



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118339** (13) **C2**  
(51) МПК  
**C12N 1/20** (2006.01)  
**C12R 1/225** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

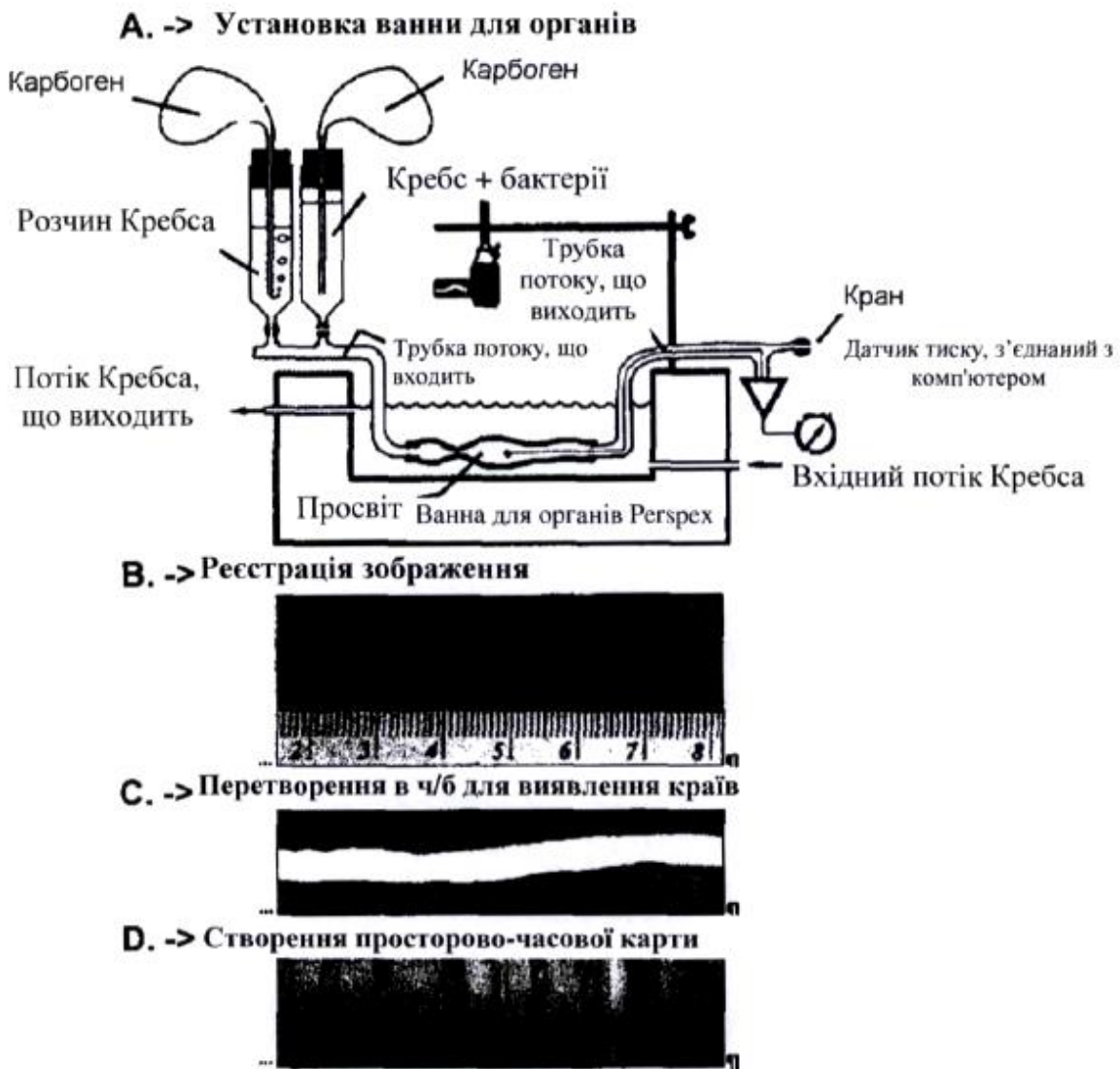
<p>(21) Номер заявки: <b>а 2015 03061</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>03.09.2013</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>10.01.2019</b></p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>61/696,277</b></p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>03.09.2012</b></p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>US</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>27.07.2015, Бюл.№ 14</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.01.2019, Бюл.№ 1</b></p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>PCT/EP2013/068202, 03.09.2013</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Конноллі Імонн (SE), Кунце Вольфганг (CA), Біненшток Джон (CA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>БЮГАЙА АБ,</b> Kungsbrogatan 3A, P.O. Box 3242, S-103 64 Stockholm, Sweden (SE)</p> <p>(74) Представник: <b>Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115</b></p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: B. WANG et. al. Lactobacillus reuteri ingestion and IKCa channel blockade have similar effects on rat colon motility and myenteric neurones. NEUROGASTROENTEROLOGY &amp; MOTILITY. 01.2010, vol. 22, № 1, P. 98-е33 B. WANG et. al. Luminal administration ex vivo of a live Lactobacillus species moderates mouse jejunal motility within minutes. THE FASEB JOURNAL. 10.2010, vol. 24, № 10, P. 4078-4088 WIM JEP LAMMERS et. al. Simulation and analysis of spatio-temporal maps of gastrointestinal motility. BIOMEDICAL ENGINEERING ONLINE, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, GB. 2008, vol. 7, № 2, P. 1-11 CN 102686112 A, 19.09.2012 JP 2002335953 A, 26.11.2002 OLIVARES M. et. al. Oral administration of two probiotic strains, Lactobacillus gasseri CECT5714 and Lactobacillus coryniformis CECT5711, enhances the intestinal function of healthy adults. International Journal of Food Microbiology. 2006, vol. 107, P. 104 – 111 MATUR E. et. al. The Impact of Probiotics on the Gastrointestinal Physiology: The effect of probiotics on the motility of the gastrointestinal tract. New Advances in the Basic and Clinical Gastroenterology. 2012, P. 51-74 [онлайн] &lt;<a href="http://www.intechopen.com/books/new-advances-in-the-basic-and-clinicalgastroenterology/the-impact-of-probiotics-on-the-gastrointestinal-physiology">http://www.intechopen.com/books/new-advances-in-the-basic-and-clinicalgastroenterology/the-impact-of-probiotics-on-the-gastrointestinal-physiology</a>&gt; WU Wan-Chun et. al. Small intestinal bacteria overgrowth decreases small intestinal motility in the NASH rats. World Journal of Gastroenterology. 14.01.2008, Vol. 14, № 2, P. 313-317</p>
---	--

UA 118339 C2

**(54) БАКТЕРІАЛЬНИЙ ШТАМ LACTOBACILLUS GASSERI ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ПОРУШЕННЯ МОТОРИКИ КИШЕЧНИКУ (ВАРІАНТИ)**

(57) Реферат:

Винахід стосується бактеріальних штамів *Lactobacillus gasseri* LG345A, депонованого за номером DSM 27123, та *Lactobacillus gasseri* LG621A, депонованого за номером DSM 27126, для лікування порушення моторики кишечника; застосування вказаних штамів для лікування порушення моторики кишечника; способу лікування суб'єкта з порушенням моторики кишечника.



