

О.Є. Абатуров, О.М. Герасименко

Ефективність ерадикації *helicobacter pylori* при поєднаному застосуванні антибактеріальної та пробіотичної терапії у дітей, хворих на хронічний гастродуоденіт

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»

Мета: вивчення ефективності застосування пробіотика, що містить лактобактерії *Lactobacillus rhamnosus* штам *Rosell-11* (95%) і *Lactobacillus acidophilus* штам *Rosell-52* (5%), при лікуванні хелікобактерної інфекції у дітей.

Пацієнти і методи. З метою лікування *H.pylori*-асоційованого хронічного гастродуоденіту у 25 дітей (середній вік $13,49 \pm 0,54$ року) в семиденній схемі «потрійної» антихелікобактерної ерадикаційної терапії використовували пробіотичний препарат. Групу порівняння склали 20 дітей, які одержували «потрійну» антихелікобактерну терапію без включення пробіотичного препарату.

Результати. На тлі комбінованої терапії з використанням пробіотичного препарату відбувався швидший регрес інтенсивності основних синдромів захворювання, достовірно збільшення вмісту *sCD14*, яке пов'язане з тенденційним зниженням активності *NF-κB*, підвищення ефективності ерадикації *H.pylori*

Висновки. Призначення пробіотичного препарату «Лацидофіл» у поєднанні зі стандартною терапією достовірно сприяє збільшенню ефективності ерадикації *H.pylori*. Одним з імовірних механізмів дії пробіотичних *Lactobacillus*, що сприяють процесу одужання, можна вважати індукцію синтезу *sCD14*, який перешкоджає порушенню взаємодії ліпополісахаридів *H.pylori* з Toll-подібними рецепторами.

Ключові слова. *H.pylori*, хронічний гастродуоденіт, лацидофіл, *NF-κB*, *sCD14*, діти.

Вступ

На даний час на підставі результатів численних рандомізованих, плацебо-контрольованих, порівняльних досліджень визначено ефективність різних пробіотичних засобів при різних клінічних ситуаціях, у тому числі і при хелікобактерній інфекції, як у дітей, так і у дорослих пацієнтів [5,8,10]. Незважаючи на деякі досягнення у розумінні дії пробіотиків на бактерії *H.pylori*, її тонкі механізми залишаються мало вивченими. Основним інгібуючим та/або бактерицидним фактором *Lactobacillus* є молочна кислота, яку вони продукують у великих кількостях [3]. Молочна кислота інгібує активність уреаз *H.pylori* [6] і, як припускають, чинить свою антимікробну дію за рахунок зниження рН у просторі люмена шлунка. Проте було встановлено, що молочна кислота, яка продукується клітинами слизової оболонки шлунка (СОШ), сприяє зростанню колонії *H.pylori* [7]. Крім молочної кислоти, лактобактерії та деякі інші пробіотичні штами продукують антибактеріальні пептиди. Так, *L. acidophilus* CRL 639 продукує аутолізин, який обумовлює лізис *H.pylori*. [4], *L. reuteri* ATCC 55730 — рейтерин, інгібуючий зростання колонії *H.pylori* [2].

Метою дослідження було вивчення ефективності застосування пробіотика, що містить лактобактерії *Lactobacillus rhamnosus* штам *Rosell-11* (95%) і *Lactobacillus acidophilus* штам *Rosell-52* (5%), при лікуванні хелікобактерної інфекції у дітей.

Матеріал і методи дослідження

Під спостереженням знаходилися 45 дітей віком від 10 до 16 років, хворі на хронічний *H.pylori*-асоційований гастродуоденіт у стадії загострення, які знаходилися на обстеженні і лікуванні у спеціалізованому дитячому гастроентерологічному відділенні Комунального закладу «Дніпропетровська дитяча міська клінічна лікарня №1» Дніпропетровської обласної ради.

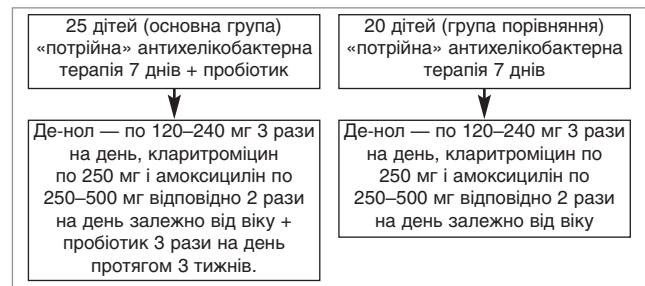


Рис.1. Розподіл дітей на групи залежно від схеми антихелікобактерної терапії

Методом випадкової вибірки діти були розподілені на дві групи (рис. 1).

