

Е.В. Полевая, Т.Я. Вахитов, С.И. Ситкин

ФГУП «Государственный НИИ
особо чистых биопрепаратов» ФМБА России
ГБОУ ВПО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова»
Минздравсоцразвития России, Санкт-Петербург

Энтеросорбционные свойства псиллиума («Мукофалька») и возможные механизмы его действия при кишечных инфекциях*

Ключевые слова

Энтеросорбция, кишечные инфекции, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, псиллиум, «Мукофальк», патогенетическая терапия.

Несмотря на появление для лечения кишечных инфекций новых препаратов, таких, например, как невсасывающийся антибиотик рифаксимин («Альфа нормикс»), применение в этих целях различных энтеросорбентов остается более чем актуальным ввиду их эффективности, безопасности и широкой доступности.

Группа энтеросорбентов, используемых, как правило, при кишечных инфекциях и отравлениях различной этиологии, включает в себя как препараты природного происхождения, так и соединения, полученные синтетическим путем. Среди энтеросорбентов природного происхождения стоит обратить внимание на группу пищевых волокон, давно и успешно применяющихся в клинической практике и отличающихся порой диаметрально противоположным действием. Основными свойствами пищевых волокон являются их растворимость и ферментируемость кишечными бактериями.

Особый интерес, с нашей точки зрения, представляет псиллиум — натуральные гидрофильные пищевые волокна из наружной оболочки семян подорожника овального (*Plantago ovata*), обладающие уникальными свойствами. Псиллиум (препарат «Мукофальк») состоит из трех основных фракций [4, 9]. Фракция А (около 25 %) — нерастворимая в щелочной среде и неферменти-

руемая бактериями — является своего рода балластным веществом (наполнителем), которое нормализует моторику кишечника, а также влияет на осмотическое давление, привлекая жидкость в просвет кишки и формируя объем кишечного содержимого. Активная частично ферментируемая гелеформирующая фракция В (55–65 %) представляет собой сильноветвистый арабиноксилан, состоящий из каркаса на основе ксилозы с боковыми цепями, содержащими арабинозу и ксилозу. Именно фракция В является ведущим физиологически активным компонентом псиллиума. Фракция С (не более 20 %) — вязкая, но быстроферментируемая — замедляет постпрандиальную эвакуацию из желудка (что создает чувство насыщения и, кроме того, может быть эффективным при диарее) и обладает выраженными пребиотическими свойствами. Ферментация данной фракции в толстой кишке сопровождается стимулированием роста бифидо- и лактобактерий и активным образованием короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), в основном ацетата, пропионата и бутирата, являющихся основным источником энергии для эпителия толстой кишки. Благодаря такой полифракционной структуре псиллиум обладает комплексным воздействием не только на кишечник, но и на организм в целом.

В литературе имеются данные об энтеросорбционных свойствах псиллиума и его клинической эффективности как при функциональной

* Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии, № 2, 2012, с. 2–4.

[11, 12], так і при інфекційній діарее, вызваній *S. enteritidis* і ентеротоксигенної *E. coli* [5, 7]. Нельзя не упомянуть і о гіполіпідемічному дієвстві псилліума, яке реалізується як раз за рахунок зв'язування жовчних кислот його геліформуючої фракцією. В результаті знижується реабсорбція жовчних кислот, збільшується їх екскреція з калом, що в свою чергу призводить до зниження рівня холестерину в крові [4].

По результатам клінічних досліджень в 1998 г., Управління по контролю за продуктами і лікарськими засобами США (FDA) підтвердило, що харчові волокна, такі як псилліум, можуть достовірно знизити ризик розвитку серцево-судинних захворювань і спільно з Американською кардіологічною асоціацією рекомендувало призначити псилліум при легкій і середній гіперхолестеринемії. В 2003 г. це висновок було підтверджено і Європейським медичним агентством (ЕМА).

Нами було проведено порівняльне дослідження псилліума («Мукофалька», «Др. Фальк Фарма ГмбХ») і найбільш поширених ентеросорбентів *in vitro* на моделях адсорбції условнопатогенних бактерій з метою оцінки ентеросорбційних можливостей псилліума і обґрунтування його клінічної ефективності при кишечних інфекціях.

