

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ИЗУЧЕНИЕ ВАРИАНТОВ ПРОБИОТИКА АЦИЛАКТ НА ЖИВЫХ МОДЕЛЯХ

**В.В. Поспелова, Ю.В. Черепанова,
В.М. Лахтин, Е.В. Криворучко**

ФГУН «Московский НИИ Эпидемиологии и микробиологии
им. Г.Н. Габричевского» РОСПОТРЕБНАДЗОРА
ул. Адмирала Макарова, 10, Москва, Россия, 125212

Л.П. Ульянова

ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН
ул. Королева, 4, Обнинск, Калужская область, Россия, 249036

Т.Е. Гвоздик, И.М. Аршба

ГУ НИИ Медицинской приматологии РАМН
Веселое 1, Сочи-Адлер, 354376

Изучали эффективность разных вариантов пробиотика Ацилакт на живых моделях. На мышях показана высокая защитная активность термообработанного варианта Ацилакта при комбинированном радиационно-термическом поражении. На кроликах и обезьянах изучена эффективность лечебно-косметического крема, приготовленного из супернатанта Ацилакта. На кроликах показано ускорение процесса заживления воспалительных очагов, вызванных внутрикожной инъекцией культуры стафилококка. На обезьянах выявлено положительное влияние крема на заживление ожогов и ран после травматических повреждений.

ФГУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского является ведущим центром России в проблеме обоснования бактериальной терапии, ее развития и реализации в создании широкого арсенала пробиотиков разных составов и лекарственных форм. Институту принадлежит приоритет в создании известных в стране микробных биопрепаратов — колибактерина, бификола, бифидина, бифидумбактерина, полибактерина и других. За время, истекшее с начала разработки этой проблемы в 60-е гг. прошлого столетия, сфера применения пробиотиков значительно расширилась и в последнее время включает не только разные формы патологии пищеварительной системы, но и заболевания верхних дыхательных путей, носоглотки, ротовой полости, жен-

ской половой сферы, челюстно-лицевую хирургию, разные области дерматологии и иммунологии [1].

Каждый новый биопрепарат после экспериментально-теоретического обоснования и тщательного лабораторного изучения проходил доклинические испытания на живых моделях. В ходе апробации пробиотиков на обезьянах при острых и хронических формах патологии кишечника была определена эффективность микробных биопрепаратов разного видового состава и уточнены схемы терапии. Детальные наблюдения за процессом приживания вводимых в пищеварительный тракт обезвоженных культур производственных штаммов позволили обосновать создание фармакопейных лекарственных форм пробиотиков, не требующих предварительной регидратации, т.е. пригодных для использования у экипажей космических и подводных кораблей, участников арктических экспедиций и по экстренным показаниям в зонах лучевой радиации. Материалы многолетних наблюдений за эффективностью пробиотиков при дисбиотических нарушениях кишечника у обезьян были суммированы в Методических рекомендациях по применению пробиотиков при клинически выраженных дисбактериозах у обезьян в условиях питомников и зоопарков [2]. Апробация на обезьянах ныне широко известного консорциума из трех штаммов ацидофильных лактобактерий Ацилакта выявило его высокую эффективность при кишечных инфекциях и дисбактериозах и позволила пересмотреть схему применения пробиотика путем сокращения продолжительности курса лечения. Согласно данным углубленных клинических наблюдений, Ацилакт оказывает коррекционное воздействие на нарушенную симбиотическую микрофлору и положительно влияет на состояние иммунной и интерфероновой систем организма человека [3, 4]. Штаммы *L.acidophilus*, входящие в состав Ацилакта, включены в трехкомпонентный консорциум по совокупности индивидуальных штаммоспецифических свойств и высокой антагонистической активности, обеспечивающей диаметр зон задержки роста тест-штаммов на плотной питательной среде не менее 20 мм.