Фіг. 1

## ПЕРЕДУМОВИ ВІНАХОДУ

### Галузь винаходу

Термін "порушення моторики кишечника" застосовуваний до аномальних скорочень кишечника, часто пов'язаних з болем, констипацією або діареєю. Цю фразу використовують для того, щоб описувати різні порушення, при яких кишка не розвинута належно або втрачає свою здатність координувати м'язову активність внаслідок різних причин. Такі порушення можуть виявлятися різними способами, і включають, але не обмежуючись цим, наступне:

- Здуття живота
- Рецидивну непрохідність
- Коліки в животі
- Констипацію
- Порушення гастроезофагеального рефлюксу
- Некупіроване, рецидивне блювання
- Діарею
- Синдром подразненої кишки (IBS)
- Запальне захворювання кишечника
- Нетримання фекалій
- Дитячі коліки
- Частий рецидивний біль в животі (FRAP)
- Регургітацію
- Харчову непереносимість

У широкому значенні, яку-небудь значну зміну в проходженні їжі і секретії в травний тракт можна розглядати як порушення моторики кишечника.

Належні координовані рухи шлунка і кишечника необхідні для того, щоб переварювати і проштовхувати кишковий вміст вздовж травного тракту. Патерни скорочення і розслаблення, необхідні для належної моторики шлунково-кишкового (ШКТ) тракту, є складними, і в них беруть участь нерви і м'язи в стінках ШКТ. Кожний день в будь-який час багато які фактори можуть впливати на моторику ШКТ (наприклад, фізичні вправи, емоційний дистрес). Новонароджені діти повинні розвивати складну систему моторики в ШКТ тракті. Патогенез порушень моторики кишечника в більшості випадків є багатофакторним.

Незважаючи на те, що загальна структурна організація нервів і мускулатури схожа протягом всього тонкого і товстого кишечника, кожна частина має відмітну рухову активність. Постійні або такі, що недалеко поширюються, скорочення з нерегулярними довшими перистальтичними і антиперистальтичними комплексами виникають під час і після годування, і це дозволяє руйнувати харчовий клубок і змішувати його з травними соками для належної абсорбції. Після переварювання рухова програма змінюється на програму зі скороченнями, яке триваліше поширюються, які переміщують перетравлені продукти в напрямку ануса. Виникає інша рухова активність, регулярніша, яка створює перистальтичні хвилі (тобто скорочення круглих м'язів тонкого кишечника), які роблять можливим просування неперетравленої їжі через кишечник.

Старіння, деменція, інсульт, хвороба Паркінсона, пошкодження спинного мозку, розриви прямої кишки під час пологів, діабет, хірургічні ускладнення і нервово-м'язові порушення (наприклад, міастенія гравіс) можуть викликати порушення моторики.

Протягом десятиріч IBS, звичайно порушення моторики кишечника, яке діагностується, розглядали як захворювання ободової кишки, але дослідження моторики ШКТ продемонстрували, що порушення моторики, які лежать в його основі, можуть виникати також в тонкій кишці. IBS може супроводжуватися болем в животі.

Причини синдрому подразненої кишки (IBS) залишаються невідомими. Згідно з деякими повідомленнями, тонка кишка і ободова кишка пацієнтів з IBS чутливіші і реактивні до слабких стимулів, ніж звичайно.

Іноді нетримання фекалій може виникати після прийому певної їжі. Цукор, нерозчинні волокна і крохмаль (за винятком рису) звичайно руйнуються в кишечнику, утворюючи різні кількості газу, який повинен бути видалений. Більшість людей, які мають лактазну недостатність, не можуть переварювати лактозу, цукор, який часто зустрічається в деяких продуктах харчування (наприклад, молоці, випічці). Люди, які мають лактазну недостатність, можуть переносити неконтрольовану рідку діарею після вживання лактози.

У Сполучених Штатах констипація є найбільш поширеною скаргою на травлення, але, незважаючи на її частоту, часто залишається нерозпізнаною доти, поки у пацієнта не розвиваються вторинні порушення, такі як аноректальні порушення або дивертикулярна хвороба.

Не існує широко прийнятого клінічно ефективного визначення констипації. Постачальники медичних послуг звичайно використовують частоту дефекації (тобто менше ніж 3 дефекації на тиждень) для того, щоб визначати констипацію. Однак, Римські критерії, спочатку введені в 1988 році і згодом двічі модифіковані, що дало Римські критерії III, стали стандартним дослідницьким визначенням констипації.

Згідно з Римськими критеріями III для констипації пацієнт повинен відчувати щонайменше 2 з наступних симптомів протягом попередніх 3 місяців:

- Менше, ніж 3 дефекації на тиждень
- Натужування
- Грудкуваті або тверді випорожнення
- Відчуття аноректальної непрохідності
- Відчуття неповної дефекації
- Допомога руками, необхідна для дефекації

Констипація часто є хронічною, може значно впливати на якість життя індивідуума і може бути пов'язана зі значними витратами на медичну допомогу. Її вважають хронічною, якщо вона траплялася протягом щонайменше 12 тижнів (усього, не обов'язково послідовно) під час попереднього року.

Констипація звичайно має декілька причин, первинних або вторинних. Найбільш частими з них є наступні:

- Дієта з дуже низьким вмістом волокон
- Вагітність
- Психологічна констипація і клінічна депресія, пов'язані із змінами в способі життя (наприклад, подорож, нова робота або розлучення), при яких пацієнт не помічає позиви до дефекації
- Гипотирозидизм
- Порушення балансу електролітів, зокрема, з участю  $\text{Ca}^{++}$  або  $\text{K}^{+}$
- Пухлини, що здійснюють механічний тиск на кишковий тракт, або зсередини або ззовні
- Пошкодження нервової системи
- Старіння
- Хвороба Паркінсона
- Інтоксикація свинцем, ртуттю, фосфором або миш'яком

Констипація є досить звичайною під час вагітності. М'язові скорочення, які звичайно переміщують їжу через кишечник, сповільнюються через вищі рівні гормону прогестерону і можливо зайвого заліза, що приймається у вигляді вітамінів для вагітних. Це іноді також супроводжується болем в нижній частині живота.

Констипація також пов'язана із збільшенням віку і так званим "старінням кишечника", що звичайно зустрічається, зокрема, у людей старше 70 років і в установах постійного догляду. Цей стан супроводжується:

- Знижена кількість нейронів в ослабленій відповіді мієнтеричного сплетення на пряму стимуляцію, що веде до порушення мієнтеричної функції
- Збільшене відкладення колагену в низхідній ободовій кишці, яке веде до аномалій в розтяжності ободової кишки і прямої кишки, і порушення моторики
- Зниження амплітуди інгібіторних нервових імпульсів, що надходять в кільцевий м'язовий шар ободової кишки, що веде до недоліків сегментованої рухової координації
- Збільшене зв'язування ендорфінів плазми з кишковими рецепторами у людей у віці 60 років і старше

На іншому кінці спектра вікових порушень моторики кишечника знаходиться постійний або надмірний плач від колік новонароджених, який є однією з найбільш тривожних проблем дитинства. Він турбує немовлят, батьків і залучених працівників охорони здоров'я. Батьки дратівливого немовляти можуть розглядати плач як вердикт про їх здатність піклуватися або як доказ хвороби їх дитини. Дитячі коліки являють собою стан, який вирішується з часом.

