

მსუბუქი ჰიპერქოლესტერინემიის მქონე მოზრდილებში *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402-ის ქოლესტერინის შემცირების ეფექტურობის *in vivo* შეფასება

ადელ კოსტაბილი^{1*}, ივან ბუტარაცი², სოფია კოლიდა³, სარა კვერსია⁴, ჯესიკა ბალდინი⁴, ჯონათან რ. სვანი⁵, პატრიცია ბრიჯიდი⁴, გლენ რ. გიბსონი²

1 ჯანდაცვის მეცნიერებათა კვლევითი ცენტრი, სიცოცხლის შემსწავლელი მეცნიერებათა დეპარტამენტი, უაითლენდის კოლეჯი, როჰემპტონის უნივერსიტეტი, ლონდონი, გაერთიანებული სამეფო, 2 კვებისა და კვების მეცნიერებათა დეპარტამენტი, რიდინგის უნივერსიტეტი, რიდინგის უნივერსიტეტი, გაერთიანებული სამეფო, 3 Optibiotix Health plc, ინოვაციების ცენტრი, ინოვაციების გზა, ჰესლინგტონი, იორკი, გაერთიანებული სამეფო, 4 ფარმაციისა და ბიოტექნოლოგიის დეპარტამენტი, ალმა მატერ სტუდიორუმი, ბოლონიის უნივერსიტეტი, ბოლონია, იტალია, 5 გამოთვლითი და სისტემური მედიცინის განყოფილება, იმპერიული კოლეჯი, ლონდონი, გაერთიანებული სამეფო

აბსტრაქტი

გულის კორონარული დაავადება (CHD) სიკვდილიანობისა და ინვალიდობის ერთ-ერთი მთავარი მიზეზია განვითარებულ ქვეყნებში, სისხლში ქოლესტერინის მომატებული დონე კი დადასტურებულ რისკ-ფაქტორს წარმოადგენს. ამ კვლევაში შევისწავლეთ *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402 შტამის ქოლესტერინის შემცირების უნარი, რომელიც შეირჩა ნაღვლის მარილების ჰიდროლაზის მაღალი აქტივობის გამო, 49 ნორმალური ან მსუბუქი ჰიპერქოლესტერინემიის მქონე ბრდასრულ ადამიანში. ძირითადი ეფექტურობის მაჩვენებლები მოიცავდა გავლენას სისხლის ლიპიდებზე (საერთო ქოლესტერინი (TC), დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები (LDL-C), მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები (HDL-C) და ტრიაცილგლიცერიდები (TAG)), ანთებით ბიომარკერებზე, აგრეთვე კუჭ-ნაწლავის გვერდითი მოვლენების არსებობასა და სიმძიმეს, ინტერვენციის უსაფრთხოებისა და ტოლერანტობის დასადგენად. მეორადი მაჩვენებლები მოიცავდა არტერიულ წნევას, იმუნურ ბიომარკერებს, ნაწლავის მიკრობიოტის დახასიათებას და მეტაბოლიზმის ცვლილებებს. კვლევა ჩატარდა პარალელური, ორმაგად ბრმა, პლაცებო-კონტროლირებადი, რანდომიზებული დიზაინით, რომლის ფარგლებშიც აქტიური ჯგუფი დღეში ორჯერ იღებდა კაფსულირებულ *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402-ს 2×10^9 CFU დოზით. აქტიური მკურნალობის ყოველდღიურმა მიღებამ გამოიწვია LDL-C-ის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი შემცირება იმ მოხალისეებში, რომელთა საწყისი TC <5 მმოლ/ლ იყო 0-12 კვირის პერიოდში (13.9%, P = 0.030); TC-ის მნიშვნელოვანი შემცირება იმ მოხალისეებში, რომელთა საწყისი TC ≥ 6 მმოლ/ლ იყო 0-6 კვირის პერიოდში (37.6%, P = 0.045); TAG-ის მნიშვნელოვანი შემცირება (53.9%, P = 0.030) და HDL-C-ის ზრდა (14.7%, P = 0.007) 60 წელზე უფროსი ასაკის ჯგუფში 6-12 კვირის პერიოდში. აგრეთვე, აქტიურ ჯგუფში დაფიქსირდა სისტოლური არტერიული წნევის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი შემცირება 6-12 კვირის პერიოდში (6.6%, P = 0.003). კვლევის განმავლობაში არ გამოვლენილა გავლენა კუჭ-ნაწლავის ფუნქციაზე და გვერდით მოვლენებზე. სისხლისა და შარდის მეტაბოლიზმური ანალიზების მსგავსად, ფეკალური მეტაგენომიკამაც არ აჩვენა მნიშვნელოვანი ცვლილებები არც აქტიური მკურნალობის, არც პლაცებოს მიღებისას. კვლევის შედეგები მიუთითებენ, რომ *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402 არის კარგად ტოლერირებადი, ბუნებრივი პრობიოტიკი, რომელიც შესაძლოა გამოყენებულ იქნას არსებული მკურნალობის ალტერნატივად ან დამატებითი თერაპიის სახით, გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების განვითარების რისკის შესამცირებლად.

1. შესავალი

გულის კორონარული დაავადება (CHD) ინდუსტრიულ ქვეყნებში სიკვდილიანობისა და ინვალიდობის ერთ-ერთი მთავარი მიზეზია [1]. ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაცია (WHO) პროგნოზირებს, რომ 2020 წლისთვის, ადამიანებში სიკვდილიანობის 40%-მდე გულ-სისხლძარღვთა დაავადებებს უკავშირდება.

CHD-ის ყველაზე გავრცელებული ფორმაა კორონარული არტერიების დაავადება (CAD), რომელიც WHO-ის მონაცემებით, ამჟამად მსოფლიოში სიკვდილიანობის ნამყვანი მიზეზია და წელიწადში დაახლოებით 7.25 მილიონ სიკვდილს იწვევს. ეპიდემიოლოგიური და კლინიკური კვლევების შედეგები მიუთითებენ დადებით კორელაციაზე შრატის საერთო ქოლესტერინის მომატებულ დონეს, რომელიც ძირითადად ასახავს დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინ ქოლესტერინის ფრაქციას (LDL-C), და CHD-ის განვითარების რისკს შორის [2].

მტკიცებულებები აჩვენებს ლოგარითმულ დამოკიდებულებას LDL-C-ის კონცენტრაციის ზრდასა და CAD-ის შედარებით რისკს შორის. ქოლესტერინის დამაქვეითებელი მიდგომების შესახებ ჩატარებულმა ეპიდემიოლოგიურმა კვლევებმა და კლინიკურმა ცდებმა დადასტურეს ეს დამოკიდებულება და აჩვენეს ასოციაციის თითქმის იდენტური ნიმუში. შესაბამისად, იზრდება ინტერესი შრატის ქოლესტერინისა და სხვა სისხლის ლიპიდების კორექციის მიმართ [3], გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების რისკის შესამცირებლად, ხოლო LDL-C მრავალ ეროვნულ და საერთაშორისო რეკომენდაციაში ლიპიდური დონის მართვის ძირითად სამიზნედ ითვლება.

მიუხედავად იმისა, რომ CHD-ის პრევენციისთვის დიეტური სტრატეგიები მკურნალობის პირველ ხაზს წარმოადგენს, ისინი ეფუძნება დაბალი ქოლესტერინისა და დაბალი გაჭრებული ცხიმების შემცველობით დიეტას, რომელიც შეიძლება ეფექტური იყოს, თუმცა გრძელვადიან პერსპექტივაში მისი დაცვა რთულია და დროთა განმავლობაში ეფექტურობა კლებულობს [4,5]. ქოლესტერინის მართვის ფარმაკოლოგიური მიდგომები მოიცავს ფიბრის მჟავის წარმოებულებს (ფიბრატებს), ნიკოტინის მჟავას, ნაღვლის მჟავების შემკვრელებს (BAS), ესტროგენის ჩანაცვლებით თერაპიასა და სტატინებს. სტატინებით თერაპია ამჟამად ქოლესტერინის მართვის ყველაზე ხშირად გამოყენებული მიდგომაა და მიუხედავად იმისა, რომ ნაჩვენებია, რომ ის ამცირებს გულის იშემიური დაავადების (CHD) პირველადი ან მორეციდივე შემთხვევების სიხშირეს, პაციენტთა დიდი რაოდენობა ვერ ახერხებს სტატინებით მონოთერაპიის შენარჩუნებას, რადგან არ ან ვერ იცავენ მკურნალობის რეჟიმს პირველადი (25.4%), ქრონიკული (36.1%) და მწვავე კორონარული დაავადების (40.1%) შემთხვევებში, თერაპიის დაწყებიდან 2 წლის შემდეგ [6]. შედეგად, პაციენტების საჭიროებებსა და კლინიკურ პრაქტიკას შორის არსებობს სხვაობა, ხოლო არსებული მიდგომების შეზღუდვები ზრდის ინტერესს არამედიკამენტური მიდგომების მიმართ, რომლებიც მიზნად ისახავენ სისხლის ქოლესტერინის პროფილის გაუმჯობესებას. ასეთ მიდგომებში შედის პრობიოტიკები, მოქმედების ისეთი მექანიზმებით, რომლებიც პოტენციურად აუმჯობესებს შედეგებს CHD-ის მქონე პაციენტებში გვერდითი ეფექტების არარსებობის ან მინიმალური რისკის პირობებში.

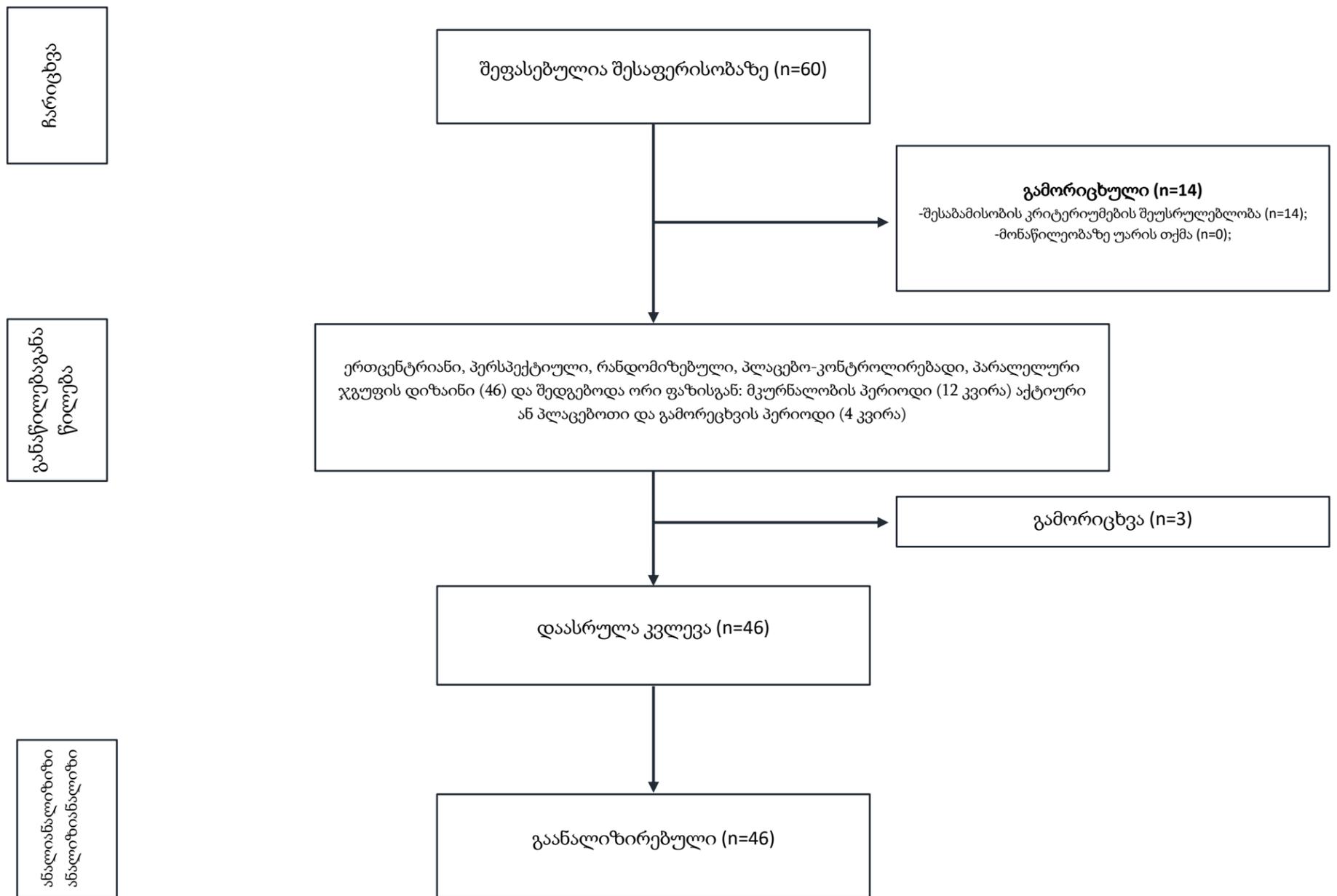
ზოგიერთმა კვლევამ აჩვენა პრობიოტიკებისა და ფერმენტირებული რძის პროდუქტების პოტენციური ქოლესტერინის მართვაში. თუმცა, არაერთმა კვლევამ აჩვენა მცირე ან საერთოდ არანაირი ეფექტი. ეს ურთიერთგამომრიცხავი შედეგები ძირითადად აიხსნება კვლევების დიზაინის ჰეტეროგენულობითა და კონკრეტული მიკრობული შტამების ეფექტურობის ცვალებადობით [7]. ეს ხშირად ასახავს მრავალი კვლევის ფარგლებში გამოყენებული პრობიოტიკების არჩევის სამეცნიერო დასაბუთების ნაკლებობას. რადგან პრობიოტიკების გამოყენება ზოგადი კეთილდღეობიდან გადადის მკაფიოდ დადასტურებული სპეციფიკური ჯანმრთელობის სარგებლისკენ, იზრდება საჭიროება სანდო მიკრობული შტამებისა და მათი მოქმედების მექანიზმ(ებ)ის იდენტიფიცირებისათვის. იმის გათვალისწინებით, რომ ნაწლავის მიკრობიოტის (GM) საკვანძო როლი ლიპიდების ნაწლავური შეწოვის რეგულაციაში არის აღიარებული, მნიშვნელოვანია პრობიოტიკების გავლენის შესწავლა მიკრობული ეკოსისტემის საერთო სტრუქტურაზე. ქოლესტერინის შემცირების რამდენიმე შესაძლო მექანიზმი არსებობს პრობიოტიკების მეშვეობით, მათ შორის: ქოლესტერინის აბსორბცია უჯრედის ზედაპირზე, ქოლესტერინის ასიმილაცია უჯრედის მემბრანებში, ქოლესტერინ-რედუქტაზის აქტივობა და ნაღვლის მჟავების დეკონიუგაცია ნაღვლის მარილების ჰიდროლაზას (BSH) მეშვეობით [8,9]. ერთ-ერთი მზარდი ინტერესის სფეროა BSH-აქტიური პრობიოტიკების პოტენციური ქოლესტერინის შესამცირებელი. ნაჩვენებია, რომ BSH-აქტიური პრობიოტიკები ზრდის ნაწლავის სანათურში ნაღვლის მარილების დეკონიუგაციას, რაც იწვევს დეკონიუგირებული ნაღვლის მჟავების ცირკულირებადი დონის მატებას. დეკონიუგაციის შემდეგ, ნაღვლის მჟავები ნაკლებად ხსნადია, ვეღარ შეიწოვება ნაწლავში და გამოიყოფა განავალში. ამის საპასუხოდ, ჰომოსტაზური მექანიზმის ფარგლებში ქოლესტერინი გამოიყენება ნაღვლის მჟავების de novo სინთეზისთვის, რის შედეგადაც შრატის ქოლესტერინის დონე მცირდება [10]. 1197 პუბლიკაციის სისტემურმა მიმოხილვამ [11], რომელიც ბარიატრიული ქირურგიის შემდეგ სიმსუქნის მეტაბოლური გართულებების შემცირებაში ნაღვლის მჟავების როლს იკვლევდა, დაასკვნა, რომ არსებობს მტკიცე მტკიცებულებები ნაღვლის მჟავების მნიშვნელობის მხარდასაჭერად ლიპიდებისა და ქოლესტერინის მეტაბოლიზმში. ეს მიუთითებს, რომ ნაღვლის მჟავების რეგულაცია BSH-მომმწარმოებელი პრობიოტიკების გამოყენებით შესაძლოა იყოს უსაფრთხო და ბუნებრივი მიდგომა სისხლის ლიპიდური დონის მოდიფიცირებისა და გულ-სისხლძარღვთა რისკის შემცირებისათვის.