В опытах на гибридных F₁ мышах линии СВА*С₅₇ВL₆ моделировали комбинированное радиационно-термическое поражение путем облучения мышей в дозе 7 Гр с последующим нанесением ожога ШБ степени 10% поверхности тела. Однократное подкожное введение термообработанного варианта Ацилакта в объеме 0,1 мл достоверно повышало выживаемость мышей от 23% в контроле до 73% в опыте и существенно снижало колонизацию тонкой кишки условно-патогенными микробами, обеспечивая профилактику аутоинфекционных осложнений после радиационного воздействия. Наряду с применением варианта Ацилакта как средства защиты при комбинированных радиационно-термических поражениях была показана его эффективность для защиты нормальных тканей от миелотоксического действия ионизирующей радиации в сублетальных дозах и противоопухолевых цитостатиков (циклофосфана). Введение препарата за 24 часа до облучения вызывало увеличение числа эндогенных колониеобразующих единиц селезенки в 3,4—6,7 раза и ускорение восстановления числа клеток костного мозга. Кроме того, у мышей, получавших термообработанный вариант Ацилакта, к исходу пер-

вой недели после облучения или воздействия циклофосфаном увеличивалось количество лейкоцитов периферической крови за счет гранулоцитов и моноцитов, повышалось число эритроцитов и концентрация гемоглобина. Одновременно установлено повышение концентрации геморегулирующих цитокинов ИЛ-3 и ИЛ-6 в сыворотке крови и TNF- α . У интактных мышей отмечено повышение фагоцитарной и цитотоксической активности перитонеальных макрофагов [5].

Одним из новых направлений в разработке лекарственных форм Ацилакта является создание препарата нового поколения на основе метаболитов производственных штаммов, свободных от живых микробных клеток. Очищенные метаболиты, полученные из препарата Ацилакт, обладают набором важных карбоновых кислот и спектром аминокислот, в число которых входят компоненты пептидогликанов клеточной стенки, играющих важную роль в иммуномодулирующих свойствах лактобацилл. С использованием метаболитов препарата Ацилакт были изготовлены экспериментальные партии лечебно-косметического крема, которые выдержали без изменений установленные сроки хранения — 12 месяцев. Для получения крема супернатант Ацилакта соединяли со структурной основой, принятой для лечебно-косметических кремов [6].

В порядке доклинического изучения кремы были испытаны на кроликах при очаговой стафилококковой инфекции и в комплексном хирургическом лечении обезьян с различными травматическими повреждениями. Каждому из 10 кроликов на трех участках тщательно выстриженной спины справа вводили внутрикожно по 0,1 мл суточной культуры музейного штамма стафилококка средней вирулентности в концентрации 10^9 /мл для получения очагов воспаления. Одновременно на симметричном участке спины слева (контроль) внутрикожно вводили 0,1 мл той же культуры и оставляли без дальнейшего воздействия кремом. На 3-и сутки после введения культуры стафилококка на всех участках инъекции сформировались выраженные воспалительные очаги, которые характеризовались гиперемией и опухолью от 0,6 до 1,7 см в диаметре.

Начиная с 3-го дня от момента заражения, ежедневно на все опытные очаги воспаления наносили обильную порцию крема и отмечали динамику процесса вплоть до 23-го дня. На протяжении первых трех дней лечения видимых изменений в состоянии воспалительных очагов в опыте и контроле не отмечено. На 4-е сутки в 8 опытных очагах зафиксировано начало формирования струпа, а на 5-е сутки начало формирования струпа возросло до 11 очагов, и во всех очагах, включая контрольные, отмечалось уменьшение гиперемии при сохранении опухоли. К 6-му и 7-му дням во всех опытных очагах сформировался струп, гиперемия существенно уменьшилась, опухоль сохранялась. На 9—10-е сутки в некоторых опытных очагах отмечено начало отторжения струпа, а в контроле в одном очаге — начало формирования струпа. К 11—15-му дням в опытных очагах произошло отторжение струпа. В контроле на 15—16-й день отторжение струпа только началось. В опытных очагах полное отторжение струпа завершилось к 15-му дню, а в 5 очагах контроля отторжение струпа продолжалось до 22—23-го дня. Уплотнение к концу опыта сохранялось в 4 опытных и 3 контрольных очагах. Модели-

