

Научный руководитель
Заведующий кафедрой микробиологии
доктор медицинских наук, профессор

 И.В. Дармов



Отчет о НИР
**РЕКИЦЕН-РД В КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ МИКРОБИОЦЕНОЗА
КИШЕЧНИКА У БЕЛЫХ МЫШЕЙ И МОРСКИХ СВИНОК С
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ АНТИБИОТИКО-АССОЦИИРОВАННЫМ
ДИСБАКТЕРИОЗОМ**

Представлены результаты изучения влияния ферментированных пищевых волокон Рекицена-РД на восстановление нормальной микрофлоры в кишечнике белых мышей и морских свинок с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбактериозом, вызванным пероральным введением гентамицина. Добавленный к суточному пищевому рациону подопытных животных, Рекицен-РД эффективно стимулирует восстановление нормальной кишечной микрофлоры, в том числе бифидобактерий, лактобактерий и эшерихий. Рекицен-РД характеризуется хорошей переносимостью белыми мышами и морскими свинками и отсутствием побочных эффектов.

Ключевые слова: ферментированные пищевые волокна, Рекицен-РД, экспериментальный дисбактериоз, кишечная микрофлора, коррекция нарушений микробиоценоза.

REKICEN-RD IN THE CORRECTION OF INTESTINAL MICROBIOCENOSIS IN WHITE MICE AND GUINEA PIGS WITH EXPERIMENTAL ANTIBIOTIC-ASSOCIATED DYSBACTERIOSIS

The results are presented of studying the influence of fermented dietary fiber preparation Rekicen-RD on the restoration of normal intestinal microflora of white mice and guinea pigs with experimental antibiotic-associated dysbacteriosis caused by oral administration of gentamicin. Added to the daily nutrition diet of experimental animals, Rekicen-RD efficiently stimulates the restoration of normal intestinal microflora, including bifidobacteria, lactobacilli and Escherichia. Rekicen-RD is well tolerated by white mice and guinea pigs and is characterized by the absence of side effects.

Key words: fermented dietary fiber, Rekicen-RD, experimental dysbacteriosis, intestinal microflora, correction of microbiocenosis

Введение

Многочисленные внутренние и внешние факторы вызывают нарушения микробиоценоза различных биотопов организма людей, в частности в тонкой и толстой кишке, способствуя возникновению и развитию различных патологических состояний, а также являются основой их осложнений [1, 2]. Современные подходы к лечебной коррекции дисбиотических изменений в кишечнике при дисбактериозах и синдроме избыточного бактериального роста в тонкой кишке [1-4] включают ряд важных мероприятий, в том числе направленных на восстановление нормальной кишечной микрофлоры [5, 6]. Диетическая коррекция является одним из подходов лечебно-профилактических мероприятий и заключается в использовании питательных веществ естественного происхождения, которые при систематическом применении оказывают биокорректирующее действие [2, 4].

Основными элементами такого лечебного и функционального питания [7-9] являются продукты, в состав которых входят пищевые волокна (пищевые отруби и др.), бифидобактерии (бифидосодержащие кефир, ряженка, йогурт), олигосахариды растений, молочных продуктов и синтетического происхождения. Пищевые волокна выполняют весьма важную патогенетическую роль, являясь не только пищевым субстратом для сахаролитических анаэробов, но и стимулятором моторики кишечника [10]. Термин «пищевые (диетические) волокна» был введен в научный оборот Е.Н. Hipsley в 1953 г. [11]. В соответствии с концепцией здорового (функционального) питания, пищевые волокна относятся к группе физиологически функциональных ингредиентов [12]. Суточный уровень потребления пищевых волокон для людей составляет не более 20-40 г [13]. Передозировка пищевых волокон, тем не менее, может вызвать ухудшение состояния пациента (усиление метеоризма, болевого синдрома и т.п.).

Производимый в ЗАО «Ягодное», начиная с 1995 г., коммерческий препарат Рекицен-РД, содержащий ферментированные пищевые волокна,

короткоцепочечные жирные кислоты, витамины, органически связанный йод, минеральные вещества, применяется более чем в 20 лечебных учреждениях России для нормализации пищеварения, метаболизма и глубокой очистки организма от шлаков [14]. Установлено, что Рекицен-РД выполняет функцию селективного питательного вещества, стимулирующего рост собственной нормальной микрофлоры кишечника.