Матеріали і методи

В межах цього дослідження *in vitro* вивчалися адсорбційні властивості 6 сорбентів: поліметилсилоксана полігідрата, смекти-та діоктаедричного (діосмекти-та), повідона (полівинілпірролідона низкомолекулярного), вугля активованого, лігніна гідролізованого і оболочка насіння подорожника овального (псилліума).

Для коректного порівняння сорбційної ємності виникла необхідність в отриманні стандартизованих кількостей тестуємих матеріалів. Поєтому навески вивчаємих сорбентів зважували на електронних аналіти-

чних вагах. Далі бюкси з навесками сушили при температурі 105 °С до постійної маси в течение 3 ч, після чого знову зважували і оцінювали зміну маси сорбентів і їх вологість. Результати представлені в табл. 1.

Далі визначалось значення рН водної суспензії сорбентів, оскільки рН впливає на методику проведення досліджень, змінює розчинність тестуємих токсинів. Крім того, рівень рН є важливим фізіологічним фактором, що впливає суттєво на всі фізіологічні і патологічні процеси в кишечнику. Відомо, що кисла середовище перешкоджає розмноженню патогенних мікроорганізмів. На цьому, зокрема, ґрунтується дія непереварюваних дисахаридів (лактитол), які при розщепленні бактеріальною мікрофлорою трансформуються в КЦЖК, знизючи тим самим рН кишечного вмісту. Вказане протимікробне дієвство непереварюваних дисахаридів підтверджено багатьма клінічними дослідженнями [6, 10].

К двом серіям точних навесок сорбентів по 40 мг додавали по 5 мл дистильованої води, перемішували в течение 1 ч на пристрої для встряхування пробірок Denley Spiramix 10 (Великобританія). Після цього суміш центрифугували при 8000 об./хв в течение 15 хв і в супернатанті вимірювали рН.

Из полученных данных, представленных в табл. 2, видно, что при суспендировании сорбентов в воде происходят значительные изменения рН. Суспендирование активированного угля и диосмекти-та приводило к явно выраженному сдвигу рН в щелочную область, а повідона и оболочки семян подорожника овального (псилліума) – в кислую.

Таким образом, «закисление» среды кишечника при приеме псилліума уже само по себе может иметь терапевтическое значение в случае кишечных инфекций, создавая условия, неблагоприятные для размножения патогенных бакте-

Таблиця 1. Суха маса і вологість сорбентів

Ентеросорбент	Маса навески, г		Вологість, %
	До висушування	Після висушування	
Поліметилсилоксана полігідрат	0,939	0,312	66,77
Смектит діоктаедричний	0,633	0,604	4,58
Повідон	0,618	0,593	4,19
Уголь активований	0,522	0,505	3,31
Лігнін гідролізований	0,648	0,464	28,40
Псилліум	0,927	0,909	1,92

рий и грибов (в первую очередь рода *Candida*). Известно, что сальмонеллы, как и большинство патогенных бактерий, предпочитают нейтральную или слабощелочную среду. Согласно многочисленным исследованиям, рост сальмонелл полностью прекращается в течение двух дней при pH < 4,5. Важно отметить, что псиллиум вызывает более выраженное снижение pH (до 3,6), чем уже упомянутые неперевариваемые дисахариды (лактозула, например, снижает pH до значений 5,18–5,67 [10]). Тем самым при применении псиллиума обеспечивается и более сильное ингибирующее действие на рост патогенных микроорганизмов.

В исследовании использовались следующие культуры микроорганизмов:

- *Salmonella enteritidis* var. Issatschenko — бактерия, патогенная для мышевидных грызунов, но безвредная для человека и других видов. Размножение культуры в ретикулоэндотелиальной системе вызывает некротические язвы слизистой оболочки кишечника, селезенки, печени и почек крыс и мышей, приводя к развитию системной инфекции.