Найбільш широко прийнятим визначенням для колік є критерії Веселя або "правило трьох": плач, який триває протягом більше, ніж трьох годин на добу, відбувається більше, ніж протягом трьох днів на тиждень, і зберігається протягом більше, ніж трьох тижнів. Це визначення також вимагає, щоб немовля було "в іншому здоров'ї і його добре годували".

Кишкова гіпермоторика, вторинна відносно передбачуваного автономного дисбалансу, також запропонована як одна етіологія для колік. Багато які механізми, які регулюють рухову активність, незрілі у немовлят. Незрілість цих механізмів може вести до збільшеної сприйнятливості до харчової непереносимості. Таким чином, коліки можуть являти собою

звичайну клінічну маніфестацію в субпопуляції немовлят, які мають порушення функції дозрівання в одному або декількох аспектах регуляції моторики.

Згідно з деякими епідеміологічними звітами цілих 30 мільйонів американців мають порушення моторики кишечника. Доступні дані з медичної літератури показують, що по всьому світу 30-45 % всіх станів ШКТ можуть бути віднесені до порушень моторики кишечника.

Існуюче лікування і рекомендації варіюють залежно від типу порушення моторики, для констипації деякі приклади являють собою:

- Волокна або наповнювачі (не можна використовувати при гіпокінетичній констипації)
- Розм'яшувачі випорожнень
- Стимулюючі проносні засоби
- Осмотичні проносні засоби (наприклад, поліетиленгліколь)
- Активатор хлоридних каналів (наприклад, лубіпростон)
- Серотонінергічні засоби (агоністи рецепторів 5-HT<sub>4</sub>)

Досліджували додаткове використання молочнокислих бактерій (LAB) в рандомізованому клінічному дослідженні: Efficacy of *Lactobacillus paracasei*-enriched Artichokes in the Treatment of Patients With Functional Constipation (Riezzo et al; Aliment Pharmacol Ther. 2012 Feb;35(4):441-50).

Також 90 немовлят з коликами, яких годували грудьми, випадковим чином включали в дослідження лікування з використанням *L. Reuteri* або симетикону. На базовому рівні медіанний добовий час плачу становив 197 хвилин в обох групах. Серед 83 немовлят, які виконали дослідження, медіанний добовий час плачу був нижчий в групі *L. Reuteri*, ніж в групі симетикону на добу 7 (159 проти 177 хвилин) і добу 28 (51 проти 145 хвилин). (Savino F et al, Pediatrics. 2007;119(1):e124).

Порушення моторики кишечника поширюються на аномальні скорочення кишечника, часто пов'язані з болем, й існує багато різних типів лікування і рекомендацій для різних порушень, деякі з яких працюють краще, ніж багато інших.

Тому існує загальна необхідність і конкретні проблеми, які вимагають вирішення для різних порушень моторики, а саме: як найкраще підбирати засоби для нормалізації або лікування порушень моторики кишечника і болю в кишечнику?

#### СУТЬ ВИНАХОДУ

Автори винаходу, описаного в цьому документі, розробили новий спосіб оцінки засобів для лікування різних порушень моторики кишечника з використанням відмітних методологічних частин, що стосуються мускулатури і нервів шлунково-кишкового тракту і їх зв'язку з головним мозком.

Таким чином, даний винахід стосується способу відбору засобу, ефективного для лікування порушення моторики кишечника, де вказаний спосіб включає:

а) стадію просторово-часового (ST) картирування, яку здійснюють на шлунково-кишковому сегменті для того, щоб аналізувати ефект засобу, що здійснюється на моторику шлунка і кишечника; і

б) стадію *ex vivo* реєстрації нервового пучка, яку здійснюють на шлунково-кишковому сегменті для того, щоб аналізувати ефект засобу, що здійснюється на проходження імпульсів по брижовим аферентним нервам.

У переважних варіантах здійснення ST картирування на стадії а) здійснюють за допомогою відеовізуалізації або реєстрації. У способах за винаходом стадія а) переважно включає використання ST карти, створеної на стадії а), для того, щоб вимірювати частоту мігруючого моторного комплексу (MMC) і/або швидкість мігруючого моторного комплексу (MMC) у вказаному шлунково-кишковому сегменті.

У способах за винаходом стадія а) переважно додатково включає вимірювання внутрішньопросвітного тиску, наприклад, внутрішньопросвітний пікового тиску (PPr).

У способах за винаходом переважно стадія б) включає вимірювання частот проходження мимовільних імпульсів по брижовим аферентним нервовим пучках.

У переважних аспектах в даному винаході розкритий двостадійний спосіб відбору засобів, ефективних при порушеннях моторики. На першій стадії автори винаходу об'єднали реєстрацію внутрішньопросвітний тиску з просторово-часовими картами для того, щоб аналізувати ефекти різних засобів, що здійснюються на моторику. На цій стадії переважно вимірюють внутрішньопросвітний піковий тиск (PPr) і виконують відеореєстрацію сегментів худі кишки і ободової кишки миші *ex vivo* до і після внутрішньопросвітний застосування засобів. Частоту і швидкість мігруючого моторного комплексу також обчислюють на першій стадії способу. На другій стадії аналізують передачу сигналів по нервах кишечника і вимірюють частоти проходження мимовільних імпульсів по брижовим аферентним нервовим пучках. Таким чином, в даному винаході розкритий спосіб відбору засобів, ефективних при порушеннях моторики, який

включає першу стадію з використанням одночасної реєстрації змін внутрішньопросвітного тиску в доповнення до відеореєстрації і просторово-часовим картам і другу стадію, яка являє собою аналіз передачу сигналів по нервах, наприклад, за допомогою виконання реєстрації брижових нервів, наприклад, позаклітинної реєстрації брижових нервів.

5 Таким чином, в ще одному додатковому варіанті здійснення даний винахід передбачає спосіб відбору засобу, ефективного для лікування порушення моторики кишечника, який включає стадії:

(а) реєстрацію внутрішньопросвітного тиску, створення просторово-часової (ST) карти для того, щоб зробити можливим аналіз ефектів різних засобів, що здійснюються на моторику шлунка і кишечника, де вказану просторово-часову карту використовують для того, щоб вимірювати частоту і швидкість мігруючого моторного комплексу, в зразку кишечника в присутності і за відсутності тестового засобу; і

(б) аналіз передачі сигналів по нервах кишечника за допомогою вимірювання частот проходження мимовільних імпульсів по брижових аферентних нервових пучках в зразку кишечника в присутності і при відсутності тестового засобу.

У переважних варіантах здійснення цього способу на стадії (а) вимірюють внутрішньопросвітний піковий тиск (PPr).

Даний винахід стосується описаного двостадійного способу, а також нових бактеріальних штамів.

## 20 ОПИС КРЕСЛЕНЬ

Фіг. 1. Реєстрація моторики органа

Фіг. 2. Зображення і дані, одержані при реєстрації моторики

Фіг. 3. Зображення і дані, одержані при реєстрації моторики

Фіг. 4. Реєстрація брижових нервів; інервація кишечника

25 Фіг. 5. Позаклітинна реєстрація

Фіг. 6. Подробиці про підключуване програмне забезпечення StMAP

Фіг. 7. Графіки, що показують результати стадії а). Тестували засоби: (A) *L. gasseri* 345A (DSM 27123), (B) *L. gasseri* 621A (DSM 27126), (C) *L. gasseri* T1, (D) *L. gasseri* T2, (E) *L. Reuteri* ATCC PTA 6475, (F) *L. Reuteri* DSM 17938 і (G) *L. rhamnosus* (JB-1).