В проведенных предварительных исследованиях, предпринятых для более глубокого понимания стимулирующего влияния Рекицена-РД на рост и размножение лактобактерий и бифидобактерий, являющихся представителями нормальной микрофлоры человека, было показано, что при создании оптимальных микроаэрофильных условий указанные пробиотические микроорганизмы колонизируют ферментированные пищевые волокна Рекицена-РД и пшеничные отруби (препарат сравнения), используя их в качестве субстрата для роста и размножения. И в последующем, при хранении выросших культур лактобактерий и бифидобактерий вместе с субстратами при температуре (5 ± 2) °С в течение 14 дней, жизнеспособность пробиотических микроорганизмов сохранилась практически на том же уровне, что и до хранения. Важно при этом подчеркнуть, что, по данным электронной микроскопии, выросшие на ферментированных пищевых волокнах препарата Рекицен-РД и пшеничных отрубях лактобактерии и бифидобактерии сохраняют свою нативную структуру и по морфологическим параметрам соответствуют размерам клеток типовых видов пробиотических микроорганизмов [14].

С учетом полученных *in vitro* экспериментальных данных, представляется целесообразным проведение исследований по изучению влияния ферментированных пищевых волокон препарата Рекицен-РД в опытах *in vivo* на восстановление нормальной микрофлоры у экспериментальных животных с дисбиотическими изменениями в кишечнике.

Цель исследования – изучение влияния ферментированных пищевых волокон препарата Рекицен-РД на восстановление нормальной микрофлоры в кишечнике белых мышей и морских свинок с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбактериозом.

Материалы и методы

В работе использовали ферментированные пищевые волокна препарата Рекицен-РД (ЗАО «Ягодное», г.Киров – Югрино, Россия), в качестве препарата сравнения – пищевые волокна пшеничных отрубей. Препарат Рекицен-РД и пшеничные отруби скармливали экспериментальным животным, добавляя их к суточному кормовому рациону для белых мышей и морских свинок соответственно 80 и 795 мг на одно животное [15, 16].

Общее количество микробных клеток в пересчете на 1 г фекалий животных определяли подсчетом в камере Горяева (модель 851, ЛПО «Красногвардеец», Россия). Количество жизнеспособных микроорганизмов ($\text{КОЕ} \cdot \text{г}^{-1}$) определяли высевом соответствующих десятикратных разведений суспензий биоматериала на плотные питательные среды в чашках Петри и подсчета выросших колоний по истечении времени инкубирования при температуре 37 °С [17, 18]. Выращивание эшерихий и подсчет выросших колоний проводили на агаре Эндо.

Выращивание бифидобактерий и лактобактерий, выделенных из фекалий белых мышей и морских свинок, проводили в микроаэрофильных условиях с использованием системы для анаэробного культивирования (анаэрогат) Anaerobic system Mark III-LE003 (Hi Media Laboratories Pvt. LTD, Мумбаи, Индия) с пакетами газогенераторными Hi Anaero Gas Pacet.

Антибиотико-ассоциированный дисбактериоз у лабораторных животных воспроизводили путем перорального введения гентамицина (продукция ОАО «Биохимик», Россия) [19].

В работе использовали прошедших акклиматизацию в виварии белых мышей, беспородных, обоего пола, массой 18-20 г, морских свинок, беспородных, обоего пола, массой 250-300 г.

Статистическую обработку результатов исследований проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководстве И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [20].

Результаты исследования

Для инициации антибиотико-ассоциированного дисбактериоза кишечника белым мышам и морским свинкам вводили перорально дважды в сутки гентамицин по 3 и 30 мг соответственно. До введения антибиотика, на второй и седьмой день введения у животных отбирали фекалии для бактериологического изучения и определения содержания микроорганизмов фекальной микрофлоры в пересчете на 1 г фекалий (КОЕ·г⁻¹). Результаты экспериментов представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Динамика концентрации микроорганизмов в кишечном содержимом белых мышей при пероральном введении гентамицина ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=7)

Микроорганизмы	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки эксперимента, КОЕ·г ⁻¹		
	начало эксперимента	2	7
Общее количество	$(6,8 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(7,7 \pm 0,6) \cdot 10^5$	$(2,2 \pm 0,6) \cdot 10^4$
Бифидобактерии	$(6,6 \pm 0,8) \cdot 10^6$	$(2,1 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(1,6 \pm 0,7) \cdot 10^2$
Лактобактерии	$(2,1 \pm 0,6) \cdot 10^8$	$(1,2 \pm 0,4) \cdot 10^6$	$(1,2 \pm 0,6) \cdot 10^3$
Эшерихии	$(1,9 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(2,3 \pm 0,6) \cdot 10^3$	$(1,9 \pm 0,6) \cdot 10^1$
Примечание – здесь и в таблицах 2-6 «n» – количество повторных определений			