У якості пробіотичного препарату нами був обраний пробіотик, що містить живі бактерії *Lactobacillus rhamnosus* штам *Rosell-11* (95%) і *Lactobacillus acidophilus* штам *Rosell-52* (5%), культура яких виділена в Інституті Пастера, Франція (Національна колекція культур мікроорганізмів — CNCM). Єдиний в Україні пробіотик, що містить *Lactobacillus rhamnosus* штам *Rosell-11* (95%) і *Lactobacillus acidophilus* штам *Rosell-52* (5%), представлений препаратом «Лацидофіл®», розробленим співробітниками Інституту Розель (Institut Rosell, Канада). В одній капсулі препарату міститься не менше двох мільярдів живих бактерій. Дані штами мають високий рівень виживаності при подоланні кислотного бар'єру шлунка і лужного бар'єру дванадцятипалої кишки, виживають у присутності високої концентрації жовчних кислот, у них відсутній ген антибіотикорезистентності. Препарат має високий профіль безпеки, оскільки містить лише представників нормальної мікрофлори кишечника.

Експерименти *in vitro* показують, що *Lactobacillus acidophilus* *Rosell-52* і *Lactobacillus rhamnosus* *Rosell-11* здатні пригнічувати адгезію до епітеліальних клітин кишечника і

зростання ентеропатогенної *Escherichia coli* O127:H6 та ентерогеморагічної *Escherichia coli* O157:H7, які викликають тривалу діарею у дітей і геморагічний коліт відповідно. Для ефективного пригнічення росту *Escherichia coli* необхідна концентрація лактобактерій понад 10^8 КУО/мл.

Здатність штамів *Lactobacillus acidophilus* Rosell-52 і *Lactobacillus rhamnosus* Rosell-11 гальмувати адгезію *Escherichia coli* пов'язана не тільки з явищем конкурентного виключення. Передбачається існування інших механізмів гальмування, таких як здатність безпосередньо зв'язувати *Escherichia coli* [9].

Так, показано, що *Lactobacillus acidophilus* Rosell-52 пригнічують ріст інших патогенних мікроорганізмів. У дослідженні *in vitro* продемонстровано, що *Lactobacillus acidophilus* Rosell-52 і *Lactobacillus rhamnosus* Rosell-11 достовірно пригнічують ріст *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium difficile* і *Clostridium perfringens*. Частково пригнічувана дія спостерігається відносно *Candida albicans*. Інгібуюча дія на колонії патогенних бактерій відбувається завдяки продукції бактеріоцинів пробіотичними бактеріями [1].

З метою лікування *H. pylori*-асоційованого хронічного гастродуоденіту у 25 дітей віком від 10 до 16 років у семиденній схемі «потрійної» антихелікобактерної ерадикаційної терапії використовували пробіотичний препарат, що містить лактобактерії *Lactobacillus rhamnosus* штам Rosell-11 і *Lactobacillus acidophilus* штам Rosell-52, який призначали по 1 капсулі 3 рази на добу після прийому їжі.

Тривалість лікування пробіотиком становила три тижні з контролем ефективності на 7 і 28 день від початку терапії. Критеріями ефективності лікування була оцінка динаміки клінічних показників і безпеки лікування; показників концентрації у сироватці крові sCD14; експресії NF-κB CD40+-клітинами периферичної крові, ефективність ерадикації *H. pylori*.

Діти, які одержували «потрійну» антихелікобактерну терапію без включення пробіотичного препарату, увійшли до групи порівняння (20 дітей). Контроль ерадикації *H. pylori* проводили через шість тижнів після закінчення антихелікобактерної терапії.

Усім дітям проведено фізикальне та загальноклінічне лабораторне обстеження, ендоскопічне дослідження стравоходу, шлунка і дванадцятипалої кишки (ФЕГДС, Pentax FG-15W (Японія), визначення кислото- та секретотвірної функції, УЗД органів черевної порожнини. Для ідентифікації *H. pylori* використовували: швидкий уреазний тест «Хелпіл»-тест (ТОВ «АМА», Санкт-Петербург, Росія); дихальний «Хелік»-тест з використанням індикаторних «Хелік»-трубок (ТОВ «АМА», Санкт-Петербург, Росія); визначення у сироватці венозної крові сумарних імуноглобулінів (IgM, IgA, IgG) до Ag CagA білка *H. pylori* методом ІФА («ХелікоБест-антитіла», «Вектор-Бест», Росія).

