

ВПЛИВ МУЛЬТИПРОБІОТИКУ "СИМБІТЕР® АЦИДОФІЛЬНИЙ" КОНЦЕНТРОВАНИЙ НА ОКИСНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ШЛУНКОВОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ

**К.О.Дворщенко, С.А.Сенін, Л.І.Остапченко,
Т.В.Берегова, Т.М.Фалалєєва, Д.С.Янковський**
Київський національний університет ім.Тараса Шевченка

Вступ

Патологічні стани верхніх відділів травного тракту, що супроводжуються зниженням синтезу соляної кислоти (атрофічний гастрит, хронічний гіпертрофічний поліаденоматозний гастрит, довготривале лікування антисекреторними препаратами), призводять до морфо-функціональних та мікроекологічних порушень у шлунково-кишковому тракті [9, 18]. За умов шлункової гіпохлоргідрії зменшується стимулюючий вплив на секрецію жовчі холецистокініну та секретину, які виділяються в дванадцятипалій кишці під впливом соляної кислоти [16]. Це може бути причиною розвитку патологічних процесів у гепатобілярній системі, одним з показників якого є порушення про/антиоксидантного статусу клітин печінки. Також не можна виключити і те, що свій внесок в патогенез захворювань печінки вносить і дисбіоз шлунково-кишкового тракту, що розвивається внаслідок тривалої гіпоацидності [17].

Зважаючи на доведену авторами [1] необхідність застосування мультипробіотиків групи "Симбітер" у профілактиці структурно-функціональних змін в шлунку, що виникають на фоні гіпоацидності, та доведених антиоксидантних властивостей даних мультипробіотиків [10, 13], доцільним було дослідити вплив пробіотиків на окисно-антиоксидантний стан печінки в умовах тривалої гіпоацидності. Нами було використано мультипробіотик "Симбітер® ацидофільний" концентрований, який являє собою концентровану біомасу живих клітин мультикомпонентного сим-

біозу пробіотичних бактерій (біфідобактерій, лактобактерій, молочнокислих стрептококів та пропіоновокислих бактерій).

Метою роботи було дослідити вплив мультипробіотику "Симбітер® ацидофільний" концентрований на окисно-антиоксидантний баланс у печінці щурів за умов тривалого пригнічення шлункової секреції.

Зв'язок роботи з науковими планами, темами. Робота виконана в рамках науково-дослідної теми "Механізми реалізації адаптаційно - компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій" (№ 11БФ036-01) Київського національного університету ім. Тараса Шевченка як складової комплексної державної наукової програми "Здоров'я людини".

Матеріали та методи досліджень

Дослідження проведені на 30-ти білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 160-200 г з дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі. За добу до проведення експерименту тварин піддавали харчовій депривації з вільним доступом до води. Тварини були поділені на три групи по 10 щурів в кожній. У якості контролю використовували щурів, яким протягом 28 діб вводили внутрішньочеревно 0,2 мл та перорально 0,5 мл води для ін'єкцій. В другій групі щурів моделювали гіпоацидний стан за допомогою внутрішньочеревного введення 14 мг/кг омепразолу (Sigma, USA), 1 раз на добу протягом 28 діб. Третя група щурів одночасно з введенням омепразолу отримувала мультипробіотик "Симбітер® ацидофільний" концентрований (виробництва ТОВ "О.Д. Пролісок") перорально в дозі 0,14 мл/кг, розчинений у 0,5 мл води для ін'єкцій.