- *Escherichia coli* O75 № 5557 Hly+ (cnf1+; iр2+; fimA-) — энтеротоксигенная кишечная палочка, вызывающая гемолиз эритроцитов, складчатость мембран, фокальную адгезию и напряжение актиновых волокон, а также ДНК-репликацию без клеточного деления, в результате которого образуются гигантские многоядерные клетки.

Поскольку при центрифугировании бактерии, как правило, осаждаются вместе с сорбентом, в настоящем исследовании мы использовали фракцию седиментационно устойчивых клеток, не осаждающихся при центрифугировании сорбентов [8].

Результаты и обсуждение

Определение адсорбционной способности энтеросорбентов. Супернатант, содержащий фракцию седиментационно устойчивых клеток, разливали по пробиркам с точными навесками сорбентов по 0,04 г. Пробирки выдерживали в холодильнике при 4 °С в течение 1 ч, периодически перемешивая каждые 15 мин. После этого суспензию центрифугировали в течение 15 мин (8000 об./мин), супернатант разводили в 10, 100 и 1000 раз физиологическим раствором и высевали в чашки Петри на дифференциальные среды — висмутсульфитный агар для *S. enteritidis* и среду «Эндо» для *E. coli* O75.

Засеянные чашки инкубировали на протяжении 20 ч в термостате при 37 °С, после чего проводили подсчет выросших колоний микроорга-

низмов. По полученным результатам судили об адсорбционной способности энтеросорбентов. Вычисления проводили по формуле (В.И. Решетников, 2003 [3]):

$$X = (C_0 - C) \cdot 5/b,$$

где C_0 — концентрация клеток в контроле (фракция седиментационно устойчивых клеток после центрифугирования); C — концентрация клеток в опытных культурах после удаления сорбента; b — навеска препарата в граммах.

В табл. 3 приведены средние (по трем экспериментам) данные об адсорбционной способности энтеросорбентов по *Salmonella enteritidis* и *Escherichia coli* O75.

Из представленных данных видно, что наилучшей адсорбционной способностью в обоих случаях обладают диосмектит и псиллиум.

Более показательным, однако, на наш взгляд, является сравнение сорбентов не по количеству адсорбированных клеток (поскольку это количество в значительной степени зависит от исходной концентрации клеток в суспензии), а по отношению их концентраций в растворе с сорбен-

Таблица 2. pH воды и водных суспензий сорбентов

Показатель	Значения pH
Вода дистиллированная	6,534
Полиметилсилоксана полигидрат	6,385
Смектит диоктаэдрический	9,622
Повидон	3,638
Уголь активированный	9,885
Лигнин гидролизный	7,700
Псиллиум	3,605

Таблица 3. Адсорбционная способность энтеросорбентов по *Salmonella enteritidis* var. Issatschenko и *Escherichia coli* Q75 № 5557, 10⁶ кл./г

Энтеросорбент	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i>
Полиметилсилоксана полигидрат	56,12	98,33
Смектит диоктаэдрический	115,33	124,98
Повидон	54,47	103,33
Уголь активированный	81,01	108,33
Лигнин гидролизный	17,54	101,67
Псиллиум	113,92	124,42

Таблиця 4. **Остаточное содержание клеток в растворе после удаления сорбентов *Salmonella enteritidis* var. *Issatschenko* и *Escherichia coli* Q75 № 5557, % (от исходного)**

Энтеросорбент	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i>
Полиметилсилоксана полигидрат	55,15	21,33
Смектит диоктаэдрический	7,74	0,01
Повидон	56,40	17,33
Уголь активированный	35,23	13,33
Лигнин гидролизный	86,02	18,67
Псиллиум	8,87	0,47

том и без такового, так как именно соотношение концентраций является показателем эффективности взаимодействия клеток с сорбентом (или, что то же самое, сродства клеток к сорбенту).