ქოლესტერინის დამაქვეითებელი პოტენციალის მქონე შტამების იდენტიფიცირების მიზნით ჩატარდა ფილოგენეტიკურად მრავალფეროვანი მიკრობული შტამების სისტემური სკრინინგი. შეირჩა *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402 (რძის პროდუქტიდან იზოლირებული შტამი), რადგან მან აჩვენა in vitro ნაღვლის მარილების ჰიდროლაზის (BSH) მაღალი აქტივობა, ქოლესტერინის მოცილების პოტენციალი, კუჭის, პანკრეასისა და ნაღვლის მჟავების მიმართ რეზისტენტობა, აგრეთვე მაღალი სიცოცხლისუნარიანობა გაყინვით გამრობის პროცესში. ადამიან მოხალისეებში ჩატარებული ამ კვლევის მიზანი იყო *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402-ის ტოლერანტობისა და ქოლესტერინის დამაქვეითებელი პოტენციალის მასშტაბის დადგენა 49 ჯანმრთელ, ნორმალური ან მსუბუქი ჰიპერქოლესტერინემიის მქონე მოზრდილში (30–65 წლის ასაკი). ძირითადი ეფექტურობის მაჩვენებლები მოიცავდა გავლენას სისხლის ლიპიდებზე (საერთო ქოლესტერინი, TC; დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები, LDL-C; მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები, HDL-C; და ტრიაცილგლიცერიდები, TAG), ანთებით ბიომარკერებზე, აგრეთვე კუჭ-ნაწლავის გვერდითი ეფექტების არსებობასა და სიმძიმეს ინტერვენციის უსაფრთხოებისა და ტოლერანტობის დასადგენად. მეორადი მაჩვენებლები მოიცავდა არტერიულ წნევას, იმუნურ ბიომარკერებს, ნაწლავის მიკრობიოტის დახასიათებასა და მეტაბოლიზმის ცვლილებებს. 12-კვირიანი ინტერვენცია ჩატარდა პარალელური, ორმაგად ბრმა, პლაცებოთი კონტროლირებული, რანდომიზებული დიზაინით და დასრულდა ოთხკვირიანი „გამორეცხვის“ (washout) პერიოდით.

2. მასალები და მეთოდები

2.1 პოპულაციის შერჩევა და მახასიათებლები

კვლევა დარეგისტრირდა როგორც კლინიკური ცდა (clinicaltrials.gov ID: NCT03263104) და ჩატარდა ჰელსინკის დეკლარაციის შესაბამისად, კარგი კლინიკური პრაქტიკის (GCP) მოთხოვნების დაცვით. დეკლარაციის შესაბამისად და დამტკიცდა რედინგის უნივერსიტეტის კვლევის ეთიკის კომიტეტის მიერ (UREC 15/06, 28.01.2015). შერჩევის დაწყებამდე ყველა სუბიექტისგან მიღებულ იქნა წერილობითი ინფორმირებული თანხმობა. ჩართვის კრიტერიუმები იყო: 18–50 წლის ასაკის მამაკაცები და ქალები; BMI 18.5–29.9 კგ/მ²; საერთო ქოლესტერინი (TC) 200–300 მგ/დლ (5.16–7.64 მმოლ/ლ). ზოგადი ჯანმრთელობის მდგომარეობა შეფასდა კვლევამდე შევსებული სამედიცინო კითხვარის მეშვეობით. პოტენციური მოხალისეები გამორიცხულ იქნენ, თუ მათ ჰქონდათ რომელიმე შემდეგი მდგომარეობა: კუჭ-ნაწლავის ქრონიკული ჩივილები (მათ შორის ქრონიკული ყაბზობა, დიარეა ან გაღიზიანებული ნაწლავის სინდრომი), დიაბეტი ან ანემია; ხანგრძლივად კუჭ-ნაწლავის ტრაქტზე მოქმედი მედიკამენტების მიღება, გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების სამკურნალო საშუალებები ან ნებისმიერი სხვა ხანგრძლივი მედიკამენტი; სისხლის ქოლესტერინის მაღალი დონე ან ქოლესტერინის დამაქვეითებელი პრეპარატების/ფუნქციური საკვების გამოყენება; ნარკოტიკის ან ალკოჰოლის ბოროტად გამოყენების ისტორია ან ალკოჰოლის მოხმარება კვირაში 14 ერთეულზე მეტი ქალებში და 21 ერთეულზე მეტი მამაკაცებში; მედიკამენტებზე ან საკვებზე ალერგიების არსებობა; მწველობა და წონის შემცირებაზე მიმართული დიეტა. ასევე გამორიცხულ იქნენ ქალები, რომლებიც კვლევის დაწყებიდან ექვსი თვის განმავლობაში გეგმავდნენ ორსულობას, იყვნენ მეძუძურები ან იმშობიარეს ბოლო ექვსი თვის განმავლობაში. დროით განსაზღვრული გამორიცხვის კრიტერიუმები მოიცავდა: ანტიბიოტიკების გამოყენებას კვლევამდე ექვსი თვის განმავლობაში; მონაწილეობას პრობიოტიკურ, პრებიოტიკურ ან საფალარათო საშუალებების კვლევაში, ან ექსპერიმენტული პრეპარატის მიღებას კვლევის დაწყებამდე ოთხი კვირის განმავლობაში. ჯამში 70 პოტენციურ ჯანმრთელ მოხალისე (18–50 წლის ასაკის) დაუკავშირდნენ რედინგის უნივერსიტეტიდან და მის შემოგარენიდან Hugh Sinclair Unit of Human Nutrition-ის მოხალისეთა მონაცემთა ბაზის მეშვეობით და ადგილობრივ საზოგადოებაში გავრცელებული განცხადებების საფუძველზე 2015 წლის იანვარ-თებერვალში. პირველი 68 გამომხატურებიდან 60-მა გაიარა სკრინინგი და 49 მოხალისე იქნა ჩართული კვლევაში; კვლევა დაასრულა 46 მონაწილემ, ხოლო 3 მონაწილე გამოეთიშა პირადი მიზეზების გამო (გრაფიკი 1). მონაწილეები (სქესი: 34 ქალი, 15 მამაკაცი; საშუალო ასაკი: 51.5 წელი [მამაკაცები 50.31, ქალები 52.70], დიაპაზონი 30–65 წელი; სხეულის მასის ინდექსი (BMI): მამაკაცები 25.68, ქალები 27.19, საერთო საშუალო 26.43 კგ/მ², დიაპაზონი 19.6–40.2 კგ/მ²) შემთხვევითობის პრინციპით გადანაწილდნენ ორ სამკურნალო ჯგუფში: პლაცებო და აქტიური. მოხალისეთა რანდომიზაციისთვის გამოყენებულ იქნა Excel-ზე დაფუძნებული კოვარიატებზე ადაპტირებული რანდომიზაციის პროგრამა, ასაკის, სქესისა და BMI-ის მიხედვით სტრატეგიკაციით. ორივე მკურნალობის პროცესი იყო ბრმა და დანამატი მიენოდებოდათ იდენტური ბლისტერული შეფუთვის კაფსულებში. კვლევა დაგეგმილი იყო ისე, რომ უზრუნველყოფილი ყოფილიყო 80%-იანი სტატისტიკური სიმძლავრე (MGH Biostatistics Hedwig Software), საერთო ქოლესტერინის (TC) საშუალო (\pm SD) ლოგ-ცვლილების საფუძველზე: 0.45 ± 0.4 , რომელიც მიღებული იყო ადამიან მოხალისეებში სისხლის ლიპიდებზე ჩატარებული წინა ინტერვენციული კვლევების მონაცემებიდან. აღნიშნული გათვლების მიხედვით, განსხვავებების გამოსავლენად საჭირო იყო 49 მონაწილე (15%-იანი განელების/გამოვარდნის გათვალისწინებით) ორმხრივი 0.05 მნიშვნელოვნების დონეზე.



გრაფიკი 1. კვლევის მონაწილეთა ნაკადი ინტერვენციის განმავლობაში

2.2 დიეტისა და მედიკამენტების მიმართ მოთხოვნები კვლევის განმავლობაში

აკრძალული იყო შემდეგი საკვების ან ნივთიერებების მიღება: პრებიოტიკური დანამატები, პრობიოტიკები, სტატინები, კუჭ-ნაწლავის მოტილობაზე მოქმედი მედიკამენტები, ანტიბიოტიკოთერაპია ან ნებისმიერი კლასის საფაღარათო საშუალებები. ნებისმიერი მიღებული მედიკამენტი აღირიცხებოდა დღიურებში. მოხალისეებს დაევადათ, კვლევის პერიოდში არ შეეცვალათ მათი ჩვეულებრივი კვების რეჟიმი ან სითხის მიღება.

