

Можна відмітити чітку тенденцію, коли представники різних груп зоопланктону концентрувались біля берега у вечірні (гіллястовусі ракоподібні та личинки копепод) і нічні години (коловертки та веслоногі ракоподібні). Подібні явища пов'язані з процесами горизонтальних і вертикальних добових міграцій. На пентаграмі добре помітно, що за щільністю в межах цієї станції домінували личинки веслоногих ракоподібних. Субдомінантами були власне дорослі особини копепод, яким незначно поступались гіллястовусі ракоподібні. А ось вираженими сателітами були представники коловерток (на відміну від 2006 році, коли сателітами були веслоногі ракоподібні). Подібні перебудови угруповань зоопланктону пов'язані з частковою зміною умов існування цих груп гідробіонтів внаслідок затоплення нових, хоч і не значних за площею, територій. Подальші заплановані дослідження протягом наступних декількох років повинні дати більш повну картину напрямку та якості цих змін.

Висновки. 1. Видовий склад літорального зоопланктону в межах станції правого берега середньої частини Олександрівського водосховища був представлений у 2006 році 23 видами, а в 2008 – 17. 2. Список видів коловерток за 2006 рік повністю відрізнявся від такого за 2008 рік, а списки видів гіллястовусих і веслоногих ракоподібних характеризувались низьким ступенем подібності: коловертки – J (Індекс Жакара)=0; гіллястовусі – J=30; веслоногі – J=37,5. 3. Змінились також домінанти

у коловерток і веслоногих ракоподібних, але серед гіллястовусих ракоподібних у 2008 році також домінували представники *Diaphanosoma brachyurum*. 4. Якщо в 2006 році був виражений один загальний домінант серед усіх груп зоопланктону – *D. brachyurum* (18400 екз./м³), то в 2008 році їх було вже два – *D. brachyurum* (10363 екз./м³) і *Acanthocyclops americanus* (9017 екз./м³). 5. Помітно змінилась загальна щільність усіх груп зоопланктону (3 основні групи та личинки копепод) за дослідні роки: 2006 рік – 39680 екз./м³, 2008 рік – 51384 екз./м³. 6. Відмічено тенденцію, коли представники різних груп зоопланктону мали значно більшу концентрацію біля берега у вечірні (гіллястовусі ракоподібні та личинки копепод) і нічні години (коловертки та веслоногі ракоподібні), що пов'язано з процесами горизонтальних і вертикальних добових міграцій.

1. Березина Н. А. Практикум по гидробиологии. – М.: Агропромиздат, 1989. – 208 с. 2. Жадин В. Н. Методы гидробиологического исследования. – М.: Высшая школа, 1960. – 192 с. 3. Кутикова Л. А. Коловертки фауны СССР. – Л.: Наука, 1970. – 744 с. 4. Мануйлова Е. Ф. Ветвистосые рачки (Cladocera) фауны СССР. – М.-Л.: Наука, 1964. – 327 с. 5. Монченко В. І. Щелепнороті циклоподібні, циклопи. – К.: Наукова думка, 1974. – 450 с. – (Фауна України; Т. 27, вип. 3). 6. Монченко В. І. Свободоживущие циклопообразные копеподы Понто-Каспийского бассейна. – К.: Наукова думка, 2003. – 351 с. 7. Песенко Ю. А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. – М.: Наука, 1982. – 287 с.

Надійшла до редколегії 27.02.09

УДК: 571.21+616-008.64

О. Короткий, асп., С. Пилипенко, канд. біол. наук, О. Цирюк, канд. біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук, Т. Берегова, д-р біол. наук

ВПЛИВ МУЛЬТИПРОБІОТИКІВ НА ВМІСТ ІНТЕРФЕРОНУ-ГАММА В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ

Досліджено вміст інтерферону-гамма в сироватці крові щурів за умов тривалої гіпоацидності після двадцяти восьми денного введення "Омезу®" і мультипробіотиків "Симбітеру® ацидофільного концентрованого" та "Апібакту®". Встановлено значне підвищення концентрації інтерферону-гамма в сироватці крові щурів з тривалим гіпоацидним станом. Показано, що одночасне введення з "Омезу®" та мультипробіотика "Симбітеру® ацидофільного концентрованого" призводило до наближення вмісту сироваткового інтерферону-гамма до контрольних значень. При введенні "Омезу®" та мультипробіотику "Апібакту®" виявили значне зменшення концентрації інтерферону-гамма в сироватці крові порівняно з тривалим введенням одного "Омезу®".