30 Фіг. 8. Графіки, що показують результати стадії б). Тестували засоби: *L. rhamnosus* (JB-1), *L. Reuteri* DSM 17938, *L. Reuteri* ATCC PTA 6475, *L. gasseri* 345A (DSM 27123), *L. gasseri* 621A (DSM 27126), *L. gasseri* T1 і *L. gasseri* T2.

## ДОКЛАДНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ І ЙОГО ПЕРЕВАЖНИХ ВАРІАНТІВ ЗДІЙСНЕННЯ

Для того, щоб сприяти розумінню винаходу, далі визначені деякі терміни.

35 Як використовують в цьому документі, термін "внутрішньопросвітний піковий тиск" (PPr) оснований на реєстрації внутрішньопросвітного тиску, де зміни внутрішньопросвітного тиску вимірюють в середині подовжньої осі сегмента кишки. Аналізують сигнал тиску, а також ідентифікують і вимірюють внутрішньопросвітний піковий тиск (PPr).

40 Як використовують в цьому документі, термін "частота мігруючого моторного комплексу" (частота MMC) обчислюють за допомогою підрахунку кількості темних MC смуг на просторово-часових картах.

Як використовують в цьому документі, термін "швидкість мігруючого моторного комплексу" (швидкість MMC) вимірюють за нахилом(ами) кожної смуги на просторово-часовій карті, яку генерують за допомогою мігруючих моторних комплексів.

45 Як використовують в цьому документі, термін "частота проходження імпульсів" використовують для того, щоб вимірювати послідовності сенсорних спайків, що посиляються в головний мозок.

Як використовують в цьому документі, термін "засіб" використовують для позначення якої-небудь речовини або матеріалу, що містить цілі клітини, мікроорганізми, білки, пептиди, ферменти, молекули або інші біологічні або хімічні матеріали, які можна використовувати для того, щоб впливати на моторику і/або біль в шлунково-кишковій системі ссавця. Переважні засоби являють собою бактеріальні штами, наприклад, пробіотичні бактеріальні штами.

Спосіб за винаходом в цьому документі являє собою двостадійний спосіб, оснований на способі просторово-часового (ST) картування (стадія 1) в комбінації з вдосконаленою технологією реєстрації нервових пучках *ex vivo* (стадія 2), в якій шлунково-кишковий сегмент вирізають з брижовою аркадою, що містить нервовий пучок, який йде до сегмента, який складається як зі спинномозкових, так і з вагальних волокон, або без неї.

60 На першій стадії представленого переважного способу реєстрацію внутрішньопросвітного тиску комбінують з просторово-часовими (ST) картами для того, щоб аналізувати ефекти різних засобів, що здійснюються на моторику.

ST карти надають інструмент для візуалізації поля, що розвивається у часі і змінюється в просторі, який можна використовувати при аналізі моторики шлунка і кишечника, зокрема характеристики в здоровому стані і при порушеннях моторики. Використовуючи просторово-часову відеовізуалізацію, автори винаходу в цьому документі розробили частини нового способу з використанням комп'ютерного аналізу просторово-часових карт змін діаметра кишки. Це виявило рухові патерни, які дуже складно виявляти з використанням якого-небудь іншого способу. Параметри цих патернів безпосередньо корелюють з результатами, одержаними з використанням кишкових сегментів миші *ex vivo* і кишкових фармакологічних засобів для людини. Проводили цифрову реєстрацію перистальтичного поширення моторних комплексів (МС) або перемішуючих рухів (стаціонарні МС) в реальному часі і зберігали зображення. Аналітичне програмне забезпечення, як описано додатково далі, виявляє краї кишки і здатне автоматично обчислювати діаметр вздовж довжини сегмента з течією часу. Ці дані програма використовує для того, щоб будувати просторово-часові карти, які дозволяють витягувати високо специфічну інформацію про рухові патерни; наприклад, частоту мігруючого моторного комплексу скорочень (ММС) (частота ММС, яка залежить від нервової системи), швидкість ММС скорочень і частота міогенних (пов'язаних з повільними хвилями) скорочень.

Крім того, спочатку потрібно прийняти, що кишкові мікроорганізми подають сигнали в головний мозок як частина так званого "мікробіом кишечника-стовбур мозку". Однак дуже мало відомо про роль мікробіома кишечника в розвитку або функціонуванні нервової системи. У цей час нічого не відомо про кількісну природу нервових сигналів, що передаються з кишечника в центральну нервову систему.

Окремі сенсорні нейрони, включаючи ті, які знаходяться у волокнах блукаючого нерва, представляють безперервні фізичні стимули у вигляді патернів послідовностей спайків, які кодують властивості й інтенсивність стимулу. У доповнення до цього, стимули можуть бути представлені в популяційному коді, що визначається за допомогою кількості активних волокон в пучку. Вся інформація, що досягає головного мозку по первинних аферентних волокнах, повинна бути закодована на мові нейронних послідовностей спайків. Отже, знання про те, як на послідовності сенсорних спайків впливають коменсали, пробіотичні штами і різні речовини, дозволяє ідентифікувати нові корисні мікроорганізми кишечника і їх активні молекули за допомогою ефектів, що здійснюються на проходження первинних аферентних імпульсів, а також нові лікарські засоби і інші сполуки, які можуть різними шляхами втручатися в цю систему сигналів.

Новий спосіб за винаходом в цьому документі для оцінки засобів для лікування різних порушень моторики кишечника робить можливим диференціацію конкретних ефектів засобів, наприклад, пробіотичного бактеріального штаму або іншого біологічного або хімічного засобу, що надаються як на м'язи, так і на нерви. Експериментальні дані підтверджують, що це не обов'язково той же засіб, який здатний модулювати, наприклад, перемішувальний патерн або поступальний патерн в певній частині шлунково-кишкового тракту, що також є найбільш ефективним при модуляції болю, пов'язаного з кишечником і/або центральною нервовою системою.

Крім того, для дослідження ефектів певних молекул при різних захворюваннях, спосіб авторів винаходу робить можливим різні дослідження просвітної перфузії і дифузії до епітеліального бар'єра і через нього.

Травна трубка проводить два фундаментальних патерни моторики:

Поступальний рух: їжу треба проштовхувати по всій довжині травної трубки для того, щоб вона піддавалася послідовній обробці, залученої до руйнування і абсорбції. Принциповим типом поступальної моторики, яку спостерігають, зокрема, в стравоході і тонкій кишці, є перистальтика - кільце м'язового скорочення рухається від ротової сторони харчового клубка і в напрямку ануса, проштовхуючи вміст просвіту в цьому напрямку; по мірі руху кільця м'язи на іншій стороні розтягнутої області розслабляються, що полегшує плавне проходження клубка.