Lactobacillus plantarum ECGC 13110402-ის შერჩევა. 353 ფილოგენეტიკურად მრავალფეროვანი Lactobacillus-ის შტამის BSH აქტივობა და ნაღვლის მიმართ რეზისტენტობა განისაზღვრა ანაერობულ პირობებში, 96-არხიანი (96-well) პლანშეტზე. თითოეულ არხში ჩაანვეთეს ნაღვლის მარილების ხსნარი (5 μ ლ, რომელიც შეიცავდა შემდეგ კომპონენტებს (w/v): 0.5% გლიკოდეოქსიქოლინის მჟავა, 0.5% ტაუროდეოქსიქოლინის მჟავა, 0.5% oxgal და 2.0% oxgal), ხოლო თითოეული ტესტი შეფასდა ზრდის მიხედვით 24 და 72 საათის შემდეგ. დამაიმედებელი შედეგები მიღებულ იქნა 45 შტამისთვის, რომელთა BSH აქტივობა დაკვალიანდა კლასიკური ფირფიტის მეთოდებით. ყველაზე მაღალი აქტივობის მქონე 24 Lactobacillus-ის შტამი შეირჩა ქოლესტერინის ასიმილაციის ტესტების ჩასატარებლად. Lactobacillus-ის შტამები ანაერობულად იზრდებოდა MRS ნუტრიენტულ გარემოში, რომელიც შეიცავდა 20 მგ/ლ ქოლესტერინს და 0.4% (w/v) oxgal-ს, 37°C ტემპერატურაზე 24 საათის განმავლობაში. შემდგომში Lactobacillus-ის უჯრედები გარემოსგან გამოეყო ცენტრიფუგირების გზით, ხოლო ნუტრიენტული გარემო გაიყინა -25°C-ზე შემდგომი დამუშავებამდე. ნიმუშების გაღვნიების შემდეგ, ქოლესტერინი გამოიყო გარემოს ოთახის ტემპერატურაზე ლიპიდების ექსტრაქციის მეთოდით. ზედნადები სითხე (3 მლ) შეანჯღრის 3 მლ ეთერ-ჰეპტანის ნარევეთან (1:1, v/v) და 1 მლ ეთანოლთან ($\geq 99.8\%$), რის შემდეგაც განხორციელდა ცენტრიფუგირება 3000 g-ზე 5 წუთის განმავლობაში. ეთერის/ჰეპტანის ზედა ფენა შეგროვდა მინის სინჯარაში და ექსტრაქცია განმეორდა ორჯერ 1.5 მლ ეთერ/ჰეპტანისა და 0.5 მლ ეთანოლის გამოყენებით. შეგროვებული ლიპიდური ექსტრაქტის შემცველობა გააზრეს აბოტის ნაკადში დაახლოებით 40°C ტემპერატურაზე. შემდგომ ცხიმოვანი კომპონენტები გახსნეს ჰეპტანში ულტრაბგერითი აბაზანის გამოყენებით 5 წუთის განმავლობაში. ხსნარს დაემატა მცირე რაოდენობის ნატრიუმის სულფატი დარჩენილი წყლის დასაკავშირებლად. ცენტრიფუგირების შემდეგ, 1.0 μ ლ ნიმუში შეყვანილ იქნა კაპილარულ გამჭრიატოგრაფიულ სვეტში (Agilent: VF-5ht UltiMetal 30 მ \times 0.32 მმ შიდა დიამეტრი, DF = 0.10 μ მ, დამატებით 2 მ \times 0.53 მმ შიდა დიამეტრის რეტენციული ინტერვალით) ალის იონიზაციის დეტექტორის გამოყენებით. ქოლესტერინის შემცველობა გამოთვალა ჰეპტანში გახსნილი ქოლესტერინის სტანდარტული ხსნარის გამოყენებით.

კვლევის დიზაინი. კვლევა ჩატარდა ერთცენტრიან, პროსპექტიულ, რანდომიზებულ, პლაცებოტი კონტროლირებულ, პარალელური ჯგუფების დიზაინით და შედგებოდა ორი ფაზისგან: მკურნალობის პერიოდი (12 კვირა), რომლის განმავლობაში მონაწილეები იღებდნენ ან აქტიურ პრეპარატს, ან პლაცებოს, და „გამორეცხვის“ პერიოდი (4 კვირა). სკრინინგ ვიზიტის შემდეგ, რომელმაც უზრუნველყო ჩართვის კრიტერიუმებთან შესაბამისობა, კვლევა მოიცავდა სანყის, შუალედურ და საბოლოო შეფასებებს (შესაბამისად მე-6 და მე-12 კვირებზე), აგრეთვე „გამორეცხვის“ ვიზიტს მე-16 კვირაზე.

მონაწილეებს ეთხოვათ პროდუქტის მიღება დღეში ორჯერ - საუზმისა და ვახშმის წინ - და მიეცათ რეკომენდაცია, რომ კვლევის მთელი პერიოდის განმავლობაში არ შეეცვალათ მათი ჩვეულებრივი კვების რეჟიმი ან ფიზიკური აქტივობა. თითოეულ მონაწილეს უნდა მიეღო მკურნალობა, რომელიც მოიცავდა Lactobacillus plantarum ECGC 13110402-ს 2×10^9 CFU კონცენტრაციით (0.1 გ), დღეში ორჯერ კაფსულის (მცენარული) ფორმით, შემავსებელი მატარებლის დამატებით (0.12 გ; 30% w/v მალტოდექსტრინი და 5% w/v საქარობა), ან პლაცებოს (0.12 გ; 30% w/v მალტოდექსტრინი და 5% w/v საქარობა). ყველა მონაწილეს მიეცათ მითითება პროდუქტის შენახვის პირობების შესახებ, რათა კვლევის მთელი პერიოდის განმავლობაში უზრუნველყოფილი ყოფილიყო პროდუქტის სტაბილურობა და ერთგვაროვნება. პრობიოტიკი წარმოებული

იყო CSL-ის მიერ (Centro Sperimentale del Latte, ლოდი, იტალია). აქტიური და პლაცებოს ფორმულები შერეულ იქნა, კაფსულირებული და დაბრმავებულად შეფუთული ბლისტერულ შეფუთვაში Nutrilinea srl-ის მიერ (გალარატე, იტალია).

ანთროპომეტრიული მაჩვენებლები და არტერიული წნევა. კვლევის მონაწილეთა ანთროპომეტრიული პარამეტრები იზომებოდა ყველა ვიზიტის დროს. მათ შორის იყო სხეულის მასა, სხეულის მასის ინდექსი (BMI) და სხეულის ცხიმის პროცენტული შემცველობა (Tanita BC-418 სეგმენტური სხეულის შემადგენლობის ანალიზატორი, Scalesmart UK). დამატებით იზომებოდა სიმალლე და წელის გარშემოწერილობა. არტერიული წნევის მაჩვენებლები თითოეული ვიზიტის დროს განისაზღვრებოდა სამჯერადი გაზომვით ელექტრონული სფიგმომანომეტრის გამოყენებით (CONTECO8E, დიდი ბრიტანეთი).

სისხლის, შარდისა და განავლის ნიმუშების შეგროვება. ყველა ვიზიტის დროს შეგროვდა ახლად გამოყოფილი განავლის ნიმუშები და პირველი დილის შარდი, რომლებიც ინახებოდა -80°C ტემპერატურაზე შემდგომი ანალიზის ჩატარებამდე. თითოეული მოხალისისგან, კვალიფიციური ფლებოტომისტის მიერ შეგროვებული სისხლის ნიმუშები შეგროვდა ერთ 10 მლ EDTA მილში (BD Vacutainer EDTA Tube, BD, Cowley, Oxon, UK) უბმოზე TAG, TC და HDL-C ანალიზისთვის; ერთ 2 მლ ფტორიდის/ოქსალატის მილში (BD Vacutainer Fluoride/Oxalate Tube) უბმოზე გლუკოზის ანალიზისთვის. ნიმუშების აღების შემდეგ ყველა ნიმუში ინახებოდა ყინულზე ცენტრიფუგირებამდე. პლაზმის ნიმუშები მიღებულ იქნა ცენტრიფუგირების გზით 1700 გ-ზე 10 წუთის განმავლობაში, გადანაწილდა 1.5 მლ მიკროცენტრიფუგის მილებში და გაყინულ იქნა -20°C -ზე ნიმუშის აღებიდან 1 საათის განმავლობაში. ანალიზის წინ პლაზმის ნიმუშები გაყინვა-გაღობის შემდეგ კვლავ ცენტრიფუგირდა 1500 გ-ზე 5 წუთის განმავლობაში.

პლაზმის TAG-ის, საერთო ქოლესტერინისა და HDL-ქოლესტერინის კონცენტრაციების განსაზღვრა. პლაზმაში ტრიაცილგლიცერიდების (TAG), საერთო ქოლესტერინის (TC) და მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინ ქოლესტერინის (HDL-C) კონცენტრაციები განისაზღვრა AU5800 კლინიკური ქიმიის სისტემის გამოყენებით (Beckman Coulter, ბაკინგემშირი, დიდი ბრიტანეთი). ტესტ-სეტები (IL Test triacylglycerols, IL Test cholesterol, IL Test HDL cholesterol), მონოდეტული Beckman Coulter UK-ის მიერ, გამოყენებულ იქნა მწარმოებლის ინსტრუქციების შესაბამისად პლაზმაში TAG-ის, TC-ისა და HDL-C-ის განსაზღვრისათვის.

ანთებითი / იმუნური ბიომარკერები. ანთებითი ბიომარკერები - ინტერლეუკინი 6 (IL-6), სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი ალფა (TNF- α), C-რეაქტიული ცილა (CRP) და ინტერლეუკინი 10 (IL-10) - განისაზღვრა ფერმენტთან დაკავშირებული იმუნოსორბენტული ანალიზის (ELISA) მეთოდით, შესაბამისი სპეციფიკური რეაგენტების სეტების გამოყენებით (Quantikine ELISA, R&D Systems Inc., ბარტონი, დიდი ბრიტანეთი).

შრატის ნიმუშები გააღვს როლერულ მიქსერზე. კალიბრატორები და რეაგენტები მომზადდა მწარმოებლის ინსტრუქციების შესაბამისად. შრატის, კალიბრატორის ან კონტროლის 25 μl ალიკვოტი პიპეტირებით გადაიტანეს 96-ჭუჭრუტანიან ფირფიტაზე და დაემატა 100 μl ანტი-ციტოკინური ანტისხეული, ხრახნული პეროქსიდაზის (horseradish peroxidase) კონიუგატი. ფირფიტა შეანჯღრის ოთახის ტემპერატურაზე 1 საათის განმავლობაში. ინკუბაციის შემდეგ ფირფიტა გაირეცხა სამჯერ სარეცხი ბუფერით. თითოეულ არხში დაემატა 100 μl სუბსტრატის ხსნარი და შეანჯღრის ოთახის ტემპერატურაზე 10 წუთის განმავლობაში. რეაქცია შეჩერდა 100 μl შემაჩერებელი ხსნარის დამატებით და ფირფიტა დაუყოვნებლივ გაანალიზდა 450 ნმ ტალღის სიგრძეზე ავტომატური ELISA ფირფიტის სპექტროფოტომეტრის გამოყენებით (Tecan GENios; Process Analysis and Automation Ltd., ფარნბორო, ჰანტსი, დიდი ბრიტანეთი). ნიმუშებისა და ხარისხის კონტროლების ციტოკინების კონცენტრაციები ავტომატურად განისაზღვრა სტანდარტული მრუდიდან Magellan (ვერსია 5.01) კომპიუტერული პროგრამის გამოყენებით.

შარდისა და შრატის ნიმუშებისთვის ^1H ბირთვული მაგნიტური რეზონანსის (NMR) სპექტროსკოპია. მეტაბოლოგიური ანალიზი შესრულდა ნუკლეარული მაგნიტური რეზონანსის (NMR) სპექტროსკოპიის გამოყენებით იმპერიალ კოლეჯში, ლონდონში, შარდისა და შრატის ნიმუშებზე, მეტაბოლიტების და ნაღვლის მარილების რაოდენობრივი განსაზღვრისთვის. შარდის ნიმუშები NMR-ისთვის განლაგდა თანმიმდევრულად, რათა ოპტიმიზირებულიყო მონაცემების მიღება და მინიმუმამდე დაეყვანათ ბუნებრივი ცვლილებადი ფაქტორები. ერთი ექსპერიმენტიდან ყველა ნიმუში აღებული იქნა ერთ პარტიად ნიმუშის მთლიანობის შესანარჩუნებლად. ნიმუშები მომზადდა დეიტერირებული ფოსფატურ ბუფერში (28.86 გ/ლ დისოდიუმის ფოსფატი, 5.25 გ/ლ მონოსოდიუმის ფოსფატი, 0.172 გ/ლ ნატრიუმის 3-(ტრიმეთილსილილი) პროპიონატ-დ4 (TSP) (1 მმ) და 0.193 გ/ლ ნატრიუმის აზიდი 900 მლ დეუტერიუმის ოდში (D_2O) (v/v) და 100 მლ H_2O). NMR-ისთვის შარდის ნიმუშები გაიყინა -80°C -ზე და გაიარა ვორტექსირება ჰომოგენური ნიმუშის უზრუნველსაყოფად. თითოეული შარდის ნიმუში (400 μl) მოთავსდა მიკროცენტრიფუგის მილში, დაემატა 200 μl ფოსფატური ბუფერი, ვორტექსირებდა და ცენტრიფუგირდა 8000 გ-ზე 10 წუთის განმავლობაში. ამის შემდეგ 550 μl ზედნადები გადაიტანეს 5 მმ NMR მილში. TSP გამოიყენებოდა NMR სპექტრის კალიბრაციის შიდა სტანდარტად, ხოლო ნატრიუმის აზიდი დაემატა მიკრობული ზრდის პრევენციის მიზნით ნიმუშების NMR ანალიზამდე. ყველა ნიმუში ანალიზდებოდა Bruker Ultrashield Plus NMR სპექტრომეტრზე, 300 K ტემპერატურაზე, ოპერირების სიხშირე 700.13 MHz ^1H -ის ალქმისთვის. სტანდარტული ერთგანზომილებიანი NMR სპექტრი მიღებული იქნა წყლის პიკის დათრგუნვით სტანდარტული იმპულსური თანმიმდევრობის გამოყენებით (გადამუშავების შეფერხება- 90° -t1- 90° -tm- 90° -მიღება) - Noesypr1D. გადამუშავების შეფერხება დაყენებული იყო 2 ნაშზე, ხოლო შერევის დრო (tm) - 100 მილიწამზე.

პლაზმური ნიმუშებისთვის, ნიმუშის 30 μl შეურიეს 30 μl ფიზიოლოგიურ ბუფერს (TSP-ის გარეშე) და 50 μl გადაიტანეს კაპილარულ NMR მილში. პლაზმური ნიმუშები აღებული იქნა შარდისა და ღვიძლის ნიმუშების მსგავსად სტანდარტული წინასწარი გაჯერების პულსური თანმიმდევრობის გამოყენებით, რასაც მოჰყვა კარ-პერსელ მეიბუმ გილის (CPMG) სპინ-ექოს პულსური პროგრამა 8 ფიქტიური სკანირებით, რასაც მოჰყვა 128 სკანირება, რომლებიც შეგროვდა 64 K მონაცემთა წერტილებში, სპექტრული სიგანით 20 ppm და თითო სკანირების შეგროვების დროით 1.36 წამი. შერევის დრო იყო 100 მილიწამი, ხოლო გადამუშავების დრო - 2 წამი. ყველა ^1H NMR სპექტრი დამუშავდა TopSpin 3.1.5 (Bruker™) ალგორითმებით ფაზის კორექციისთვის, ქიმიური ცვლის კალიბრაციისთვის TSP-ის ნულ ppm-ზე დაყენებით და საბაზისო კორექციისთვის, რათა შესაძლებელი ყოფილიყო სპექტრული მონაცემების შედარება მრავალვარიანტული მონაცემთა ანალიზით.