Для визначення експресії NF-κB CD40+-клітинами суспензію мононуклеарів периферичної крові інкубували з моноклональними антитілами (мкАТ) до поверхневих антигенів CD40. До 50 мкл суспензії (105 клітин) додавали 5 мкл мкАТ, мічених FITC, проти CD40 («Caltag», США) та інкубували 20 хв при температурі 4°C. Потім клітини відмивали шляхом центрифугування з 1 мл фосфатно-сольового буферу (ФСБ) при 1500 об/хв протягом 5 хвилин. Ресуспендовані клітини фіксували розчином («Caltag», США) 20 хв при температурі 4°C. Пермеабілізацію проводили у присутності мкАТ проти субодиноці р65 молекули NF-κB («BD Biosciences Pharmingen», США) протягом 40 хв при температурі 4°C. Після одно-

разового відмивання до ресуспендованих клітин додавали другі мкАТ, мічені PE («Caltag», США). Після 20-хвилинної інкубації клітини відмивали, додавали 0,5 мл ФСБ та аналізували проби на проточному цитофлуориметрі EPIX LX-MCL («Beckman Coulter», США), використовуючи програму System IT™ software. Для збудження флуорисценції використовували аргонний лазер з довжиною хвилі 488 нм. Додатково до флуорисцентних параметрів проводили реєстрацію прямого та бокового світлорозсіювання клітин, що дозволяло виключати з аналізу конгломерати клітин, їх уламки. Молекулярно-генетичні дослідження проводились в НДІ генетичних та імунних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава (д.мед.н., проф. І.П. Кайдашев).

Метод твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) застосовували для оцінки концентрації у сироватці крові sCD14, використовуючи ELISA test kit, Diaclone, France (лабораторія «Діагностичний центр медичної академії», м. Дніпропетровськ).

Дослідження проводилося відповідно до етичних принципів GCP – Якісної Клінічної Практики щодо медичного дослідження. На участь у науковому дослідженні, яке проводили з дозволу локальної комісії з біоетики КЗ «ДДМКЛ №1» ДОР», було отримано інформовану згоду батьків пацієнтів.

Статистичну обробку отриманих результатів проведення за допомогою пакетів комп'ютерних статистичних програм Statgraf, Matstat, Statistica 10.0. При вивченні значущості відмінностей статистичних вибірок використовувались пара- і непараметричні критерії. Достовірність розходжень при розподілі, відмінному від нормального, оцінювалася за допомогою U-критерія Манна–Вітні, для даних із нормальним розподілом – t-критерія Стьюдента. Для порівняння частоти ознаки між досліджуваними групами використовували критерій χ^2 (Chi-square test) з кількістю ступенів свободи, що дорівнювала 1. Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Діти в обох групах були порівнянні за віком, статтю та тривалістю хвороби, у всіх пацієнтів підтверджено *H. pylori*-смагус. Середній вік дітей в основній групі склав $13,49 \pm 0,54$ року, у групі порівняння – $13,42 \pm 0,53$ року. Хлопчики склали в основній групі 64% (16 дітей), у групі порівняння – 65% (13); дівчатка – 36% (9) і 35% (7) відповідно. Тривалість захворювання в групах становила $28,63 \pm 4,17$ та $27,55 \pm 5,86$ місяця відповідно.

До початку лікування у дітей обох груп спостерігалися клінічні прояви захворювання у вигляді як виразного болю в епігастральній ділянці (27 хворих – 60%), так і помірного, без чіткої локалізації (18–40%), болю з виразними диспептичними симптомами: нудота (8–17,8%), відрижка кислим (17–37,8%), повітрям (23–51,1%), тяжкість у шлунку після їжі (9–20%), нестійкість випорожнень зі схильністю до закрепів (17–37,8%) та ін. Астенo-вегетативний синдром (загальна слабкість, нездужання, зниження апетиту, підвищена стомлюваність, порушення сну, лабільність емоційного тону) відмічався майже у всіх дітей. При фізикальному обстеженні усі діти при пальпації живота скаржилися на біль в епігастральній та/або пілородуоденальній ділянках.

При ендоскопічному дослідженні у всіх дітей мала місце еритематозна гастро- та дуоденопатія; лімфофолікулярна гіперплазія виявлялася у 13 (28,9%) пацієнтів; дуоденогастральний рефлюкс спостерігався у 9 (20%)

Лацидофіл та антибіотик – суперкоманда

для лікування за правилами!



