

В статье изложены результаты оригинальных исследований влияния продукта диетического питания из бурых водорослей Белого моря на микробиоценоз кишечника на фоне развития дисбактериоза, вызванного антибиотиками. Показано, что продукт обладает пребиотическими свойствами, что выражается в сохранении нормофлоры кишечника в условиях развивающегося дисбиоза на ранних стадиях, а также проявляет фунгицидный и антибактериальный эффекты в отношении условно-патогенных микроорганизмов.

ВЛИЯНИЕ ГЕЛЯ ИЗ БУРЫХ МОРСКИХ ВОДОРΟΣЛЕЙ НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА ПРИ ДИСБАКТЕРИОЗЕ, ИНИЦИИРОВАННОМ АНТИБИОТИКАМИ

**ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»,
г. Минск, Республика Беларусь**

***Е.В. Марцинкевич**, кандидат биологических наук, научный сотрудник
лаборатории физиологии питания и спорта;*

***А.Э. Пыж**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
лаборатории физиологии питания и спорта;*

***Т.М. Лукашенко**, кандидат биологических наук, заведующий
лабораторией физиологии питания и спорта;*

***А.А. Бирюков** врач-терапевт, член-корреспондент Белорусской
инженерной академии*

Актуальной задачей современной нутрициологии является разработка продуктов функционального питания на основе натурального сырья, не содержащих консервантов, красителей и ГМО. В данном аспекте представляется перспективным использование морских бурых водорослей рода *Fucus*, которые имеют уникальный химический состав и могут применяться как в виде самостоятельного продукта питания, так и биологически активных добавок для профилактики и лечения различных заболеваний. Наиболее широко распространённым видом бурых водорослей является фукус пузырчатый (*Fucus vesiculosus*, *Fucaceae*), содержащий в своем составе углеводы, липиды, белковые вещества, полифенолы, витамины, каротиноиды, хлорофиллы, минеральные вещества, микро- и макроэлементы. В научной литературе спектр физиологических эффектов *Fucus vesiculosus* связывают в основном с полисахаридами – альгиновой кислотой и фукоиданом [10].

Оценена эффективность БАД на основе фукоидана из *Fucus evanescens* в комплексной терапии пациентов с ишемической болезнью сердца для коррекции цитокинового статуса. Показано, что включение данной

субстанции в рацион больных приводит к нормализации последнего и позволяет снизить дозу синтетических статинов [3].

Неотъемлемой частью желудочно-кишечного тракта является микрофлора кишечника, которая задействована в процессах пищеварения, регуляции липидного обмена, обновлении кишечного эпителия, поддержании иммунитета и противоинфекционной защите. Любое изменение структуры микробиоценоза кишечника провоцирует вторичные нарушения, обуславливающие возникновение различных патологических состояний [2].

Установлено, что фукоидан из фукусовых подавляет развитие некоторых болезнетворных бактерий [10]. Альгиновые кислоты бурых водорослей связывают переходные металлы, необходимые для функционирования дыхательной и электрон-транспортной систем аэробных бактерий, роста и экспрессии их факторов патогенности [9].

При всем многообразии медикаментозных препаратов для профилактики и лечения заболеваний пищеварительной системы человека, продолжается поиск новых средств и биологически активных добавок к пище с высокой эффективностью и минимальными побочными эффектами.

В настоящее время на основе бурых водорослей Белого моря разработан продукт диетического питания как средство выведения токсинов различной природы из организма. Однако ингредиенты продукта – растворимые пищевые волокна (альгинаты), фукоидан, инулин, фруктоза, аскорбиновая кислота, йод в органической форме, железо, медь, сера, фосфор одновременно могут выступать как факторами роста для микроорганизмов, так и их ингибиторами, что явилось побудительной причиной изучить его влияние на микрофлору кишечника при неблагоприятных воздействиях антибиотиков.

Цель настоящей работы – оценить влияние продукта для диетического питания на основе бурых водорослей на микрофлору кишечника при антибиотик-ассоциированном дисбактериозе.

Исследования выполнены на 50 самцах белых крыс с начальной массой $170 \pm 2,0$ г. Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в строгом соответствии с требованиями Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [6] и соблюдением биоэтических норм и требований Международного комитета по науке [8].