მიკრობული დნმ-ის ექსტრაქცია განავლიდან. ბაქტერიული დნმ-ის მთლიანი რაოდენობა ექსტრაგირებული იქნა განავლის 250 მგ ნიმუშიდან QIAamp DNA Stool Mini Kit-ის (QIAGEN, დიდი ბრიტანეთი) გამოყენებით, მოდიფიცირებული პროტოკოლით [12]. დნმ-ის ნიმუშები ხელახლა სუსპენზირებული იქნა 100 μl TE ბუფერში და დამუშავდა 2 μl DNase-free RNase-ით (10 მგ/მლ) 37°C ტემპერატურაზე 15 წუთის განმავლობაში. ცილები ამოღებულ იქნა 15 μl პროტეინაზა K-თი დამუშავებით 70°C ტემპერატურაზე 10 წუთის განმავლობაში. დნმ შემდგომში გაიწმინდა QIAamp Mini Spin სვეტების (QIAGEN) გამოყენებით, მწარმოებლის ინსტრუქციის შესაბამისად. დნმ-ის საბოლოო კონცენტრაცია განისაზღვრა NanoDrop ND-1000-ის (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE) გამოყენებით.

16S rRNA გენის ამპლიფიკაცია შემდეგი თაობის სეკვენირებისა (NGS) და ბიოინფორმატიკული ანალიზი. NGS ანალიზისთვის 16S rRNA გენის V3-V4 რეგიონი PCR-ით ამპლიფიცირდა 50 μ L საბოლოო მოცულობის ნარევიში, რომელიც შეიცავდა: 25 ნგ მიკრობული DNA-ს, 2X KAPA HiFi HotStart ReadyMix (KAPA Biosystems, Resnova, რომი, იტალია) და 200 ნმოლ/ლ პრაიმერს S-D-Bact-0341-b-S-17 / S-D-Bact-0785-a-A-21, რომლებიც შეიცავდნენ Illumina-ის ოვერჰენგ ადაპტერულ სეკვენციებს. ამპლიფიკაციის ციკლი შედგებოდა: სანყისი დენატურაცია: 3 წუთი, 95°C 25 ციკლი: 30 წმ 95°C-ზე (დენატურაცია), 30 წმ 55°C-ზე (ანელირება), 30 წმ 72°C-ზე (ელონგაცია) საბოლოო ექსტენზია: 5 წუთი, 72°C ამ პროცედურას ასრულებდა Biometra Thermal Cycler T Gradient (Biometra). მაგნიტურ მძივებზე დაფუძნებული გამწმენდი სისტემა (Agencourt AMPure XP; Beckman Coulter, Brea, CA) გამოყენებული იქნა 460 bp ამპლიკონების გასაწმენდად, რომლებიც შემდეგ გამოიყენეს ინდექსირებული ბიბლიოთეკების მოსამზადებლად შემზღვეული ციკლის PCR-ის გამოყენებით Nextera ტექნოლოგიის გამოყენებით. ბიბლიოთეკები გაინმინდა და შემდეგ ნაერთებში შეაერთეს ეკვიმოლარული კონცენტრაციით (4 წმ), დენატურირებული და დილუცირებული 6 პმოლ/ლ-მდე. ნიმუშები სეკვენირებული იქნა Illumina MiSeq პლატფორმაზე, 2x300 ბპ წყვილური პროტოკოლის გამოყენებით, მწარმოებლის ინსტრუქციების მიხედვით (Illumina, San Diego, CA). წყვილური ნაკითხვები ანალიზირებული იქნა QIIME პაიპლაინის [13] და PANDAseq [14] გამოყენებით, ხოლო ტაქსონომიური განაწილებისთვის გამოყენებული იქნა Greengenes მონაცემთა ბაზა [15]. ქიმერების გაფილტვრა შესრულდა UCLUST-ის გამოყენებით, რომელიც ამოღებს სინგლეთონ OTU-ებს [16].

2.3 სტატისტიკური ანალიზი

სანყის ანალიზებში შეისწავლეს დემოგრაფიული მონაცემები და სანყის შედეგები, რათა დარწმუნებულიყვნენ, ჯგუფებს შორის შესაბამისობაზე. უწყვეტი ცვლადები განისაზღვრა unpaired t-test-ის გამოყენებით, ხოლო კატეგორიული ცვლადებისთვის გამოყენებულ იქნა Chi-square ტესტი. შეისწავლა შედეგების ცვლილება ოთხ წინასწარ განსაზღვრულ კვლევის პერიოდზე: სანყისი \rightarrow 6 კვირა 6 კვირა \rightarrow 12 კვირა სანყისი \rightarrow 12 კვირა 12 კვირა \rightarrow 16 კვირა ანალიზები შესრულდა კოვარიაციული ანალიზის (ANCOVA) მეთოდის გამოყენებით, პროგრამით Stata ვერსია 13.2. ბოლო დროის წერტილი გამოიყენებოდა როგორც შედეგის ცვლადი, ხოლო ადრე აღებული დროის წერტილი ჩაითვალია კოვარიაციად. თითოეული პერიოდისთვის შესრულდა ცალკეული ANCOVA ანალიზი. მოდელების დებულებები შემოწმდა რეზიდუალების ნორმალურობისა და პროგნოზირებული მნიშვნელობებთან ურთიერთობის მიხედვით. მონაცემები იყო სრულყოფილი უმეტეს პაციენტებისა და უმეტეს შედეგებისთვის. არ არსებული მნიშვნელობები ამოიღეს ანალიზებიდან.

მკურნალობის ეფექტი ლიპიდურ პროფილებზე, არტერიულ წნევაზე, ანთებით/იმუნურ ბიომარკერებზე, კუჭ-ნაწლავის სიმპტომებზე და ანთროპომეტრიულ მაჩვენებლებზე. პირველ რიგში, მკურნალობის ეფექტი შეფასდა მთელი კვლევის პოპულაციაზე. დამატებით, პლაცებოსა და აქტიურ ჯგუფებს შორის შედარება განხორციელდა პაციენტების სუბჯგუფებში. სტრატეფიცირებული სანყისი საერთო ქოლესტერინის (TC) დონით: ნორმალური სანყისი TC (N-TC) $<$ 5 მმოლ/ლ მსუბუქად ანუ სანყისი TC (M-TC) 5-5.9 მმოლ/ლ მაღალი სანყისი TC (H-TC) \geq 6.0 მმოლ/ლ სუბგრუპები ასევე განისაზღვრა სქესის (მამრობითი, მდედრობითი) და ასაკის ($<$ 50 წლის, 50-59 წლის, \geq 60 წლის) მიხედვით.

¹H NMR-ის მრავალცვლადიანი სტატისტიკური მონაცემების ანალიზი. მრავალცვლადიანი სტატისტიკური ანალიზები (PCA და OPLS-DA) შესრულდა Matlab-ში, Korrigan Toolbox-ის (Korrigan Sciences Ltd, დიდი ბრიტანეთი) სტატისტიკური ინსტრუმენტების გამოყენებით, აგრეთვე უნივერსიტეტ Reading-ის (დიდი ბრიტანეთი) შინაგანი სკრიპტების დახმარებით.

მეტაგენომიური მონაცემების ბიოსტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა R (<https://www.r-project.org/>) და Microsoft Excel-ის გამოყენებით. ნიმუშებს შორის მსგავსებების შესასწავლად და ვიზუალიზაციისთვის ჩატარდა პრინციპული კოორდინატების ანალიზი (PCoA) შენონილი და დაუნონავი UniFrac მეტრიკის გამოყენებით [17].

3. შედეგები

3.1 Lactobacillus plantarum ECGC 13110402 შერჩევა

სისტემატური in vitro სკრინინგის შედეგად, რომელიც ჩატარეს ფილოგენეტიკურად მრავალფეროვან Lactobacillus შტამებზე, Lactobacillus plantarum ECGC 13110402 შეირჩა როგორც ყველაზე პერსპექტიული შტამი, რომელიც აერთიანებს მაღალი BSH აქტივობას (2.6 μ mol/სთ/10⁸ უჯრედი), in vitro ქოლესტერინის შემცირების უნარს 77.9%-ით, მაღალ პრეფერენციულ წინააღმდეგობას მჟავე გარემოს, პანკრეატიტს და მჟავას მიმართ და მაღალი გამძლეობას გაყინვის შემდგომ. Lactobacillus plantarum ECGC 13110402 წარმოებულია, კაპსულებში მოთავსებულია და შეფუთულია ბლისტერულ პაკეტებში ამ კლინიკური კვლევისათვის.

3.2 საბაზისო დემოგრაფიული ცვლადები და მოხალისეთა სტრატეფიკაცია

სანყის ეტაპზე შემოწმდა აქტიური (n = 23) და პლაცებო (n = 23) ჯგუფების დემოგრაფიული პარამეტრები (ცხრილი 1). სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი განსხვავებები არ დაფიქსირებულა სანყის ლიპიდურ პროფილებში, წონაში, სხეულის მასის ინდექსში, წელის გარშემოწერილობაში, სისტოლურ და დიასტოლურ არტერიულ წნევაში, ასაკსა და სქესში. ცხრილი 2 აჩვენებს მოხალისეების სტრატეფიკაციას ქვეჯგუფებად მათი სანყისი TC დონის, ასაკისა და სქესის მიხედვით.

3.3 ანთროპომეტრიული მონაცემები და არტერიული წნევა

Lactobacillus plantarum ECGC 13110402-ით მკურნალობას არ ჰქონდა სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი გავლენა სხეულის წონაზე, BMI-ზე ან წელის გარშემოწერილობაზე სანყის და 12-კვირიან სასწავლო პერიოდში (ცხრილი 3). კვლევის ჯგუფები მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდნენ (P = 0.003; -1.8 საშუალო ცვლილების (SD) [დიაპაზონი], -0.7% საშუალო ცვლილების (SD) [დიაპაზონი], -0.6 ჯგუფური სხვაობის საშუალო (95% CI) 6-დან 12 კვირამდე პერიოდში (ცხრილი 4). პლაცებო ჯგუფში აღინიშნა ზრდა, მაგრამ აქტიური ჯგუფის მცირე შემცირება. 12 კვირის შემდეგ მაჩვენებლები აქტიურ ჯგუფში 6 mmHg-ით (5.1%) დაბალი აღმოჩნდა, ვიდრე პლაცებო ჯგუფში.

3.4 ლიპიდური პარამეტრები

საერთო ქოლესტერინი (TC). პლაცებოს ჯგუფთან შედარებით, სანყისი მდგომარეობიდან 12 კვირის პერიოდში TC აქტიური მკურნალობის ყველა ჯგუფში შემცირების მუდმივი ტენდენცია გამოჩნდა, თუმცა ეს სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი არ იყო (ცხრილები 5-7). სანყისი მდგომარეობიდან კვლევის შუა წერტილამდე პერიოდში (0-6 კვირა) TC-ში სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი 2.44 მმოლ/ლ-ის შემცირება დაფიქსირდა, რაც შეესაბამება 36.7%-იან შემცირებას (P = 0.045; -0.50

ცხრილი 1. ინტერვენციული კვლევის მონაწილეთა დემოგრაფიული და სანყისი მახასიათებლები აქტიური (*Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402) და პლაცებო მკურნალობის ჯგუფებში.

ცვლადი	პლაცებო (n = 23) საშუალო (SD)	აქტიური (n = 23) საშუალო (SD)	P-მნიშვნელობა
ასაკი (წლები)	52.0 (8.4)	52.3 (10.7)	0.89
სქესი (*) მდედრობითი	14 (61%)	18 (78%)	0.20
მამაკაცი	9 (39%)	5 (22%)	
საერთო ქოლესტერინი (მმ)	5.22 (0.92)	5.10 (0.71)	0.62
HDL ქოლესტერინი (მმლ)	1.24 (0.31)	1.40 (0.35)	0.10
LDL ქოლესტერინი (მმ)	3.44 (0.76)	3.20 (0.68)	0.28
ტრიგლიცერიდები (მმ)	1.18 (0.45)	1.11 (0.46)	0.61
წონა (კგ)	79.2 (16.5)	72.1 (12.0)	0.10
BMI (კგ/მ ²)	26.8 (5.0)	26.7 (3.7)	0.96
წელის გარშემოწერილობა (სმ)	92.3 (13.5)	89.6 (12.0)	0.49
სისტოლური არტერიული წნევა (მმ.ვწყ.სვ.)	118.7 (16.0)	119.2 (13.2)	0.73
დიასტოლური არტერიული წნევა (მმ.ვწყ.სვ.)	71.0 (12.2)	73.0 (8.0)	0.52

ცვლილება საშუალო (SD) [diapazon], -7.8% ცვლილება საშუალო (SD) [diapazon], -2.44 ჯგუფებს შორის განსხვავება საშუალო (95% CI) H-TC ჯგუფში (ცხრილი 8). თუმცა, ამ ჯგუფის პოპულაციის ზომა ძალიან მცირე იყო (n = 3 პლაცებო/3 აქტიური ნივთიერება) და დაბალი რიცხვები შეიძლება მნიშვნელოვნად იყოს დამოკიდებული ინდივიდუალურ ცვლილებებზე მისი სტატისტიკური მნიშვნელობის მიუხედავად. ამიტომ, ამ ეფექტს არ უნდა მივანეროთ ჯგუფური შესაბამისობა. სქესის მნიშვნელოვანი გავლენა TC-ზე არ გამოვლენილა.