It was investigated the interferon-gamma level in the blood serum in the rats in conditions of long-term hypoacidity after 28 days injection of "Omez®" and multiprobitics "Symbiter®acidophilis concentrated" and "Apybact®". It was established useful increase of interferon-gamma concentration in the blood serum in the rats with long-term hypoacidity. It was shown that simultaneous introduction of "Omez®" and multiprobitic "Symbiter®acidophilis concentrated" evoked decrease of of interferon-gamma concentration in the blood serum to the control amounts. Simultaneous introduction of "Omez®" and multiprobitic "Апібакту®" evoked useful decrease of interferon-gamma concentration in the blood serum in comparison to the rats which were treated only by "Omez®".

Вступ. Однією із причин мікроекологічних порушень в шлунково-кишковому тракті у людей є тривале застосування антисекреторних препаратів та знижена кислотність шлункового соку й ахілія, адже соляна кислота швидко знищує велику частину мікроорганізмів, що попадають в шлунок [10, 18]. Окрім негативного впливу на мікробіоценоз травного тракту тривале зниження кислотності шлункового соку призводить до явища гіпергастринемії. Гастрин же є мітогенним фактором для росту епітеліального шару клітин шлунку та товстої кишки, а гіпергастринемія є фактором ризику розвитку пухлин в цих органах [9, 13, 15, 16, 17]. Роботами останніх років показано взаємозв'язок між бактеріальним інфікуванням шлунку та секрецією гастрину [20]. Встановлено, що колонізація шлунку *Helicobacter pylori* (H. pylori) запускає імунну відповідь Т-хелперів першого порядку (Th-1) [6] з вивільненням головного Th-1 цитокіну – інтерферону-гамма (ІФН-γ), який стимулює секрецію гастрину [11]. До того ж показано, що бактеріальний білок (OmpA-подібний білок), ізольований і клонований з *Acinetobacter spp.*, прямо посилює експресію генів гас-

трину. Здатність посилювати секрецію гастрину на фоні гіпоацидності характерна і для інших аеробних бактерій, які викликають нозокоміальні респіраторні інфекції (*Acinobacter*, *Pseudomonas*, *Corinebacterium* spp.) [12]. Таким чином, колонізація шлунку бактеріями може робити внесок в зростання концентрації гастрину шляхом стимуляції експресії генів гастрину, який включає, принаймні, два механізми: 1) прямий ефект бактеріальних білків та 2) вплив цитокінів, що продукуються інфільтованими запальними клітинами. Тому в умовах тривалої гіпергастринемії на фоні зниженої секреції соляної кислоти доцільним є профілактика та лікування дисбактеріозів з метою усунення розладів в імунній системі, що, без сумніву, позитивно впливатиме на структурно-функціональний стан слизових оболонок травного тракту. В лікуванні та профілактиці дисбактеріозів широко використовують пробіотики, серед яких особливу увагу привертають до себе мультипробіотики групи "Симбітер". Нашими попередніми дослідженнями показано, що мультипробіотики "Симбітер® ацидофільний концентрований" та "Апібакт®" за умов тривалого пригнічен-

ня шлункової секреції запобігають розвитку гіперплазії в шлунку та товстому кишечнику [4, 5, 14].

