

Пробиотические штаммы лактобацилл как фактор комплексной терапии и профилактики разных состояний и заболеваний у детей

Н.И. Урсова, «Фармтека», 2014, №1

Кафедра и клиника педиатрии Московского областного научно-исследовательского
клинического института им. М.Ф. Владимирского, Москва

В статье рассматриваются современные воззрения на проблему профилактического и терапевтического применения лактосодержащих пробиотиков при самых разных состояниях и заболеваниях. Представлен наиболее значимый, с точки зрения интерниста, систематический анализ физиологических эффектов пробиотического штамма *L. rhamnosus* GG, имеющий мощное научное досье.

Ключевые слова: кишечный микробиоценоз, лактобациллы, пробиотики

The article considers the modern views on the problem of prophylactic and therapeutic applications of lactobacilli-containing probiotics in a variety of conditions and diseases. The most significant from the viewpoint of an internist, systematic analysis of the physiological effects of the probiotic strain *L. rhamnosus* GG, having a powerful scientific dossier, is presented.

Key words: intestinal microbiocenosis, probiotics

По научной классификации, лактобациллы относятся к порядку *Lactobacillales*, семейству *Lactobacillaceae*, роду *Lactobacillus*, являются частью облигатной микрофлоры кишечника и абсолютно незаменимы для нормального функционирования организма человека. Это грамположительные, неспорообразующие, неподвижные бактерии, имеющие широкий спектр физиологических эффектов, обеспечивающие экологический барьер многих биотопов. Молочнокислые микроорганизмы типически располагаются по всему желудочно-кишечному тракту (ЖКТ), являются доминирующей флорой влагалища, выявляются в грудном молоке [1–4]. В полости рта здоровых людей обнаруживают, как правило, семь штаммов лактобацилл, в желудочном соке – 10³, в содержимом тощей кишки – 10⁶, подвздошной кишке – 10⁸, а в фекалиях – от 10⁷ до 10¹⁰ КОЕ/мл в зависимости от возраста [4, 5]. *Lactobacillus* были множество раз протестированы с определением их влияния на микробную экологию кишечника, в т.ч. способности к ингибированию роста и размножению бацилл,

кlostридий, стрептококков, энтеробактерий, псевдомонад, листерий, кандид. По мнению ряда авторов, естественные штаммы лактобактерий способны ликвидировать рост не только вышеперечисленных микроорганизмов, но и вирусов, грибов, простейших. Предполагается, что антагонистическая активность лактобацилл включает много составляющих, среди которых более высокая скорость размножения, более широкий набор ферментов, а также продукция различных бактерицидных и бактериостатических субстанций: молочной кислоты, спирта и лизоцима, продуктов с высокой антибиотической активностью, интерферонов, интерлейкина-1 и др. [6–9]. К настоящему времени установлено, что органические кислоты являются естественными метаболитами, важными для регуляции адсорбции и метаболизма в толстой кишке. Их антибактериальный эффект достаточно сложен, условно его разделяют на прямой и опосредованный. К первому относят антибактериальное и фунгицидное действие органических кислот, которое заключается в

том, что метаболиты первоначально быстро проникают через мембрану условно-патогенных (патогенных) бактерий, колонизирующих слизистую оболочку кишечника, изменяют внутриклеточную рН, снижают энергетический потенциал, аккумулируют токсические анионы, приводят к ультраструктурным дефектам бактериальной клетки, что в итоге подавляет ее жизненные функции [10, 11]. Опосредованно положительный эффект достигается путем снижения рН. Известно, что органические кислоты, диффундируя, отдают ион водорода, в результате чего кислотность увеличивается (рН снижается). В результате ингибируется рост грам- отрицательных бактерий, комфортно развивающихся при рН 6–7. Имеются доказательства, что ингибирующий эффект органических кислот напрямую зависит от показателя рН, при этом существуют данные, будто при низких значениях более сильная анти-микробная активность наблюдается у молочной и пропионовой кислот, при рН > 4,5 – у уксусной [12, 13]. Особый интерес представляют результаты исследований, свидетельствующие, будто при использовании пробиотиков не изменяется резистентность патогенной микрофлоры к органическим кислотам. Именно поэтому за последнее время в животноводческих и птицеводческих хозяйствах пробиотики предложено применять в качестве альтернативы антибиотикам. Известным фактом служит потенциальная деятельность в отношении основных условно-патогенных микроорганизмов таких субстанций, как перекись водорода, диацетил и бактериоцины. Хорошо известно, что молочнокислые микроорганизмы образуют лактицины В, F, J, M, ацидолин, лактоцидин, лактобревин, лактострепцин, лактолин, болгароцидин, низин, диплоцидин, реутерин, плантарицин, гелветоцидин. При этом