	საერთო ქოლესტერინი	ასაკი	სქესი
	<5mM (N-TC)	<50 წელი	მამაკაცი
აქტიური	12	9	5
პლაცებო	11	7	9
	5-5.9mM (M-TC)	50-59 წელი	ქალი
აქტიური	8	6	18
პლაცებო	9	12	14
	>6.0mM (H-TC)	>60 წელი	
აქტიური	3	8	
პლაცებო	3	4	

ცხრილი 2. ადამიანებში ჩატარებული ინტერვენციული კვლევის მოხალისეთა სტრატეგიკაცია ჯგუფებად სანყისი საერთო ქოლესტერინის, ასაკისა და სქესის მიხედვით აქტიური (*Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402) და პლაცებო მკურნალობის ჯგუფებში.

მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ქოლესტერინი (HDL-C). HDL-C-მა სანყისი მდგომარეობიდან 12 კვირის პერიოდში მსუბუქი ზრდა განიცადა როგორც პლაცებო, ისე აქტიურ ჯგუფებში. სანყისი განსხვავებების კორექტირების შემდეგ, HDL-C კონცენტრაციები ყველა მონაწილესა და N-TC ჯგუფებში აქტიურ ჯგუფში პლაცებოსთან შედარებით 0.06 მმოლ/ლ (4.5%) და 0.09 მმოლ/ლ (7.4%) მაღალი იყო. ეს განსხვავების უმეტესი ნაწილი დაფიქსირდა 6-12 კვირის პერიოდში, როგორც ყველა მონაწილეზე (P = 0.023; 0.06 ცვლილება საშუალო (SD) [diapazon], 3.4% ცვლილება საშუალო (SD) [diapazon], 0.06 ჯგუფებს შორის განსხვავება საშუალო (95% CI) ცხრილი 6), ასევე N-TC ჯგუფში (P = 0.33; 0.10 ცვლილება საშუალო (SD) [diapazon], 6.2% ცვლილება საშუალო (SD) [diapazon], 0.09 ჯგუფებს შორის განსხვავება საშუალო (95% CI)). ასაკობრივი სტრატეგიკაციით (<50, 50-59 და 60+) 60+ ჯგუფში (n = 12) გამოვლინდა სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი ჯგუფური განსხვავებები, სადაც HDL სის საშუალო ზრდა პლაცებოსთან შედარებით 0.23 მმოლ/ლ (14.7%) იყო. სანყისი TC კონცენტრაციის და სქესის მიხედვით სტრატეგიკაციამ HDL-C დონეებზე მკურნალობის მნიშვნელოვანი ეფექტი არ აჩვენა.

დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ქოლესტერინი (LDL-C). LDL-C შემცირდა სანყისი მდგომარეობიდან 12 კვირის პერიოდში ყველა აქტიურ მკურნალობის ჯგუფში, ხოლო პლაცებო ჯგუფში ასეთი ეფექტი არ აღინიშნა. N-TC ჯგუფში LDL-C კონცენტრაცია აქტიურ ჯგუფში პლაცებოსთან შედარებით მნიშვნელოვნად დაბალი იყო 0.39 მმოლ/ლ (13.9%; P = 0.03). M-TC ჯგუფში LDL-C საშუალოდ 0.47 მმოლ/ლ (13.1%) შემცირდა, თუმცა ეს სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი არ იყო. LDL-C-ს შემცირების ეფექტი მუდმივი იყო როგორც 0-6, ასევე 6-12 კვირის პერიოდებში. სქესის მიხედვით სტრატეგიკაციამ აჩვენა, რომ ქალი მოხალისეებში LDL-C-ს შემცირების ეფექტი უფრო გამოხატული იყო, ვიდრე მამაკაცებში, თუმცა ეს სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი არ იყო (P = 0.06). აქტიური ჯგუფის კონცენტრაციები ქალებში პლაცებოსთან შედარებით 0.41 მმოლ/ლ-ით (12.4%-ით) დაბალი იყო, ხოლო მამაკაცებში პლაცებოსთან შედარებით - 0.06 მმოლ/ლ-ით (1.8%, P = 0.06), ხოლო ზრდა დაფიქსირდა აქტიური ჯგუფის მამაკაცებში, პლაცებოსთან შედარებით (P = 0.83). მოხალისეთა ასაკის მიხედვით სტრატეგიკაციამ აჩვენა, რომ LDL-C კონცენტრაციის შემცირება ასაკის ზრდასთან ერთად მატულობდა. <50 წლის ჯგუფში სანყისი მდგომარეობის კორექტირების შემდეგ მცირე ცვლილებები დაფიქსირდა (0.08 მმოლ/ლ ზრდა). 50-59 წლის ჯგუფში LDL-C შემცირება უფრო გამოხატული იყო (0.49 მმოლ/ლ), ხოლო 60 წლის და უფროსებში 0.31 მმოლ/ლ, რაც აქტიურ ჯგუფში პლაცებოსთან შედარებით შესაბამისად 15% და 9.14%-იან შემცირებას შეესაბამება.

ტრიგლიცერიდები (TAG). არც აქტიური, არც პლაცებო მკურნალობის მიღებისას არ აღინიშნა სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი ეფექტი ტრიგლიცერიდების კონცენტრაციაზე ყველა მონაწილეში, L-TC, M-TC ან H-TC ჯგუფებში. ასაკის მიხედვით სტრატეგიკაციამ (<50, n = 16; 50-59, n = 18; 60+, n = 12) აჩვენა სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი (P = 0.002) ტრიგლიცერიდების შემცირება 60+ ჯგუფში, აქტიურ და პლაცებო ჯგუფებს შორის 0.48 მმოლ/ლ (53.9%) სანყისი მდგომარეობიდან 12 კვირის პერიოდში. ტრიგლიცერიდების

შედეგი	ჯგუფი	N	საბაზისო საშუალო (SD)	12 კვირის საშუალო (SD)	ცვლილება საშუალო [დიაპაზონი] (SD)	% ცვლილება [დიაპაზონი] (SD)	ჯგუფის სხვაობა საშუალო (95% CI)	P- value
წონა (კგ)	პლაცებო	23	79.2 (16.5)	79.3 (16.8)	0.2 (1.7) [-2.6, 3.5]	0.1 (2.1) [-3.3, 4.7]	0	0.18
	აქტიური	23	72.1 (12.0)	72.8 (12.6)	0.7 (1.7) [-2.6, 3.8]	0.9 (2.2) [-2.8, 4.9]	0.7 (-0.3, 1.7)	
BMI (კგ/მ2)	პლაცებო	23	26.8 (5.0)	27.0 (5.2)	0.3 (1.3) [-3.1, 4.2]	0.9 (4.7) [-9.3, 15.5]	0	0.41
	აქტიური	23	26.7 (3.7)	27.2 (4.0)	0.5 (0.9) [-1.1, 3.3]	2.0 (3.3) [-3.9, 11.8]	0.3 (-0.4, 1.0)	
წელის გარშ. (სმ)	პლაცებო	23	92.3 (13.5)	90.5 (13.8)	-1.8 (6.4) [-14, 12]	-1.8 (6.8) [-17.3, 12.9]	0	0.61
	აქტიური	23	89.6 (12.0)	89.1 (11.0)	-0.5 (5.7) [-13, 13]	-0.2 (6.7) [-13.0, 16.3]	0.9 (-2.6, 4.4)	
სისტ. არტ. წნევა (მმ ვწყ.სვ.)	პლაცებო	23	117.7 (16.0)	122.3 (11.4)	4.7 (11.0) [-13, 28]	4.9 (10.3) [-11.4, 31.1]	0	0.15
	აქტიური	22	117.7 (16.0)	119.7 (13.0)	0.5 (8.9) [-19, 21]	0.7 (7.2) [-13.4, 15.8]	-3.6 (-8.6, 1.4)	
დიას. არტ. წნევა (მმ ვწყ.სვ.)	პლაცებო	23	71.0 (12.2)	73.5 (8.2)	2.4 (9.0) [-15, 18]	5.0 (13.6) [-14.4, 30.5]	0	0.39
	აქტიური	22	73.0 (8.0)	73.0 (8.2)	0.0 (5.9) [-9, 13]	0.3 (8.4) [-10.5, 20.3]	-1.6 (-5.2, 2.1)	

ცხრილი 3. ანთროპომეტრიული გაზომვებისა და არტერიული წნევის ცვლილება კვლევის ყველა მონაწილეში სანყის დონესა და 12 კვირის შორის აქტიური (*Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402) და პლაცებო მკურნალობის ჯგუფებში.

შემცირება უფრო გამოხატული იყო 6-12 კვირის პერიოდში, სადაც სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი 0.26 მმოლ/ლ (32.9%; P = 0.03) კლება დაფიქსირდა. სანყისი მდგომარეობიდან 6 კვირამდე პერიოდში შემცირება 0.38 მმოლ/ლ (31.4%) იყო, თუმცა ეს სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი არ იყო (P = 0.47).

შედეგი	ჯგუფი	N	6 კვირა საშუალო (SD)	12 კვირის საშუალო (SD)	ცვლილება საშუალო [დიაპაზონი] (SD)	% ცვლილება (SD) [დიაპაზონი]	ჯგუფის სხვაობა საშუალო (95% CI)	P- value
წონა (კგ)	პლაცებო	23	79.4 (16.2)	79.3 (16.8)	0.0 (1.3) [-3.0, 2.8]	-0.2 (1.7) [-3.8, 2.8]	0	0.34
	აქტიური	23	72.6 (12.5)	72.8 (12.6)	0.2 (1.1) [-2.6, 2.1]	0.2 (1.5) [-3.8, 3.3]	0.3 (-0.4, 1.1)	
BMI (კგ/მ2)	პლაცებო	23	26.9 (5.0)	27.0 (5.2)	0.1 (1.0) [-1.2, 3.7]	0.5 (3.5) [-4.8, 13.4]	0	0.57
	აქტიური	23	26.9 (3.8)	27.2 (4.0)	0.3 (0.8) [-0.7, 3.3]	1.0 (2.9) [-2.5, 11.8]	0.1 (-0.4, 0.7)	
წელის გარშ. (სმ)	პლაცებო	23	91.3 (13.3)	90.5 (13.8)	-0.8 (2.7) [-8, 4]	-0.9 (2.8) [-7.1, 3.9]	0	0.90
	აქტიური	23	90.0 (11.3)	89.1 (11.0)	-0.9 (3.5) [-13, 6]	-0.9 (3.9) [-13.0, 8.1]	-0.1 (-2.0, 1.8)	
სისტ. არტ. წნევა (მმ ვწყ.სვ.)	პლაცებო	23	116.2 (16.0)	122.3 (11.4)	6.1 (7.8) [-17, 22]	5.9 (6.7) [-9.9, 22.9]	0	0.003
	აქტიური	22	121.0 (18.4)	119.7 (13.0)	-1.8 (10.5) [-35, 11]	-0.7 (7.4) [-22.2, 11.3]	-6.0 (-9.9, -2.1)	
დიას. არტ. წნევა (მმ ვწყ.სვ.)	პლაცებო	23	72.3 (9.5)	73.5 (8.2)	1.2 (5.6) [-15, 13]	2.1 (7.5) [-14.4, 21.3]	0	0.62
	აქტიური	22	71.9 (9.6)	73.0 (8.2)	0.6 (5.6) [-11, 9]	1.4 (7.9) [-13.6, 15.7]	-0.7 (-3.6, 2.2)	

ცხრილი 4. ანთროპომეტრიული გაზომვებისა და არტერიული წნევის ცვლილება კვლევის ყველა მონაწილეში 6-დან 12 კვირამდე აქტიური (*Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402) და პლაცებო მკურნალობის ჯგუფებში

ანთების/იმუნური ბიომარკერები. სანყისი მდგომარეობიდან 12 კვირის პერიოდში (ცხრილი 9) ან კვლევის შუა წერტილების ანალიზის დროს IL-6, TNF-α, CRP და IL-10-ში სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი ცვლილებები არ დაფიქსირებულა. სანყისი TC დონეების, სქესის ან ასაკის მიხედვით ჯგუფებად სტრატეგიკაში არცერთ ანალიზირებულ პარამეტრზე გავლენა არ იქონია.

16S rDNA-ის შემდეგი თაობის სეკვენირების შედეგები. 16S rDNA გენის V3-V4 რეგიონიდან მიღებული იქნა 3,225,782 მაღალი ხარისხის შედეგები (საშუალო 17,921, SD 1581), რომლებიც კლასტერიზებული იყო 41,919 ოპერაციულ ტაქსონომიურ ერთეულად (OTU). მკურნალობის გავლენის შეფასების მიზნით, წარმოდგენილი იყო თითოეული დროის წერტილისთვის ოჯახის დონეზე ფარდობითი სიმრავლე შესაბამისად, მკურნალობა და პლაცებო. დროთა განმავლობაში განავლის მიკრობიოტის საერთო კონფიგურაციაში დომინირებდა 3 ოჯახი: Bacteroidaceae, Lachnospiraceae და Ruminococcaceae და მათი ფარდობითი სიმრავლე მნიშვნელოვნად არ შეცვლილა მკურნალობის მიუხედავად (p > 0.05). საერთო ჯამში, მეტაგენომიკის მონაცემებმა არ აჩვენა რაიმე ვარიაცია *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402 (A) ან პლაცებოს (B) ან დროის (საბაზისო ან 12 კვირა) მიხედვით. როდესაც *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402-სა და პლაცებოს შორის *Lactobacillus*-ის პოპულაციის შედარებითი სიმრავლე კონკრეტულად იქნა გაანალიზებული, მნიშვნელოვანი განსხვავებები (P > 0.05) არ დაფიქსირებულა.