Ліпіди з печінки щурів екстрагували за методом Фолча хлороформ - метанольною сумішшю (2:1, за об'ємом) [11]. З отриманих сумарних ліпідів знімали спектри на інфрачервоному (ІЧ) Фур'є-спектрометрі "Nexus" ("Thermo Nicolet", США), обладнаним датчиком DTGS. Вимірювання площин піків на ІЧ-спектрах виконувалось за допомогою програмного забезпечення приладу OMNIC (версія 5.1). Кількісну оцінку структурних

елементів ліпідів здійснювали за методом нормування площ і визначили їх у відсотках [14]. Вміст дієнових кон'югатів визначали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом, шиффових основ - флуориметричним методом [2, 3]. Вміст ТБК-активних сполук визначали по реакції з тіобарбітуровою кислотою [6]. Оцінку активності супероксидисмутази (СОД) проводили з використанням нітросинього тетразолію [7], каталази - за зменшенням кількості H_2O_2 у розчині після інкубації в оптимальних умовах [4]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики [5]. Вірогідність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента.

Отримані результати та їх обговорення

При аналізі ІЧ-спектрів Фур'є структурних елементів ліпідів печінки контрольних щурів встановлено переважання СН- (у середньому 45,95%), карбонільних (22,28%), гідроксильних (11,06%), CH_2 - (6,95%) та фосфатних (7,78%) груп (рис. 1). Вміст альдегідних груп, цис- та транс-ізомерів складав відповідно 1,67%, 2,65% та 1,66% (рис. 1).

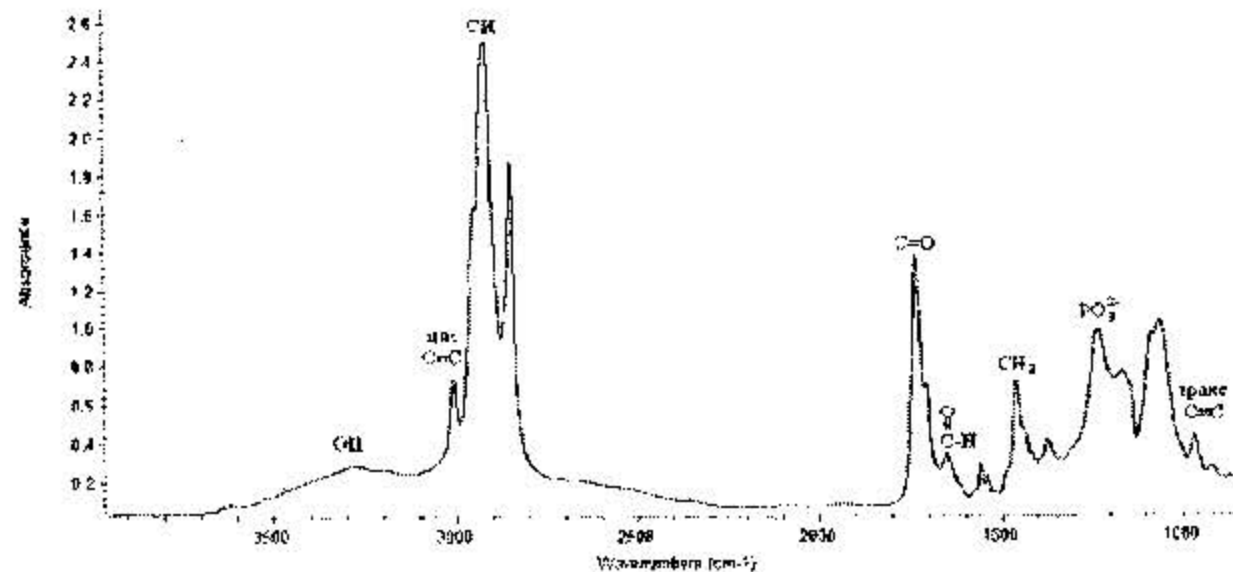


Рис. 1. ІЧ-спектр Фур'є загальних ліпідів печінки контрольних щурів.