отмечено, что высокомолекулярные бактериоцины угнетают близкородственные виды бактерий, которые обитают в том же биотопе, а микроцины (низкомолекулярные метаболиты) имеют более широкий спектр антимикробной активности и, следовательно, более существенное бактериостатическое действие [14, 15]. В настоящее время активно изучается участие оксида азота (NO) в развитии физиологических и патологических состояний. Во многих экспериментальных исследованиях показано, что NO относится к ключевым сигнальным молекулам пищеварительной системы, играющим важную роль в событиях нормального функционирования кишечного барьера. Его синтезируют не только клетки организма человека, но и некоторые бактерии-комменсалы (*E. coli*, *Lactobacillus*) [16, 17]. NO обладает двойным действием, которое условно можно разделить на положительное – регуляторное, защитное, и существенно отрицательное – цитотоксическое, приводящее к разнообразным заболеваниям. К характерным особенностям NO относится способность быстро диффундировать через мембрану синтезировавшей его клетки в межклеточное пространство и легко (без участия рецепторов) проникать в клетки-мишени. Внутри клетки он активирует одни и ингибирует другие ферменты, фактически действуя как локальная сигнальная молекула. Цитотоксическое действие NO реализуется сложно и включает следующие звенья: ингибирование синтеза ДНК, инактивацию митохондрий, лизис клеточной стенки, нарушение клеточного цикла и индукцию апоптоза. Своеобразие цитотоксического действия NO заключается в том, что оно усиливается при ассоциации с кислой средой (бифидобактерии снижают рН до 5,0, лактобациллы – до 4,0). Именно в этих условиях образуются нитриты –

высокотоксичные эндогенные метаболиты, нарушающие нормальное функционирование многих условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, причем доказана способность ряда представителей нормальной микрофлоры находиться в резистентном состоянии к этим соединениям [18–20]. Особенность этих нитритов заключается также в том, что они потенцируют одновременный антибактериальный эффект перекиси водорода и молочной кислоты, которые образуются лактобациллами [20, 21]. Доказано, что фактором, регулирующим микробиоценозу ЖКТ, служит конкуренция за места адгезии и питательные субстраты. Механизмы адгезии весьма разнообразны и включают как неспецифические, так и специфические взаимодействия с участием специальных молекул – адгезинов [15, 22]. Ученые единодушно признают тот факт, что в условиях макроорганизма адгезия бактерий на клетках-мишенях представляет собой многоступенчатый процесс и состоит из нескольких стадий: приближения, неспецифического взаимодействия поверхности микроорганизма и мембран клетки-мишени, а также сменяющегося специфическим лиганд-рецепторным соединением адгезинов с определенными рецепторами. Более того, доказано, что адгезины представляют собой специфические макромолекулярные комплексы микробных клеток, входят в состав фимбрий или поверхностных структур клеточной стенки [7, 23]. Четко установлено, что фимбрии, или пили (*pili structure*), – это филаментозные белковые поверхностные структуры, продуцируемые в основном грамотрицательными микроорганизмами. У большинства представителей кишечных палочек обнаруживаются пили I типа – наиболее древние и хорошо изученные. Известно, что они генотипический и

фенотипически не однородны. Кроме них важную роль в колонизационном процессе приписывают маннозорезистентным пилиям [22, 23]. В настоящее время существуют объективные доказательства того, что у *Lactobacillus rhamnosus*, штамм GG, имеется специфическая особенность взаимодействия с энтероцитом, это касается муцин-связывающих пилей, с помощью которых *L. rhamnosus* GG может прочно и избирательно прикрепляться к слизистой оболочке кишечника [24]. Кроме того, при изучении штаммоспецифических возможностей пробиотиков и в результате сравнения нуклеотидных геномов GG и LC705 обнаружено, что только у *L. rhamnosus* GG один из геномных «островов» кодирует синтез трех LPXTG-подобных муцин-связывающих пилей адгезии и пилейассоциированной сортазы [7]. В другом исследовании *in vitro* установлено, что *L. rhamnosus* GG или *L. delbrueckii* подвида *bulgaricus* увеличивали адгезию *Bifidobacterium animalis* BB12 более чем в 2 раза. Аналогичная ситуация определена для *Propionibacterium freudenreichii* P6, адгезия которой повышалась более чем в 3 раза в присутствии *L. rhamnosus* GG и почти вдвое при наличии *B. animalis* BB12 [25, 26]. Эти данные демонстрируют хорошие адгезивные свойства штамма LGG к энтероцитам и интестинальной слизи, которые обеспечивают крайне высокую способность пробиотика к транзитной колонизации ЖКТ. Более того, вышеизложенные данные позволяют критически пересмотреть качество, функциональную активность, синергические эффекты микроорганизмов, входящих в фиксированную комбинацию мультиштаммовых (мультивидовых) пробиотиков [27]. Следует иметь в виду также наличие нефимбриальной адгезии. По нефимбриальному типу осуществляется адгезия грамположительных бактерий; как

правило, она происходит за счет липотейхоевых кислот, представляющих собой гликолипиды, а также за счет лектиноподобных структур, комплементарных соответствующим рецепторам мембран эпителиальных клеток. Своеобразие этих рецепторов детерминируется генетически у каждого индивидуума, о чем свидетельствует наличие почти полностью идентичной кишечной флоры у однояйцовых близнецов [22, 23]. С другой стороны, колонизационный потенциал и выживание микроорганизмов могут зависеть от связывающей способности кишечной слизи или мембран энтероцитов, а также от способности метаболизировать определенные субстраты [28–32]. Имеются данные, будто *Streptococcus thermophilus* и *L. acidophilus* тормозили адгезию и инвазию энтероинвазивной *E. coli* в клетках кишечного эпителия человека. На эпителиальных клетках, контактировавших с этими пробиотическими бактериями, наблюдали увеличение фосфорилирования актинина и окклюдина в области плотных клеточных соединений [33]. В культуре клеток Caco-2 наблюдалось усиление или ослабление плотных клеточных контактов в ответ на введение бесклеточных супернатантов, различающихся по содержанию секретлируемых компонентов. Установлено, что супернатант *E. coli* O157:H7 существенно увеличивал проницаемость клеток Caco-2, а секретлируемые компоненты *B. lactis* значительно уменьшали ее [34]. *L. rhamnosus* GG предотвращала цитокин-индуцированный апоптоз на модели клеток кишечного эпителия путем ингибирования активации проапоптатической p38/мутагенакти-вирующей протеинкиназы [30]. Одним из наиболее значимых компонентов защиты слизистой оболочки является увлажнение ее поверхности слизью («первая линия физиологической защиты»). Она продуцируется бокаловидными клетками в