В табл. 4 приведены остаточные концентрации клеток в растворе после удаления сорбентов, выраженные в процентах к исходному содержанию. Как видно из этих данных, по остаточному содержанию клеток в растворе резко выделяются два сорбента — диосмектит и псиллиум. Для непатогенного (для человека) штамма *S. enteritidis* остаточная концентрация клеток для этих сор-

бентов не превышает 10 %, а для патогенной *E. coli* O75 составляет менее 1 %.

Выводы

Проведенное исследование позволило выявить возможные механизмы действия псиллиума при кишечных инфекциях. Одним из таких механизмов является выраженное снижение pH в просвете кишечника (до уровня 3,6), при котором отмечается торможение роста патогенных микроорганизмов. Известно, например, что сальмонеллы, как и большинство патогенных бактерий, предпочитают нейтральную или слабощелочную среду. Согласно многочисленным исследованиям, рост сальмонелл полностью прекращается в течение двух дней при уровне pH < 4,5. Второй механизм действия заключается в непосредственной адсорбции патогенных микроорганизмов. Следует подчеркнуть, что в этом отношении псиллиум («Мукофальк») продемонстрировал максимально эффективный уровень адсорбции наряду с диосмектитом по сравнению с другими энтеросорбентами. Наличие же у псиллиума противовоспалительного и пребиотического действия существенно повышает его возможности в патогенетической терапии кишечных инфекций, в том числе таких, как сальмонеллез и эшерихиоз.

Статья предоставлена представительством «Др. Фальк Фарма ГмбХ» в Украине

Список литературы

1. Воронин Е.П., Пахлов Е.М., Власова Н.М. и др. Исследование стабильности адсорбционных свойств водных суспензий высокодисперсного силикагеля для альбумина // Фарм. журн.— 1999.— № 4.— С. 61—64.
2. Маркелов Д.А., Ницак О.В., Герашенко И. И. Сравнительное изучение адсорбционной активности медицинских сорбентов // Хим.-фарм. журн.— 2008.— Т. 42, № 7.— С. 30—33.
3. Решетников В.И. Оценка адсорбционной способности энтеросорбентов и их лекарственных форм // Хим.-фарм. журн.— 2003.— Т. 37, № 5.— С. 28—32.
4. Ситкин С.И. Пищевые волокна в клинической практике. Снижение уровня холестерина с помощью Мукофалька — уникального источника пищевых волокон из оболочки семян подорожника овального (*Plantago ovata*).— Freiburg: Dr. Falk Pharma GmbH, 2009.— 24 с.
5. Тихонова Е.П., Кузьмина Т.Ю., Миноранская Е.И., Миноранская Н.С. Опыт применения Мукофалька в лечении сальмонеллеза // Клин. перспективы гастроэнтерол. гепатол.— 2011.— № 4.— С. 36—39.
6. Finney M., Smullen J., Foster H.A. et al. Effects of low doses of lactitol on faecal microflora, pH, short chain fatty acids and gastrointestinal symptomatology // Eur. J. Nutr.— 2007.— Vol. 46, N 6.— P. 307—314.
7. Hayden U.L., McGuirk S.M., West S.E., Carey H.V. Psyllium improves fecal consistency and prevents enhanced secretory responses in jejunal tissues of piglets infected with ETEC // Dig. Dis. Sci.— 1998.— Vol. 43, N 11.— P. 2536—2541.
8. Makinoshima H., Nishimura A., Ishihama A. Fractionation of *Escherichia coli* cell population at different stages during growth transition to stationary phase // Mol. Microbiol.— 2002.— Vol. 43, N 2.— P. 269—278.
9. Marlett J.A., Fischer M.H. The active fraction of psyllium seed husk // Proc. Nutr. Soc.— 2003.— Vol. 62.— P. 207—209.
10. Patil D.H., Westaby D., Mahida Y.R. et al. Comparative modes of action of lactitol and lactulose in the treatment of hepatic encephalopathy // Gut.— 1987.— Vol. 28, N 3.— P. 255—259.
11. Qvitzau S., Matzen P., Madsen P. Treatment of chronic diarrhoea: loperamide versus ispaghula husk and calcium // Scand. J. Gastroenterol.— 1988.— Vol. 23, N 10.— P. 1237—1240.
12. Washington N., Harris M., Mussellwhite A., Spiller R.C. Moderation of lactulose-induced diarrhea by psyllium: effects on motility and fermentation // Am. J. Clin. Nutr.— 1998.— Vol. 67, N 2.— P. 317—321.