руемый бактериальный воспалительный процесс кожи вызывал коагуляционную форму некроза без нагноения и изъязвлений. Заживление проходило под тонким сухим струпом, отторжение — отдельными участками. После отторжения струпа кожа оставалась гладкой, без рубцов. Таким образом, испытания лечебно-косметического крема из супернатанта Ацилакта показали его хорошую переносимость и эффективность как средства, способствующего заживлению кожных воспалительных очагов (табл. 1).

Таблица 1

Динамика развития кожного воспалительного процесса у кроликов при применении крема из супернатанта пробиотика Ацилакт

Дни наблюдения	Опыт	Контроль
1—3	Выраженная гиперемия и опухоль ($d = 1,3$) во всех очагах	Выраженная гиперемия и опухоль ($d = 1,3$)
3—4	Слабовыраженная гиперемия и опухоль ($d = 1,0$) во всех очагах	Слабовыраженная гиперемия и опухоль ($d = 1,0$) во всех очагах
5	Слабовыраженная гиперемия и опухоль ($d = 0,7$) во всех очагах. В очаге 1 начало формирования струпа	Слабовыраженная гиперемия и опухоль ($d = 0,8$)
6—7	Слабовыраженная гиперемия и опухоль ($d = 0,6$). Во всех очагах струп	Слабовыраженная гиперемия и опухоль ($d = 0,8$)
9—10	Гиперемии нет, опухоль умеренная ($d = 0,6$). Во всех очагах струп. Начало отторжения струпа	Слабовыраженная гиперемия, опухоль умеренная
11—15	Полное отторжения струпа во всех очагах	Слабовыраженная гиперемия, умеренная опухоль, начало формирования струпа
15—16	Полное отторжения струпа во всех очагах	Гиперемии нет, слабовыраженная опухоль, струп
16—23	Полное отторжения струпа во всех очагах	Гиперемии нет, слабовыраженная опухоль. Струп. Начало и завершение отторжения струпа

На базе питомника ГУ НИИ медицинской приматологии РАМН крем из супернатанта Ацилакт был применен 23 обезьянам с разными травматическими повреждениями. В их числе было 7 макаков резусов, страдавших повреждениями кожных покровов хвоста в результате термических ожогов и ран. Ежедневное однократное нанесение крема привело к быстрому заживлению ран без нагноения, позволило исключить грозившую у отдельных особей ампутацию поврежденного хвоста.

Обезьяны другой группы в количестве 16 особей поступили в клинику питомника с травматическими повреждениями разных частей тела различной тяжести, требовавшими хирургического лечения. В этой группе были обезьяны обоих полов (по 8 самок и самцов) в возрасте преимущественно от 2 до 11 лет и 5 особей от 15 до 20 лет. По видовому составу в группе были представлены макаки резус (9) и яванские (4), макаки лапундер (1), павиан анубис (1) и зеленая мартышка (1). В числе поврежденных, требовавших хирургического лечения, были разнообразные гнойные раны в области головы, шеи, груди, туловища и конечностей. Комплексное хирургическое лечение травмированных обезьян включало первичную антисептическую обработку, наложение швов с последующим нанесением крема, дез-

интоксикацию, назначение общей антибиотикотерапии, мультивитаминов, в отдельных случаях, по показаниям, раствора Рингера капельно. Крем наносили на раны поверх швов ежедневно, однократно. Контрольную группу составили 18 обезьян, одинаковых с опытной группой по полу, возрасту и характеру повреждений. В комплексную терапию этой группы обезьян крем не включали. Как показывает анализ результатов лечения, применение крема положительно влияло на процесс заживления ран, ускоряло их очищение от гноя и некротических тканей, способствовало заживлению швов первичным натяжением. Включение крема в комплексную терапию обезьян с данными формами патологии сокращало сроки лечения и ускоряло процесс выздоровления. На это указывает также сравнение продолжительности лечения обезьян двух групп: из 16 особей опытной группы, получавших Ацилакт, большая часть лечилась до 15 дней, и только одна пребывала в стационаре дольше — до 27 дней. В контрольной группе только 6 были вылечены в сроки до 15 дней, а остальные дольше, вплоть до 30—33 дня (табл. 2).