виде непрерывного гетерогенного слоя высокогликозилированных белков (муциновые гликопротеины и факторы трилистника), покрывает внутреннюю поверхность кишки и действует, с одной стороны, как смазочный материал, с другой – как защитный слой поверхности эпителиоцитов. Активное перемещение слизи вдоль поверхности слизистой оболочки кишечника осуществляется за счет перистальтической активности последнего и способствует дальнейшему удалению патогенных микроорганизмов. Муцины запускают взаимодействие между стенкой бактериальной клетки и комплементарными галактозидными рецепторами на мембране эпителиальных клеток. Недавно было показано, что существует оптимальная концентрация муцина в слизистом слое ЖКТ, необходимая для полноценного выполнения транспортной, фильтрационной и антибактериальной функций [35, 36]. В ответ на внедрение вирусов или патогенных микробов происходит гиперплазия бокаловидных клеток с прибавлением их количества и площади распространения, которые в свою очередь стимулируют чрезмерную продукцию слизистого секрета. Уменьшение кислых и увеличение нейтральных муцинов в секрете приводят к повышению его вязкости. Этому способствует и возникновение между молекулами муцинов дисульфидных мостиков и водородных связей. Усиливается эффект гидрофобности с увеличением адгезивности [37]. Другими словами – физиологическая защита переходит в патологическую фазу с изменением физиологии образования слизи, ее физико-химических свойств и адгезии. Например, при ряде хронических воспалительных заболеваний кишечника было продемонстрировано изменение функции бокаловидных клеток, а также состава и толщины слизистого слоя [38]. За последнее

время появляется все больше данных о факторах трилистника, которые представляют собой муцин-ассоциированные пептиды. Известно, что кишечный фактор трилистника практически полностью секретируется бокаловидными клетками, препятствует привлечению воспалительных клеток, участвует в восстановлении слоя кишечной слизи. Как показано в эксперименте с моделью колита у крыс, экспрессия кишечного фактора трилистника в период активного воспаления существенно снижалась, при введении в толстую кишку масляной кислоты достоверно восстанавливался его нормальный уровень. Исследования последовательных механизмов этого процесса пока не завершены, для более точного описания природы данной взаимосвязи требуется проведение дополнительных исследований [27]. Таким образом, на сегодняшний день обсуждается роль слизи в качестве одного из основных факторов, контролирующих кишечный микробиоценоз. Последними исследованиями установлено, что *L. rhamnosus* GG и *L. plantarum* увеличивали *in vitro* экспрессию генов муцина (MUC2, MUC3) в колоноцитах HT-29, способных подавлять адгезию патогенных бактерий [39]. Лактобациллы выделяют различные ферменты и витамины, принимающие участие в пищеварительной деятельности ЖКТ и обменных процессах [40]. Оптимальны pH 5,5–5,8 и температура 30–40 °С. Доказана способность микроорганизмов из категории GRAS (безопасность) – *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* GG, *L. lactis*, *L. brevis* – выживать при низком уровне pH (например, в желудке или кисломолочных продуктах). Установлено, что среди этих грамположительных бактерий система кислотной резистентности (GAD) представляет единственную систему декарбоксилирования аминокислот, связанную с реакцией на кислотность среды [41, 42]. Исчезновение

лактобактерий вызывает сдвиг pH толстой кишки в щелочную сторону, резко снижая утилизацию слизистой оболочкой биологически активных соединений. Доказано, что длительный прием живых ацидофильных лактобацилл приводит к существенному повышению в сыворотке крови уровня общего кальция, его ионизированной формы и фосфора [42]. В исследованиях Л.И. Кафарской и соавт. установлено, что только у 67 % детей первого полугодия жизни кишечник колонизирован лактобациллами, в последующем частота их выявления возрастает и достигает 100 % к 8 месяцам. У здоровых детей, находящихся на естественном вскармливании, лактобациллы обнаруживаются в количестве 10⁶–10⁷ КОЕ/г. У детей, получавших заменители грудного молока, уровень этих микроорганизмов был выше: 10⁸ КОЕ/г [43]. Высказывается предположение, будто количественный и качественный состав лактобактерий в большей степени зависит от контроля со стороны иммунной системы, чем менее иммуногенных бифидобактерий [44–46]. Представляет интерес обсуждение современных данных об иммуномодулирующей роли кишечной микрофлоры, обусловленной влиянием на дифференцировку Т-супрессоров в пейеровых бляшках [47, 48]. Процесс дифференцировки зависит от антигенпрезентирующей системы, количества и структуры антигена, времени его экспозиции и от микроокружения. Необходимо подчеркнуть, что в механизмах иммунорегуляции на уровне ЖКТ принимают участие Т-хелперы двух фенотипов – Th1 и Th2 [47–51]. Th1 – субпопуляция, определяющая противои инфекционную направленность иммунного реагирования, Th2 – поляризацию иммунного ответа по пути развития атопии. Между Th1 и Th2 существуют отношения антагонизма, реализуемые с участием их продуктов –

