

© Гураль А.Р., Панас М.А., Корнійчук О.П.

УДК: 612.336.3:615.276.065]-08

**Гураль А.Р., Панас М.А., Корнійчук О.П.**

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра мікробіології (вул. Пекарська 69, м. Львів, 79010, Україна)

## **ВПЛИВ НЕСТЕРОЇДНОГО ПРОТИЗАПАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НАПРОКСЕНУ НА МІКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

---

**Резюме.** Досліджено вплив напроксену на мікробіоценоз вмісту різних відділів травного каналу білих щурів (N=20), яким вводили препарат у дозі 10 мг/кг *per os*. При скринінговому дослідженні активності напроксену на стандартні культури мікроорганізмів *in vitro* встановлено інгібуючий вплив напроксену на *Staphylococcus aureus* ATCC 25923(F - 49), *Candida albicans* ATCC 885-653, відсутність ефекту відносно *Escherichia coli* ATCC 25922. Застосування напроксену дозволило констатувати активацію усіх груп досліджених мікроорганізмів у проксимальних відділах травного каналу в порівнянні з показниками тварин інтактної групи. Встановлено наявність ешерихій у всіх відділах травного каналу при застосуванні напроксену на тлі відсутності кишкової палички в *diodepit* інтактних тварин (у досліді - на рівні (2, 1±0, 20) ІгКУО/г). Виявлено також деяку активацію мікроаерофільної молочнокислої мікрофлори у верхній частині травного каналу: лактобацил - на рівні (4, 0±0, 16) ІгКУО/г проти (3, 4±0, 29) в контролі, біфідобактерій - на рівні (2, 0±0, 30) проти (3, 0±0, 28) ІгКУО/г.

**Ключові слова:** напроксен, протимікробна активність, білі щурі, мікробіоценоз кишечника.

---

### **Вступ**

Однією з важливих функцій нормосимбіонтної мікрофлори людського організму є її протективна активність відносно хімічних та біологічних факторів, що порушують гомеостаз людського організму. Особливо

важливим є збереження цілісності полімікробних пліткових структур слизової оболонки травного каналу. Найбільш потужним чинником, що спричинює мікроекологічні порушення є застосування протимік-

робних хіміотерапевтичних препаратів. Проте до розвитку дисбактеріозу призводить і призначення низки інших фармацевтичних препаратів, що порушують моторику шлунково-кишкового тракту, регенерацію епітелію або утворення слизу. До них відносяться, зокрема, місцевоанестезуючі, блювотні, обволікаючі, проросні, відхаркувальні, жовчогінні засоби, адсорбенти, психотропні препарати групи фенотіазину, солі важких металів, антигістамінні препарати, цитостатики, гормональні контрацептиви. Але однією з найбільш поширених груп лікарських препаратів, які застосовуються при різних запальних процесах, є нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП). Це клас різних за хімічною структурою лікарських препаратів, об'єднаних загальним механізмом фармакологічної дії - блокадою циклооксигенази-1 і 2 (ЦОГ-1, ЦОГ-2) і зниженням синтезу відповідних простагландинів (ПГ) [7]. Більшість сучасних препаратів групи НПЗП належить до кислотних похідних, що є аналогами органічних кислот і слабкими кислотами з рН = 4.

Зв'язок між НПЗП та нормосимбіотною мікрофлорою людського організму полягає, зокрема, у підвищенні ними проникності слизових оболонок, що сприяє прояву сенсibiliзуючих властивостей бактерійних симбіонтів (у першу чергу, ліпополісахаридів грамнегативних мікроорганізмів), підвищує вплив агресивних метаболітів. Через активацію Toll - подібних рецепторів бактерійним чинником стимулюються протизапальні реакції [5].

Нормосимбіоти виявляють протективну дію на слизову оболонку тонкої кишки, обмежуючи проліферацію умовно-патогенної мікрофлори та відновлюючи нормальну функцію біоплівки. Разом з тим, за умови тривалого застосування НПЗП у кишкової мікрофлорі не виявляють таких симбіонтів, як *Bifidobacterim adolescentista* та *Lactobacillus acidophilus* [3, 4, 8].

Лікарським засобам групи селективних інгібіторів ЦОГ-2 притаманна значно нижча, ніж неселективним інгібіторам ЦОГ, частота розвитку побічних ефектів з боку органів-мішеней (травний канал, нирки, печінка), вони є хондронейтральними препаратами чи хондропротекторами [1].