О.В. Полевая, Т.Я. Вахітов, С.І. Сіткін

Ентеросорбційні властивості псиліуму («Мукофальку») і можливі механізми його дії при кишкових інфекціях

Мета дослідження — оцінити ентеросорбційні можливості псиліуму і обґрунтувати його клінічну ефективність при кишкових інфекціях. Проведено порівняльне дослідження псиліуму («Мукофальк», «Др. Фальк Фарма ГмбХ») і найбільш поширених ентеросорбентів (поліметилсилоксану полігідрату, смектиту діоктаедричного, повідону, вугілля активованого, лігніну гідролізного) *in vitro* на моделях адсорбції умовно-патогенних бактерій — збудників кишкових інфекцій (*Salmonella enteritidis* var. Issatschenko і *Escherichia coli* O75 № 5557). Для підвищення точності дослідження використовували оригінальну методику отримання фракції седиментаційних стійких мікробних клітин, що не осідають при центрифугуванні сорбентів. Показано, що суспендування псиліуму у воді призводить до явно вираженого зміщення рН в кислий бік (до 3,6), забезпечуючи можливе «закиснення» середовища кишечнику *in vivo* при прийомі «Мукофальку» і відповідну пригнічувальну дію на зростання патогенних мікроорганізмів. При вивченні адсорбційної здатності ентеросорбентів щодо умовно-патогенних мікроорганізмів встановлено, що найкращу сорбційну здатність мають псиліум і діосмектит. Для непатогенного (для людини) штаму *S. enteritidis* залишкова концентрація клітин для псиліуму і діосмектиту не перевищувала 10 % (порівняно з 35—86 % для інших сорбентів), а для патогенної *E. coli* O75 становила менше 1 % порівняно з 13—21 %). Проведене дослідження дало змогу виявити можливі механізми дії псиліуму («Мукофальку») при кишкових інфекціях, такі як виражене зниження рН в просвіті кишечнику — до рівня, при якому відзначається гальмування росту патогенних мікроорганізмів, і власне адсорбція останніх.

Ye.V. Polevaya, T.Ya. Vakhitov, S.I. Sitkin

Enterosorbption properties of psyllium (Mucofalk) and its probable mechanisms at intestinal infections

Aim of investigation – to evaluate enterosorbption potentials of psyllium and substantiation of its clinical efficacy at intestinal infections. Comparative study of psyllium (*Mucofalk*, *Dr. Falk Farma GmbH*) and the most popular enterosorbents (polymethylsiloxane polyhydrate, dioctaetric smectite, povidone, charcoal, hydrolyzing lignine) on *in vitro* models of opportunistic bacteria — intestinal infections pathogens (*Salmonella enteritidis* var. Issatschenko and *Escherichia coli* O75 № 5557) adsorption was carried out. Fraction of sedimentation-resistant microbial cells which do not precipitate at sorbents centrifugation was used to increase accuracy of investigation. It was demonstrated, that water suspension of psyllium results in apparently strong pH shift to acidic side (down to pH 3.6), providing possible «acidification» of intestinal lumen *in vivo* at intake of mucofalk and subsequent inhibition of pathogenic microorganism proliferation. At investigation of adsorption capacity of enterosorbents on opportunistic flora it was revealed, that psyllium and diosmectite have the best sorption capacity. For non-pathogenic (for humans) *S. enteritidis* strain residual concentration of cells for psyllium and diosmectite did not exceed 10% (vs. 35—86% for other sorbents), while for pathogenic *E. coli* O75 it was under 1% (vs. 13—21%). Original study allowed to detect possible mechanisms of action of psyllium (*Mucofalk*) at intestinal infections, such as potent decrease of pH in intestinal lumen (to the level, that inhibits proliferation of pathogenic bacteria) and adsorption of the latter itself.