Из представленных в таблицах 1 и 2 данных следует, что уже на 2 сутки введения животным гентамицина отмечается снижение числа жизнеспособных бифидобактерий, лактобактерий и эшерихий в пересчете на

1 г фекалий. В дальнейшем происходит прогрессирующее снижение как общего количества фекальной микрофлоры, так и отдельных ее представителей. К 7 суткам эксперимента численность отдельных представителей фекальной микрофлоры понижается до нескольких тысяч и даже меньше.

Таблица 2 – Динамика концентрации микроорганизмов в кишечном содержимом морских свинок при пероральном введении гентамицина ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=7)

Микроорганизмы	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки эксперимента, КОЕ·г ⁻¹		
	начало эксперимента	2	7
Общее количество	$(8,0 \pm 0,6) \cdot 10^8$	$(2,4 \pm 0,4) \cdot 10^8$	$(2,5 \pm 0,4) \cdot 10^3$
Бифидобактерии	$(6,8 \pm 0,5) \cdot 10^7$	$(1,2 \pm 0,5) \cdot 10^6$	$(1,4 \pm 0,5) \cdot 10^2$
Лактобактерии	$(5,1 \pm 0,6) \cdot 10^6$	$(3,1 \pm 0,6) \cdot 10^5$	$(3,6 \pm 0,7) \cdot 10^1$
Эшерихии	$(1,3 \pm 0,5) \cdot 10^6$	$(1,7 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(1,4 \pm 0,7) \cdot 10^1$

Для проведения последующих экспериментов все животные с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом были разделены на группы по 6 особей в каждой. Через 5 дней, в течение которых животным не вводили перорально гентамицин для снижения его концентрации в кишечном содержимом, с целью стимуляции восстановления кишечной микрофлоры в суточный пищевой рацион животных стали добавлять расчетные количества Рекицена-РД и пшеничных отрубей (в качестве контроля). Животные хорошо поедали корм, оставались в течение всего периода активными и ухоженными.

Ежедневно на протяжении 14 дней наблюдения в кюветах для содержания животных меняли подстилку и отбирали фекалии в начале экспериментов по восстановлению кишечной микрофлоры, на вторые, седьмые и четырнадцатые сутки для бактериологического исследования. Результаты экспериментов представлены в таблицах 3, 4.

Из представленных результатов следует, что скармливание белым мышам и морским свинкам с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом Рекицена-РД и пшеничных отрубей приводит к увеличению как общего содержания микроорганизмов кишечной микрофлоры, так и отдельных ее представителей. При этом следует отметить, что введение в пищевой рацион препарата Рекицен-РД как белым мышам, так и морским свинкам, оказывает благоприятное стимулирующее влияние на восстановление кишечной микрофлоры. Однако, при прочих равных условиях, ферментированные пищевые волокна препарата Рекицен-РД более эффективно стимулируют рост кишечной микрофлоры, в том числе бифидобактерий, в сравнении с пшеничными отрубями.

Таблица 3 – Динамика концентрации микроорганизмов в кишечном содержимом белых мышей при антибиотико-ассоциированном дисбактериозе на фоне добавления в пищевой рацион Рекицена-РД и пшеничных отрубей ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=7)