соответственно интерферона- γ , интерлейкина-4 или -10. Поэтому возникающий перевес одного типа хелперов над другим в дальнейшем закрепляется, что определяет преобладающую форму иммунного ответа. С помощью экспериментальных работ убедительно доказано, что лактобациллы способны вызывать продукцию цитокинов интерлейкина-12 и фактора некроза опухоли- α , а также в меньшей степени интерлейкина-6 и интерлейкина-10. Это подтверждает тот факт, что лактобациллы оказывают заметное влияние на иммунную толерантность слизистой оболочки и на развитие системных иммунных реакций, т.к. могут избирательно определять, какому типу иммунного ответа – Th1, Th2, Th3 – способствуют дендритные клетки (DCs) [52–54]. Процесс распознавания DCs и селективный ответ на комменсалы или патогены осуществляются через семейство Toll-подобных рецепторов (TLR). TLR2 различает компоненты оболочки грамположительных бактерий, таких как мурамилдипептид и липотейхоевая кислота. TLR4 представляет собой рецептор для липополисахаридов, входящих в состав оболочки грамотрицательных бактерий [55, 56]. В связи с этим полагают, что механизм толерантности к симбиотической нормальной грамположительной флоре определяется толерантностью к пептидогликану, а к грамотрицательной микрофлоре – к липополисахариду (эндотоксину) [57]. Ранее полагали, что клетки кишечного эпителия отличают нормальную микрофлору от патогенной в связи с тем, что TLR не реагируют на лиганды первой. По данным завершившихся исследований, мукозная иммунная система способна распознавать комменсальные бактерии, обеспечивая толерантность и контролируя воспаление [58]. Однако различные синбионты активируют врожденный иммунитет и запускают

физиологическое воспаление по-разному [59]. На кишечных эпителиальных клетках лабораторных животных, получавших с кормом пробиотические бактерии, показано, что *L. rhamnosus* GG, *Bacteroides ovatus* и *E. coli*, взаимодействуя с TLR2 и TLR4, индуцировали синтез провоспалительных цитокинов. При этом противовоспалительное действие GG было более значимым, т.к. при совместном культивировании подавлялся синтез цитокинов, индуцируемых другими штаммами микроорганизмов. Этим объясняется противовоспалительное действие *L. rhamnosus* GG при экспериментальном колите [60]. Группой авторов было проведено исследование, которое показало, что применение штамма GG в отношении младенцев и детей с ротавирусной диареей сопровождалось улучшением клинических исходов, повышением активности неспецифического гуморального иммунного ответа (увеличение количества клеток, секретирующих иммуноглобулины), а также увеличением продукции специфического антиротавирусного секреторного IgA [61]. Те же исследователи сообщили, что иммуногенность антиротавирусной пероральной вакцины может быть увеличена при одновременном назначении пробиотика *L. rhamnosus* GG [62]. Существуют объективные доказательства, согласно которым в физиологических условиях лигандрецепторное взаимодействие с TLR2 может осуществляться как с цельными клетками пробиотика, так и с их компонентами. Например, в отношении штамма *L. rhamnosus* GG получены достоверные данные о его способности регулировать системный иммунный ответ через эпителиальные клетки, подлежащие специализированные антигенпрезентирующие макрофаги, моноциты и DCs [63, 64]. Было показано, что даже термически обработанные *L. rhamnosus* GG повышают продукцию

иммунокомпетентными клетками интерлейкина-4 и -10, кроме того, убитые *L. rhamnosus* GG дозозависимо снижали продукцию фактора некроза опухоли- α , индуцируемую микробными липополисахаридами [65]. Известно также, что пробиотическое действие *L. rhamnosus* GG обусловлено наличием в его структуре ДНК иммуностимулирующих олиго- нуклеотидов [52]. ДНК этого штамма ингибировала образование IgE *in vitro*, что может объяснить механизм антиаллергического действия *L. rhamnosus* [66]. Все эти материалы детального обзора свидетельствуют, что с TLR2 могут взаимодействовать и бактериальные клетки пробиотики (ка живые или убитые), и их структурные компоненты, и их продукты метаболизма. Согласно многочисленным научным свидетельствам, позитивный эффект на здоровье человека может быть приписан только конкретно тестируемому штамму (штаммам), но не видам и не целой группе пробиотиков [27]. Пробиотический штамм классифицируется классом, видом и альфанумерологическим названием. В научном сообществе существует согласованная номенклатура микроорганизмов, например, *L. casei* DN-114001 или *L. rhamnosus* GG, *B. animalis* DN 173010 или *B. animalis* подвид *lactis* Bb-12. Кроме того, производителям рекомендуется указывать количество жизнеспособных бактерий в каждом штамме, остающееся до срока реализации продукта или препарата. *L. rhamnosus* GG – один из наиболее изученных штаммов молочнокислых микроорганизмов с установленными позитивными эффектами на здоровье детей и взрослых. Данный штамм соответствует всем международным требованиям, предъявляемым к пробиотическим микроорганизмам:

- имеет четкую биологическую, биохимическую и генетическую маркировку;

- обладает полезным воздействием на организм хозяина, подтвержденным лабораторными и клиническими исследованиями;
- обладает высокой способностью к адгезии и созданию колонизационного потенциала на слизистой оболочке кишечника;
- характеризуется устойчивостью к воздействию стрессовых факторов (желудочный сок, желчные кислоты, панкреатический сок);
- при длительном использовании не вызывает побочных эффектов;
- обладает минимальной способностью к транслокации из просвета ЖКТ во внутреннюю среду макроорганизма.