Показано, що за умов тривалого пригнічення шлункової секреції соляної кислоти омепразолом, спостерігались суттєві зміни в структурній організації ліпідів печінки щурів (табл. 1). Зокрема, збільшувався вміст гідроксильних груп - у 2,4 рази; альдегідних груп - у 1,7 рази, фосфатних груп - у 1,4 рази та транс-ізомерів в 1,2

рази порівняно з контролем. За цих же умов відбувалось зниження карбонільних груп та цис-ізомерів в 1,3 та 1,5 рази відповідно. Встановлене зростання в печінці щурів з гіпоацидним станом гідроксильних та альдегідних груп на фоні зниження цис-ізомерів свідчить про активацію процесів перекисного окислення ліпідів, оскільки саме подвійні зв'язки цис-ізомерів ненасичених та поліненасичених жирних кислот є головною мішенню вільних радикалів. Такі структурні перебудови можуть призвести до суттєвих змін плинності клітинних мембран, активності мембранозв'язаних ферментів, переносників та інших мембранних білків. Зниження карбонільних та СН-груп може бути зумовлено інтенсифікацією метаболізму фосfolіпідів у клітинах печінки. Збільшення вмісту транс-ізомерів, може бути пов'язано з процесами вільнорадикального окиснення поліненасичених жирних кислот, що супроводжується накопиченням ізопростанів - головних маркерів окисного стресу *in vivo*.

За умов сумісного введення тваринам мультипробіотику "Симбітер ацидофільний" концентрований та омепразолу, спостерігалось суттєве відновлення структурної організації ліпідів печінки у порівнянні з групою щурів з гіпоацидним станом. Знижувався рівень гідроксильних груп (в 1,4 рази), альдегідних груп (в 1,5 рази), фосфатних груп і транс-ізомерів (в 1,2 рази), при цьому зростає вміст СН-груп (в 1,4 рази), карбонільних груп і цис-ізомерів (в 1,2 рази) відносно групи щурів, яким вводили омепразол (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст функціональних груп ліпідів (% від загальної кількості) печінки щурів за умов тривалої гіпоацидності, (M±m)

Досліджуваний параметр	Група тварин	Контроль (n=10)	Омепразол (n=10)	Омепразол + Симбітер (n=10)
Гідроксильні групи (3600-3100 cm^{-1})		11,06±1,01	26,61±1,85*	16,93±1,52**
Цис-ізомери (3010 cm^{-1})		2,65±0,12	1,71±0,09*	2,07±0,14**
СН-групи (2800-2929 cm^{-1})		45,95±2,53	32,81±2,09*	44,26±2,15*
Карбонільні групи (1720 cm^{-1})		22,28±1,92	16,06±1,47*	18,52±1,63**
Альдегідні групи (1679 cm^{-1})		1,67±0,09	2,91±0,11*	1,37±0,12**
CH_2 -групи (1454 cm^{-1})		6,95±0,70	6,87±0,81	6,74±0,42
Фосфатні групи (1210 cm^{-1})		7,78±0,84	11,02±1,03*	8,51±0,69**
Транс-ізомери (968 cm^{-1})		1,66±0,08	2,01±0,13*	1,60±0,07**

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контролем; # - $p < 0,05$ порівняно з групою тварин, яким вводили омепразол.

Такий корегуючий ефект мультипробіотику на структурний стан ліпідів клітин печінки щурів в умовах розвитку омепразол-індукованого гіпоацидного стану може бути зумовлений широким спектром його пробіотичних ефектів. Відомо, що окремі штами бактерій у складі мультипробіотику "Симбітер[®] ацидофільний" концентрований здатні синтезувати вітаміни групи В, в тому числі кобаламіни (в середньому 120 мкг/кг), екзополісахарида та коротколанцюгові жирні кислоти, які проявляють мембраностабілізуючі та антиоксидантні властивості [8].