Компонент пищевого рациона	Микроорганизмы	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки эксперимента, КОЕ·г ⁻¹			
		начало эксперимента	2	7	14
Рекицен-РД	Общее количество	$(3,8 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(5,6 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(4,7 \pm 0,7) \cdot 10^7$	$(1,4 \pm 0,6) \cdot 10^9$
	Бифидобактерии	$(1,8 \pm 0,5) \cdot 10^2$	$(3,1 \pm 0,6) \cdot 10^3$	$(4,6 \pm 0,7) \cdot 10^5$	$(1,2 \pm 0,5) \cdot 10^7$
	Лактобактерии	$(1,6 \pm 0,7) \cdot 10^3$	$(1,5 \pm 0,7) \cdot 10^3$	$(1,7 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(1,8 \pm 0,7) \cdot 10^6$
	Эшерихии	$(1,9 \pm 0,7) \cdot 10^1$	$(3,2 \pm 0,5) \cdot 10^1$	$(1,6 \pm 0,5) \cdot 10^2$	$(2,1 \pm 0,5) \cdot 10^4$
Пшеничные отруби	Общее количество	$(3,5 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(1,2 \pm 0,6) \cdot 10^5$	$(6,8 \pm 0,7) \cdot 10^6$	$(8,6 \pm 0,7) \cdot 10^8$
	Бифидобактерии	$(2,1 \pm 0,7) \cdot 10^2$	$(2,1 \pm 0,5) \cdot 10^3$	$(5,6 \pm 0,5) \cdot 10^4$	$(6,6 \pm 0,5) \cdot 10^6$
	Лактобактерии	$(2,0 \pm 0,5) \cdot 10^3$	$(1,6 \pm 0,6) \cdot 10^3$	$(2,1 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(5,8 \pm 0,7) \cdot 10^5$
	Эшерихии	$(2,0 \pm 0,6) \cdot 10^1$	$(1,8 \pm 0,5) \cdot 10^1$	$(5,6 \pm 0,8) \cdot 10^2$	$(1,0 \pm 0,6) \cdot 10^4$

Таблица 4 – Динамика концентрации микроорганизмов в кишечном содержимом морских свинок при антибиотико-ассоциированном дисбактериозе на фоне добавления в пищевой рацион Рекицена-РД и пшеничных отрубей ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=7)

Компонент пищевого рациона	Микроорганизмы	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки эксперимента, КОЕ·г ⁻¹			
		начало эксперимента	2	7	14
Рекицен-РД	Общее количество	$(2,5 \pm 0,6) \cdot 10^3$	$(3,3 \pm 0,6) \cdot 10^5$	$(5,2 \pm 0,6) \cdot 10^8$	$(1,2 \pm 0,6) \cdot 10^9$
	Бифидобактерии	$(1,6 \pm 0,5) \cdot 10^2$	$(2,5 \pm 0,7) \cdot 10^4$	$(3,4 \pm 0,7) \cdot 10^7$	$(1,4 \pm 0,7) \cdot 10^8$
	Лактобактерии	$(3,4 \pm 0,7) \cdot 10^1$	$(1,8 \pm 0,6) \cdot 10^2$	$(1,2 \pm 0,6) \cdot 10^6$	$(1,4 \pm 0,6) \cdot 10^7$
	Эшерихии	$(1,2 \pm 0,7) \cdot 10^1$	$(1,6 \pm 0,5) \cdot 10^2$	$(3,5 \pm 0,7) \cdot 10^4$	$(2,5 \pm 0,7) \cdot 10^6$
Пшеничные отруби	Общее количество	$(2,4 \pm 0,8) \cdot 10^3$	$(1,8 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(1,8 \pm 0,5) \cdot 10^6$	$(4,6 \pm 0,7) \cdot 10^7$
	Бифидобактерии	$(1,9 \pm 0,6) \cdot 10^2$	$(1,1 \pm 0,7) \cdot 10^3$	$(1,2 \pm 0,6) \cdot 10^5$	$(3,2 \pm 0,4) \cdot 10^6$
	Лактобактерии	$(3,2 \pm 0,6) \cdot 10^1$	$(1,6 \pm 0,6) \cdot 10^2$	$(3,1 \pm 0,7) \cdot 10^4$	$(1,9 \pm 0,7) \cdot 10^5$
	Эшерихии	$(1,3 \pm 0,6) \cdot 10^1$	$(1,7 \pm 0,6) \cdot 10^2$	$(2,6 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(2,6 \pm 0,6) \cdot 10^5$

Животные контрольных групп находились на обычном пищевом рационе и не получали в виде добавки ни Рекицен-РД, ни пшеничные отруби. Результаты бактериологического исследования фекалий животных контрольных групп в процессе самовосстановления кишечной микрофлоры представлены в таблицах 5 и 6.

Представленные в таблицах 5 и 6 данные однозначно свидетельствуют о процессе восстановления кишечной микрофлоры как у белых мышей, так и у морских свинок с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом: после прекращения перорального введения животным гентамицина происходит постепенная нормализация естественной кишечной микрофлоры, очевидно, под влиянием таких компонентов продуктов питания, входящих в пищевой

рацион, как пищевые волокна трав, злаков и фруктов, полисахариды и другие соединения, обладающие пробиотическим эффектом.