Крупные многоцентровые рандомизированные исследования подтверждают тот факт, что патогенетически обоснованным следует считать назначение штамма *L. rhamnosus* GG при разных состояниях и заболеваниях. При этом диапазон его применения четко определен: острая фаза заболевания, периоды восстановления и профилактики. Целью такого терапевтического вмешательства служит доказанная способность данного пробиотика оказывать протективное действие на кишечный барьер, антагонистическое – на условно-патогенные микроорганизмы и стимулирующее – на иммунитет [27]. В электронной базе Национальной медицинской библиотеки США находятся протоколы 43 опубликованных рандомизированных контролируемых исследований и 5 мета-анализов, посвященных употреблению пробиотиков для профилактики и лечения диареи, в т.ч. антибиотико-ассоциированной. В 2002 г. были изданы результаты мета-анализа 18 рандомизированных контролируемых исследований применения стандартной регидратационной терапии с добавлением

пробиотиков в лечении острой диареи у детей. В обобщенных анализах было подчеркнуто, что этиология диареи была разной и в них использовались отличные друг от друга виды пробиотиков: *L. rhamnosus* GG (9 исследований), *B. infantis*, *B. subtilis*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. delbrückii*, *L. reuteri*, *Saccharomyces boulardii*, *Streptococcus thermophilus* (9 исследований). В большинстве случаев получены сходные результаты динамики заболевания, заключающиеся в незначительном уменьшении острого периода диареи – в среднем на 0,6–1,0 день, но были и наблюдения, в которых частота клинического ответа по результатам пробиотикотерапии была выше и составила 1,5–3,0 дня [67]. В последних научных работах, оценивавших эффективность пробиотиков при острой инфекционной диарее, включивших 1917 пациентов, показано, что больным удается добиться сокращения продолжительности диареи на 30,5 часов и поддержания достигнутого клинического эффекта с 3-го дня применения пробиотиков [68]. В качестве еще одного положительного примера успешного лечения острой инфекционной диареи у детей можно привести мета-анализ с включением 9 двойных слепых плацебо- контролируемых исследований, где применение лактосодержащих пробиотиков обеспечивало более выраженный краткосрочный клинический эффект, чем назначение только плацебо. Недостатком этих исследований послужило следующее: полученные результаты были типичными для больных, проживающих в развитых странах, и их можно рекомендовать для лечения острых диарей легкой и средней степени тяжести в амбулаторных условиях [69]. Информация о клиническом эффекте пробиотиков в профилактике антибиотико-ассоциированной диареи широко освещена в литературе [70–73]. В качестве практической иллюстрации к

сказанному можно привести результаты исследования- ФАРМАТЕКА № 11 — 2014 13 АКТуАльнЫЕ обзорЫния G. Zoppi и соавт. [74], которые изучали эффективность и воздействие на кишечный микробиоценоз шести коммерческих пробиотических препаратов. Под наблюдением находились более 50 детей с инфекцией верхних дыхательных путей, получавших в качестве средства этиотропной терапии цефтриаксон. Дополнительно были назначены пробиотики в виде лиофилизированных препаратов в пакетиках или капсулах. Использовались три моноштаммовых пробиотика: *Saccharomyces boulardii*, *Enterococcus faecium* SF68 и *L. rhamnosus* GG. Среди мультиштаммовых (мульти- видовых) пробиотиков исследовались мультиштаммовый препарат, содержащий три разных штамма лактобацилл: *L. rhamnosus* GG + *L. acidophilus* + *L. bifidus*; мульти- видовой препарат, содержащий два штамма двух видов молочнокислых бактерий: *B. bifidum* + *L. Acidophilus*, и мультивидовой пробиотик под названием VSL#3, включающий бактерии в высокой концентрации, принадлежащие к девяти разным штаммам: *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. Delbrueckii*, подвид *bulgaricus*. В соответствии с полученными данными назначение *Saccharomyces boulardii* не приводило к восстановлению кишечного микробиоценоза. Лечение с использованием *Enterococcus faecium* SF68 не устраняло, а усугубляло существование дисбактериоза за счет увеличения количества анаэробных кокков. И только *L. rhamnosus* GG продемонстрировали высокую активность в отношении основных условно- патогенных микроорганизмов. Как оказалось, в группах применения *Saccharomyces boulardii* и *L. rhamnosus* GG отмечено повышение потенциального риска

