L.B., Cani P.D., Fahey G., Goh Y.J., Hamaker B., Martens E.C., Mills D.A., Rastall R.A., Vaughan E., Sanders M.E. Prebiotics: why definitions matter // Current opinion in biotechnology. – 2016. – Vol. 37. – P. 1–7.
11. Ножевникова А.Н., Бочкова Е.А., Плакунов В.К. Мультивидовые биопленки в экологии, медицине и биотехнологии (обзор) // Микробиология. – 2015. – Т. 84, № 6. – С. 623–644.
12. Watnik P., Kolter R. Biofilm, city of microbes // J. Bacteriol. – 2000. – Vol. 182, N 10. – P. 2675–2679.

13. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка — «город микробов» или аналог многоклеточного организма? // Микробиология. – 2007. – Т. 76, № 2. – С. 149–163.
14. Maunders E., Welch M. Matrix exopolysaccharides; the sticky side of biofilm formation // FEMS Microbiol Lett. – 2017. – Vol. 364, N 13.
15. Бондаренко В.М. и др. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром. Современное состояние проблемы. – М: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 304 с.
16. Macfarlane S., Furrie E., Cummings J.H., Macfarlane G.T. Chemotaxonomic analysis of bacterial populations colonizing the rectal mucosa in patients with ulcerative colitis // Clin. Infect. Dis. – 2004. – Vol. 38, N 12. – P. 1690–1699.
17. Macfarlane S., Macfarlane G.T. Composition and metabolic activities of bacterial biofilms colonizing food residues in the human gut // Applied and Environmental Microbiology. – 2006. – Vol. 72, N 9. – P. 6204–6211.
18. White R., Atherly T., Guard B., Rossi G., Wang C., Mosher C., Webb C., Hill S., Ackermann M., Sciabarra P., Allenspach K., Suchodolski J., Jergens A.E. Randomized, controlled trial evaluating the effect of multi-strain probiotic on the mucosal microbiota in canine idiopathic inflammatory bowel disease // Gut microbes. – 2017. –Vol. 8, N 5. – P. 451–466.
19. Холодова И.Н. Микрофлора кишечника новорождённых при различных видах родоразрешения и её коррекция: автореф. дисс. … канд. мед. наук. – М., 1990. – 27 с.
20. Bridgman S.L., Kozyrskyj A.L., Scott J.A., Becker A.B., Azad M.B. Gut microbiota and allergic disease in children // Ann Allergy Asthma Immunol. – 2016. – Vol. 116, N 2. – P. 99–105.
21. Гончарова Г.И. Изучение бифидобактерий, разработка препарата «сухой бифидумбактерин» и его эффективность при кишечных заболеваниях детей первого года. автореф. дисс. …канд. биол. наук. – М., 1970. – 16 с.
22. Leahy S.C., Higgins D.G., Fitzgerald G.H., van Sinderen D. Getting better with bifidobacteria // Journal of Applied Microbiology. – 2005. – Vol. 98. – P. 1303–1315.
23. Гончарова Г.И. Бифидофлора человека, ее защитная роль организма и обоснование сфер применения препарата бифидумбактерин: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук. – М., 1982.