Метою роботи було дослідити вплив мультипробіотиків "Симбітер® ацидофільний концентрований" та "Апібакт®" на біоценоз шлунку і концентрацію гастрину і одного з основних медіаторів запалення та клітинно-опосередкованої імунної відповіді – ІФН- γ в сироватці крові щурів за умов тривалого пригнічення шлункової секреції.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проведені на білих нелінійних щурах-самцях віком до двох місяців та вагою 170-200г, які були розділені на чотири групи по 7 тварин в кожній. Маніпуляції з тваринами та їх утримання в віварії здійснювались згідно міжнародних правил [7]. Контролем (I група) слугували щури, яким упродовж 28 днів вводили 0,2 мл внутрішньочеревинно (в/о) та 0,5 мл перорально воду для ін'єкцій. Гіпоацидний стан у щурів (II група) моделювали щоденним введенням упродовж 28 днів "Омезу®" (ОМ) (виробництва Dr.Reddy's, Індія), блокатора H^+-K^+-ATP ази – ключового ферменту синтезу соляної кислоти парієтальними клітинами шлунку. ОМ вводили в дозі 14 мг/кг в/о, розчиненого в 0,2 мл води для ін'єкцій. Щурам III та IV груп одночасно з введенням ОМ вводили мультипробіотики "Симбітер® ацидофільний концентрований" та "Апібакт®" відповідно (виробництва ТОВ "О.Д. Пролісок"). Мультипробіотики вводили перорально в дозі 0,14 мл/кг, розчинених в 0,5 мл води для ін'єкцій. Мультипробіотик "Симбітер® ацидофільний концентрований" (СИМ) є живою концентрованою біомасою симбіозу 14 унікальних пробіотичних штамів біфідобактерій, лактобацил, лактококів та пропіоновокислих бактерій та фізіологічно корисних продуктів їх метаболізму. В 10 мл СИМ міститься не менше 10^9 живих клітин. Мультипробіотик "Апібакт®" (АПІ), крім біомаси симбіозу вищезазначених для СИМ мікроорганізмів, містить у своєму складі 2,5% екстракт прополісу. Евтаназію тварин здійснювали через добу після останнього введення препаратів. У сироватці крові щурів визначали концентрацію ІФН- γ методом імуноферментного аналізу за допомогою комерційних наборів виробництва GE Healthcare (Amersham IFN- γ Rat Biotrak ELISA System). Всі зразки були проаналізовані в трьох повторях. Концентрацію цитокіну виражали в пг/мл сироватки. Також в сироватці крові визначали концентрацію гастрину радіоімунним методом із використанням аналітичного набору фірми "MP Biomedicals, LLC" (USA). Особливості контамінації слизової оболонки шлунка патогенною та нормальною мікрофлорою оцінювали після 28 доби від початку експерименту. Вивчення мікробіоценозу шлунка включало в себе аналіз видового та кількісного складу мікрофлори. Кількісні показники мікрофлори вивчали шляхом висіву 0,1 мл з кожного розведення (1:10) на диференційно-діагностичні середовища: Ендо, Плоскірева, ВСА для виявлення патогенних ентеробактерій; жовточно-сольовий агар та середовище Сабуро для визначення стафілококів та грибів; Ендо та цитрат Сімонса для визначення кишкової палички та умовно-патогенних ентеробактерій; 5 % кров'яний агар та середовище ЕДДС для визначення ентерококів; середовище Блаурока для біфідобактерій та MKS для лактобацил. Проведення аналізу та облік результатів при дослідженні мікробіоценозу порожнини шлунка здійснювали згідно наказу № 535 МОЗ СРСР від 1985 р. та наказу № 59 МОЗ України від 2003 р. Статистичну обробку результатів досліджень з використанням критерію Стьюдента для оцінки достовірності в дослідних групах проводили за допомогою програми Statistica 7.0. Відмінності вважали достовірними при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Аналіз мікрофлори шлунка контрольних тварин свідчить про малий спектр бактерій, що входять до складу біоценозу цього органу. З найбільшою частотою реєструвалась контамінація шлунка контрольних тварин грибами р. Кандіда, ентерококом, кишковою паличкою, лактобактеріями. Представники умовно-патогенної мікрофлори зі шлунка практично не висівались. Лише у 10% тварин виявлено цитробактер. Кількісні показники висіву зі шлунка ентерокока, ешеріхій та грибів р. Кандіда не досягали високого рівня та складали 10^2 - 10^5 КУО/г. Концентрація лактобактерій, що виділені зі шлунка, також була незначною (10^2 КУО/г).