შარდისა და შრატის მეტაბოლიტების გლობალური ანალიზი. შრატისა და შარდის მეტაბოლიტების პირველადი კომპონენტების ანალიზმა არ აჩვენა რაიმე ვარიაცია აქტიური პრეპარატის ან პლაცებოს მიღების ან დროის (სანყისი ან 12 კვირა) მიხედვით. 12 კვირაში აქტიური ან პლაცებოს ჯგუფების შედარებისას შარდის ან შრატის მეტაბოლურ პროფილებში განსხვავებები არ დაფიქსირებულა. OPLS ანალიზმა არ აჩვენა რაიმე ცვლილება სისხლსა და შარდში მეტაბოლურ პროფილებში არც მკურნალობის და არც პლაცებოს გამოყენების მიხედვით. შრატის ინდივიდუალური მეტაბოლური პროფილები მსგავსი დარჩა სანყის და 12 კვირას შორის მკურნალობის მიუხედავად.

კუჭ-ნაწლავის სიმპტომები. მოხალისეებს სთხოვეს, კვლევის მთელი ხანგრძლივობის განმავლობაში ყოველდღიურად შეეცნოთ კუჭ-ნაწლავის (GI) სიმპტომების დღიურები და მოეხსენებინათ ნებისმიერი განცდილი გვერდითი ეფექტი. კუჭ-ნაწლავის სიმპტომები, როგორცაა მუცლის ტკივილი, შებერილობა და მეტეორიზმი, აღირიცხა როგორც არანაირი (0), მსუბუქი (1), საშუალო (2) ან მძიმე (3).

შედეგი	ჯგუფი	N	საბაზისო საშუალო (SD)	12 კვირის საშუალო (SD)	ცვლილება საშუალო (SD) [დიაპაზონი]	% ცვლილება (SD) [დიაპაზონი]	ჯგუფის სხვაობა საშუალო (95% CI)	P-value
TC	პლაცებო	23	5.22 (0.92)	5.33 (0.84)	0.11 (0.66) [-1.0, 1.4]	3.1 (13.4) [-14.6, 34.1]	0	0.51
	აქტიური	23	5.10 (0.71)	5.12 (0.87)	0.02 (0.56) [-1.3, 1.2]	0.6 (10.5) [-22.4, 23.3]	-0.12 (-0.47, 0.24)	
HDL-C	პლაცებო	23	1.24 (0.31)	1.24 (0.29)	0.00 (0.17) [-0.2, 0.5]	1.5 (17.0) [-14.3, 62.5]	0	0.023
	აქტიური	23	1.40 (0.35)	1.46 (0.42)	0.06 (0.15) [-0.1, 0.5]	3.4 (10.5) [-12.5, 33.3]	0.06 (-0.04, 0.16)	
LDL-C	პლაცებო	23	3.44 (0.76)	3.54 (0.70)	0.10 (0.62) [-0.9, 1.3]	4.9 (19.5) [-22.9, 52.0]	0	0.15
	აქტიური	23	3.20 (0.69)	3.13 (0.78)	-0.07 (0.53) [-1.3, 1.0]	-1.4 (15.6) [-36.4, 26.3]	-0.24 (-0.56, 0.09)	
TAG	პლაცებო	23	1.18 (0.45)	1.20 (0.39)	0.03 (0.41) [-0.9, 0.6]	10.9 (35.7) [-52.9, 83.3]	0	0.96
	აქტიური	23	1.11 (0.46)	1.15 (0.65)	0.04 (0.36) [-0.5, 0.8]	3.6 (34.8) [-55.6, 114.3]	0.01 (-0.22, 0.23)	

ცხრილი 5. ლიპიდური პარამეტრები, გამოხატული mM-ში კვლევის ყველა მონაწილეში საწყისი ეტაპიდან 12 კვირამდე აქტიური (Lactobacillus plantarum ECGC 13110402) და პლაცებო მკურნალობის ჯგუფებში.
 *TC: საერთო ქოლესტერინი; HDL-C: მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ქოლესტერინი; LDL-C: დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ქოლესტერინი; TAG: ტრიაცილგლიცეროლი; N: მონაწილეთა რაოდენობა

შედეგი	ჯგუფი	N	საბაზისო საშუალო (SD)	12 კვირის საშუალო (SD)	ცვლილება საშუალო (SD) [დიაპაზონი]	% ცვლილება (SD) [დიაპაზონი]	ჯგუფის სხვაობა საშუალო (95% CI)	P-value
TC	პლაცებო	11	4.50 (0.28)	4.79 (0.43)	0.29 (0.60) [-0.7, 1.4]	7.1 (13.7) [-14.6, 34.1]	0	0.31
	აქტიური	12	4.53 (0.33)	4.61 (0.42)	0.08 (0.38) [-0.5, 1.0]	2.0 (8.5) [-10.9, 23.3]	-0.19 (-0.56, 0.19)	
HDL-C	პლაცებო	11	1.09 (0.28)	1.11 (0.23)	0.02 (0.19) [-0.2, 0.5]	4.5 (22.3) [-14.3, 62.5]	0	0.33
	აქტიური	12	1.34 (0.30)	1.44 (0.42)	0.10 (0.19) [-0.1, 0.5]	6.2 (12.9) [-12.5, 33.3]	0.09 (-0.10, 0.27)	
LDL-C	პლაცებო	11	2.88 (0.33)	3.15 (0.47)	0.26 (0.59) [-0.8, 1.3]	10.5 (21.0) [-22.9, 52.0]	0	0.03
	აქტიური	12	2.71 (0.31)	2.72 (0.28)	0.02 (0.30) [-0.6, 0.6]	1.3 (11.7) [-21.4, 26.1]	-0.39 (-0.74, -0.04)	
TAG	პლაცებო	11	1.14 (0.51)	1.15 (0.38)	0.02 (0.41) [-0.9, 0.5]	12.3 (37.3) [-52.9, 62.5]	0	0.96
	აქტიური	12	1.08 (0.39)	0.97 (0.35)	-0.12 (0.25) [-0.5, 0.2]	-8.1 (25.4) [-55.6, 28.6]	-0.01 (-0.22, 0.23)	

ცხრილი 6. ლიპიდური პარამეტრები, გამოხატული mM-ში, ნორმალური საერთო ქოლესტერინის ჯგუფში (TC <5mM) საწყის და 12 კვირის ინტერვენციულ კვლევას შორის აქტიური (Lactobacillus plantarum ECGC 13110402) და პლაცებო მკურნალობის ჯგუფებში.
 *TC: საერთო ქოლესტერინი; HDL-C: მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ქოლესტერინი; LDL-C: დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ქოლესტერინი; TAG: ტრიაცილგლიცეროლი; N: მონაწილეთა რაოდენობა.

ყოველდღიურად ნაწლავების მოქმედების რაოდენობა აღირიცხა და განავლის კონსისტენცია შეფასდა ბრისტოლის განავლის ცხრილის მიხედვით. ცხრილი 10 აჩვენებს კუჭ-ნაწლავის სიმპტომების საშუალო ქულებს, რომლებიც თავად აღნიშნეს. აქტიური და პლაცებო ჯგუფებს შორის შეფასებული არცერთი პარამეტრით მნიშვნელოვანი განსხვავება არ დაფიქსირებულა. კვლევის არცერთ მონაწილეს არ აღენიშნა მძიმე გვერდითი მოვლენები 12-კვირიანი მკურნალობის პერიოდში და მკურნალობის ჯგუფებს შორის განავლის მორფოლოგიასა და სიხშირეში მნიშვნელოვანი განსხვავებები არ დაფიქსირებულა.

შედეგი	ჯგუფი	N	საბაზისო საშუალო (SD)	12 კვირის საშუალო (SD)	ცვლილება საშუალო (SD) [დიაპაზონი]	% ცვლილება (SD) [დიაპაზონი]	ჯგუფის სხვაობა საშუალო (95% CI)	P-value
TC	პლაცებო	9	5.48 (0.25)	5.52 (0.64)	0.04 (0.74) [-0.8, 1.2]	1.1 (13.8) [-14.5, 22.2]	0	0.44
	აქტიური	8	5.55 (0.24)	5.25 (0.54)	-0.30 (0.64) [-1.3, 0.6]	-5.2 (11.4) [-22.4, 11.8]	-0.23 (-0.87, 0.40)	
HDL-C	პლაცებო	9	1.30 (0.26)	1.31 (0.33)	0.01 (0.15) [-0.2, 0.2]	0.3 (11.2) [-12.5, 15.4]	0	0.91
	აქტიური	8	1.50 (0.47)	1.51 (0.49)	0.01 (0.1) [-0.1, 0.2]	0.6 (6.4) [-8.3, 11.8]	-0.01 (-0.15, 0.14)	
LDL-C	პლაცებო	9	3.61 (0.27)	3.63 (0.54)	0.02 (0.67) [-0.8, 1.1]	1.5 (19.2) [-21.1, 33.3]	0	0.11
	აქტიური	8	3.55 (0.40)	3.16 (0.58)	-0.39 (0.65) [-1.3, 0.6]	-10.2 (18.3) [-36.4, 18.8]	-0.47 (-1.08, 0.13)	
TAG	პლაცებო	9	1.24 (0.42)	1.29 (0.48)	0.04 (0.46) [-0.9, 0.6]	10.7 (39.3) [-52.9, 83.3]	0	0.56
	აქტიური	8	1.11 (0.58)	1.26 (0.92)	0.15 (0.38) [-0.3, 0.7]	5.9 (26.4) [-33.3, 41.2]	0.13 (-0.33, 0.58)	

ცხრილი 7. ლიპიდური პარამეტრები, გამოხატული mM-ში, ოდნავ მომატებული საერთო ქოლესტერინის ჯგუფში (TC <5-5.9 მმოლ mM) საწყის და 12 კვირიანი ინტერვენციულ კვლევას შორის აქტიური (Lactobacillus plantarum ECGC 13110402) და პლაცებო მკურნალობის ჯგუფებში.
 *TC: საერთო ქოლესტერინი; HDL-C: მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ქოლესტერინი; LDL-C: დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ქოლესტერინი; TAG: ტრიაცილგლიცეროლი; N: მონაწილეთა რაოდენობა.

შედეგი	ჯგუფი	N	საბაზისო საშუალო (SD)	12 კვირის საშუალო (SD)	ცვლილება საშუალო (SD) [დიაპაზონი]	% ცვლილება (SD) [დიაპაზონი]	ჯგუფის სხვაობა საშუალო (95% CI)	P-value
TC	პლაცებო	3	7.10 (0.40)	7.40 (0.46)	0.30 (0.78) [-0.2, 1.2]	4.6 (11.5) [-2.7, 17.9]	0	
	აქტიური	3	6.20 (0.26)	5.70 (0.53)	-0.50 (0.70) [-1, 0.3]	-7.8 (11.2) [-15.4, 5]	-2.44 (-4.77, -0.11)	0.045
HDL-C	პლაცებო	3	1.60 (0.2)	1.67 (0.15)	0.07 (0.06) [0.0, 0.1]	4.5 (3.9) [0.0, 7.1]	0	
	აქტიური	3	1.40 (0.2)	1.33 (0.40)	-0.07 (0.21) [-0.3, 0.1]	-6.2 (16.5) [-25.0, 6.3]	-0.06 (-0.53, 0.41)	0.72
LDL-C	პლაცებო	3	4.97 (0.32)	5.13 (0.15)	0.17 (0.46) [-0.1, 0.7]	3.8 (9.9) [-2, 15.2]	0	
	აქტიური	3	4.27 (0.64)	3.87 (0.49)	-0.40 (0.70) [-0.9, 0.4]	-8.3 (16.3) [-18.0, 10.5]	-1.21 (-2.64, 0.21)	0.07
TAG	პლაცებო	3	1.13 (0.42)	1.37 (0.99)	0.23 (0.58) [-0.1, 0.9]	11.3 (39) [-12.5, 56.3]	0	
	აქტიური	3	1.20 (0.56)	1.07 (0.40)	-0.13 (0.38) [-0.4, 0.3]	-3.4 (41.2) [-36.4, 42.9]	-0.38 (-1.82, 1.07)	0.47

ცხრილი 8. ლიპიდური პარამეტრები, გამოხატული mM-ში, მაღალი საერთო ქოლესტერინის ჯგუფში (TC 6.0 მმოლ/ლ) სანყისი ეტაპიდან 6 კვირიან ინტერვენციულ კვლევაში, აქტიური (Lactobacillus plantarum ECGC 13110402) და პლაცებო მკურნალობის ჯგუფებში.

*TC: საერთო ქოლესტერინი; HDL-C: მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ქოლესტერინი; LDL-C: დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ქოლესტერინი; TAG: ტრიაცილგლიცეროლი; N: მონაწილეთა რაოდენობა.