Таблица 5 – Динамика концентрации микроорганизмов в кишечном содержимом белых мышей контрольной группы при антибиотико-ассоциированном дисбактериозе ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=7)

Микроорганизмы	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки эксперимента, КОЕ·г ⁻¹			
	начало эксперимента	2	7	14
Общее количество	$(3,0 \pm 0,7) \cdot 10^4$	$(3,5 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(1,8 \pm 0,8) \cdot 10^5$	$(1,8 \pm 0,6) \cdot 10^6$
Бифидобактерии	$(1,5 \pm 0,6) \cdot 10^2$	$(1,7 \pm 0,8) \cdot 10^2$	$(2,6 \pm 0,7) \cdot 10^3$	$(6,8 \pm 0,75) \cdot 10^5$
Лактобактерии	$(1,5 \pm 0,6) \cdot 10^3$	$(1,6 \pm 0,7) \cdot 10^3$	$(1,8 \pm 0,8) \cdot 10^3$	$(4,3 \pm 0,8) \cdot 10^4$
Эшерихии	$(1,4 \pm 0,5) \cdot 10^1$	$(1,8 \pm 0,7) \cdot 10^1$	$(2,1 \pm 0,6) \cdot 10^2$	$(3,5 \pm 0,7) \cdot 10^3$

Таблица 6 – Динамика концентрации микроорганизмов в кишечном содержимом морских свинок контрольной группы при антибиотико-ассоциированном дисбактериозе ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=7)

Микроорганизмы	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки эксперимента, КОЕ·г ⁻¹			
	начало эксперимента	2	7	14
Общее количество	$(2,6 \pm 0,6) \cdot 10^3$	$(4,5 \pm 0,6) \cdot 10^3$	$(6,8 \pm 0,7) \cdot 10^5$	$(1,7 \pm 0,6) \cdot 10^6$
Бифидобактерии	$(1,3 \pm 0,7) \cdot 10^2$	$(1,8 \pm 0,8) \cdot 10^2$	$(1,7 \pm 0,6) \cdot 10^3$	$(2,1 \pm 0,6) \cdot 10^4$
Лактобактерии	$(3,8 \pm 0,6) \cdot 10^1$	$(4,1 \pm 0,7) \cdot 10^1$	$(1,9 \pm 0,8) \cdot 10^3$	$(4,8 \pm 0,6) \cdot 10^4$
Эшерихии	$(2,0 \pm 0,6) \cdot 10^1$	$(5,3 \pm 0,7) \cdot 10^1$	$(1,7 \pm 0,6) \cdot 10^2$	$(3,1 \pm 0,7) \cdot 10^3$

На основании результатов, которые представлены в таблицах 3-6, были определены скорости восстановления кишечной микрофлоры у белых мышей и морских свинок с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом [19] под влиянием Рекицена-РД, пшеничных отрубей в сравнении с аналогичными показателями у животных контрольных групп, получающих ежедневно обычный пищевой рацион. Обобщенные данные приведены в таблице 7, из которых следует, что Рекицен-РД наиболее выражено влияет как на

скорость восстановления общего количества кишечной микрофлоры, так и отдельных ее представителей у белых мышей и у морских свинок. Особо следует отметить влияние Рекицена-РД на скорость восстановления кишечной микрофлоры и, в частности бифидобактерий у морских свинок. Так, кратность скорости восстановления общего количества микрофлоры в сравнении с контролем (контрольной группой животных, находящихся на обычном пищевом рационе) составляет 717, бифидобактерий – 6600, лактобактерий – 291, эшерихий – 818.

Таблица 7 – Влияние препарата Рекицен-РД на скорость восстановления кишечной микрофлоры у белых мышей и морских свинок с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом

Компонент пищевого рациона	Микроорганизмы	Скорость восстановления кишечной микрофлоры у подопытных животных			
		белые мыши		морские свинки	
		КОЕ·г ⁻¹ сут ⁻¹	кратность к контролю	КОЕ·г ⁻¹ сут ⁻¹	кратность к контролю
Рекицен-РД	Общее количество	9,9·10 ⁷	761	8,6·10 ⁷	717
	Бифидобактерии	8,6·10 ⁵	18	9,9·10 ⁶	6600
	Лактобактерии	1,3·10 ⁵	45	9,9·10 ⁵	291
	Эшерихии	1,1·10 ³	4,4	1,8·10 ⁵	818
Пшеничные отруби	Общее количество	6,1·10 ⁷	469	3,3·10 ⁶	28
	Бифидобактерии	3,1·10 ⁴	0,6	2,3·10 ⁵	153
	Лактобактерии	4,1·10 ⁴	14,1	1,4·10 ⁴	4,1
	Эшерихии	7,1·10 ²	2,8	1,8·10 ⁴	82
Обычный пищевой рацион (контроль)	Общее количество	1,3·10 ⁵	1	1,2·10 ⁵	1
	Бифидобактерии	4,8·10 ⁴	1	1,5·10 ³	1
	Лактобактерии	2,9·10 ³	1	3,4·10 ³	1
	Эшерихии	2,5·10 ²	1	2,2·10 ²	1