24. Tojo R., Suárez A., Clemente M.G., de los Reyes-Gavilán C.G., Margolles A., Gueimonde M., Ruas-Madiedo P. Intestinal microbiota in health and disease: Role of bifidobacteria in gut homeostasis. Review // World J Gastroenterol. – 2014. – Vol. 7, N. 20. – P. 15163–15176.
25. Hsieh C.Y., Osaka T., Moriyama E., Date Y., Kikuchi J., Tsuneda S. Strengthening of the intestinal epithelial tight junction by *Bifidobacterium bifidum* // Physiol Rep. – 2015. – Vol. 3, N 3. – e12327.
26. Kelly J.R., Kennedy P.J., Cryan J.F., Dinan T.G., Clarke G., Hyland N.P. Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders // Front Cell Neurosci. – 2015. – Vol. 14, N 9. – P. 392.
27. Иванова Е.В. Роль бифидофлоры в ассоциативном симбиозе кишечной миробиоты человека: дисс. …докт. мед. наук. – Оренбург. 2018 – 295 с.
28. Иванова Е.В. Биологические свойства бифидобактерий и их взаимодействие с микросимбионтами кишечной микрофлоры человека: автореф. дисс. …канд. мед. наук. – Оренбург, 2010. – 22 с.
29. Turroni F., Duranti S., Milani C., Lugli G.A., van Sinderen D., Ventura M. *Bifidobacterium bifidum*: A Key Member of the Early Human Gut Microbiota // Microorganisms. – 2019. – Vol. 7, N 11. – E544.
30. Ruas-Madiedo P.; Gueimonde M.; Fernandez-Garcia M.; de los Reyes-Gavilan C.G.; Margolles A. Mucin degradation by *Bifidobacterium* strains isolated from the human intestinal microbiota // Appl. Environ. Microbiol. – 2008. – Vol. 74. – P. 1936–1940.
31. Turroni F., Milani C., van Sinderen D., Ventura M. Genetic strategies for mucin metabolism in *Bifidobacterium bifidum* PRL2010: An example of possible human-microbe co-evolution // Gut Microbes. – 2011. – Vol. 2. – P. 183–189.
32. Rokhsefat S., Lin A.F., Comelli E.M. Mucin-Microbiota Interaction During Postnatal Maturation of the Intestinal Ecosystem: Clinical Implications // Dig. Dis. Sci. – 2016. – Vol. 61. – P. 1473–1486.
33. Costerton J.W., Lam J., Lam K., Chan R. The role of the microcolony mode of growth in the pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* infections // Rev Infect Dis. – 1983. – Vol. 5, Suppl. 5. – S. 867–873.
34. Покровский В.И., Бондаренко В.М., Жалко-Титаренко В.П. Рост и развитие популяции возбудителей в процессе заражения // Советская Медицина. – 1987. – № 4. – С. 29–38.
35. Феклисова Л.В., Григорьев А.В., Новокшонова А.В., Покатилова А.И., Мескина Е.Р., Каншина О.А., Попова О.П., Лыкова Е.А., Кривченя Д.Ю., Земсков В.С. Биологический препарат бифидумбактерин-форте для

лечения и коррекции биоценоза кишечника у детей и взрослых // Новые лекарственные препараты. – 1995. – № 10. – С. 15–21.
36. (http://femb.ru/femb/pharmacopea.php), [доступ 4 февраля 2020 г.]
37. Григорьев А.В., Бондаренко В.М., Абрамов Н.А., Мурашова А.О., Феклисова Л.В., Чуприниина Р.П. Разработка и клиническая оценка пробиотика «Бифидумбактерин форте» // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1997. – № 3. – С. 92–96.
38. Якушенко М.Н., Тхагапсоева Ж.М., Бондаренко В.М. Регуляция микроэкологических нарушений кишечника у новорожденных детей с перинатальной патологией новым пробиотиком бифидумбактерином форте // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1997. –№ 6. – С. 1822.
39. Лебедева О.В., Бажукова Т.А. Профилактика дисбиотических изменений у детей. Материалы VIII Всерос. съезда эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. – М., 2002. – С. 196–197.
40. Лыкова Е.А., Дорошенко Е.О. и др. Применение Пробифора и Бифидумбактерина форте у новорожденных детей в условиях родильного дома. Тезисы XII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2005. – С. 449.
41. Петрова Н.А., Толкачева Т.В., Клясова Г.А., Абакумов Е.М. Коррекция дисбактериоза кишечника пробиотиком бифидумбактерин форте // Новое в трансфузиологии. – 1999. – № 2. – С. 57–61.
42. Серов В.Н., Бондаренко В.М., Ильенко Л.Н., Суджан Е.В., Абрамов Н.А., Мурашова А.О. Клиническая эффективность комплексного препарата – пробиотика бифидумбактерина-форте при лечении гинекологических больных с воспалительными заболеваниями половых органов // Новые лекарственные препараты. – 1996. – № 1. – С. 3–9.
43. Лыкова Е.А., Бондаренко В.М., *Воробьев А.А., Суджан* Е.В., *Минаев В.И., Маликов В.Е.* Бактериальная эндотоксинемия у детей с дисбиозом кишечника // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1999. № 3. С. 67–70.
44. Лыкова Е.А., Мурашова А.О., Бондаренко В.М. и др. Нарушения микрофлоры кишечника и иммунитета у детей с аллергическими дерматитами и их коррекция // Российский педиатрический журнал. – 2000. – № 2. – С. 20–24.
45. Пономарева Ж.В. Особенности течения и терапии микробной экземы у жителей Архангельской области: автореф. дисс. …канд. мед. наук. – М., 2007. – 19 с.