Перемішування: якщо проковтнуту речовину просто проштовхувати через травну трубку, потрібно чекати дуже поганого переварювання і абсорбції, оскільки травні ферменти не будуть в достатній мірі змішані з їжею і велика частина їжі не буде входити в контакт з епітеліальними клітинами, які абсорбують поживні речовини, зокрема воду. Сегментуючі скорочення являють собою звичайний тип перемішувальної моторики, що спостерігається, зокрема, в тонкій кишці - сегментуючі кільця скорочення розділяють і перемішують їжу. Скорочення, що чергуються, і розслаблення подовжніх м'язів в стінці кишки також забезпечують ефективне перемішування її вмісту.

Використовуючи новий спосіб в цьому документі, можна виявляти і реєструвати змінену моторику кишечника, що спостерігається у вигляді або перемішувального патерна (після їжі) або

поступального патерна, яку чітко видно при використанні способу ST картирування, в комбінації із змінами в болі, зумовленому різними порушеннями моторики і, що виявляється центрально або периферично.

Один тип болю являє собою вісцеральний біль, який є результатом активації ноцирецепторів внутрішніх органів черевної порожнини. Вісцеральні структури дуже чутливі до розширення (розтягнення), ішемії і запалення, але відносно не чутливі до інших стимулів, які звичайно викликають біль. Вісцеральний біль дифузний, важко визначити його місцеположення і часто його пов'язують з віддаленими, звичайно поверхневими, структурами. Він може супроводжуватися такими симптомами, як нудота, блювання, зміни в показниках життєдіяльності, а також емоційні маніфестації. Біль можна описати як огидний, глибокий, стискуваний і тупий. Відмітні структурні пошкодження або біохімічні аномалії пояснюють біль цього типу тільки у частини пацієнтів. Ці захворювання іноді об'єднують в шлунково-кишкові нервово-м'язові захворювання (GINMD). Люди також можуть піддаватися вісцеральному болю, часто дуже інтенсивні по характеру, без якої-небудь видимої структурної, біохімічної або гістопатологічної причини для таких симптомів.

Ноцирецептор являє собою сенсорний рецептор, який реагує на потенційно ушкоджуючі стимули, посилюючи потенціали дії на конкретні ноцицептивні нейрони (Аδ або С), які здійснюють передачу в антеролатеральні тракти спинного мозку (плюс невелика вагусна проекція) і потім в таламус і передній мозок, що містить острівкову кору і поясну кору. Ключовою для сприйняття болю, що відбувається від патології кишечника, є активація больових повідомлень, що йдуть від кишечника до центральної нервової системи через зовнішні первинні аферентні волокна, які проходять в брижових аферентних нервових пучках.

У системі за винаходом, описаному в цьому документі, вимірювання в моториці і болі зчитують у вигляді змін в патернах моторики (наприклад, PPr, швидкість MMC і/або частота MMC) або амплітуд скорочень або збільшеного спинно-мозкового трафіку аферентних брижових нервів для конкретних і вибраних частин кишки. До здивування, виявлено, що різні засоби можуть сприяти перемішуванню в одній частині шлунково-кишкового тракту і поступальним рухам в іншій частині, або можуть зовсім не здійснювати ефект, і впливати на систему больових сигналів в одній частині, але не в іншій частині шлунково-кишкового тракту, і через різні нервові шляхи, такий як вагусний, або для вісцерального болю через ганглії заднього корінця. Така точна регіонарна специфічність підкреслює потужність і специфічність підходу авторів винаходу до оцінки ефектів тестових молекул.

Отже, мета даного винаходу полягає в тому, щоб знайти засоби, придатні для лікування, запобігання або модулювання конкретних порушень моторики, за допомогою використання моделі, описаної в цьому документі.

Дві стадії в представленому способі надають дані про моторику шлунка і кишечника і проходженні імпульсів по брижовим аферентних нервах. Аналіз цих параметрів веде до способу відбору засобів, ефективних при лікуванні порушення моторики кишечника. Таким чином, аналіз ефекту засобу на стадії а) і стадії б) наданих способів використовують для того, щоб визначати, чи є засіб ефективним для лікування порушення моторики кишечника.

Переважні параметри, що підлягають вимірюванню на стадії а), являють собою частоту MMC і/або швидкість MMC, і це зручно виконувати за допомогою ST карти, яку переважно генерують за допомогою відеовізуалізації, наприклад, з використанням відеореєстрації, і яка переважно містить патерн зі смуг світлих і темних відтінків, що чергуються, що містить інформацію трьох типів: положення вздовж кишки (ординату), час (абсцису) і діаметр кишки (аплікату або вісь z). При використанні цих змінних просторово-часова карта може ставати "відбитком" моторики, чутливість якого важлива при визначенні деталізованих і уточнених ефектів, які конкретні пробіотичні штами й інші засоби здійснюють на моторику і здатність провести відмінності між ними.

Інші переважні параметри, що підлягають вимірюванню на стадії а), являють собою внутрішньопросвітний тиск, зокрема, внутрішньопросвітний піковий тиск (PPr). Інші параметри, наприклад, як описано в прикладах, можна необов'язково вимірювати по ST карті і на стадії а) способу.

Переважний параметр, що підлягає вимірюванню на стадії б), являє собою частоту проходження мимовільних імпульсів по брижових аферентних нервових пучках. Цей спосіб можна використовувати для того, щоб визначати зміни в збудливості волокон брижових нервів, що викликаються різним лікуванням.

Аналіз одного або декількох з цих параметрів веде до способу відбору засобів, ефективних при порушеннях моторики. Придатні способи і апарат для створення ST карти і вимірювання цих параметрів наведені в експериментальних прикладах і на фігурах.



Таким чином, в переважних способах, дві стадії в представленому способі надають дані про внутрішньопросвітний піковий тиск (PPr), частоту ММС, швидкість ММС і частоту проходження мимовільних імпульсів по брижових аферентних нервових пучках. Аналіз всіх цих параметрів веде до переважного способу відбору засобів, ефективних при порушеннях моторики.

Способи за винаходом можна використовувати для того, щоб знаходити придатні засоби для різних порушень моторики. Засоби вибирають для того, щоб впливати на швидкість ММС і/або частоту ММС і/або PPr і частоту проходження нервових імпульсів у пацієнта корисним чином для того, щоб впливати, запобігати або лікувати порушення моторики.

На стадії а) способу використовують ST картирування (ST аналіз) шлунково-кишкового сегмента для того, щоб аналізувати ефект засобу, що здійснюється на моторику шлунка і кишечника. Щоб виконати це, переважно, з використанням ST карти вимірюють частоту ММС і/або швидкість ММС. На ST карті зручно представлені зображення МС смуг, по яких можна вимірювати частоту і швидкість, наприклад, як описано в експериментальних прикладах. Крім того, всередині шлунково-кишкового сегмента вимірюють переважно внутрішньопросвітний тиск і, більш переважно, внутрішньопросвітний піковий тиск (PPr).