Рекицен-РД стимулирует также восстановление кишечной микрофлоры белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом. Однако,

судя по представленным в таблице 7 результатам, несмотря на довольно высокую скорость восстановления общей численности кишечной микрофлоры (кратность к контролю составляет 761) скорость восстановления бифидобактерий, лактобактерий и особенно эшерихий у белых мышей существенно меньше, чем у морских свинок. Возможно, это связано с особенностями пищеварения у этого вида животных или особенностями функционирования индивидуального микробно-тканевого комплекса кишечника. Ведь если проследить влияние пшеничных отрубей на скорость восстановления кишечной микрофлоры у белых мышей и морских свинок с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом, то получается картина несколько иная: у белых мышей в большей степени пшеничные отруби стимулируют восстановление общей кишечной микрофлоры, а у морских свинок – в основном бифидобактерии и эшерихии.

Таким образом, представленные в таблицах 3-7 данные свидетельствуют о том, что ферментированные пищевые волокна Рекицена-РД можно отнести к физиологически функциональным ингредиентам, которые в составе пищевого рациона оказывают выраженное стимулирующее влияние на коррекцию микробиоценоза кишечника у белых мышей и морских свинок с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом. Особенно наглядно это прослеживается при сравнении с восстановлением кишечной микрофлоры у животных контрольных групп, у которых процесс восстановления микробиоценоза кишечника под влиянием компонентов обычного пищевого рациона происходит довольно медленно.

Обсуждение полученных результатов

В последние годы накопилось много результатов экспериментальных исследований, а также клинических наблюдений, согласно которым пища является важным, а в ряде случаев и ведущим лечебно-профилактическим средством при многих хронических заболеваниях [8]. Сложилась стройная концепция здорового (функционального) питания [8, 9], согласно которой

одним из важных компонентов пищи являются пищевые волокна. Последние входят в состав пищевых продуктов животного растительного и минерального происхождения. К ним относят и живые микроорганизмы, оказывающие благоприятное влияние на обменные процессы в организме человека при систематическом употреблении в оптимальных суточных дозах [11, 12]. Однако в продуктах питания современного человека пищевых волокон содержится меньше 30 % от рекомендуемой нормы [13]. Дефицит пищевых волокон является существенным фактором риска формирования интоксикации, нарушений функций иммунной системы, дисбактериозов, воспалительных и онкологических заболеваний толстого кишечника, нарушений углеводного и липидного обмена, гормональных расстройств и других патологических состояний [14].

Для устранения дефицита пищевых волокон наиболее оптимально использовать комплексы уже ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот, содержащихся в Рекицене-РД. Препарат Рекицен-РД изготовлен по оригинальной технологии и его прием наиболее целесообразен людьми с дисбактериозами, у которых нарушен процесс ферментации пищевых волокон. Как показано нами в экспериментах *in vitro* с использованием пробиотических бифидобактерий и лактобактерий, инокулированных в стерильный препарат Рекицен-РД и пшеничные отруби (препарат сравнения), наблюдаются выраженные структурные изменения пищевых волокон, на которых размножаются пробиотические микроорганизмы. По данным электронной микроскопии, эти структурные изменения сопровождаются появлением глобулярных образований, окружающих в большом количестве микробные клетки и пищевые волокна. Учитывая результаты экспериментов *in vitro*, были выполнены исследования, связанные с оценкой влияния ферментированных пищевых волокон препарата Рекицен-РД на восстановление микробиоценоза кишечника белых мышей и морских свинок с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбактериозом, вызванным пероральным введением

гентамицина [19]. Дисбиотические изменения в кишечнике подопытных животных были подтверждены бактериологическим исследованием фекалий по окончании введения животным антибиотика.