Состав продукта на 100 г: растворимые пищевые волокна (альгинаты) – 4-5 г., йод – 800-1200 мкг, фукоидан – не менее 1,3 г., инулин – 7 г., фруктоза – 7 г., белок – менее 0,5 г., жир – менее 0,2 г.

Проведены 3 серии исследований на 5 опытных группах по 10 особей в каждой. Первая серия (1 группа) – контроль, крысы содержались на стандартном рационе вивария (ГОСТ Р 50258-92); вторая серия исследований заключала две группы, которым создавали модель дисбактериоза кишечника посредством введения цефалексина в дозе 20 мг/кг перорально и гентамицина сульфата 5 мг/кг в/м в течение 3-х суток [7]. Третья

серия исследований (4-я и 5-я группы) объединяла модель дисбиоза и внутрижелудочное введение через зонд водного раствора продукта, начиная с первых суток развития патологии. Расчет дозы вели по сумме пищевых волокон 100% от суточного потребления в пересчете на массу тела крысы согласно руководству [5], эффективная доза составила 8,6 г/кг. Забор биологического материала для исследований осуществляли на 3-и (2-я и 4-я группы) и 7-е (3-я и 5-я группы) сутки эксперимента.

Исследование влияния продукта на микрофлору кишечника проводили в соответствии с методическими рекомендациями [1]. Образцы засеивали на дифференциально-диагностические среды и определяли удельное содержание лактобацилл, бифидобактерий, стафилококков, энтеробактерий и дрожжей. Антагонистическую активность бифидобактерий определяли по величине pH бифидум-среды после окончания срока культивирования.

Антимикробные свойства продукта оценивали по выживаемости тест-культур золотистого стафилококка *S. aureus* и кандид *C. albicans* при сокультивировании *in vitro*. На поверхность питательного агара наносили 1 мл суспензии продукта, полученной растворением 1 г вещества на стерильном 0,85% растворе хлорида натрия в серии последовательных разведений 1:10, 1:2 и 1:20, что соответствует 100 мг, 50 мг и 5 мг и засеивали тест-штаммы в титре 100 КОЕ/мл. Критериями оценки служили: 50% выживаемость колониеобразующих единиц – наличие искомой активности, менее 50 % до 20% выживаемости – тенденция проявления антимикробных свойств, менее 15 % – активность отсутствует.

Полученные данные статистически обрабатывали с помощью программы *Statistica 6.0*. Данные представлены в виде средней величины и стандартной ошибки средней ($M \pm m$). Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимается равным 0,05.

Анализ микрофлоры контрольной группы выявил рост молочнокислых лактобацилл и бифидобактерий в титрах $7,64 \pm 0,01 \text{ Log КОЕ/г}$ и $9,0 \pm 0,01 \text{ Log КОЕ/г}$ с высокой антагонистической активностью (pH среды $3,86 \pm 0,07 \text{ ед.}$) соответственно. Энтеробактерии были представлены кишечной палочкой *E. coli* в титре $5,26 \pm 0,09 \text{ Log КОЕ/г}$, а общий пул энтеробактерий – $5,0 \pm 0,07 \text{ Log КОЕ/г}$. Сапрофитные стафилококки *Staphylococcus ssp.* высевались в титре $3,3 \pm 0,08 \text{ Log КОЕ/г}$. Дрожжеподобные грибы определялись в количестве $3,76 \pm 0,06 \text{ Log КОЕ/г}$ (табл., группа I).

Введение антибиотиков нарушает структуру кишечной микрофлоры подопытных животных. На 3-и сутки снижались уровни бифидобактерий и лактобацилл на 12,2% и 14,0% соответственно по сравнению с контролем ($p < 0,05$), угнеталась антагонистическая активность (pH среды 4,2 ед.). Накопление *Enterobacteriaceae* в кишечнике возрастало на 24,0% в сравнении с контролем ($p < 0,05$), а титр *E. coli* превышал показатель нормы на 20,7% ($p < 0,05$). В кишечнике накапливались стафилококки и кандиды. Удельный вес *Staphylococcus ssp.* превосходил контроль на 47,6% ($p < 0,05$), преобладал

золотистый стафилококк *S. aureus* в титре $4,8 \pm 0,04$ Log КОЕ/г. Концентрация дрожжеподобных грибов превышала показатель нормы на 68,4% (табл., группа II).