Сертифікат про державну реєстрацію № 531/10-300200000 від 17.04.2013

САМОЛІКУВАННЯ МОЖЕ БУТИ ШКІДЛИВИМ ДЛЯ ВАШОГО ЗДОРОВ'Я

Перед застосуванням обов'язково ознайомитись з інструкцією та проконсультуватись з лікарем. Рецидивні гіркотами лагобу.

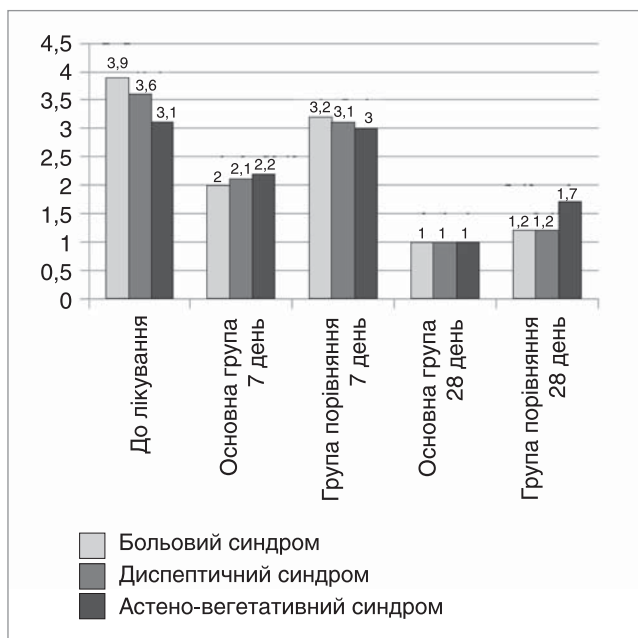


Рис. 2. Динаміка основних клінічних синдромів у дітей, хворих на хронічний гастродуоденіт, на тлі проведення ерадикаційної антихелікобактерної терапії

випадків. Показники гематологічних досліджень (клінічні та біохімічні) були в межах фізіологічної норми у пацієнтів обох груп, у копроцитогамі відмічались ознаки помірного порушення екзокринної функції підшлункової залози.

Клінічні симптоми болю до і на тлі лікування хворих оцінювали за 4-бальною шкалою: 1 бал – не турбує, 2 бали – мінімальний (трохи непокоїть, можна не звертати уваги), 3 бали – помірний (помірно турбує, але не порушує денну активність або сон), 4 бали – виразний (сильно турбує, порушує денну активність або сон).

При порівнянні динаміки клінічних симптомів на 7 і 28 добу від початку ерадикаційної антихелікобактерної терапії було встановлено, що на тлі комбінованої терапії з використанням пробіотичного препарату відбувався швидший регрес інтенсивності основних синдромів захворювання. Так, до початку лікування середній бал больового синдрому склав у дітей обох груп 3,8 бала; диспептичного – 3,3; астено-вегетативного – 3,9; після лікування на 7-й день: больового – 2,0 та 3,2; диспептичного – 2,1 та 3,1; астено-вегетативного – 2,2 та 3,0 бали; на 28-й день після лікування больового – 1,0 та 1,2; диспептичного – 1,0 та 1,2; астено-вегетативного – 1,0 та 1,7 відповідно у дітей в основній групі та групі порівняння (рис. 2).

При проведенні ерадикаційної антихелікобактерної терапії у дітей основної групи, у лікування яких був включений пробіотичний препарат, антибіотикоасоційовані ураження кишечника практично не виявлялися: у 2 (10%) дітей відмічено у перші три доби нудоту, помірне здуття кишечника, послаблення випорожнень.

У групі порівняння антибіотикоасоційовані ураження кишечника спостерігалися у 1/3 пацієнтів і характеризувалися клінічними симптомами диспепсії (нудота – 3 (15%), металевий присмак у роті – 2 (10,0%), тяжкість і відчуття дискомфорту в шлунку, метеоризм – 3 (15%) і проявами коліту – 2 (10%) у вигляді послаблення випорожнень або запору з наявністю домішків слизу в калі).

Встановлено, що на тлі поєднаної ерадикаційної терапії з пробіотичним препаратом відбувається достовірне збільшення вмісту sCD14, яке пов'язане з тенденційним зниженням активності NF-κB (табл. 1). Цілком ймовірно, що посилення продукції sCD14 на дію пробіотичної терапії є стереотипною реакцією організму, яка сприяє зниженню активності запального процесу за рахунок інактивації та елімінації ліпополісахаридів інфекційних агентів.