развития бактериальной резистентности к β -лактамам антибиотикам, в частности, число образцов с положительными результатами на наличие β -лактамазы составило 83 %. Все изучаемые пробиотики приводили к снижению фекальной pH, и только для мультивидовых пробиотиков этот результат был статистически значимым. Последний факт должен расцениваться как положительный, поскольку кислая среда подавляет рост патогенных микроорганизмов и уменьшает активность протеолитических бактерий. Проведен ряд клинических исследований по оценке эффективности пробиотических штаммов в эрадикации *H. pylori*. В существующих современных международных рекомендациях (Маахстрихт IV), в утверждении № 12, записано: определенные пробиотики демонстрируют обещающие результаты в качестве адъювантной терапии для снижения побочных эффектов. Что касается «определенных пробиотиков», то это штаммы *L. acidophilus* (LB), *L. casei* DN-114001, *L. rhamnosus* GG, *B. breve* Bb99, *B. Lactis* + *L. acidophilus* (La5) [75–79]. Единственным на сегодня синбиотиком содержащим моноштаммовую культуру *Lactobacillus rhamnosus* GG, зарегистрированным в России является «Нормобакт L». Сочетание высокого содержания *Lactobacillus rhamnosus* GG (4×10^9 КОЕ) и фруктоолигосахаридов (800 мг) в одной дозе обеспечивает максимальную выживаемость лактобактерий и восстановление нормальной микрофлоры уже через 10 дней после начала приема. «Нормобакт L» разрешен к применению детям с первого месяца жизни, как пробиотический продукт нового поколения отличается удобством приема 1–2 раза в день и выпускается в виде саше, которое легко растворяется в пищевых жидкостях, а также возможностью хранения при комнатной

температуре. Таким образом, на сегодняшний день документально подтверждено значение лактобацилл, а именно *L. rhamnosus* GG, которые обладают богатым арсеналом имеющихся пробиотических свойств, обеспечивающих достаточные возможности их дифференцированного выбора для лечения и профилактики определенной нозологии. Именно эти данные дают мощный импульс к развитию биотехнологий нового класса стандартизированных пробиотических препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Walter J. Ecological role of lactobacilli in the gastrointestinal tract: implication for fundamental and biomedical research. *Appl Envir Microbiol.* 2008;74(16):4985–96.
2. Yuki N., Shimazaki T., Kushiro A., et al. Colonization of the stratified squamous epithelium of the nonsecreting area of horse stomach by lactobacilli. *Appl Environ Microbiol* 2000;66(11):5030–34.
3. Edelman S., Westerlund-Wikstrom B., Leskela S., et al. In vitro adhesion specificity of indigenous Lactobacilli within the avian intestinal tract. *Appl Environ Microbiol* 2000;68(10):5155–59.
4. Dunne C. Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder. *Inflamm bowel dis* 2001;7(1):136–45.
5. Бондаренко В.М. Обоснование и тактика назначения в медицинской практике различных форм пробиотических препаратов. *Фарматека.* 2012;13:89–99.
6. Mercenier A., Pavan S., Pot B. Probiotics as biotherapeutic agent: present knowledge and future prospects. *Curr. Pharm. Des.* 2003;9:175–91.
7. Fons M., Gomez A., Karjalainen T. Mechanisms of colonization and colonization resistance of the digestive tract. *Microbial. Ecol. Health Dis. Sup.* 2000;2:240–46.
8. Miettinen M., Vuiopio-Varkila J., Varkila K. Production of humah tumor necrosis factor alpha interleukin-6 and interleukin-10 is induced by lactic acid bacteria. *Infect Immun.* 1996; 12:5403–405.
9. Konstantinov S.R., Poznanski E., Fuentes S., et al. *Lactobacillus sobrius* sp. Nov., a novel isolate abundant in the intestine of weaning piglets. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2005.
10. Alakomi H.L., Skytta E., Saarela M., et al. Lactic acid permebilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied Environ Microbiol.* 2000;66:2001–05.
11. Pan X., Chen F., Wu T., et al. The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Food Control* 2008;doi:10.1016/j.foodcont.2008.08.019.
12. Chapman TM., Plosker GL., Figgitt DP. VSL#3 probiotic mixture: a review of its use in chronic inflammatory bowel diseases. *Drugs.* 2006;66(10):1371–87.
13. Rachmilevitz D., Katakura K., Karmeli F., et al. Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effect of probiotics murine 14 ФАРМАТЕКА № 11 — 2014 АКТуАльНЫЕ обЗОРы experimental colitis. *Gastroenterol.* 2004; 126(2):520–28.
14. O’Sullivan DJ. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria. *J. Ag. Food Chem.* 2001;49:1751–60.
15. Schell MA., Karmirantzou M., Snel B., et al. The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflect its adaptation to the human gastrointestinal tract. *Proc. Natl. Sci. USA* 2002;99(22):14422–27.
16. Chavez AM., Menconi MJ., Hodin RA., et al. Cytokine-induced intestinal epithelial hyperpermeability: role of nitric oxide. *Crit. Care Med.* 1999;27:2246–51.