При дослідженні вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів у печінці щурів показано, що після тривалого пригнічення секреції НСІ, їх рівень зростав: дієнових кон'югатів - в 2,2 рази, ТБК-активних сполук - в 1,7 рази та шиффових основ - в 1,6 рази відносно контролю (табл. 2). Після одночасного введення "Симбітеру ацидофільного" та омепразолу протягом 28 діб, встановлено зниження вмісту досліджуваних сполук: дієнових кон'югатів - в 1,4 рази, ТБК-активних сполук - в 1,3 рази та шиффових основ - в 1,2 рази відносно щурів з гіпоацидним станом (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у печінці щурів за умов тривалої гіпоацидності, (M±m)

Група тварин Досліджуваний параметр	Контроль (n=10)	Омепразол (n=10)	Омепразол + Симбітер (n=10)
Дієнові кон'югати, нМоль х мг білка ⁻¹	290,69±19,46	632,71±37,37*	401,13±29,85*#
ТБК-активні сполуки, нМоль х мг білка ⁻¹	74,81 ± 5,58	125,81±11,43*	87,57±5,55*#
Шиффові основи, ум. од. х мг білка ⁻¹	8,65 ± 0,55	13,43 ± 0,85*	10,21 ± 0,56*#

Примітки: * - $p \leq 0,05$ порівняно з контролем; # - $p \leq 0,05$ порівняно з групою тварин, яким вводили омепразол.

При дослідженні ферментів першої лінії захисту клітин від активних форм кисню (АФК) супероксиддисмутази та каталази встановлено, що за умов тривалої дії омепразолу на щурів у печінці їх активність знижувалась в 1,2 рази по відношенню до контрольної групи тварин (табл. 3). За умов сумісного ве-

дення щурам мультипробіотику "Симбітер ацидофільний" концентрований та омепразолу у гепатоцитах активність супероксиддисмутази зростала в 1,3 рази, а каталази в 1,2 рази порівняно з групою тварин, які отримували лише омепразол.

Згідно отриманих результатів експериментальних досліджень встановлено, що за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії змінювався склад та швидкість окислювальних перетворень у ліпідах мембран печінки щурів: зростав рівень гідроксильних, альдегідних груп, транс-ізомерів та знижувався вміст цис-ізомерів, що вказує про активацію вільнорадикальних процесів. Зафіксоване зниження вмісту карбонільних, СН-груп та підвищення фосфатних груп може свідчити про підвищення метаболічних процесів у фосфоліпідах мембран гепатоцитів. Виявлене збільшення кількості утворених продуктів перекисного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук, шиффових основ) та зниження активності ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази та каталази) у клітинах печінки щурів з гіпоацидним станом свідчить про порушення балансу між продукцією АФК та їх нейтралізацією.

Таблиця 3

Активність ферментів антиоксидантної системи у печінці щурів за умов тривалої гіпоацидності, (M±m, n=10)

Група тварин Досліджуваний параметр	Контроль (n=10)	Омепразол (n=10)	Омепразол + Симбітер (n=10)
Супероксиддисмутаза, ум. од. х хв ⁻¹ х мг білка ⁻¹	2,69 ± 0,24	2,23 ± 0,19*	2,81 ± 0,21#
Каталаза, нМоль х хв ⁻¹ х мг білка ⁻¹	69,63 ± 5,61	52,79 ± 4,93*	62,98 ± 4,38#

Примітки: * - $p \leq 0,05$ порівняно з контролем; # - $p \leq 0,05$ порівняно з групою тварин, яким вводили омепразол.

За умов сумісного введення щурам мультипробіотику "Симбітер ацидофільний" концентрований та омепразолу показники перекисного окиснення ліпідів у печінці частково відновлювались до контрольного рівня. При цьому активність ферментів першої лінії захисту клітин від вільних радикалів супе-

роксиддисмутази поверталась до контрольних величин, а активність каталази зростала, проте не досягала контрольного значення. Таким чином, можливо, дія мультипробіотику "Симбітер ацидофільний" концентрований на окисно-антиоксидантний баланс у печінці обумовлена також іншими механізмами антиоксидантного захисту. На користь нашого припущення свідчать дані літератури про те, що штами пробіотичних мікроорганізмів, що входять до складу досліджуваного препарату, окрім добре відомих імуномодулюючих властивостей [12], володіють здатністю впливати на функціонування антиоксидантної системи, зокрема, на глутатіонову систему [10, 15].

