

### ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ ЛАКТОБАКТЕРИЙ К ДОКСОРУБИЦИНУ

Сержантов И.А., Жиркова А.Г., Шаповал О.Г.

*Саратовский государственный медицинский  
университет им. В.И. Разумовского, Саратов,  
e-mail: lavopash283741@yandex.ru*

Пробиотические штаммы лактобактерий могут быть назначены пациентам на фоне химиотерапии опухолевых заболеваний для предотвращения развития кишечного дисбиоза и его последствий. Изучена чувствительность 4 пробиотических штаммов лактобактерий к доксорубицину – противоопухолевому антибиотику из группы антрациклинов методом двукратных серийных разведений. Установлено, что диапазон минимальных ингибирующих концентраций препарата составил 0,75 – 3 мкг/мл, что, согласно данным литературы, соответствует его максимальным концентрациям в крови и значительно ниже, чем таковые в желчи.

Дисбактериоз толстого кишечника имеет множество провоцирующих его развитие факторов, в том числе противоопухолевую химиотерапию [3]. Коррекция этого состояния часто проводится с использованием пробиотических препаратов, одним из основных компонентов которых являются лактобактерии. Многие нозологические формы злокачественных новообразований требуют проведения нескольких курсов химиотерапии, поэтому прием пробиотических препаратов не исключается в перерыве между ними, а в ряде случаев и на фоне проводимого лечения с целью, например, предотвращения развития мукозитов кишечника и ассоциированных с химиотерапевтическим лечением диарей [6, 10]. Поэтому определение чувствительности лактобактерий к доксорубицину имеет практическое значение.

Целью данного исследования послужило определение чувствительности 4 пробиотических штаммов лактобактерий к препарату из группы противоопухолевых антибиотиков-антрациклинов – доксорубицину, основной механизм действия которого связан с интеркалированием и ковалентным связыванием ДНК, что нарушает процессы репликации и формирования её пространственной структуры [4]. Доксорубин используется для лечения многих опухолевых заболеваний – гемобластозов, рака молочной железы, рака легкого, остеогенных сарком, сарком мягких тканей и др. [4]. Антимикробная активность доксорубицина активно изучалась в 70-е годы XX века, в частности установлена его более высокая активность в отношении грамположительных бактерий: диапазоны МИК для 6 штаммов *Staphylococcus aureus*, определенные методом двукратных серийных разведений в агаре Мюллера-Хинтона с добавлением 5% крови барана, составили 10-50, для 1 штамма рода *Lactobacillus*  $\leq$  1 мкг/мл, в то вре-

мя как 3 штаммов *Escherichia coli* и 3 штаммов *Klebsiella pneumoniae* – более 100 мкг/мл [7]. В целом подобные результаты были получены и в других исследованиях, но в отношении лактобактерий как представителей нормальной микрофлоры сведений практически нет.

Чистые культуры лактобактерий выделяли из синбиотического препарата «Нормобакт» (Компания «Chr.Hansen», Дания), содержащего штамм *Lactobacillus acidophilus* LA-5, пробиотического препарата «Лактобактерин» (НПО «Микроген», Россия) с *L.plantarum/L.fermentum*, а также кисломолочных продуктов – «Актимель» (Группа компаний Danone в России) с *L. casei*, «Имунеле» (АО «ВИММ-БИЛЛЬ-ДАНН продукты питания» PepsiCo, США) с *L. rhamnosus* и *L.casei* путем мерного высева на лактоагар (ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск) их десятикратных разведений в стерильном физиологическом растворе хлорида натрия. Для ограничения доступа кислорода посевам заливали вторым слоем лактоагара и инкубировали в аэробной атмосфере при 37°C. Через 48 часов после посева изолированные колонии правильной формы, мелкие и средние, непрозрачные, беспигментные отбирали для приготовления мазков с окраской по методу Грама и постановки каталазного теста [2]. Культуры каталазоотрицательных грамположительных палочек использовали для определения чувствительности к противоопухолевым препаратам методом двукратных серийных разведений в специальной среде Hi Isosensitivity Test Broth (Himedia, Индия) и микробной нагрузке  $5 \times 10^5$  КОЕ/мл. Объем каждого разведения составил 5мл, инкубацию посевов проводили в аэробной атмосфере при t 37°C [5]. В виду отсутствия химически чистых субстанций доксорубицина для определения чувствительности к нему микроорганизмов для приготовления базового раствора использован лиофилизированный препарат для внутривенного введения «Доксорубин-ЛЭНС» («Верофарм», Россия). Через 48 часов после инокуляции определяли минимальные ингибирующие концентрации (МИК), для определения характера действия которых (бактерицидного или бактериостатического) осуществляли высева на лактоагар.