Шлунково-кишковий сегмент для використання в способах за даним винаходом може бути з будь-якої придатної частини шлунково-кишкового тракту, наприклад, може являти собою сегмент з тонкої кишки (наприклад, худої кишки) або з товстої кишки (наприклад, ободової кишки). Для придатних сегментів для стадії b) способу необхідно присутність придатного нервового пучка, щоб зробити можливим вимірювання проходження імпульсів по брижовим аферентним нервах. Це можна зручно забезпечувати, маючи шлунково-кишковий сегмент з прикріпленою брижовою тканиною, наприклад, як описано в експериментальних прикладах. Таким чином, способи за винаходом зручно здійснювати на сегментах ex vivo з придатної експериментальної тварини, наприклад, на шлунково-кишкових сегментах миші (наприклад, сегменти ободової кишки або худої кишки миші). До здивування, способи за даним винаходом можуть виявляти відмінності в дії одного і того ж засобу на обидва типи відрізка кишечника. Здатність здійснювати порівняння ефекту засобу, що здійснюється на тонку кишку в порівнянні з товстою кишкою, може бути сприятливим, зокрема, як лікування, яке має регіонарну специфічність, залежно від порушення моторики кишечника, що підлягає лікуванню, і його клінічної стадії і симптомів, наприклад, специфічність до тонкої або товстої кишки може бути корисною.

Зміни моторики шлунка і кишечника, викликані засобом, можна виявляти у вигляді показників на стадії а) способу, наприклад, у вигляді зміни патерна моторики або амплітуди скорочень. Деякі засоби зовсім не будуть здійснювати ефект. Засіб, який може підвищувати моторику шлунка і кишечника, наприклад, за допомогою збільшення частоти ММС і/або швидкості ММС і/або внутрішньопросвітної тиску, такого як PPr, ймовірно буде ефективним при лікуванні порушень, при яких буде сприятливо підвищувати поступальну моторику вздовж травної трубки, наприклад, при констипації і коліках. Якщо показано, що засіб знижує або не значно змінює моторику шлунка і кишечника, наприклад, за допомогою зниження або незначної зміни частоти ММС і/або швидкості ММС і/або внутрішньопросвітної тиску, такого як PPr, то такий засіб малоімовірно буде ефективним при лікуванні таких порушень і не буде відібраний, зокрема, якщо має місце зниження або незначна зміна всіх вимірюваних параметрів. Однак, засіб, який може вести до зниження моторики шлунка і кишечника, наприклад, за допомогою зниження одного або декількох з частоти ММС і/або швидкості ММС і/або внутрішньопросвітної тиску, такого як PPr, ймовірно буде ефективним при лікуванні порушень, при яких сприятливо знижувати поступальну моторику вздовж травної трубки, наприклад, при IBS або діареї.

Збільшення моторики шлунка і кишечника, наприклад, збільшення частоти ММС і/або швидкості ММС і/або внутрішньопросвітної тиску, такого як PPr, в сегменті товстої кишки, за допомогою засобу в способах за винаходом, є особливо переважним для того, щоб вибирати засіб для застосування в лікуванні констипації або колік.

На стадії b) способів за винаходом аналізують ефект, який надає засіб на проходження імпульсів по брижових аферентних нервах (передача больових сигналів і який, таким чином, можна використовувати як показник для болю, тобто ймовірно здійснює засіб ефект на біль чи ні, наприклад, на вісцеральний біль. Збільшення достовірного ефекту, що здійснюється на проходження імпульсів по аферентним нервах, або його відсутність вказує на засіб, який ймовірно веде до збільшення болю або не надає достовірного ефекту на біль, відповідно, тоді як зниження проходження імпульсів по аферентним нервах вказує на засіб, який буде знижувати біль. Переважні засоби, таким чином, являють собою ті, які ведуть до зниження проходження імпульсів по аферентним нервах, наприклад, до зниження частоти проходження

мимовільних імпульсів по аферентним нервовим пучкам. Альтернативно, засіб, який веде до незначної зміни проходження імпульсів по нервах, можна відбирати, якщо штам виявляє сприятливі властивості, як вимірюють за допомогою стадії а) способу.

Засіб, що підлягає тестуванню, додають у вибраний шлунково-кишковий сегмент будь-яким відповідним чином. Зручно додавати засоби у внутрішньопросвітний простір сегмента, тобто застосовувати всередині просвіту. Для того, щоб аналізувати ефект засобу, що здійснюється на моторику (на стадії а) або передачу больових сигналів (на стадії b), стадії зручно здійснювати в присутності і при відсутності засобу. Наприклад, стадії а) і b) здійснюють до і після застосування засобу. Таким чином, в таких способах ефект засобу порівнюють з відповідним контролем, наприклад, результати в присутності тестового засобу порівнюють з результатами при відсутності тестового засобу, наприклад, результати з використанням тільки буфера протиставляють буферу плюс засіб (наприклад, буфер плюс бактеріальний штам).

Таким чином, ще один додатковий аспект за винаходом стосується засобу, вибраного за допомогою способів за винаходом. Переважним засобом є мікроорганізм, більш переважно бактеріальний штам, переважно пробіотичний бактеріальний штам. Засоби, вибрані за допомогою способів за винаходом, можуть приймати форму фармацевтичної сполуки або композиції або аліментарної сполуки або композиції.

Як описано вище, залежно від порушення моторики, яке бажано підлягає лікуванню, критерії відбору будуть варіювати. Наприклад, якщо порушенням моторики кишечника є те, при якому бажано знижувати час проходження матеріалу через кишечник (або збільшувати поступальну моторику вздовж травної трубки), наприклад, констипація, регургітація або коліки, то на стадії а) способу засіб, що представляє інтерес, повинен діяти для того, щоб збільшувати моторику шлунка і кишечника, наприклад, за допомогою збільшення частоти ММС або швидкості ММС або внутрішньопросвітної тиску (наприклад, PPr). Переважні засоби повинні збільшувати два або більше з цих параметрів, наприклад, повинні збільшувати частоту ММС і швидкість ММС або повинні збільшувати частоту ММС і внутрішньопросвітний тиск (наприклад, PPr), або повинні збільшувати швидкість ММС і внутрішньопросвітний тиск (наприклад, PPr). Більшість переважних засобів повинні збільшувати всі ці параметри, наприклад, повинні збільшувати частоту ММС, швидкість ММС і внутрішньопросвітний тиск (наприклад, PPr). Стадію а) способу можна оцінювати на відповідному шлунково-кишковому сегменті з тонкої або товстої кишки, наприклад, сегмент худі кишки для тонкої кишки або сегмент ободової кишки для товстої кишки. У деяких варіантах здійснення використання товстої кишки, наприклад, сегментів ободової кишки, є переважним.

Для лікування таких порушень потрібно вибирати засіб, який не здійснює ефекту або не збільшує передачу больових сигналів або переважно діє для того, щоб знижувати передачу больових сигналів. На стадії b) способу такі засоби не повинні здійснювати ефекту або переважно повинні діяти для того, щоб знижувати або зменшувати проходження імпульсів по брижових аферентних нервах. Переважно вказаний засіб не повинен здійснювати ефект або переважно повинен діяти для того, щоб знижувати частоту проходження мимовільних імпульсів по брижових аферентних нервових пучках. Стадію b) способу можна оцінювати на будь-якому відповідному шлунково-кишковому сегменті з тонкої або товстої кишки, наприклад, на сегменті худі кишки для тонкої кишки або на сегменті ободової кишки для товстої кишки. У деяких варіантах здійснення використання тонкої кишки, наприклад, сегментів худі кишки, є переважним.