Ерадикація *H.pylori* була досягнута у 96% пацієнтів (у 70% пацієнтів групи контролю), що свідчить про підвищення ерадикаційної активності «потрійної» антихелікобактерної терапії при додатковому призначенні пробіотичного препарату, до складу якого входять штами

Таблиця 1

Показник	До лікування M±m	Після лікування	
		Название	
		Основна група M±m	Група порівняння M ± m
NF-κB ⁺ (%)	44,4±4,4	37,4±6,1	43,1±4,1
NF-κB ⁺ max	0,71±0,04	0,62±0,06	0,70±0,04
sCD14	3293,47±235,08	4119,5±402,3	3693,47±229,08

Примітка: NF-κB⁺ (%) – рівень експресії NF-κB⁺ серед лімфоцитів (%) (Pu>0,05); NF-κB⁺ max – максимальний рівень експресії NF-κB⁺ (Pu>0,05); sCD14 – рівень солютабного CD14 (нг/мл) (Pu <0,05)

Таблиця 2

Ефективність ерадикаційної терапії, поєднаної з пробіотичним препаратом, який містить штами лактобактерій *Lactobacillus rhamnosus* Rosell-11 і *Lactobacillus acidophilus* Rosell-52 (за результатами дихального «Хелік»-тесту)

Група спостереження	Кількість спостережень (n=45)	Результат дихального тесту		Вірогідність χ ²
		Негативний	Сумнівний або позитивний	
Основна група: «потрійна» антихелікобактерна терапія 7 днів + пробіотик	25 (55,6%)	24 (96%)	1 (4%)	P=0,033654*
Група порівняння: «потрійна» антихелікобактерна терапія 7 днів	20 (44,6%)	14 (70%)	6 (30%)	

Примітка: * P – рівень значущості, отриманий за допомогою тесту χ² (Chi-squared test)

лактобактерий *Lactobacillus rhamnosus Rosell-11* і *Lactobacillus acidophilus Rosell-52* ($p < 0,05$) (табл. 2).

Висновки

Таким чином, комбінація стандартної терапії і пробіотичного препарату «Лацидофіл» достовірно

сприяє збільшенню ефективності ерадикації *H.pylori*. Одним з імовірних механізмів дії пробіотичних *Lactobacillus*, що сприяють процесу одужання, можна вважати індукцію синтезу sCD14, який перешкоджає взаємодії ліпополісахаридів *H.pylori* з Toll-подібними рецепторами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лацидофил. — Institut Rosell, 2009. — 43 с.
2. Anti Helicobacter pylori activity among lactic acid bacteria isolated from gastric biopsies and strains of Lactobacillus euteri (abstract) / C. Johnson, J. Dicksved, H. Jonsson, S. Roos // Helicobacter. — 2003. — Vol. 8. — P. 473.
3. In vitro inhibition of Helicobacter pylori NCTC 11637 by organic acids and lactic acid bacteria / P. D. Midolo, J. R. Lambert, R. Hull [et al.] // J. Appl. Bacteriol. — 1995. — Vol. 79 (4). — P. 475—9.
4. Lactobacillus acidophilus autolysins inhibit Helicobacter pylori in vitro / G. L. Lorca, T. Wadstrom, G. F. Valdez, A. Ljungh // Curr. Microbiol. — 2001. — Vol. 42 (1). — P. 39—44. doi 10.1007/s002840010175.
5. Lactobacillus reuteri in the treatment of Helicobacter pylori infection / M. P. Dore, M. Cuccu, G. M. Pes [et al.] // Intern Emerg Med. — 2013. — Nov 1.
6. Lesbros-Pantoflickova D. Helicobacter pylori and probiotics / D. Lesbros-Pantoflickova, I. Corthesy-Theulaz, A. L. Blum // J. Nutr. — 2007. — Vol. 137 (3 Suppl 2). — P. 812—8.
7. L-lactic acid secreted from gastric mucosal cells enhances growth of Helicobacter pylori / T. Takahashi, T. Matsumoto, M. Nakamura [et al.] // Helicobacter. — 2007. — Vol. 12 (5). — P. 532—40. doi: 10.1111/j.1523—5378.2007.00524.x.
8. Meta-analysis of randomized controlled trials on the efficacy of probiotics in Helicobacter pylori eradication therapy in children / S. Li, X.L. Huang, J.Z. Sui [et al.] // Eur. J. Pediatr. — 2013. — Dec 10.
9. Probiotics reduce enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7- and enteropathogenic E. coli O127:H6-induced changes in polarized T84 epithelial cell monolayers by reducing bacterial adhesion and cytoskeletal rearrangements / P. M. Sherman, K. C. Johnson-Henry, H. P. Yeung [et al.] // Infect. Immun. — 2005. — Vol. 73, № 8. — P. 5183—5188.
10. Zheng X. Lactobacillus-containing probiotic supplementation increases Helicobacter pylori eradication rate: Evidence from a meta-analysis / X. Zheng, L. Lyu, Z. Mei // Rev. Esp. Enferm. Dig. — 2013. — Vol. 105 (8). — P. 445—453.