46. Ракита Д.Р., Корвяков С.А. Дисбиоз кишечника у больных бронхиальной астмой и его коррекция // Медицинский научный и учебно-методический журнал. – 2005. – № 29. – С. 22-33.
47. Мескина Е.Р. Применение пробиотика *B. bifidum* 1 в микроколониях для лечения и профилактики острых респираторных инфекций // Дневник казанской медицинской школы. – 2019. – Т. II, № XIX. – С. 188-189.
48. Воробьев А.А., Лыкова Е.А., Феклисова Л.В., Боковой А.Г., Целипанова Е.Е. Использование больших доз пробиотика бифидумактерина форте в лечении ОРВИ у детей: клинические иммунобиологические результаты // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2004. – № 5. – С. 43–46.
49. Лыкова Е.А., Воробьев А.А., Боковой А.Г., Мурашова А.О. Нарушения интерферонового статуса у детей с острой респираторной инфекцией и его коррекция бифидумбактерином форте // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2001. – № 2. – С. 65–67.
50. Боковой А.Г., Егоров А.И. Герпесвирусные инфекции у детей и родителей: Учебное пособие для студентов, врачей-педиатров, инфекционистов, иммунологов. – М.: Центр стратегической конъюнктуры, 2014. – 256 с.
51. Боковой А.Г., Вершинина М.Г., Медкова А.Ю., Ковалев И.В. Оптимизация комплексной терапии инфекционного мононуклеоза у детей // Детские инфекции. – 2019. – Т.18, № 2. – С. 36–41.
52. Мескина Е.Р., Медведева Е.А., Феклисова Л.В. Эффективность пробиотика *B. bifidum* 1 для профилактики повторных респираторных инфекций у детей 7–11 лет с функциональной и хронической патологией желудочно-кишечного тракта // Альманах клинической медицины. – 2018. – Т. 46, № 2. – С. 18–25.
53. Медведева Е.А. Клинико-патогенетическое значение метаболической активности микрофлоры ротоглотки и кишечника у детей с респираторными заболеваниями: автореф. дисс. …канд. мед. наук. – М., 2017. – 23 с.
54. Учайкин В.Ф., Гаспарян М.О., Новокшонов А.А. и др. Пробиотики в комплексной терапии кишечных инфекций у детей // Биопрепараты. – 2001. – № 1. – С. 4–6.
55. Грачева Н.М., Аваков А.А., Гаврилов А.Ф., Соловьева А.И., Щербаков И.Т. Эффективность применения пробиотика «Пробифор» при лечении больных с острыми кишечными инфекциями и хроническими