შედეგი	ჯგუფი	N	საბაზისო საშუალო (SD)	12 კვირის საშუალო (SD)	ცვლილება საშუალო (SD) [დიაპაზონი]	% ცვლილება (SD) [დიაპაზონი]	ჯგუფის სხვაობა საშუალო (95% CI)	P-value
IL-6(#)	პლაცებო	23	54.61 (1.07)	54.52 (1.01)	-0.09 (0.47) [-1.44, 0.82]	-0.2 (0.8) [-2.6, 1.5]	0	
	აქტიური	23	54.63 (0.92)	54.68 (0.98)	0.06 (0.26) [-0.69, 0.73]	0.1 (0.5) [-1.3, 1.3]	0.15 (-0.07, 0.37)	0.18
IL-10(#)	პლაცებო	22	(25.49)	74.21 (25.5)	-0.01 (0.12) [-0.44, 0.22]	0.0 (0.2) [-0.8, 0.2]	0	
	აქტიური	23	(23.08)	66.3 (23.07)	0.04 (0.24) [-0.23, 1.04]	0.1 (0.4) [-0.5, 1.8]	0.05 (-0.07, 0.17)	0.38
TNF-α(#)	პლაცებო	22	113.7 (5.24)	113.7 (5.23)	0.00 (0.03) [-0.06, 0.05]	0.0 (0.0) [-0.1, 0.0]	0	
	აქტიური	23	112.3 (4.93)	112.4 (4.93)	0.02 (0.08) [-0.07, 0.38]	0.0 (0.1) [-0.1, 0.3]	0.02 (-0.02, 0.06)	0.31
CRP	პლაცებო	22	4.0 (7.4)	1.6 (2.0)	-2.4 (6.1) [-26, 1.3]	-11 (67.8) [-94.9, 121]	0	0.57
	აქტიური	23	3.1 (4.6)	2.2 (2.6)	-0.9 (2.9) [-13.1, 1.4]	69 (341) [-82, 1604]	0.8 (-0.2, 1.8)	0.11

ცხრილი 9. ანთებითი ბიომარკერების ცვლილება ყველა სუბიექტში სანყისიდან 12 კვირამდე (*): გამოთვლილია ANCOVA ანალიზიდან, საბაზისო მაჩვენებლის კორექტირებით; (#) შემავარჯშელებელი სტატისტიკა ათასობით ადამიანში; N: მონაწილეთა რაოდენობა

4. დისკუსია

ამ კვლევის მიზანი იყო Lactobacillus plantarum ECGC 13110402-ის ქოლესტერინის შემამცირებელი უნარის შეფასება ჯანმრთელ, ნორმალური ან მსუბუქად ჰიპერქოლესტერინემიის მქონე ზრდასრულებში. ძირითადი ეფექტურობის მაჩვენებლები მოიცავდა სისხლის ლიპიდებზე ზემოქმედებას, უსაფრთხოებასა და ტოლერანტობას; მეორეული მაჩვენებლები კი მოიცავდა არტერიულ წნევას, იმუნურ ბიომარკერებს, ნაწლავური მიკრობიოტის ანალიზსა და მეტაბოლიზმის ცვლილებებს.

ამ კვლევაში გამოყენებულ იქნა შტამი Lactobacillus plantarum ECGC 13110402, რომელიც გამოვლინდა 353 მიკრობული შტამის in vitro სკრინინგის შედეგად იმ მოქმედების მექანიზმების მიხედვით, რომლებიც ცნობილია ქოლესტერინის შემცირებაზე ზემოქმედებით და ხასიათდება ნაწლავურ პირობებში მაღალი გადარჩენის უნარით. in vitro სკრინინგმა აჩვენა, რომ Lactobacillus plantarum ECGC 13110402 გამოირჩევა მაღალი BSH აქტივობით, ქოლესტერინის შემცირების უნარით, კუჭის, პანკრეასისა და ნაღვლის მუშავების მიმართ მაღალი პრეფერენციული რეზისტენტობით, ასევე მაღალი გადარჩენით გაყინვით გამძრალების დროს. მიკრობული შტამების შერჩევის სისტემური მიდგომის გამოყენება, რომელიც ეფუძნება მოქმედების ცნობილ მექანიზმებს (ნაღვლის მარილების ჰიდროლიზი) და დაავადების დადასტურებულ ბიომარკერებს (ქოლესტერინი) ქმნის პრობიოტიკური შტამების შერჩევის სანყის მენეჯერულ საფუძველს, აკონტროლებს შტამებს შორის ვარიანტობას, რომელიც ხშირად აღწერილია წინა კვლევებში [7], და ამავედროულად ზრდის ადამიანებზე ჩატარებულ კვლევებში სანდო შედეგების მიღების ალბათობას.

კვლევის შედეგები აჩვენებს ბიოლოგიურად და/ან სტატისტიკურად მნიშვნელოვან ეფექტებს გულის კორონარული დაავადების რამდენიმე რისკ-ფაქტორზე, განსაკუთრებით დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებზე, მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებზე და არტერიულ წნევაზე, ნორმალურიდან მსუბუქი ჰიპერქოლესტერინემიის მქონე სუბიექტებში.

გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების განვითარების რისკის შემცირების ერთ-ერთ ძირითად სამიზნეს წარმოადგენს LDL-C. კვლევის შედეგები მიუთითებენ აქტიურ ჯგუფში LDL-C-ის შემცირების თანმიმდევრულ ტენდენციაზე, პლაცებოსთან შედარებით, 0-6, 6-12 და 0-12 კვირის პერიოდებში. LDL-C-ის ცვლილებები მერყეობდა 0.24 მმოლ/ლ-ს (7.2%) შორის ყველა მონაწილეთა ჯგუფში და 0.39 მმოლ/ლ-მდე (13.9%) N-TC ჯგუფში (P = 0.03). მიუხედავად იმისა, რომ ცალკეული ჯგუფებისა და ქვეჯგუფების ანალიზში სტატისტიკური მნიშვნელობა განსხვავდებოდა, ყველა აქტიურ ჯგუფში შეინიშნებოდა LDL-C-ის დაბალი მნიშვნელობებისკენ მიმართული თანმიმდევრული ტენდენცია. აღნიშნულ შემცირებებს აქვს პოტენციური კლინიკური მნიშვნელობა, ვინაიდან შრატში ქოლესტერინის 1%-იანი შემცირება ასოცირებულია არტერიული დაავადებების რისკის 2-3%-ით შემცირებასთან [18]. ორი დროის წერტილს შორის TC დონეების ცვლილებების შესაფასებლად ჩატარებულმა კორელაციურმა ანალიზმა აჩვენა, რომ აქტიურ ჯგუფში სანყისი მდგომარეობიდან 6 კვირამდე პერიოდში TC-ის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი შემცირება დაფიქსირდა (P = 0.04). აღნიშნული ეფექტი პლაცებოს ჯგუფში არ გამოვლენილა. ასევე აღინიშნებოდა TC დონეების მსგავსი და თანმიმდევრული შემცირება აქტიური მკურნალობის საშუალო მაჩვენებლების პლაცებოსთან შედარებისას. ეს შემცირება მერყეობდა 0.12 მმოლ/ლ-ს (2.3%) ფარგლებში ყველა მონაწილეთა ჯგუფში და აღწევდა სტატისტიკურად მნიშვნელოვან 2.44 მმოლ/ლ შემცირებას (36.7%, P = 0.045) H-TC ჯგუფში. N-TC და M-TC ჯგუფებში TC შემცირება შესაბამისად 0.19 მმოლ/ლ (4.2%) და 0.23 მმოლ/ლ (4.17%) იყო. LDL-C დონეებზე ყველაზე ძლიერი ზემოქმედება H-TC

ჯგუფში დაფიქსირდა, თუმცა ამ ქვეჯგუფის მცირე რაოდენობამ უარყოფითად იმოქმედა ამ დაკვირვების სანდოობაზე. Cho და Kim-ის [7] მიერ ჩატარებულმა ბოლო მეტაანალიზმა, რომელიც მოიცავდა პრობიოტიკების მიღებისა და ლიპიდური კონცენტრაციების 30 რანდომიზებულ კონტროლირებულ კვლევას (1624 მონაწილე), აჩვენა, რომ საწყისი TC კონცენტრაცია კვლევის შედეგებზე მნიშვნელოვან გავლენას ახდენდა. რაც უფრო მაღალია საწყისი TC, მით უფრო გამოხატულია TC და LDL დონეების შემცირების ეფექტი. აღნიშნული მიგნებების გათვალისწინებით, შეიძლება ითქვას, რომ მაღალი საწყისი TC-ის მქონე პირებმა შესაძლოა მიიღონ ყველაზე დიდი სარგებელი *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402-ით მკურნალობისგან, თუმცა ეს უნდა დადასტურდეს შესაბამისი სტატისტიკური სიმძლავრის მქონე კვლევით შესაბამის პოპულაციებში.

60 ჰიპერქოლესტერინემიურ მონაწილეზე ჩატარებულმა ბოლოდროინდელმა კვლევამ გამოიკვლია *Lactobacillus plantarum*-ის შტამების კომბინაციის გავლენა. თუმცა, ამ კვლევამ აჩვენა, რომ TC-სა და LDL-C-ის ცვალებადი შემცირება საწყისი ქოლესტერინის დონის მიხედვით და მხოლოდ მცირედით იმოქმედა LDL-C-ზე იმ მონაწილეებში, რომელთა ქოლესტერინი <6.5 მმოლ/ლ იყო [19].

ათეროსკლეროზული ფოლაქის ფორმირების კლასიკურმა ეპიდემიოლოგიურმა კვლევებმა და ინტერვენციულმა ცდებმა LDL-C დაასახელა კორონარული არტერიის დაავადების გამომწვევ ფაქტორად. შესაბამისად, LDL-C-ის შემცირება მსოფლიოში გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების განვითარების რისკის შემცირების ერთ-ერთ მთავარ ქვაკუთხედს წარმოადგენს. Briel და სხვ. [20]-ის მიერ ჩატარებულმა მეტაანალიზმა, რომელიც LDL-C-ის ცვლილებასა და გულ-სისხლძარღვთა ავადობასა და სიკვდილიანობას შორის კავშირს იკვლევდა, აჩვენა, რომ LDL-C-ის 0.26 მმოლ/ლ-ით შემცირება ამცირებდა კორონარული გულის დაავადებით სიკვდილის შედარებით რისკს 7.2%-ით ($P = 0.001$), კორონარული დაავადების მოვლენებს - 7.1%-ით ($P < 0.001$), ხოლო საერთო სიკვდილიანობას - 4.4%-ით ($P = 0.002$). ამჟამად LDL-C-ის დონის შემცირების ყველაზე ეფექტურ საშუალებებს სტატინები წარმოადგენს. თუმცა, სტატინებით მკურნალობაში მყოფი დაახლოებით 20 მილიონი პაციენტიდან შეფასებით 10-20% ვერ იტანს ამ ჩარევას ან ვერ იღებს იმ უფრო მაღალ დოზებს, რომლებიც საჭიროა LDL-C-ის სამიზნე დონეების მისაღწევად [21], ძირითადად კუნთებთან დაკავშირებული გვერდითი ეფექტების გამო. სტატინების შეზღუდვების მზარდმა აღიარებამ გააჩინა არანარკოტიკული თერაპიებისადმი მზარდი ინტერესი სისხლის ქოლესტერინის პროფილის გასაუმჯობესებლად, განსაკუთრებით მაშინ, როდესაც ფარმაცევტული მკურნალობა არამიზანშეწონილად მიიჩნევა მაღალი ღირებულების, უსაფრთხოების მიზეზების ან პირადი არჩევანის გამო. მცენარეული სტანოლები და სტეროლები ამ მხრივ სულ უფრო გავრცელებულ ალტერნატივას წარმოადგენს. ევროპის სურსათის უვნებლობის სააგენტომ (EFSA) განიხილა 80-ზე მეტი კვლევა და დაასკვნა, რომ 1.5-2.4 გ/დღეში (დაახლოებით 3-4 ჩაის კოვზი) მიღებისას მოსალოდნელია LDL-C-ის საშუალოდ 7-10.5%-ით შემცირება. პანელმა მიიჩნია, რომ ასეთი შემცირება ბიოლოგიურად მნიშვნელოვნად ამცირებს გულის დაავადების რისკს. ამ კვლევის შედეგები, რომელშიც გამოყენებულ იქნა *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402, მიუთითებენ, რომ შესაძლებელია სტანოლებისა და სტეროლების მსგავს მასშტაბის LDL-C-ის შემცირების მიღწევა [22].

დღეს პრობიოტიკური ბაქტერიების მიერ ქოლესტერინის შემცირების ეფექტის ასახსნელად რამდენიმე მექანიზმი არის შემოთავაზებული. ნაჩვენებია, რომ *Lactobacillus*-ის შტამებს შეუძლიათ ქოლესტერინის პასიურად დაკავშირება საკუთარი უჯრედული მემბრანის ზედაპირზე და ამგვარად მისი მიმოქცევიდან მოცილება [23,24]. ქოლესტერინი ასევე შეიძლება ჩაირთოს ბაქტერიული უჯრედის მემბრანის ზრდის პროცესში - ეს მექანიზმი ზრდის მემბრანის სიმტკიცეს და ლიპიდის მიმართ რემისტენტობას [24,25]. გარდა ამისა, ნაწლავში ქოლესტერინი შეიძლება გარდაიქმნას კოპროსტანოლად ბაქტერიული ქოლესტერინის რედუქტაზების მეშვეობით და შემდეგ პირდაპირ გამოიდევენოს განავლით. ეს ამცირებს ქოლესტერინის აბსორბციას და იწვევს ფიზიოლოგიური ქოლესტერინის რაოდენობის შემცირებას. Lye და სხვ. [25,26] აღწერენ როგორც უჯრედშიდა, ისე უჯრედგარეთა ქოლესტერინის რედუქტაზებს *Lactobacillus*-ის სხვადასხვა შტამებში, რომლებსაც *in vitro* ფერმენტაციის დროს შეეძლოთ ქოლესტერინის კოპროსტანოლად გარდაქმნა. ქოლესტერინის შემცირების კიდევ ერთი აღწერილი მექანიზმი უკავშირდება BSH აქტივობას, რომელიც პასუხისმგებელია ნაღვლის მარილების დეკონიუგაციაზე ენტეროჰეპატურ ცირკულაციაში. BSH აქტივობა ადრე აღწერილია *L. plantarum*-ის შტამებისთვისაც [27]. ნაღვლის მარილების ჰიდროლაზები (BSH) აკატალიზებენ კონიუგირებული ნაღვლის მჟავების C24-acyl-amide ბმის ჰიდროლიზს და ამგვარად აცილებენ მათ ენტეროჰეპატური ცირკულაციიდან, რის შედეგადაც ღვიძლში საჭიროა ქოლესტერინის გამოყენება ნაღვლის მჟავების ხელახალი სინთეზისთვის.