Висновки

1. За умов тривалого гіпоацидного стану у печінці щурів спостерігались суттєві зміни структурного стану ліпідів, що пов'язано з активацією їх окиснення вільними радикалами.

2. При довготривалій шлунковій гіпохлоргідрії у печінці відбувається зсув окисно-антиоксидантної рівноваги у бік інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення ліпідів, що свідчить про розвиток оксидантного стресу у гепатоцитах.

3. Мультипробіотик "Симбітер ацидофільний" частково відновлює порушений про/антиоксидантний баланс у печінці щурів з тривалим пригніченням секреції соляної кислоти.

Література

1. Берегова Т.В. Мультипробіотик "Симбітер" як засіб профілактики структурно-морфологічних змін у шлунку, що виникають на фоні зниженої кислотності шлункового соку / Т.В.Берегова, О.І.Цирюк // Збірник праць сателітного симпозиуму "Сучасні аспекти застосування пробіотиків в педіатрії". - 2008. - С. 52-57.

2. Гаврилов В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Н.Ф. Хмара // Лабораторное дело. - 1988. - № 2. - С. 60-63.

3. Колесова О.Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологи-

ческих средах / О.Е. Колесова, А.А. Маркин, Т.Н. Федорова // Лабораторное дело. - 1984. - № 9. - С. 540-546.

4. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабораторное дело. - 1988. - Вып. 1. - С. 16-18.

5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. - М.: Информполиграф, 2002. - 305 с.

6. Стальная И.Д., Гаршивили Т.Г. Современные методы в биохимии. - М.: Медицина, 1977. - С. 66 - 68.

7. Чевари С. Роль супероксиддисмутаза в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лабораторное дело. - 1985. - Вып. 11. - С. 678-681.

8. Янковский Д.С., Дымент Г.С. Мультикомпонентные пробиотики группы "Симбітер": итоги и перспективы биоинженерии и применения в клинической практике / Д.С. Янковский, Г.С. Дымент // Здоровье женщины. - 2006. - № 3. - С.181-188.

9. Burkitt M.D. Importance of gastrin in the pathogenesis and treatment of gastric tumors / M.D. Burkitt, A. Varro, D.M. Pritchard // World J. Gastroenterology. - 2009. - Vol. 15(1). - P. 1-16.

10. Fabian E. The effect of daily consumption of probiotic and conventional yoghurt on oxidant and anti-oxidant parameters in plasma of young healthy women / E. Fabian, I. Elmadfa // Int. J. Vitam. Nutr. Res. - 2007. - Vol. 77(2). - P. 79-88.

11. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G.H.S. Stanley // J. Biol. Chem. - 1957. - Vol. 226. - P. 497-509.

12. Isolauri E. Probiotics: effects on immunity / Isolauri E., Sutas Y., Kankaanpää P. [e.a.] // Am. J. Clin. Nutr. - 2001. - Vol. 73(2 Suppl). - P. 444-450.

13. Kullisaar T. Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics / T. Kullisaar, M. Zilmer, M. Mikelsaar [e.a.] // Int. J Food Microbiol. - 2002. - Vol. 72(3). - P. 215-224.

14. Lamba O.P. *Fourier transform infrared study of the rod outer segment disk and plasma membranes of vertebrate retina* / O.P. Lamba, D. Borchman, P.J. O'Brien // *Biochemistry*. - 1994. - Vol.33. - P. 1704-1712.

15. Lin M.Y. *Inhibition of lipid peroxidation by Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium longum* / M.Y. Lin, C.L. Yen // *J. Agric. Food Chem.* - 1999. - Vol. 47(9). - P. 3661-3664.