Порівняння стану мікрофлори шлунка у щурів контрольної групи з групою, якій протягом 28 днів вводили ОМ, показало, що у щурів після 28-денного введенням ОМ спостерігались значне зменшення частоти висівання лактобактерій та тенденція до зростання колонізації умовно-патогенною мікрофлорою та грибами р. Кандіда. Статистично підтверджено зниження кількісних показників висіву зі шлунка нормальної мікрофлори. У 40% тварин нормальна мікрофлора взагалі не висівалась. Спектр бактерій у шлунку тварин, у яких упродовж 28-ми днів секретія соляної кислоти була пригнічена шляхом блокади H^+-K^+-ATP ази, розширився за рахунок висіву клібсієли, ентеробактера, протей. Зареєстровано також збільшення контамінації шлунка золотистим стафілококом. Концентрація цих умовно-патогенних бактерій досягла високого рівня (10^4 - 10^5 КУО/г). Одержані дані свідчать про зниження колонізаційної резистентності слизової оболонки шлунка у тварин із зниженою секретією соляної кислоти та про можливість транзиту мікрофлори з кишечника в шлунок висхідним шляхом.

Експериментальне пригнічення секреції соляної кислоти ОМ в шлунку призводить не тільки до розвитку дисбіотичних змін, але і до зростання концентрації гастрину в плазмі крові з $59,0 \pm 35,5$ до $170,7 \pm 90,7$ пг/мл., або на 189,3% ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Концентрація ІФН- γ в сироватці крові щурів даної групи збільшилась з $41,0 \pm 2,05$ до $65,0 \pm 3,1$ пг/мл, або на 58,5% ($p < 0,01$) порівняно з контролем (рис.1). Отримані результати корелюють з даними літератури, згідно яких при гіпергастринемії у мишей посилюється експресія генів ІФН- γ , що супроводжується поширенням запалення, а також виникненням пухлин [8].

У щурів, які одночасно з ОМ отримували СИМ, показники колонізації шлунка умовно-патогенною мікрофлорою практично не відрізнялись від контролю. Зменшився спектр виділених із шлунка ентеробактерій за рахунок відсутності клібсієли та протей. У всіх обстежених тварин не виявлено заселення шлунка стафілококом золотистим. Як і у контрольних тварин, до складу мікробіоценозу шлунка щурів даної групи переважно входили ентерокок, кишкова паличка, гриби р. Кандіда в незначних концентраціях (10^1 – 10^2 КУО/г). Збільшився висів з шлунка лактобактерій до показників 10^4 КУО/г. Аналогічний вплив на стан мікробіоценозу шлунка справляв і АПІ.

В групі щурів, яким упродовж 28-ми днів одночасно з ОМ вводили СИМ, концентрація ІФН- γ в сироватці крові порівняно з групою щурів, які отримували лише ОМ, знизувалась на 35,4% ($p < 0,01$) і статистично достовірно не відрізнялася від даного показника в контролі. Одночасне введення ОМ й АПІ зменшувало концентрацію сироваткового ІФН- γ до $53,0 \pm 2,6$ пг/мл (на 18,5%) ($p < 0,05$), порівняно з групою тварин, яким вводили лише ОМ, але значення досліджуваного показника по відношенню до контролю залишалися збільшеними на 29,3% ($p < 0,05$), що може бути пов'язано з наявністю в прополісі біофланодів, які посилюють синтез інтерферону.