Неселективні інгібітори ЦОГ (аспірин, ібупрофен, індометацин та напроксен), що пригнічують як ензим ЦОГ-1, так і ензим ЦОГ-2, забезпечуючи ефективне зменшення больового синдрому при запаленні, мають високий ульцерогенний потенціал та значний ризик виникнення шлунково-кишкової кровотечі, як одного із системних побічних ефектів. Проте напроксен у його різних лікарських формах залишається одним з найбільш вживаних НПЗП.

З метою вивчення впливу напроксену на мікробіоценоз було проведено мікробіологічне дослідження вмісту різних відділів травного каналу експериментальних тварин після одноразового введення препарату.

## Матеріали та методи

Дослідження проводили на 20 білих щурах масою 180-250 г, згідно з вимогами етики, передбаченими положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Тварини перебували у віварії за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Перед проведенням досліджень вони мали вільний доступ до води впродовж 20 год.

Тварин було розподілено на 2 групи: 1) контрольні тварини (n = 10); 2) тварини, яким вводили неселективний блокатор циклооксигенази (ЦОГ) напроксен у дозі 10 мг/кг *per os*.

При проведенні мікробіологічних досліджень застосовували класичний культуральний метод [2, 6]. Використовували диференційно-діагностичні та спеціальні поживні середовища. Виявляли наявність та встановлювали кількісний показник у дванадцятипалій, клубовій кишці, проксимальному та дистальному відділах товстої кишки мікроорганізмів наступних груп: ентерококів, стафілококів, ешерихій, мікроаерофільних бактерій - лактобацил та біфідобактерій; анаеробів клостридіальної групи та дріжджеподібних грибів.

Призначені для посіву фрагменти кишок розрізали, очищали порожнину від залишків вмісту і здійснювали посів шляхом відбитку на щільні поживні середовища - Ендо та кров'яний агар, що дозволяло виявити присутність досліджуваних мікроорганізмів у відповідному відділі травного каналу щура. Для визначення мікробного числа зішкріб зі слизової кишки вносили у пластикові емкості (петендорфи) і зважували на електронній вазі (близько 1 мг). Після інкубування в термостаті при 24 °С підраховували кількість пророслих колоній бактерій (колонієутворюючих одиниць) і перераховували на 1 г матеріалу. Перевіряючи у десяткові логарифми, отримували мікробне число у ІгКУО/г. При дослідженні мікроаерофільної та анаеробної мікрофлори фрагменти кишок (близько 100 мг) розтирали у фарфоровій ступі з 1 мл стерильного фізіологічного розчину і після розведення від 1:10 до 1:100000000 вносили у піврідкий тіогліколевий агар та стандартне середовище (MRS-агар) для виявлення лактобацил, середовище Блаурока для дослідження біфідобактерій та у середовище Кітта-Тароцці для виявлення клостридій. Кількість мікроорганізмів визначали за найбільшим розведенням первинного матеріалу, при якому в засіяному середовищі спостерігався ріст, перераховували на 1 г матеріалу і виражали в десяткових логарифмах, як вказано вище.

Попередньо було проведено скринінгове дослідження активності напроксену на стандартні культури мікроорганізмів *in vitro* методом дифузії в агар. Для цього використали музейні штами *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (F - 49) *Candida albicans* ATCC 885 - 653. У шарі поживного агару (10 мл), розлитого в чашках Петрі було вирізано лунки, в які внесено препарат в кількості 75 мг. Для дослідження впливу пре-

**Таблиця 1.** Популяційний рівень бактерійних симбіонтів у різних відділах кишки за умов дії напроксену та в інтактних тварин (IgKYO/г).

Групи тварин	Мікроорганізми Орган	Enterococcus spp.	Staphylococcus spp.	Escherichia coli	Lactobacillus spp.	Bifidobacterium spp.	Clostridium spp.	Candida spp.
Інтактні тварини	12-пала кишка	4,0±0,20	0,8±0,10	0	3,4±0,29	3,8±0,50	2,0±0,28	1,20±0,30
	Клубова кишка	4,8±0,4	1,1±0,2	3,0±0,36	4,4±0,32	3,8±0,28	3,8±0,30	2,1±0,20
	Проксим. відділ товстої кишки	5,2±0,55	0	4,7±0,42	6,5±0,70	6,0±0,54	4,0±0,44	2,2±0,30
	Дистальн відділ товстої кишки	4,9±0,40	1,0±0,11	5,6±0,48	8,0±0,54	7,5±0,60	5,0±0,48	2,0±0,30
Напроксен	12-пала кишка	4,9±0,30 P≤0,05	0,8±0,20	2,1±0,20	4,0±0,16	2,0±0,30 P≤0,05	3,2±0,25 P≤0,05	0 P≤0,05
	Клубова кишка	4,8±0,50	0 P≤0,05	3,5±0,20	4,0±0,42	3,2±0,50	4,0±0,39	0 P≤0,05
	Проксим. відділ товстої кишки	5,0±0,64	1,2±0,20	4,2±0,54	6,0±0,55	6,4±0,63	3,9±0,60	1,2±0,10
	Дистальн відділ товстої кишки	4,0±0,48		3,6±0,60	8,6±0,60	7,7±0,50	4,8±0,52	0 P≤0,05