16. Pan Q.S. *Immunocytochemical identification and localization of APUD cells in the gut of seven stomachless teleost fishes* / Q.S. Pan, Z.P. Fang, Y.X. Zhao // *World Journal of Gastroenterology*. - 2000. - Vol. 6. - № 1. - P. 96-101.

17. Pürez-Ayuso R.M. *Gastric vascular ectasias in cirrhosis: association with hypoacidity not related to gastric atrophy* / R.M. Pürez-Ayuso, J.M. Piqué, E. Saperas [e.a.] // *Scand. J. Gastroenterol.* - 1989. - Vol. 24, № 9. - P.1073-1078.

18. Williams C. *Proton Pump inhibitors and bacterial overgrowth* / C.Williams, K.E.L. McColl // *Alimentary Pharmacology and Therapeutic*. - 2006. - Vol. 23. - P. 3-10.

Резюме

Дворщенко К.О., Сенін С.А., Остапченко Л.І., Берегова Т.В., Фалалєєва Т.М., Янковський Д.С. Вплив мультипробіотику "Симбітер[®] ацидофільний" концентрований на окисно-антиоксидантний баланс у печінці щурів за умов тривалої шлункової гіпоацидності.

Вивчали вплив мультипробіотику "Симбітер[®] ацидофільний" концентрований на окисно-антиоксидантний баланс у печінці щурів за умов тривалого пригнічення шлункової секреції. Встановлено, що при довготривалій шлунковій гіпохлоргідрії у печінці відбувається зсув окисно-антиоксидантної рівноваги у бік інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення ліпідів, що свідчить про розвиток оксидантного стресу у гепатоцитах. Мультипробіотик "Симбітер ацидофільний" концентрований частково відновлював порушений про/антиоксидантний баланс у печінці щурів з тривалим пригніченням секреції соляної кислоти.

Ключові слова: печінка, омепразол, гіпоацидність, мультипробіотики.

Резюме

Дворщенко Е.А., Сенин С.А., Остапченко Л.И., Береговая Т.В., Фалалеева Т.М., Янковский Д.С. Влияние мультипробиотика "Симбитер[®] ацидофильный" концентрированный на окислительно-антиоксидантный баланс в печени крыс при длительной желудочной гипоацидности.

Изучали влияние мультипробиотика "Симбитер[®] ацидофильный" концентрированный на окислительно-антиоксидантный баланс в печени крыс в условиях длительного угнетения желудочной секреции. Установлено, что при длительной желудочной гипохлоргидрии в печени происходит смещение окислительно-антиоксидантного равновесия в сторону интенсификации процессов свободнорадикального окисления липидов, что свидетельствует о развитии оксидативного стресса в гепатоцитах. Мультипробиотик "Симбитер ацидофильный" концентрированный частично восстанавливал, нарушенный про/антиоксидантный баланс в печени крыс с длительным подавлением секреции соляной кислоты.

Ключевые слова: печень, омепразол, гипоацидность, мультипробиотики.

Summary

Dvorschenko K.O., Senin S.A., Ostapchenko L.I., Bereгова T.V., Falalyeyeva T.M., Yankovsky D.S. *Influence of multiprobiotic "Symbiter[®] acidophilic" concentrated on the oxidation-antioxidant balance in rat liver under conditions of prolonged gastric hypoacidity*

It was investigated the influence multiprobiotic "Symbiter[®] acidophilic" concentrated on the oxidation-antioxidant balance in rat liver under conditions of prolonged inhibition of gastric secretion. It was shown that during the long gastric hypoacidity shift occurs in the liver oxidative-antioxidant balance towards the intensification of free radical oxidation of lipids, indicating the development of oxidative stress in hepatocytes.

Multiprobiotic "Symbiter acidophilic" concentrated on the partially restored broken / antioxidant balance in rat liver with prolonged inhibition of secretion of hydrochloric acid.

Key words: liver, omeprazole, hypoacidity, multiprobiotics.

Рецензент: д.біол.н., проф.Б.П.Романюк