заболеваниями желудочно-кишечного тракта // Новые лекарственные препараты. – 2004. – № 1. – С. 3–10.
56. Пономарев С.В., Кубенский Е.Н. Метод применения «Пробифора» коротким курсом у больных с острыми кишечными инфекциями // Новые лекарственные препараты. – 2004. – № 1. – С. 11–16.
57. Ющук Н.Д., Аликеева Г.К. Опыт клинического применения «Пробифора» у больных с пищевыми токсикоинфекциями в условиях стационара // Новые лекарственные препараты. – 2004. – № 1. – С. 17–20.
58. Учайкин В.Ф., Новокшонов А.А., Нисевич Н.И., Гаспарян М.О. и др. Лечение острых кишечных инфекций у детей препаратами бифидумбактерин форте и пробифор (пособие для врачей). – М., 2001. – 15 с.
59. Учайкин В.Ф., Новокшонов А.А., Гаспарян М.О., Дорошенко Е.О. Применение «Пробифора» при острых кишечных инфекциях у детей // Новые лекарственные препараты. – 2004. – № 1. – С. 21–28.
60. Ушакова А.Ю., Феклисова Л.В., Полевой С.В. Эффективность пробиотиков при хронической патологии желудочно-кишечного тракта у детей // Новые лекарственные препараты. – 2005. – № 1. – С. 20–27.
61. Казарина А.В., Назарбекова Р.В., Овчинникова Н.И., Волошейникова Т.В., Овсянникова И.А., Балицкий Е.В., Яковенко Э.П. Роль пробиотической терапии в лечении рецидива и поддержании ремиссии язвенного колита // Кремлевская медицина. – 2009. – № 2. – С. 50–54.
62. Казарина А.В. Роль пробиотика пробифор в лечении рецидива и поддержании ремиссии язвенного колита: автореф. дисс. …канд. мед. наук. – М., 2009. – 26 с.
63. Черемушкин С.В. Эффективность использования пробиотиков при синдроме раздраженного кишечника: автореф. дисс. …канд. мед. наук. – М., 2000. – 20 с.
64. Григорьев А.В., Земсков В.С., Ткаченко А.В., Сусак Я.М. Эффективность препарата бифидумбактерина-форте у взрослых больных с хирургической патологией пищеварительного тракта // Новые лекарственные препараты. – 1996. – № 2. – С. 12–18.
65. Григорьев А.В., Сорока В.П., Кривченя Д.Ю., Слепов А.К., Егорова С.М., Абрамов Н.А. Опыт применения бифидумбактерина-форте в детской хирургической практике // Новые лекарственные препараты. – 1996. – № 1. – С. 10–18.

66. Федорова Н.И., Кранин Д.Л., Федоров А.Ю., Назаров Д.А. Влияние послеоперационного дисбактериоза кишечника на качество жизни больных, перенесших хирургическую реваскуляризацию миокарда // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. – 2015. – № 3. – С. 40–42.
67. Рунова Г.С. Эффективность пробиотического препарата с бифидобактериями при пародонтитах // Фарматека. – 2013. – № 11. – С. 20–22.
68. Феклисова Л.В., Ющук Н.Д., Аликеева Г.К. Результаты многоцентровых клинико-лабораторных исследований назначения сорбированного поликомпонентного препарата-пробиотика детям и взрослым при инфекционной патологии // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2015. – № 1. – С. 66–76.

Содержание

Введение 3

Микробиоценоз и особенности биопленки кишечника 3

Роль бифидобактерий в организме человека..... 10

Сорбированные пробиотики. Механизм действия 13

Механизмы действия и эффективность сорбированных пробиотиков, выявленные в результате клинических исследований и научных исследований применения препаратов у человека 17

Литература 28

Научное издание

Кареткин Борис Алексеевич
Дорошенко Екатерина Олеговна
Ланских Андрей Германович
Терешкова Елена Андрияновна

СОРБИРОВАННЫЕ ПРОБИОТИКИ
МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

Подписано в печать 14.02.20. Формат 60×90 1/16. Бумага офсет № 1.
Усл.-печ. л. 2,07. Уч.-изд. 1,7.
Тираж 500 экз. Заказ №
Издательство ТД ДеЛи. 141111, г. Москва, 3-й проезд Перова поля, 8,
бизнес-центр «Перово Поле», офис 412, (495) 646-24-43, www.deli.ru
Отпечатано: Публичное акционерное общество «Т8 Издательские Технологии»
109316 Москва, Волгоградский проспект, дом 42, корпус 5.
Тел.: 8 (495) 221-89-80