17. Han X., Fink MP., Delude RL., et al. Proinflammatory cytokines cause NO-dependent and independent changes in expression and localization of tight junction proteins in intestinal epithelial cells. *Shock*. 2003;19:229–37.
18. Marcinkiewicz J., Chain B., Nowak B., et al. Antimicrobial and cytotoxic activity of hypochlorous acid: interactions with taurine and nitrite. *Inflam. Res.* 2000;49:280–89.
19. Agorreta J., Garayoa M., Montuenga L.M., Zulueta J.J. Effects of acute hypoxia and lipopolysaccharide on nitric oxide synthase-2 expression in acute lung injury. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003;168:287–96.
20. Lundberg JO., Weitzberg E., Cole JA., et al. Nitrate, bacteria and human health. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004;2:593–602.
21. Sobko T., Reinders CL., Jansson EA, et al. Gastrointestinal bacteria generate nitric oxide from nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*. 2005;13:163–69.
22. Tannock GW. Molecular assessment of intestinal microflora. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001;73:410–14.
23. Van der Waaij D. Colonization resistance of the Digestive Tract. Japan, 1999. P. 76–81.
24. Oksaharju A., Kankainen M., Kekkonen R.A., et al. Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* downregulates FCER1 and HRH4 expression in human mast cell. *World J. Gastroenterol.* 2011;17:750–59.
25. Ouwehand AC., Isolauri E., Kirjavainen PV., et al. The mucus binding of *B. lactis* Bb12 is enhanced in the presence of LGG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Lett. Appl. Microbiol.* 2000;30:10–3.
26. Ouwehand AC., Suomalainen T., Tolkko S., Salminen S. In vitro adhesion of propionoc acid bacteria to human intestinal mucus. *Lait*. 2002;82:123–30. 27.
27. Урсова Н.И. Дисбактериозы кишечника в детском возрасте: инновации в диагностике, коррекции и профилактике. Руководство для врачей. М., 2013. 328с.
28. Macfarlane S. Microbial biofilm communities in the gastrointestinal tract. *J. Clin. Gastroenterol.* 2008;242(3):S142–43.
29. Tannock GW., Fuller R., Smith SL., Hall MA. Plasmid profiling of members of the family enterobacteriaceae, lactobacilli, and bifidobacteria to study the transmission of bacteria from mother to infant. *J. Clin. Microbiol.* 1990;28:1225–28.
30. Miller M.B., Bassler B.I. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol* 2001;55:165–99.
31. Harmsen H.J., Wildeboer-Veloo A.C., Raangs Gc., et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2000;30:61–7.
32. Adlerberth I., Cerqueti M., Poilane I., Wold A., Collignon A. Mechanisms of colonization and colonization resistance of the digestive tract. Part 1. Bacteria/Host interactions. *Microbial. Ecol. Health Dis.* 2000;(suppl 2):223–39.
33. Resta-Lenert S., Barrett K. Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive *Escherichia coli*. *Gut*. 2003;52:988–97.

34. Putaala H., Salusjarvi T. Effect of four probiotic strains and Echerichia coli O157:H7 on tight junction integrity and cyclo-oxygenase expression. *Res Microbiol* 2008;doi:10.1016/j.resmic.2008.08.002.
35. Dethlefsen L., Eckburg PB., Bik E.M., Relman D.A. Assembly of the human intestinal microbiota. *Trends Ecol. Evol.* 2006;21:517–23.
36. Deplancke B., Gaskins H.R. Microbial modulation of innate defense: goblet cell and the intestinal mucus layer. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001; 73:1131S–41S.
37. Железная Л.А. Структура и функция гликопротеинов слизи (муцинов). *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 1998;VIII(1):30–7.
38. Swidsinski A., Loening-Baucke V., Verstraelen H., et al. Biostructure of fecal microbiota in healthy subjects and patients with chronic idiopathic diarrhea. *Gastroenterology.* 2008;135:568–79.
39. Gill H.S. Probiotic to enhance anti-infective defenses in the gastrointestinal tract. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2003;17:755–73.
40. Imazumi R., Hirata K., Zommara M., et al. Effects of cultured milk products by Lactobacillus and Bifidobacterias species on secretion of the bile acids in hepatocytes and in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol (Tokio).* 1992;4:186–91.
41. Konstantinov S.R., Poznanski E., Fuentes S., et al. Lactobacillus sobrius sp. Nov., a novel isolate abundant in the intestine of weaning piglets. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2005.
42. Montrose D.S., Floch M.H. Probiotics used in human studies. *J. Clin. Gastroenterol.* 2005;39(6):469–84.
43. Кафарская Л.И., Шуникова М.Л., Ефимов Б.А., Шкопоров А.Н. и др. Особенности формирования микрофлоры у детей раннего возраста и пути ее коррекции с помощью пробиотиков. *Вопросы современной педиатрии.* 2011;2:94–8.
44. Lebeer S., Vanderleydes G., De Keersmaecker SC. Genes and molecules of lactobacillus supporting probiotic action. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2008;72:728–64.
45. Perdigon G., Fuller R., Raya R. Lactis acid bacteria and their effect on the immune system. *Curr. Issues Intest. Microbiol.* 2001;2(1):27–42. 46. Sun J., Shi J.H., Le G.W., et al. Distinct immune response induced by peptidoglycan derived from Lactobacillus spp. *World J. Gastroenterol.* 2005;11(40):6330–37.
47. Cummings J.H., Macfarlan G.T. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J. Appl. Bacteriol.* 1991;70:443– 59.
48. Fregeau G.J., Helgason C.D., Bleackley R.C., Two cytotoxic cell proteinase genes are differently sensitive to sodium butyrate. *Nucleic Acids Res.* 1992; 20:3113–19.
49. Gibson G.R., Macfarlane S., Macfarlane G.T. Metabolic interactions involving sulphatereducing and methanogenic bacteria in the human large intestine. *FEMS Microbiol. Ecol.* 1993;12:117–25.
50. Florin T.H., Jabbar I.A. A possible role for bile acid in the control of methanogenesis and the accumulation of hydrogen gas in the human colon. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 1994;9:112.