Суточную дозу Рекицена-РД, а также дозу пшеничных отрубей как препарата сравнения, рассчитывали, исходя из суточной нормы для людей [13] с учетом переводного коэффициента на единицу поверхности тела. Препарат Рекицен-РД и пшеничные отруби скармливали белым мышам и морским свинкам с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом, добавляя в рассчитанной дозе к ежедневному пищевому рациону.

Эффект воздействия Рекицена-РД и пшеничных отрубей прослеживали на протяжении 14 суток, отмечая общее состояние животных и подвергая бактериологическому исследованию фекалии животных. Можно констатировать, что скармливание белым мышам и морским свинкам с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом Рекицена-РД и пшеничных отрубей благоприятно сказывается на росте общего содержания микроорганизмов кишечной микрофлоры и отдельных ее представителей. В то же время необходимо подчеркнуть, что ферментированные пищевые волокна Рекицена-РД значительно эффективнее стимулируют рост кишечной микрофлоры, в частности бифидобактерий, в сравнении с пшеничными отрубями.

В отличие от животных опытных групп, белые мыши и морские свинки с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом, не получавшие добавки Рекицена-РД и пшеничных отрубей к пищевому рациону, были менее подвижными, а предложенный корм съедали не до конца. У животных контрольных групп отмечалось постепенное нарастание общего числа нормальной микрофлоры и отдельных ее представителей, растянутое во времени.

Интегративным показателем эффективности коррекции кишечной микрофлоры у белых мышей и морских свинок с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбактериозом является скорость

восстановления общего содержания микрофлоры и отдельных ее представителей [19]. Она выше для Рекицена-РД в сравнении с пшеничными отрубями и особенно с аналогичными показателями, определенными для кишечной микрофлоры животных контрольных групп. Так, скорость восстановления общего количества кишечной микрофлоры у белых мышей превышал контрольный показатель в 761 раз, а у морских свинок – в 717 раз. Отдельно нужно отметить выраженное стимулирующее влияние Рекицена-РД на бифидобактерии морских свинок: скорость восстановления бифидобактерии превышает контрольный показатель в 6600 раз. В целом, Рекицен-РД весьма существенно стимулирует восстановление лактобактерий и эшерихий у морских свинок и в меньшей степени у белых мышей.

Разработчики Рекицена-РД связывают стимулирующее влияние препарата на кишечную микрофлору с пребиотическим действием [14], поскольку, с одной стороны, ферментированные пищевые волокна Рекицена-РД являются селективным питанием для бифидо- и лактофлоры кишечника, а с другой стороны, - содержащиеся в нем короткоцепочечные жирные кислоты, образовавшиеся в результате биотехнологической ферментации пищевых волокон, необходимы для обеспечения энергией роста и размножения микрофлоры кишечника.

Вполне вероятно, что продукты жизнедеятельности бифидобактерий и лактобактерий, которые мы наблюдали при электронной микроскопии процесса размножения этих бактерий на пищевых волокнах как субстрате для роста и размножения, могут быть теми антибиотикоподобными или бактериоциноподобными веществами, которые описаны В.М.Бондаренко [21] и которые сообщают микроорганизмам, их продуцирующим, определенное экологическое преимущество.

Выявленные в опытах на животных положительные свойства Рекицена-РД могут служить экспериментальным подтверждением важности разработки на его основе новых комплексов, обогащенных фруктоолигосахаридами и экстрактами лекарственных трав [14],

усиливающих целебные свойства Рекицена-РД при сохранении его профилактического действия.

Выводы

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

2 Установлено, что при скармливании Рекицена-РД, добавленного к суточному пищевому рациону, отмечается существенное положительное влияние ферментированных пищевых волокон и других входящих в состав препарата ингредиентов на восстановление нормальной кишечной микрофлоры подопытных животных с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбактериозом. При этом скорость восстановления общего содержания кишечной микрофлоры относительно контроля возрастает у белых мышей в 761 раз, а у морских свинок – в 717 раз при одновременном возрастании у морских свинок бифидобактерий в 6600 раз. Аналогичный стимулирующий эффект Рекицена-РД установлен в отношении других представителей кишечной микрофлоры белых мышей и морских свинок.

3 Рекицен-РД при скармливании совместно с суточным пищевым рационом белым мышам и морским свинкам с экспериментальным антибиотико-ассоциированным дисбактериозом характеризуется хорошей переносимостью подопытными животными и отсутствием побочных эффектов.

Литература

1. Парфенов А.И. Клинические проблемы дисбактериоза. Рос гастроэнтерол журн 1999; (4): 49-55.

2. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Зверков И.В., Чичерин И.Ю. Дисбактериоз кишечника (понятие, диагностика, принципы лечебной коррекции). Современные возможности пребиотической терапии: учебно-методическое пособие для врачей и курсантов циклов усовершенствования врачей. М: ФГУ «Учебно-научный медицинский центр» Управления делами Президента Российской Федерации; 2010; 50 с.

3. Tillman R., King C., Toskes P. Continued experience with the xylose breath test: Evidence that the small bowel culture as a gold standard for bacterial overgrowth may be tarnished. *Gastroenterology* 1981; 80: 1304.

4. Маев И.В., Самсонов А.А. Терапевтическая тактика при синдроме избыточного бактериального роста в тонкой кишке. *Consilium medicum* 2008; 9 (7): 44-50.

5. Грачева Н.М., Ардатская М.Д., Аваков А.А., Соловьева А.И. Сравнительная оценка клинико-лабораторной эффективности современных про- и пребиотических препаратов в коррекции дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта: отчет о клинико-лабораторном исследовании. М: Московский НИИЭМ им. Г.Н.Габричевского, 2010; 23 с.

6. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Чичерин И.Ю. Фруктоолиго – и фруктополисахариды в коррекции и профилактике нарушений микробиоценоза кишечника у больных бронхолегочной патологией, получающих антибактериальную терапию. *Эксперимент клин гастроэнтерол* 2011; (3): 79-87.

7. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание: в 3 т. Том 3: Пробиотики и функциональное питание. М: Издательство ГРАНТЬ, 2001; 289 с.

8. Шендеров Б.А. Функциональное и персональное питание. Современное состояние и перспективы. *Журн ГАСТРОЭнтерология Санкт-Петербурга* 2010; (2-3): 2-5.

9. Shenderov B.A. Probiotics and functional foods in Food Engineering, [Eds. UNESCO-EOLSS Joint Committee], in Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS) Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford, UK [<http://www.eolss.net>].

10. Рудой Б.А. Пищевые волокна и их использование для профилактики неблагоприятных воздействий химических загрязняющих веществ. Теоретич и прикладн экология 2008; (1): 74-79.

11. Hipsley E.H. Dietary «fibre» and pregnancy toxemia. Brit Med J 1953; 2: 420-422.

12. Шендеров Б.А. Нормальная микрофлора и ее роль в поддержании здоровья человека. Рос жур. гастроэнтерол гепатол колопрокт 1988; (1): 61-65.

13. Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации. Рациональное питание. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ. Методические рекомендации МР 2.3.1.19150-04. Утв. 02.07.2004. 9 с.

14. Рекицен-РД (цитировано 12.03.12). Адрес доступа: <http://www.rekicen.ru/>

15. Kimura Y., Nagata Y., Bryant C.W., Buddington R.K. Nondigestible oligosaccharides do not increase accumulation of lipid soluble environmental contaminants by mice. J Nutr 2002; 132: 80-87.

16. Fernandez M.L., Vergara-Jimenez M., Romero A.L., Erickson S.K., McNamara D.J. Gender differences in response to dietary soluble fiber in guinea pigs: effects of pectin, guar gum and psyllium. J Lipid Res 1995; 36(10): 2191-2002.

17. Иванов В.П., Бойцов А.Г., Коваленко А.Д., Ластовка О.Н., Нилова Е.А. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого

кишечника: информационное письмо. СПб.: Центр госсанэпиднадзора, 2002; 31 с.

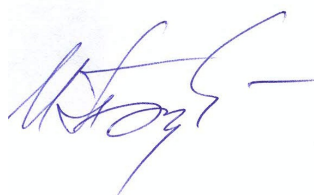
18. Лихачева А.Ю., Бондаренко В.М., Соколова К.Я. Современное состояние вопроса таксономии бактерий рода *Lactobacillus*. Журн микробиол 1992; (9-10): 74-78.

19. Заявка на выдачу патента РФ. Способ моделирования дисбактериоза кишечника у лабораторных животных. И.В.Дармов, И.Ю.Чичерин, И.П.Погорельский, И.А.Лундовских; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет», № 2011149501/171074291; заявл. 15.12.2011.

20. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л: Медгиз, 1962; 280 с.

21. Бондаренко В.М. Прикладные аспекты молекулярной биологии бифидобактерий и лактобактерий. Журн микробиол 2006; (7): 89-97.

Ответственный исполнитель,
доктор медицинских наук, профессор



И.П.Погорельский