парату на дріжджеподібні гриби використовували середовище Сабуро. Після засівання культур (концентрація 1 од. за стандартом мутності McFarland чашки з засіяними бактеріями залишали в термостаті на 24 год при температурі 37°C, з посівами грибів - на 48 год. Після інкубування реєстрували зону затримки росту довкола лунки з препаратом. Дослід проведено у п'яти повторах.

Встановлено, що зона інгібування росту золотистого стафілокока становила 39,7 ±3,7 мм, грибів *Candida* 22,0±5,7. Пригнічення росту кишкової палички не зафіксовано.

### Результати. Обговорення

Застосування напроксену дозволило констатувати (табл. 1) активацію усіх груп досліджених бактерійних симбіонтів у проксимальних відділах травного каналу в порівнянні з показниками тварин інтактної групи.

Так, ентерококи висівалися з 12-палої - кишки у кількості (4,9 ± 0,30) IgKYO/г проти (4,0 ± 0,20) в контролі, проте в інших відділах травного каналу їх кількісний рівень залишався на рівні контрольних значень, або був дещо нижчим. З боку стафілококів не зафіксовано вірогідних кількісних змін відносно контролю. У незначній кількості стафілокок виявляли у дуоденальному вмісті та проксимальному відділі тонкої кишки інтактних тварин, у дослідних тварин - поодинокі стафілокок виявляли лише у проксимальному відділі colon.

Встановлено наявність ешерихій у всіх відділах травного каналу при застосуванні напроксену на тлі відсутності кишкової палички в duodenum інтактних тварин (у досліді - на рівні (2,1 ± 0,20) IgKYO/г). Виявлено також деяку активацію мікроаерофільної молочнокислої мікрофлори у верхній частині травного каналу: лактобацил - на рівні (4,0 ± 0,16) IgKYO/г проти (3,4 ± 0,29) у контролі та деяку елімінацію біфідобактерій у досліді до рівня (2,0 ± 0,30) проти (3,8 ± 0,50) IgKYO/г.

Натомість, поряд з невеликими відмінностями у ви-

явленні лактофлори в інших відділах травного каналу, застосування препарату дало змогу відмітити зниження рівня висівання біфідофлори як з вмісту 12-палої кишки, так і з клубової кишки за відсутності суттєвих відмінностей при дослідженні вмісту товстої кишки. Тенденція до активації у верхніх відділах травного каналу збережена і для показників спороутворюючих анаеробів клостридіальної ланки. Дріжджеподібні гриби виявлялися в усіх відділах кишечника інтактних тварин в кількості (1,2-2,2) Ig KYO/г, натомість в досліді *Candida* вдалося висіяти лише з вмісту проксимального відділу товстої кишки.

Таким чином, встановлено пряму та опосередковану активність НПЗП напроксену відносно симбіонтів гастро-інтестинального тракту в експерименті.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Одноразове введення напроксену спричинює деяке зростання кількісних рівнів ентерококів (у межах 12,6 %) у проксимальних відділах травного тракту та появу ешерихій у 12-палій кишці, мікробіоценози яких у здоровому організмі характеризуються низькими рівнями колонізації нормосимбіонтами.

2. Встановлено пригнічення висівання стафілококів, а також грибів з усіх відділів кишечника, що певною мірою слід пов'язувати з прямою активністю напроксену відносно вказаних мікроорганізмів, що було показано в досліді in vitro а також біологічною активністю напроксену, який має вплив на морфо-кінетичні та секреторні функції травного каналу.

У перспективі планується вивчення впливу нестероїдних протизапальних препаратів на мікробіоценоз кишечника шурів у хронічному експерименті та корегуючого впливу на мікробіоценоз травного каналу біопрепаратів при дослідженні впливу нестероїдних протизапальних препаратів.