Використовуючи спосіб за даним винаходом, автори винаходу відібрали новий бактеріальний штам, *Lactobacillus gasseri* 345A (LG345A), який, як показано, збільшує моторику шлунка і кишечника за допомогою, як показано, збільшення частоти ММС, швидкості ММС і внутрішньопросвітної пікового тиску. Також показано, що цей штам знижує передачу больових сигналів за допомогою зниження проходження імпульсів по брижових аферентних нервах (за допомогою зниження частоти проходження імпульсів по брижових аферентних нервових пучках). Цей виділений бактеріальний штам (й інші штами, наприклад, штами *L. gasseri*, з характеристиками цього депонованого штаму, наприклад, здатністю викликати вказані вище ефекти, що здійснюються на моторику шлунка і кишечника і передачу больових сигналів) утворює переважний аспект за винаходом, і його можна використовувати для того, щоб лікувати порушення моторики кишечника, зокрема, ті, при яких бажано знижувати час проходження матеріалу через кишечник. Таким чином, переважні стани, що підлягають лікуванню із застосуванням цього штаму, являють собою констипацію або коліки. Штами, наприклад, штами *L. gasseri*, які можуть підвищувати моторику шлунка і кишечника, маючи здатністю збільшувати кожне з частоти ММС, швидкості ММС і внутрішньопросвітної пікового тиску, і які можуть знижувати передачу больових сигналів, наприклад, маючи здатністю знижувати проходження

імпульсів по брижових аферентних нервах (наприклад, за допомогою зниження частоти проходження імпульсів по брижових аферентних нервових пучках) утворюють переважні аспекти за даним винаходом.

Альтернативно, якщо, наприклад, порушення моторики кишечника, що підлягає лікуванню, являє собою те, при якому бажано збільшувати час проходження матеріалу через кишечник (наприклад, порушення з швидким крізним проходженням), наприклад, IBS або діарея, то на стадії а) способу засіб, що представляє інтерес, повинно діяти для того, щоб знижувати моторику шлунка і кишечника, наприклад, за допомогою зниження частоти MMC або швидкість MMC або внутрішньопросвітнього тиску, наприклад, PPr. Переважні засоби повинні знижувати щонайменше швидкість MMC. Переважні засоби повинні знижувати два або більше з цих параметрів, наприклад, повинні знижувати швидкість MMC і частоту MMC або повинні знижувати частоту MMC і внутрішньопросвітний тиск (наприклад, PPr) або повинні знижувати швидкість MMC і внутрішньопросвітний тиск (наприклад, PPr). Більшість переважних засобів повинні знижувати всі ці параметри, наприклад, повинні знижувати частоту MMC, швидкість MMC і внутрішньопросвітний тиск (наприклад, PPr). Стадію а) способу можна оцінювати на відповідному шлунково-кишковому сегменті з тонкої або товстої кишки, наприклад, на сегменті худой кишки для тонкої кишки або сегменті ободової кишки для товстої кишки. У деяких варіантах здійснення використання сегментів товстої кишки, наприклад, ободової кишки, є переважним.

Для лікування таких порушень потрібно вибирати засіб, який не здійснює ефекту або не збільшує передачу больових сигналів, або переважно діє для того, щоб знижувати передачу больових сигналів. На стадії b) способу такі засоби не повинні здійснювати ефекту або переважно повинні діяти для того, щоб знижувати або зменшувати проходження імпульсів по брижових аферентних нервах. Переважно вказаний засіб не повинен здійснювати ефект або переважно повинен діяти для того, щоб знижувати частоту проходження мимовільних імпульсів по брижовим аферентних нервових пучках. Стадію b) способу можна оцінювати на відповідному шлунково-кишковому сегменті з тонкої або товстої кишки, наприклад, на сегменті худой кишки для тонкої кишки або на сегменті ободової кишки для товстої кишки. У деяких варіантах здійснення використання сегментів тонкої кишки, наприклад, худой кишки, є переважним.

Використовуючи спосіб за даним винаходом, автори винаходу відібрали новий штам, *Lactobacillus gasseri* 621A (LG621A), який, як показано, знижує моторику шлунка і кишечника за допомогою, як показано, зниження швидкості MMC і не здійснює ефекту на частоту MMC або внутрішньопросвітний піковий тиск. Також показано, що цей штам знижує передачу больових сигналів за допомогою зниження проходження імпульсів по брижових аферентних нервах (за допомогою зниження частоти проходження імпульсів по брижових аферентних нервових пучках). Цей виділений бактеріальний штам (й інші штами, наприклад, штами *L. gasseri*, з характеристиками цього депонованого штаму, наприклад, зі здатністю викликати вказані вище ефекти, що здійснюють на моторику шлунка і кишечника і передачу больових сигналів) утворює переважний аспект за винаходом, і його можна використовувати для того, щоб лікувати порушення моторики кишечника, зокрема, ті, при яких бажано збільшувати час проходження матеріалу через кишечник (наприклад, порушення з швидким крізним проходженням). Таким чином, переважні стани, що підлягають лікуванню із застосуванням цього штаму, являють собою IBS або діарею. Штами, наприклад, штами *L. gasseri*, які можуть знижувати моторику шлунка і кишечника, наприклад, маючи здатність знижувати одне або декілька з частоти MMC, швидкості MMC і внутрішньопросвітнього пікового тиску (переважно швидкість MMC), і які можуть знижувати передачу больових сигналів, наприклад, маючи здатність знижувати проходження імпульсів по брижових аферентних нервах (наприклад, за допомогою зниження частоти проходження імпульсів по брижових аферентних нервових пучках), утворюють переважні аспекти за даним винаходом.

З наведеного вище зрозуміло, що способи за винаходом також можна використовувати для того, щоб вибирати або ідентифікувати засоби, які не підходять для лікування порушень моторики кишечника, наприклад, засоби, які не демонструють якого-небудь ефекту, що здійснюється на одну або декілька або дві або більше або всі три зі швидкостей MMC або частоти MMC або внутрішньопросвітнього тиску, можуть не бути придатні для застосування в лікуванні порушень моторики кишечника, зокрема, якщо такі засоби не здійснюють позитивного ефекту на зниження передачі больових сигналів. Зокрема, ті засоби, які не демонструють ефекту, що здійснюється на які-небудь з цих параметрів, малоімовірно підходять для лікування порушення моторики кишечника. Крім того, ті засоби, які здійснюють ефект підвищення передачі больових сигналів, як вимірюють за допомогою збільшення проходження імпульсів по брижових

аферентних нервах на стадії b) способу, малоімовірно підходять для лікування порушення моторики кишечника.

Таким чином, ще один додатковий переважний аспект за винаходом стосується засобу, переважно бактеріального штаму, відібраного за допомогою способу за винаходом для застосування в терапії, конкретніше для застосування в лікуванні порушення моторики кишечника, такому як ті, які описані в цьому документі. Відповідні порушення моторики кишечника, що підлягають лікуванню, описані в цьому документі в іншому місці. Переважні порушення моторики кишечника, що підлягають лікуванню за допомогою засобів або бактеріальних штамів за винаходом, являють собою ті, при яких бажано знижувати час проходження матеріалу через кишечник, наприклад, коліків, регургітацію або констипацію. Інші переважні порушення моторики кишечника являють собою ті, при яких бажано збільшувати час проходження матеріалу через кишечник, наприклад, IBS або діарею.