Таблица 2

Продолжительность комплексного хирургического лечения обезьян с травматическими повреждениями

Продолжительность лечения в днях	
В опытной группе с применением крема	В контрольной группе без применения крема
4, 4, 6, 8, 10, 10, 11, 12	9, 9, 14, 14, 15, 15, 17, 19, 19
14, 15, 16, 17, 18, 19, 19, 27	22, 24, 24, 25, 27, 27, 30, 33, 33

Таким образом, включение крема из супернатанта пробиотика Ацилакт в комплексное хирургическое лечение обезьян с травматическими и ожоговыми повреждениями оказывало положительное влияние на динамику процесса, способствовало заживлению швов первичным натяжением и сокращало сроки лечения.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Онищенко Г.Г., Аleshкин В.А., Афанасьев С.С. и др.* Иммунобиологические препараты и перспективы их применения в инфектологии. — М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002. — 608 с.
- [2] *Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Поспелова В.В. и др.* Применение бактериальных биопрепаратов при клинически выраженных дисбактериозов у обезьян в условиях питомников и зоопарков // Методические рекомендации. — Сухуми, 1986.
- [3] *Поспелова В.В., Рахимова Н.Г., Ворошилина Н.Н. и др.* Препарат из живых лактобактерий // Патент РФ № 2053781 зарегистрирован 10.02.1996. — 8 с.
- [4] *Николаенко В.Н., Лопатина Т.К., Поспелова В.В. и др.* Влияние биопрепарата Ацилакта на иммунную систему детей, больных атопическим дерматитом // Иммунология. — 1996. — № 2. — С. 54—57.
- [5] *Будагов Р.С., Ульянова Л.П., Поспелова В.В.* Защитная активность нового варианта пробиотика Ацилакт при ионизирующей радиации и противоопухолевой химиотерапии в эксперименте // Вестник РАМН. — 2006. — № 2. — С. 3—5.
- [6] *Поспелова В.В., Черепанова Ю.В., Волкова Е.В. и др.* Разработка лечебно-косметических кремов на основе метаболитов молочнокислых бактерий // Актуальные вопросы пластической, эстетической хирургии и дерматокосметологии. Сб. трудов НИИ пластической хирургии и косметологии. — М., 2007. — С. 146—153.

RESEARCH STUDIES OF PROBIOTIC ACILACT VERSIONS USING ANIMAL MODELS

**V.V. Pospelova, Yu.V. Cherepanova,
V.M. Lahtin, E.V. Krivoruchko**

G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology
Adm. Makarov str., 10, Moscow, Russia, 125212

L.P. Ulianova

Research Center for Medical Radiology of the Russian Academy of Medical Science
Koroliyov str., 4, Obninsk, Kaluga Region, Russia, 249036

T.E. Gvozdik, I.M. Arshba

Research Institute for Medical Primatology of the Russian Academy of Medical Science
Veseloje 1, Sochi-Adler, Russia, 354376

The effectiveness of different probiotic Acilact versions was investigated using animal models. The high protective activity of heat treated Acilact version was demonstrated in the experiments on mice which had suffered the combined radiation and thermic injuries. The effectiveness of medicinal cosmetic cream prepared from the Acilact supernatant was tested on rabbits and monkeys. The experiments on rabbits showed that the inflammatory foci caused by the intracutaneous injection of *Staphylococcus* culture were repaired more rapidly than in the control group. The cream had a positive impact on the burn and wound healing after traumatic injuries in monkeys.

Key words: mice, rabbits, monkeys, burns, injuries, medicinal cream.