აქტიური მკურნალობის მიღების შემდეგ გამოვლინდა განსხვავება სისტოლურ არტერიულ წნევაში საწყის მდგომარეობასა და 12 კვირას შორის. სისტოლური წნევის ძირითადი შემცირება დაფიქსირდა კვლევის 6-12 კვირის პერიოდში და აქტიურ ჯგუფში პლაცებოსთან შედარებით 6 mmHg-ით (5.1%) დაბალი იყო ($P = 0.003$). როგორც მაღალი LDL-C, ასევე მაღალი არტერიული წნევა გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების (CVD) დადგენილი რისკფაქტორია; ცნობილია, რომ სისტოლური წნევის 10 mmHg-ით შემცირება იწვევს კორონარული დაავადებით, ინსულტითა და გულის უკმარისობით გამომწვეული საერთო სიკვდილიანობის 13%-ით შემცირებას [28]. თუმცა, ვინაიდან ეს კვლევა ჩატარდა ნორმალური არტერიული წნევის მქონე მოხალისეებში, ჩარევის ეფექტი უნდა დადასტურდეს ჰიპერტენზიის მქონე პაციენტებში. სხვა კვლევები ასევე მიუთითებენ პრობიოტიკების როლზე არტერიული წნევის შემცირებაში. ცხრა კვლევის მეტაანალიზმა [29] აჩვენა, რომ პრობიოტიკების მიღებამ სისტოლური არტერიული წნევა საშუალოდ 3.56 mmHg-ით, ხოლო დიასტოლური წნევა 2.38 mmHg-ით შეამცირა საკონტროლო ჯგუფებთან შედარებით. პრობიოტიკების ანტიჰიპერტენზიულ პოტენციალს აღწერილ მექანიზმებს შორის მოიაზრება ლიპიდური პროფილების გაუმჯობესება, ინსულინრემისტენტობის შემცირება, რენინის მოდულაცია, ბიოაქტიური იზოფლავონების ბიოკონვერსია და სხეულის წონის შემცირება [26]. მოცემულ კვლევაში *L. plantarum* ECGC 13110402-ის მიღებამ სხეულის წონაზე არ იმოქმედა, თუმცა სისტოლურ წნევაზე დაფიქსირებული ეფექტი შესაძლოა დაკავშირებული იყოს ლიპიდური პროფილის გაუმჯობესებასთან - ეფექტთან, რომელიც ადრე აღწერილია სისტოლური ჰიპერტენზიის მქონე პაციენტებში [27]. სხვა მექანიზმებიც შესაძლოა იყოს ჩართული, თუმცა ისინი ამ კვლევის ფარგლებს სცდებოდა.

ტრაქტის, დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების და არტერიული წნევის შემცირების კომბინაცია მნიშვნელოვან უპირატესობას წარმოადგენს არსებულ მიდგომებთან შედარებით, რადგან როგორც დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების, ასევე სისტოლური არტერიული წნევის შემცირების შესაძლებლობას შეიძლება ჰქონდეს მულტიპლიკაციური ეფექტი გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების რისკის შემცირებაში [28-32].

პროანთებითი ბიომარკერების მხრივ კლინიკურად მნიშვნელოვანი ნიშნები არ გამოვლენილა, რაც ჩარევის უსაფრთხოებას აჩვენებს. *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402-ის მიღების შემდეგ კუჭ-ნაწლავის ტრაქტიდან გვერდითი მოვლენები არ დაფიქსირებულა და მეტეორიზმის, მუცლის ტკივილის, ნაწლავების მოქმედებისა და განავლის კონსისტენციის შესახებ თვითშეფასებული პარამეტრები მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა აქტიური და პლაცებო ჯგუფებს შორის, რაც მიუთითებს, რომ ჩარევა ყველა მოხალისის მიერ კარგად აიტანებოდა.

ნაწლავური მიკრობიოტის (GM) შემადგენლობის მეტაგენომიკურმა ანალიზმა, რომელიც ჩატარდა საწყის მდგომარეობაში და ინტერვენციის პერიოდის ბოლოს (12 კვირა), სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი ცვლილებები არ გამოავლინა. თუმცა, გამოყენებული ანალიტიკური მიდგომა აფასებს მხოლოდ *Lactobacillus* გვარის სიმკვრივს და ვერ ასახავს ჯგუფის შიგნით არსებული სხვადასხვა სახეობების (ინტერსპეციფიკურ) ცვლილებებს.

შრატისა და დილის შარდის ნიმუშების მეტაბოლომიურმა ანალიზმა არ გამოავლინა რაიმე მნიშვნელოვანი ცვლილება მეტაბოლურ პროფილებში საწყის დონესა და ინტერვენციის დასრულებას (12 კვირა) შორის. მეტაბოლიტების კონცენტრაცია, კერძოდ, სისხლში, ჰომეოსტაზური კონტროლის ქვეშაა და შესაბამისად, გაზომვადი ცვლილებების მისაღწევად შეიძლება საჭირო გახდეს უფრო ძლიერი ჩარევა, როგორცაა პრებიოტიკების გამოყენება. ამ მიზნით, ჩვენ შევქმენით მიზნობრივი პრებიოტიკური გალაქტოლიგოსაქარიდი, რომელიც სინთეზირებულია *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402-ის β -გალაქტოზიდაზების გამოყენებით. აღნიშნულმა პრებიოტიკმა *in vitro*, pH-კონტროლირებად ფეკალურ კულტურის მოდელებში, შეძლო *Lactobacillus*-ის დონის სელექტიური სტიმულაცია და ასევე მნიშვნელოვნად გააძლიერა *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402-ის მიერ ქოლესტეროლის მოცილება და BSH აქტივობა. ამ მიმართულებით კვლევები ამჟამად გრძელდება.

მიუხედავად იმისა, რომ მიმდინარე კვლევაში ბიოლოგიურად და სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი ეფექტები დაფიქსირდა, შესაძლებელია, რომ ნიმუშის ზომამ შეზღუდა ქვეკვლევის ანალიზის ღირებულება, განსაკუთრებით H-TC ჯგუფში. მოსალოდნელია, რომ შემდგომი კვლევები მნიშვნელოვანი ეფექტების უფრო მკაფიო წარმოდგენის საშუალებას მოგვცემს. ანალოგიურად, კვლევის უფრო დიდი ხანგრძლივობა და/ან კროსოვერ დიზაინი შესაძლოა ხაზს უსვამდეს მიმდინარე დასკვნებს.

კვლევის შედეგები აჩვენებს სტატისტიკურად მნიშვნელოვან ეფექტებს გულის კორონარული დაავადების რისკ-ფაქტორების რიგზე, განსაკუთრებით დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების, მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების და არტერიული წნევის მხრივ ნორმალურიდან ზომიერი ჰიპერქოლესტერინემიის მქონე სუბიექტებში. შედეგები იძლევა ადრეულ მტკიცებულებას, რომ *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402-ს აქვს პოტენციური, იყოს კარგად ასატანი, მარტივი გამოსაყენებელი, ბუნებრივი ქოლესტერინის შემამცირებელი დანამატი, როგორც ალტერნატივა ან დანამატი არსებული მკურნალობისთვის. ეს შედეგები, არაოპტიმიზებულ პროდუქტში, ჯანმრთელ ზრდასრულებში მიუთითებენ დღეში 1.5–2.4 გ მცენარეული სტეროლების/სტანოლების მსგავს ეფექტურობაზე.

დასკვნა

კვლევა დაგეგმილი იყო ეფექტების შესასწავლად ფართო, ჯანმრთელ პოპულაციაში და არ იყო მიზანმიმართულად ორიენტირებული მაღალი ქოლესტეროლის მქონე ჯგუფზე კლინიკური ეფექტურობის დემონსტრირების მიზნით. მიიჩნევა, რომ კვლევის პროტოკოლისა და დოზირების დროის ოპტიმიზაცია, უფრო მაღალი ქოლესტეროლის მქონე და/ან მაღალი არტერიული წნევის მქონე პოპულაციის მიზნობრივი შერჩევა, ასევე *Lactobacillus plantarum*-ზე მიზანმიმართული პრებიოტიკის პოტენციური კომბინაცია, კიდევ უფრო გააძლიერებდა და *in vivo* პირობებში ნათლად წარმოაჩენდა მის ქოლესტეროლის შემამცირებელ აქტივობას.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. WHO. Cardiovascular Disease. Fact sheet no. 317, WHO, Geneva, Switzerland (2009) <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/print.html>.
2. WHO. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva, Switzerland: (2003). Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases.
3. De Smet I, Van Hoorde L VWM, Christiaens H, Verstraete W. Significance of bile salt hydrolytic activities of lactobacilli. *J Appl Bacteriol* 1995; 79(3), 292–301. PMID: 7592123
4. Bengmark S, Ahrne S, Molin G, Jeppsson B. Intestinal colonizing Lactobacilli. *J Nutr*. 1998 14(8), 585– 594.
5. Niedzielin K, Kordecki H, Birkenfeld B. A controlled, double-blind, randomized study on the efficacy of *Lactobacillus plantarum* 299V in patients with irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2001; 13(10),1143–1147. http://journals.lww.com/eurojgh/Fulltext/2001/10000/A_controlled,_double_blind,_randomized_study_on.4.aspx. PMID: 11711768
6. Jackevicius CA, Mamdani M T J. Adherence with statin therapy in elderly patients with and without acute coronary syndromes. *JAMA*. 2002; 288(4),462–467. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.288.4.462>. PMID: 12132976
7. Cho YA K J. Effect of probiotics on blood lipid concentrations: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Med (Baltimore)*. 2000; 94(43) e1714.
8. Klaver FAM, Van der Meer R (1993) The assumed assimilation of cholesterol by lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugating activity. *Appl Environ Microbiol*. 1993; 59 (4),1120–1124. PMID: 8489229
9. Du Toit M, Franz CMAP, Dicks LMT, Schillinger U, Haberer P, Warlies B, et al. Characterisation and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces pH and faeces moisture content. *Int J Food Microbiol*. 1998; 40(1–2),93–104. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00024-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00024-5) PMID: 9600615
10. Begley M, Hill C, Gahan CGM. Bile salt hydrolase activity in in probiotics. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72(3),1729–1738. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1729-1738.2006> PMID: 16517616
11. Penney NC, Kinross J, Newton RC, Purkayastha S. The role of bile acids in reducing the metabolic complications of obesity after bariatric surgery: a systematic review. *Int J Obes*. 2015; 39(11),1565– 1574. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.115> PMID: 26081915
12. Biagi E, Nylund L, Candela M, Ostan R, Bucci L, Pini E et al. Through ageing, and beyond: Gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One*.2010; 5(5),1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010667> PMID: 20498852
13. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EC et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*.2010; 7(5),335–336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303> PMID: 20383131
14. Masella AP, Bartram AK, Truszkowski JM, Brown DG, Neufeld JD. PANDAseq: paired-end assembler for illumina sequences. *BMC Bioinformatics*. 2012; 13(1),31. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-31> PMID: 22333067
15. http://greengenes.lbl.gov/cgi-bin/JD_Tutorial/nph-16S.cgi, May 2013 release.
16. Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*. 2010; 26 (19), 2460–1. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461> PMID: 20709691
17. Lozupone C, Knight R. UniFrac: A new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol*. 2005; 71(12), 8228–8235. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8228-8235.2005> PMID: 16332807
18. Manson JE, Tosteson H, Ridker PM, Satterfield S, Hebert P, O'Connor GT et al. The primary prevention of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1992; 326,1406–1416. <https://doi.org/10.1056/NEJM199205213262107> PMID: 1533273
19. Fuentes MC, Lajo T, Carrión JM, Cuñe J. Cholesterol-lowering efficacy of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529 in hypercholesterolaemic adults. *Br J Nutr*. 2013; 109, 1866–1872. <https://doi.org/10.1017/S000711451200373X> PMID: 23017585
20. Matthias B, Ferreira-Gonzalez I, You JJ, Karanicolas PJ, Akl EA, Wu P et al. Association between change in high density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease morbidity and mortality: systematic review and meta-regression analysis. *BMJ*. 2009; 338, <http://dx.doi.org/101136/bmj.b92>
21. Sahebkar A, Serban MC, Gluba-Brzoźka A, Mikhailidis DP, Cicero AF, Rysz J et al. Lipid-modifying effects of nutraceuticals: An evidence-based approach. *Nutr* 2016 Nov-Dec; 32(11–12):1179–92. Epub 2016 May 17. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.04.007> PMID: 27324061
22. Laitinen K, Gylling H. Dose-dependent LDL-cholesterol lowering effect by plant stanol ester consumption: clinical evidence. *Lipids Health Dis*. 2012; 11(1),140. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-140> PMID: 23088653