Эффективность эрадикации helicobacter pylori при сочетанном применении антибактериальной и пробиотической терапии у детей с хроническим гастродуоденитом

А.Е. Абатуров, О.Н. Герасименко

Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины»

Цель: изучение эффективности применения пробиотика, содержащего *Lactobacillus rhamnosus* штамм Rosell-11 (95%) и *Lactobacillus acidophilus* штамм Rosell-52 (5%), при лечении хеликобактерной инфекции у детей.

Пациенты и методы. С целью лечения *H.pylori*-ассоциированного хронического гастродуоденита у 25 детей (средний возраст 13,49±0,54 года) в семидневной схеме «тройной» антихеликобактерной эрадикационной терапии использовали пробиотический препарат. Группу сравнения составили 20 детей, получавшие только базисную «тройную» антихеликобактерную терапию.

Результаты. На фоне комбинированной терапии с использованием пробиотического препарата происходил более быстрый регресс интенсивности основных синдромов заболевания, достоверное увеличение содержания sCD14, которое связано с тенденциозным снижением активности NF-κB, повышение эффективности эрадикации *H.pylori*.

Выводы. Назначение пробиотического препарата «Лацидофил» в сочетании со стандартной терапией достоверно способствует увеличению эффективности эрадикации *H.pylori*. Одним из возможных механизмов действия пробиотических *Lactobacillus*, способствующих процессу выздоровления, можно считать индукцию синтеза sCD14, который препятствует взаимодействию липополисахаридов *H.pylori* с Toll-подобными рецепторами.

Ключевые слова. *H.pylori*, хронический гастродуоденит, Лацидофил, NF-κB, sCD14, дети.

Eradication efficacy helicobacter pylori the combined use of antibacterial and probiotic therapy in children with chronic gastroduodenitis

А.Е. Abaturov, O.N. Gerasymenko

State Establishment «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine» Purpose.

To study the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus rhamnosus* strain Rosell-11 (95%) and *Lactobacillus acidophilus* strain Rosell-52 (5%) in the treatment of *H. pylori* infection in children.

Patients and methods. For treatment of *H.pylori*-associative chronic gastroduodenitis in 25 children (mean age 13,49±0,54) in the seven-day scheme «triple» of *H. pylori* eradication therapy used probiotic drugs. Comparison group consisted of children (20), which received only basic «triple» *H. pylori* therapy.

Results. Shown that during treatment with combination therapy using probiotic preparation is more rapid regression of the intensity of the main disease syndromes, significant increase of sCD14, which is associated with decreased activity of tendentious NF-κB, efficiency eradication *H.pylori*.

Conclusions. The purpose of the probiotic preparation «Lacidofil» in combination with standard therapy significantly increases the effectiveness of eradication of *H.pylori*. One of the possible mechanisms of action of probiotic *Lactobacillus*, contributing to the healing process, we can assume the induction of synthesis of sCD14, which prevents the disruption of the interaction of LPS with *H.pylori* Toll- like receptors.

Key words: *H.pylori*, chronic gastroduodenitis, Lacidofil, NF-κB, sCD14, children.

Сведения об авторах:

Абатуров Александр Евгеньевич — д.мед.н., проф., зав. каф. факультетской педиатрии и медицинской генетики Днепропетровской медицинской академии МЗ Украины. Адрес: г. Днепропетровск, ул. Дзержинского, 9; тел./факс: (056) -725-06-09.

Герасименко Ольга Николаевна — к.мед.н., доц. кафедры факультетской педиатрии и и медицинской генетики Днепропетровской медицинской академии МЗ Украины. Адрес: г. Днепропетровск, ул. Дзержинского, 9; тел./факс: (056) -725-06-09.

Статья поступила в редакцию 21.03.2014 г.