На 7-е сутки развития дисбиоза наблюдали увеличение популяции лактобацилл на 11,4%, содержание бифидобактерий соответствовало уровню контроля ($p < 0,05$). Накопление стафилококков *Staphylococcus ssp.* замедлялось на 13,8% по сравнению с животными II группы ($p < 0,05$). Удельный вес золотистого стафилококка сохранялся в титре $4,15 \pm 0,03$ Log КОЕ/г, что на 14,2% достоверно ниже ($p < 0,05$) аналогичного показателя во II группе (табл., группа III).

Таблица. Изменение структуры микрофлоры толстой кишки крыс при антибиотик-инициированном дисбактериозе и сочетанном потреблении продукта

Серия исследований Показатель Log КОЕ/г	Контроль	Экспериментальный дисбактериоз		Дисбактериоз + продукт	
	группа I	группа II 3 сут.	группа III 7 сут.	группа IV 3 сут.	группа V 7 сут.
<i>Lactobacillus ssp.</i>	$7,64 \pm 0,01$	$6,57 \pm 0,02^*$	$7,32 \pm 0,05^*$	$6,78 \pm 0,08$	$7,4 \pm 0,07$
<i>Bifidobacterium ssp.</i>	$9,0 \pm 0,01$	$7,9 \pm 0,02^*$	$8,9 \pm 0,02$	$8,7 \pm 0,02^{**}$	$9,0 \pm 0,02$
<i>Enterobacteriaceae</i>	$5,0 \pm 0,07$	$6,2 \pm 0,12^*$	$5,98 \pm 0,04^*$	$5,7 \pm 0,12^{**}$	$5,65 \pm 0,05$
<i>E.coli</i>	$5,26 \pm 0,09$	$6,35 \pm 0,03^*$	$6,06 \pm 0,06^*$	$5,8 \pm 0,1^{**}$	$5,5 \pm 0,05^{**}$
<i>Staphylococcus ssp.</i>	$3,3 \pm 0,08$	$4,87 \pm 0,03^*$	$4,2 \pm 0,07^*$	$3,6 \pm 0,01^{**}$	$3,9 \pm 0,06^{**}$
<i>S. aureus</i>	ед.кол.	$4,84 \pm 0,04^*$	$4,15 \pm 0,03^*$	$3,7 \pm 0,04^{**}$	ед.кол.**
<i>Citrobacter ssp.</i>	ед.кол.	ед.кол.	$6,23 \pm 0,04^*$	$6,3 \pm 0,02$	$6,1 \pm 0,04$
Fungi	$3,76 \pm 0,06$	$6,33 \pm 0,04^*$	$6,2 \pm 0,03^*$	$4,9 \pm 0,06^{**}$	ед. кол.**

Примечание: * – различия достоверны относительно показателей контрольной группы; ** – различия по показателям между группами II–III и группами IV –V соответственно.

Введение в рацион продукта из бурых водорослей на фоне приема антибиотиков уменьшало их отрицательное влияние на микрофлору. Избирательная биологическая активность выявлена в отношении золотистого стафилококка (*S. aureus*), поскольку к 3-им суткам эксперимента показатель достоверно снижался на 23,6% ($p < 0,05$). Сходная тенденция наблюдалась в отношении грибов, титр которых уменьшался к 3-им суткам развития дисбиоза на 22,5% ($p < 0,05$), а при недельном потреблении продукта грибы рода *Candida* отсутствовали (табл., группы II–V). Содержание *Bifidobacterium ssp.* на 3-е сутки в кишечнике крыс, находившихся на рационе с добавкой бурых водорослей, соответствовало контролю (табл., группа IV).

Известно, что пищевые волокна, аскорбиновая кислота, фосфор, фруктоза, инулин являются питательными веществами и ростовыми факторами жизнедеятельности молочнокислых микроорганизмов, что может отчасти прояснить наблюдаемый эффект сохранения в кишечнике популяций лакто- и бифидобактерий на фоне приема антибиотиков. Тем не менее, полученные

данные позволяют судить лишь об опосредованном влиянии продукта на микрофлору кишечника крыс, тогда как подтверждение установленных фактов требует оценки воздействия вещества на процессы роста чистых культур микроорганизмов.