В результате установлено, что МИК доксорубицина для штамма, выделенного из препарата «Лактобактерин», составила 3, «Нормобакт» – 0,75, «Актимель» – 1,5 и «Имунеле» – 3 мкг/мл. Минимальная бактерицидная концентрация для лактобактерий из препарата «Нормобакт» составила 1,5, для остальных штаммов – 3 мкг/мл. Таким образом, согласно полученным значениям МИК использованные пробиотические штаммы лактобактерий чувствительны к доксорубицину с учетом его максимальной концентрации в плазме крови человека. По литературным данным, она составляет от 0,5 до 3,6-5,9 мкг/мл при

дозе 25-60 мг/м<sup>2</sup> поверхности тела, отмечается сразу после внутривенного введения и быстро уменьшается в течение получаса до десятых долей микрограмма, на которых удерживается в течение нескольких часов [1]. Следует отметить, что метаболизм доксорубина происходит в печени, с калом, согласно литературным источникам, в течение 2 суток выводится 10% от введенной дозы доксорубина [4]. То есть, при разовой дозе 100мг в кишечник поступает 5мг препарата в сутки. Принимая во внимание, что объем суточной желчи, образующейся у человека, в среднем составляет 750 мл [8], концентрация доксорубина достигает нескольких микрограмм на 1 мл желчи, что в несколько раз превышает полученные нами значения МИК. Так при внутривенном введении крысам дозы доксорубина из расчета 10 мг/кг веса концентрация препарата в желчи достигает через 3 часа примерно 15, 6 часов – 75, 9 часов – 120, 12 часов – 180, 18 часов – 240 мкг/мл также с быстрым снижением концентрации в плазме с 10 до 0,1 мкг в течение первых 3 часов после введения [9].

Таким образом, согласно полученным *in vitro* результатам пробиотические штаммы лактобацилл чувствительны к доксорубину, что может снизить эффект от их назначения на фоне терапии данным препаратом.

#### Список литературы

1. Введение эритроцитов, нагруженных доксорубином, больным с лимфопролиферативными заболеваниями / Е.В. Куликова [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 1998. – Т. 43. № 4. – С. 26-29.
2. Изучение биологических свойств новых штаммов рода *Lactobacillus* / И.В. Соловьева [и др.] // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2010. – Т. 2. № 2. – С. 462-468.
3. Патогенетические механизмы поражения кишечника при гемобластозах после противоопухолевой терапии / Г.С. Солдатова [и др.] // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2008. – Т. 6. Вып. 3. Ч. 1. – С. 50-58.
4. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / под ред. Н.И. Переводчиковой. 3-е изд., доп. и перераб. – М.: Практическая медицина, 2011. – 512 с.
5. Чувствительность к антибиотикам штаммов бактерий, входящих в состав пробиотика «Линекс» / М.В. Сухорюкова [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – Т. 14. № 3. – С. 245-251.
6. Amelioration of chemotherapy-induced intestinal mucositis by orally administered probiotics in a mouse model / Chun-Yan Yeung [at al.] // PLOS ONE. 2015. V. 10. № 9. URL: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0138746>.
7. Bodet III C. Adrien, Jorgensen James H., Drutz David J. Antibacterial activities of antineoplastic agents // Antimicrobial agents and chemotherapy. 1985. V. 28. № 3. P. 437-439.
8. Boyer James L. Bile formation and secretion // Comprehensive physiology. 2013. V. 3. № 3. P. 1035-1078.
9. Comparative pharmacokinetics of daunomycin and adriamycin in several animal species / D.W. Yesair [at al.] // Cancer research. 1972. V. 32. Issue 6. P. 1177-1183.
10. *Lactobacillus* supplementation for diarrhea related to chemotherapy of colorectal cancer: a randomized study / P. Österlund [at al.] // British journal of cancer. 2007. V. 97. № 8. P.1028-1034.