51. Salvioli B., Serra J., Azpiroz F., et al. Tolerance of ileal and colonic gas loads in patients with irritable bowel syndrome and functional bloating. *Gastroenterology*. 2001;120:A755.
52. Stark P.L., Lee A. The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life. *J. Med. Microbiol.* 1982;15 (2):189–203.
53. Benno Y., Sawada K., Mitsuoka T. The intestinal microflora of infants: Composition of all flora in breast-fed and bottle-fed infants. *Vicrobiol. Immunol.* 1984;28:975–86.
54. Костоломова Г.А. Клинико-иммунологический анализ дисбиотических состояний у детей. Дисс. канд. мед. наук. Тюмень, 2001. 25 с.
55. Кузнецова Г.Г. Оценка дисбиотических отклонений в кишечной микрофлоре. Тезисы докладов научно-практического семинара «Индивидуальные подходы к проблеме дисбактериоза». М., 2003. С. 19–25.
56. Лыкова Е.А. Микроэкологические и иммунобиологические нарушения и обоснование применения пробиотиков при ФАРМАТЕКА № 11 — 2014 15 АКТуАльные обзоРы Информация об авторе: Н.И. Урсова – руководитель педиатрического отделения МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, профессор кафедры педиатрии ФУВ МОНИКИ, главный детский гастроэнтеролог МЗ МО инфекционной патологии у детей. Дисс. докт. мед. наук. М., 2000. 44 с.
57. Harmsen H.J., Wildeboer-Veloo A.C., Raangs Gc., et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2000;30:61–7.
58. Harmsen H.J., Wildeboer-Veloo A.C., Grijpstra J., Knol J., et al. Development of 16s rRNA-based probes for the Coriobacterium group and the Atopobium cluster and their application for enumeration of Coriobacteriaceae in human feces from volunteers of different age groups. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66:4523–27.
59. Fons M., Gomez A., Karjalainen T. Mechanisms of colonization and colonization resistance of the digestive tract. *Microbial. Ecol. Health Dis. Sup.* 2000;2:240–46.
60. Копанев Ю.А., Соколов А.Л. Дисбактериоз кишечника: микробиологические, иммунологические и клинические аспекты микроэкологических нарушений у детей. М., 2002. 148 с.
61. Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R., et al. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001;73:365–73.
62. Lee YK., Lim CY., Teng WL., et al. Quantitative approach in the study of adhesion of lactic acid bacteria to intestinal cells ant their competition with enterobacteria. *Appl Envir Microbiol.* 2000;66(9):3692–97.
63. O’Sullivan DJ. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria. *J. Ag Food Chem.* 2001;49:1751–60.
64. Schell MA., Karmirantzou M., Snel B., et al. The genome sequence of Bifidobacterium longum reflect its adaptation to the human gastrointestinal tract. *Proc. Natl. Sci. USA* 2002;99(22):14422–27.
65. Tannock G.W. Molecular assessment of intestinal microflora. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001;73:410–14.

66. Lievin V., Peiffer I., Hudault S., et al. Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut*. 2000;47:646–52.
67. Huang Y., Shao X.M., Neu J. Immunonutrients and neonates. *Eur. J. Pediatr*. 2003;162:122–28.
68. Allen S.J., Okoko B., Martinez E., Gregorio G., Dans LF. Probiotics for treating infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst. Rev*. 2004;(2):CD003048.
69. Van Niel C.W., Feudtner C., Garrison M.M., et al. Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2002;109:678–84.
70. Johnston B.C., Supina A.L., Vohra S. Probiotics for pediatric antibiotic-associated diarrhea: a metaanalysis of randomized placebo-controlled trials *CMAJ*. 2006;175(4):377–83.
71. Johnston B.C., Supina A.L., Ospina M., et al. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(2):CD004827.
72. D’Souza A.L., Rajkumar C., Cooke J., et al. Probiotics in prevention of antibiotic-associated diarrhea: meta-analysis *BMJ*. 2002;324(7350):1361.
73. Szajewska H., Ruszczynski M., Radzikowski A. Probiotics in the prevention antibiotic-associated diarrhea in children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Pediatr*. 2006;149(3):367–72.
74. Zoppi G., Cinquetti M., Benini A., Bonamini E., Minelli E. Modulation of the intestinal ecosystem by probiotics and lactulose in children during treatment with ceftriaxone. *Curr Therap Res* 2001;62:418–35.
75. Sykora J., Valeckova K., Amlerova J., et al. Effects of a specially designed fermented milk product containing probiotic Lactobacillus casei DN-114001 and the eradication Helicobacter pylori in children: prospective randomized double-blind study. *J. Clin. Gastroenterol*. 2005;39:692–98.
76. Canducci F., Armuzzi A., Cremonini F., et al. A lyophilized and inactivated culture of Lactobacillus acidophilus increases Helicobacter pylori eradication rates. *Aliment Pharmacol. Ther*. 2000;14:1625–29.
77. Sheu B.S., Wu J.J., Lo C.Y., et al. Impact of supplement with Lactobacillus and Bifidobacterium containing yogurt on triple therapy for Helicobacter pylori eradication. *Aliment Pharmacol. Ther*. 2002;16:1669–75.
78. Wang K.Y., Li S.N., Liu C.S., et al. Effects of ingesting Lactobacillus and Bifidobacterium containing yogurt in subjects with colonized Helicobacter pylori. *Am. J. Clin. Nutr*. 2004;80:737–41.
79. Myllyluoma E., Veijola L., Ahlroos T., et al. Probiotic supplementation improves tolerance to Helicobacter pylori eradication therapy – a placebo-controlled, double-blind randomized pilot study. *Aliment Pharmacol. Ther*. 2005; 21:1263–72.