Показано, что дополнение рецептуры агара Сабуро продуктом в концентрациях 50 мг и 5 мг на чашку сопровождалось достоверным снижением колониеобразующей способности у тест-штамма *C. albicans* ATCC 10231 на 60,9% и 56,8% ($46,7 \pm 0,33$ КОЕ и $51,7 \pm 1,2$ КОЕ, контроль – $119,6 \pm 0,88$ КОЕ) соответственно (рис. 1). Наличие антигрибковой активности у компонентов продукта имеет определенное практическое значение, поскольку экзометаболиты грибов рода *Candida* угнетают ростовые характеристики бифидобактерий в кишечнике [4].

Рис. 1. Влияние продукта на основе бурых водорослей Белого моря на выживаемость тест-штамма Candida albicans ATCC 10231 in vitro.

Физиологические процессы роста грамположительных кокков *S. aureus* ATCC 25923 продукт в дозе 100 мг на чашку не затрагивал. При уменьшении концентрации вещества до 50 мг на чашку наблюдали тенденцию к замедлению формирования колоний на 18,3% в сравнении с контролем. В результате проведенных исследований установлено, что продукт диетического питания из бурых водорослей Белого моря способствует поддержанию баланса молочнокислой микрофлоры, ограничению чрезмерного роста кишечных палочек, условно-патогенных бактерий и грибов при приеме антибиотиков и может быть предложен как средство профилактики дисбактериоза кишечника.

Коллектив лаборатории физиологии питания и спорта выражает искреннюю благодарность ООО «НАТИВ» РФ за предоставленную возможность изучить полезные физиологические свойства продукта диетического питания на основе бурых водорослей Белого моря.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника: Методические рекомендации / Р.В. Эпштейн [и др.] // Утв. МЗ РСФСР 14.04.1977.– М., 1977. – 20 с.
2. Борщев, Ю. Ю. Влияние пробиотических бактерий на кишечные пищеварительные ферменты у крыс при экспериментальном дисбиозе / Ю.Ю. Борщев // Автореф. канд. диссерт. биол. наук: 03.03.01– СПб, 2012. – 22 с.
3. Иванушко, Л. А. Коррекция цитокинового статуса у пациентов с ишемической болезнью сердца, сопровождающейся дислипидемией сульфатированным полисахаридом из бурой водоросли *Fucus evanescens* / Л.А. Иванушко, С.П. Крыжановский // Здоровье. Мед. экол. наука. – 2014. – Т. 57, № 3. – С. 27–28.

4. Иванова, Е. В. Влияние экзометаболитов дрожжевых грибов на ростовые свойства бифидобактерий / Е. В. Иванова, Н. Б. Перунова // Современная микология в России. Тез. докл. Второго съезда микологов России. Том 2. Раздел 10.– С.274–275.
5. Хабриев, Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ // под ред. Р.У. Хабриева – М.: Медицина. – 2005. – 832 с.
6. Санитарные правила норм 2.1.2.12-18 – 2006. Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев). Утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Респ. Беларусь 31 окт. 2006 № 131; Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г., № 755.
7. Микрофлора кишечника белых мышей и морских свинок при экспериментальном антибиотик-ассоциированным дисбактериозе и возможность ее коррекции пребиотиком «Стимбифиб» / Чичерин И.Ю. [и др.] // Журнал инфект. – 2012. – Том 4, № 1. – С. 75–80.
8. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimentation and other Scientific Purposes, N 123 of 18 March 1986.
9. Haemin represses the haemolytic activity of *Staphylococcus aureus* in an Sae-dependent manner / Schmitt J. [et al.] // Microbiology.–2012.–Vol 152, № 10. – P. 2619–2631.
10. Effect of fucoidan and fucoidan containing tea on gastric ulcer and non-ulcer dyspepsia / Y. Yamamoto [et al.] // Jpn. Pharmacol. Ther. – 2000. – Vol. 28. – P. 63–70.

Рукопись статьи поступила в редакцию 21.05.2016

**E. V. Marzinkevich, H. E. Pyzh, T. M. Lukashenko,
A. A. Biryukov**

INFLUENCE GEL FROM BROWN SEAWEED ON INTESTINAL MICROFLORA AT DYSBACTERIOSIS INITIATED ANTIBIOTICS

The article presents the results of original research on the influence of dietary food product of the White Sea seaweed on intestinal microbiocenosis against the background of dysbiosis caused by antibiotics. It was shown that the product has prebiotic properties, resulting in preserving normal flora intestinal dysbiosis in emerging in the early stages, and exhibits an antibacterial and fungicidal effects against opportunistic pathogens.