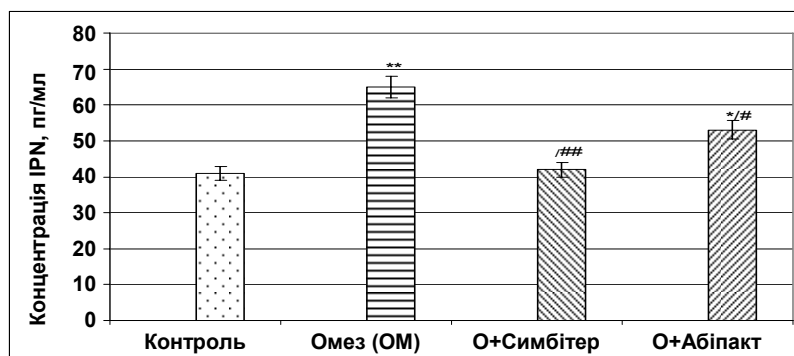


Рис.1. Вміст IFN-γ в сироватці крові щурів за умов тривалої гіпоацидності, пг/мл (n=7)

* – $P < 0,05$ порівняно з контролем; ** – $P < 0,01$ порівняно з контролем;

– $P < 0,05$ порівняно з групою тварин, яким вводили "Омез®";

– $P < 0,01$ порівняно з групою тварин, яким вводили "Омез®"

На підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що, по-перше, не лише аеробні бактерії, які викликають нозокоміальні респіраторні інфекції, але і умовно-патогенна кишкова флора в шлунку на фоні гіпоацидності індукуює клітинно-опосередковану імунну відповідь з розвитком запальних процесів через посилення синтезу ІФН-γ, що може свідчити про залучення цього прозапального цитокину до механізмів розвитку гіпергастринемії, адже доведено, що він також посилює секрецію гастрину G-клітинами [19]. По-друге, існує, принаймні, два механізми розвитку гіпергастринемії при гіпоацидності шлункового соку. Перший пов'язаний із порушенням нормальної зворотної регуляції виділення гастрину кислотою. Другий же є наслідком розвитку дисбіозу в шлунку на фоні гіпоацидності, який запускає Th-1 імунну відповідь [6] з вивільненням одного з основних медіаторів клітинної імунної відповіді прозапального цитокину – ІФН-γ, який стимулює секрецію гастрину [11].

Таким чином, введення мультипробіотиків СИМ і АПІ при тривалому пригніченні шлункової секреції через нормалізацію мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту [1-3] спричиняє протизапальний ефект, в тому числі завдяки модулюючому впливу на рівень ІФН-γ в сироватці крові щурів.

Висновки.

1. На фоні тривалого пригнічення секреції соляної кислоти блокаторм H^+K^+ -АТФази "Омезом®" в шлунку змінюється кількісний і якісний склад мікрофлори за рахунок зменшення частоти висівання лактобактерій та зростання колонізації умовно-патогенною мікрофлорою та грибами роду Кандіда.

2. За умов тривалої гіпоацидності, викликаной 28-денним введенням щурам "Омезу®", відбувається значне зростання концентрації гастрину та інтерферону-гамма в сироватці крові.

3. Мультипробіотики "Симбітер® ацидофільний концентрований" та "Абіпакт®" ефективно стабілізують колонізаційну резистентність шлунку та нормалізують баланс між основними видами облігатної та умовно-патогенної мікрофлори. При одночасному тривалому введенні "Омезу®" та "Симбітеру® ацидофільного концентрованого" концентрація інтерферону-гамма в сироватці крові щурів нормалізується до контрольних значень, а при одночасному тривалому введенні "Омезу®" та "Абіпакту®" концентрація цього прозапального цитокину в сироватці крові хоч і не повертається до контрольних значень, але значно зменшується

по відношенню до групи експериментальних тварин, які отримували лише "Омез®".