## Список літератури

1. Клиническая фармакология : в 2 т. / [под ред. И.А. Зупанец, С.В. Налетова, А.П. Викторова]. - Х., 2005.
2. Практична мікробіологія / [Климнюк С.І., Ситник І.О., Творко М.С., Широбоков В.П.]. - Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. - 438 с.
3. Collins S. M. The Relationship Between Intestinal Microbiota and the Central Nervous System in Normal Gastrointestinal Function and Disease / S. M. Collins, P. Bercik // Gastroenterology. - 2009. - 136. - P. 2003-2014.
4. Lim Y. J. Recent Advances in NSAIDs-Induced Enteropathy Therapeutics: New Options, New Challenges / Y. J. Lim, H.J. Chun // Gastroenterology Research and Practice. - 2013. - Article ID 761060.
5. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced small intestinal damage is Toll-like receptor 4 dependent / T. Watanabe, K. Higuchi, A. Kobata [et al.] // Gut. - 2008. - Vol. 57, № 2. - P. 181-187.
6. Principles of bacteriology, virology and immunity: Bacterial diseases; Ed.G.R. Smith. - London, 1984. - 610 p.
7. Prostaglandin generation in the gastric mucosa of rats with stress ulcer / N. Basso, A. Matera, A. Forlini [et al.] // Surgery. - 1983. - 94, № 1. - P. 104-108.
8. Proton pump inhibitors exacerbate NSAID-induced small intestinal injury by inducing dysbiosis / J.L. Wallace, S. Syer, E. Denou [et al.] // Gastroenterology. - 2011. - Oct; 141(4):1314-22, 1322.e1-5.

**Гураль А.Р., Панас М.А., Корнейчук Е.П.**

#### ВЛИЯНИЕ НЕСТЕРОИДНОГО ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРЕПАРАТА НАПРОКСЕНА НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Резюме.** Исследовано влияние напроксена на микробиоценоз различных отделов кишечника белых крыс после внутрижелудочного введения препарата в дозе 10 мг/кг. В опытах *in vitro* установлено, что напроксен незначительно угнетает *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (F - 49), *Candida albicans* ATCC 885-653, и не воздействует на *Escherichia coli* ATCC 25922. Применение напроксена позволило констатировать активацию всех групп исследованных микроорганизмов в проксимальных отделах пищеварительного тракта по сравнению с показателями животных интактной группы. Установлено наличие эшерихий во всех отделах кишечника после введения напроксена на фоне отсутствия кишечной палочки в *duodenum* интактных животных (в опыте на уровне  $(2,1 \pm 0,20)$  IgKYO/г). Зафиксировано также некоторую активацию молочнокислых бактерий в верхней части кишки: лактобацилл - на уровне  $(4,0 \pm 0,16)$  IgKYO/г против  $(3,4 \pm 0,29)$  в контроле и бифидобактерий на уровне  $(2,0 \pm 0,30)$  против  $(3,0 \pm 0,28)$  IgKYO/г.

**Ключевые слова:** напроксен, противомикробная активность, белые крысы, микробиоценоз кишечника.

**Hural A.R., Panas M.A., Korniychuk O.P.**

#### INFLUENCE OF NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUG NAPROXEN ON THE INTESTINAL MICROFLORA IN EXPERIMENT

**Summary.** The effect of naproxen on microbiocenosis different departments of the intestine of white rats (N=20) after intragastric administration of the drug at a dose of 10 mg/kg. In *in vitro* experiments revealed that naproxen slightly depresses *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (F - 49), *Candida albicans* ATCC 885-653, and has no effect on *Escherichia coli* ATCC 25922. The use of naproxen possible to ascertain the activation of all groups studied microorganisms in the proximal gastrointestinal tract as compared with the intact group of animals. Established the presence of *Escherichia* in all departments of the intestine after administration of naproxen amid the lack *Escherichia coli* in *duodenum* of intact animals (experiment level  $(2,1 \pm 0,20)$  IgKYO/g). Fixed also some activation of lactic acid bacteria in the upper part of the intestine: lactobacilli - at the level of  $(4,0 \pm 0,16)$  IgKYO/g vs  $(3,4 \pm 0,29)$  in the control and bifidobacteria at the level of  $(2,0 \pm 0,30)$  against  $(3,0 \pm 0,28)$  IgKYO/g.

**Key words:** naproxen, antimicrobial activity, white rats, intestinal microbiocenosis.

**Рецензент - д.мед.н., проф. Виноград Н.О.**

Стаття надійшла до редакції 17.11.2015 р.

Гураль Адріана Романівна - асист. кафедри мікробіології, вірусології та імунології, ЛНМУ імені Данила Галицького; +38 067 43-93-321; adriana\_herman@i.ua

Панас Марта Андріївна - к.мед.н., асист. кафедри мікробіології, вірусології та імунології, ЛНМУ імені Данила Галицького; +38 098 94-38-783; panas.marta@gmail.com

Корнейчук Олена Петрівна - д.мед.н., проф. кафедри мікробіології, вірусології та імунології, ЛНМУ імені Данила Галицького; +38 097 22-55-872; o\_korniychuk@ukr.net