1. Крамарев С.А. та ін. Эффективность мультипробиотика "Симбистер" и кислотопродукта "Симбиви" при кишечных инфекциях у детей // Здоровье женщины. – 2003. – № 3 (15). – С. 129-132. 2. Марченко М.В., Черненко В.В., Янковський Д.С., Димент Г.С. Застосування мультипробиотика "Симбітер концентрований" у лікуванні хворих на хронічні захворювання шлунково-кишкового тракту / Методичні рекомендації – К., 2003. – 17 с. 3. Муквіч О.М. Клініко-бактеріологічні та імунологічні особливості кишкового дисбактеріозу та його корекція мультипробиотиком "Абіпакт" у дітей // Здоровье женщины. – 2007. – № 4 (32). – С. 157-160. 4. Остапченко Л.І., Фалалеева Т.М., Цирюк О.І., Берегова Т.В., Суходоль А.І. Вплив харчових добавок із різним механізмом дії на структурно-функціональний стан шлунка. – К.: Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2008. – 160 с. 5. Радчук О.М., Цирюк О.І., Лісяна Т.О., Пономарьова І.Г., Берегова Т.В., Рибальченко В.К. Морфометричні показники слизової оболонки товстої кишки щурів за умов тривалої гіпергастринемії та при введенні мультипробиотика "Симбітер® ацидофільний" // Доповіді Національної Академії Наук України. – 2009. – № 1. – С. 144-149. 6. Ernst P.B., Gold B.D. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: The immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer // Annu Rev Microbiol. – 2000. – Vol. 54. – P. 615-640. 7. Guide for the Core and Use of Laboratory Animals. National Research Council. Washington: Nat. Acad. Press. – 1996. – 250 p. 8. Jain R.N., Al-Menhali A.A., Keeley Th.M., et al. Hypergastrinemia and hypertrophic gastritis in *Hip1r*-deficient mice // The FASEB Journal. – 2007. – Vol. 21. – P. 925-930. 9. Jensen R.T. Consequences of long-term proton pump blockade: insights from studies of patients with gastrinomas // Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology. – 2006. – Vol. 98, № 1. – P. 4-19. 10. Laine L., Ahnen D., McClain C., Solcia E. Review article: potential gastrointestinal effects of long-term acid suppression with proton pump inhibitors // Aliment Pharmacol Ther. – 2000. Vol. 14. – P. 651-68. 11. Lehmann F.S., Golodner E.H., Wang J., Chen M.C., Avedian D., Calam J., Walsh J.H., Dubinett S., Soll A.H. Mononuclear cells and cytokines stimulate gastrin release from canine antral cells in primary culture // Am J Physiol. – 1996. – Vol. 270. – G783-788. 12. Ofori-Darko E., Zavros Y., Rieder G., Tarlé S.A., Antwerp M.V., Mershan J.L. An *OmpA*-like protein from *Acinobacter* spp. Stimulates gastrin and interleukin-8 promoters // Infection and Immunity. – 2000. – Vol. 68, N 6. – P. 3657-3666. 13. Renga M. et al. Rectal cell proliferation and colon cancer risk in patients with hypergastrinaemia // Gut. – 1997. – Vol. 41. – P. 330-332. 14. Tsyryuk O., Radchuk O., Rybalchenko V., Bereгова T. The influence of multiprobiotic "SYMBITER® ACIDOPHILIC" on structurally functional state of gastric mucosa in omeprazole-treated rats // Annales universitatis Mariae Curie-Skłodowska. – Lublin-Polonia. Vol. XXI. – N.146, 2008. – P.257-260. 15. Waldum H.L. et al. Antiulcer drugs and gastric cancer // Digestive Diseases and Sciences. – 2005. – Vol. 50, Suppl. 1. – P. S39-S44. 16. Walsh J.H. Gastrin – a normal and pathologic regulator of gastric function // Western Journal of Medicine. – 1991. – Vol. 154. – P. 33-35. 17. Watson S.A., Steel R.J. Gastrin antagonists in the treatment of gastric cancer // Anticancer Drugs. – 1993. – №4. – P. 599-604. 18. Williams C., McColl K.E.L. Proton Pump Inhibitors and bacterial overgrowth // Alimentary pharmacology and Therapeutic. – 2006. – Vol. 23. – P. 3-10. 19. Zavros Y., Kao J.Y., Merchant J.L. Inflammation and Cancer III. Somatostatin and the innate immune system // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2004. – v. 286. – P. 698-701. 20. Zavros Y., Rieder G., Ferguson A., Mershan J.L. Gastritis and hypergastrinemia due to *Acinobacter lwoffi* in mice // Infection and Immunity. – 2002. – Vol. 70. – P. 2630-2639.

Надійшла до редколегії 31.03.09