Даним винаходом також передбачені способи лікування суб'єкта з порушенням моторики кишечника, вказані способи включають введення засобу, переважно бактеріального штаму, відібраного за допомогою способу за винаходом, вказаному суб'єкту в кількості, ефективній для того, щоб лікувати вказане порушення моторики кишечника.

Даним винаходом також передбачені способи лікування суб'єкта з порушенням моторики кишечника, вказані способи включають введення бактеріального штаму за винаходом вказаному суб'єкту в кількості, ефективній для того, щоб лікувати вказане порушення моторики кишечника. Переважні штами являють собою LG345A або LG621A для лікування порушень моторики кишечника, як описано в цьому документі в іншому місці.

Переважні порушення моторики кишечника й інші переважні ознаки являють собою те, що описано в цьому документі в іншому місці для інших аспектів за винаходом.

Даним винаходом також передбачене використання засобу, переважно бактеріального штаму, відібраного за допомогою способу за винаходом, при виготовленні композиції або лікарського засобу для застосування в лікуванні порушення моторики кишечника.

Даним винаходом також передбачене використання бактеріального штаму за винаходом при виготовленні композиції або лікарського засобу для застосування в лікуванні порушення моторики кишечника. Переважні штами являють собою LG345A або LG621A для лікування порушень моторики кишечника, як описано в цьому документі в іншому місці.

Переважні порушення моторики кишечника й інші переважні ознаки являють собою те, що описано в цьому документі в іншому місці для інших аспектів за винаходом.

У способах і у використанні даного винаходу, описаних в цьому документі, терміни "збільшувати", "знижувати", "зменшувати" і т. д. стосуються зміни рівнів, що піддається вимірюванню, переважно, значної зміни рівнів, більш переважно, статистично значущої зміни, переважно, зі значенням імовірності <0,05.

Переважні суб'єкти для лікування з використанням способів за винаходом являють собою ссавців, більш переважно людину. Коли порушення моторики кишечника, що підлягає лікуванню, являє собою констипацію, переважні суб'єкти являють собою пристарілих пацієнтів або вагітних жінок. Під пристарілим пацієнтом загалом розуміють пацієнта у віці 70 років або більше. Коли порушення моторики кишечника, що підлягає лікуванню, являє собою коліки, переважно вони являють собою дитячі коліки.

Ще один додатковий аспект за винаходом стосується продукту, який містить засоби або штами за винаходом (наприклад, засоби або штами, відібрані за допомогою способів за винаходом) для терапевтичного застосування, як визначений в цьому документі в іншому місці, де вказане використання додатково включає введення щонайменше одного додаткового терапевтичного або аліментарного засобу. У таких варіантах здійснення додатковий терапевтичний засіб може являти собою який-небудь додатковий засіб, який можна застосовувати в лікуванні порушення моторики кишечника, що розглядається. Додатковий аліментарний засіб може являти собою будь-який придатний аліментарний компонент, наприклад, продукт харчування або харчову добавку.

Вказані додаткові засоби можна вводити разом із засобом або штамом за винаходом (наприклад, у вигляді композиції) або можна вводити окремо. Крім того, вказані додаткові засоби можна вводити одночасно у вигляді засобу або штаму за винаходом або в різні моменти часу. Придатні режими і час введення може легко визначити фахівець залежно від додаткового засобу, що розглядається.

Даний винахід також стосується композиції, яка містить:

(i) засіб, переважно бактеріальний штам, що одержується за допомогою способу відбору за винаходом, або бактеріальний штам за винаходом, як визначено в цьому документі іншим чином; і

(ii) щонайменше один додатковий компонент, вибраний з групи, що складається з фармацевтично прийняттого носія, розріджувача або ексципієнта, продукту харчування або харчової добавки або додаткового терапевтичного або аліментарного засобу. Таким чином, вказані композиції можна формулювати як фармацевтичні композиції або як аліментарні композиції, наприклад, у вигляді харчового продукту.

Терапевтичне застосування засобів, штамів і композицій за винаходом, як визначено в цьому документі, включають зниження, запобігання або полегшення релевантного порушення або симптомів порушення (наприклад, може вести до модуляції симптомів захворювання). Таке зниження, запобігання або полегшення порушення або його симптомів можна вимірювати за допомогою будь-якого відповідного аналізу. Переважно зниження або полегшення порушення або симптомів є статистично значущим, переважно, зі значенням імовірності  $<0,05$ . Таке зниження або полегшення порушення або симптомів загалом визначають в порівнянні з відповідним контрольним індивідумом або популяцією, наприклад, здоровим суб'єктом або суб'єктом, який одержував лікування плацебо або не одержував лікування.

Придатний спосіб введення і склад засобів, штамів, композицій і т. д. вибирають залежно від місця захворювання. Переважним способом введення є пероральний, однак в однаковій мірі для деяких видів лікування будуть підходити внутрішньовенні або внутрішньом'язові ін'єкції.

Придатні дози засобів, штамів і композицій за винаходом, як визначено в цьому документі, може легко вибрати або визначити фахівець залежно від порушення, що розглядається, що підлягає лікуванню, способу введення і складу.

Як описано вище, використовуючи винахід, описаний в цьому документі, автори винаходу одержали два нові штами, *Lactobacillus gasseri* 345A і *Lactobacillus gasseri* 621A. Ці штами депоновані в DSMZ (Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Inhoffenstr. 7B, D-38124 Braunschweig, Germany) 18 квітня 2013 року і позначені номерами DSM 27123 і DSM 27126, відповідно.

Відкриття, зроблене авторами винаходу, описаного в цьому документі, що ефекти засобу, що впливає на порушення моторики, є в більшості випадків багатофакторними і відрізняються в різних частинах шлунково-кишкового тракту і, отже, їх потрібно вивчати таким чином, щоб знайти найкращий засіб для конкретного порушення, привело до способу за винаходом.

Отже, мета даного винаходу полягає в тому, щоб знайти засоби, придатні для лікування, запобігання або модуляції конкретних порушень моторики, за допомогою використання моделі, описаної в цьому документі.

В одному з варіантів здійснення винаходу мета полягає в тому, щоб відібрати сполуки або інший засіб, який можливо використовувати як аліментарну сполуку або фармацевтичний засіб, який ефективний для запобігання або лікування констипації у людини, зокрема, пристарілої людини.

У одному з варіантів здійснення винаходу мета полягає в тому, щоб відібрати пробіотичний бактеріальний штам, який може бути ефективний для запобігання або лікування констипації у людини, зокрема, у пристарілих суб'єктів або вагітних жінок.

В іншому варіанті здійснення мета винаходу полягає в тому, щоб відібрати засіб, наприклад, пробіотичний штам, який може бути ефективний при запобіганні або лікуванні дитячих коліків.

В іншому варіанті здійснення мета винаходу полягає в тому, щоб відібрати засіб, наприклад, пробіотичний штам, який може бути ефективний при запобіганні або лікуванні діареї або інших порушень моторики, де корисно знижувати швидкість і, тим самим, збільшувати час проходження.

В одному з варіантів здійснення винаходу мета полягає в тому, щоб відібрати засіб, наприклад, пробіотичний штам, який може бути ефективний при лікуванні або модулюванні симптомів синдрому подразненої кишки (IBS). Такий засіб вибирають для того, щоб збільшувати час проходження, переважно, не викликаючи якого-небудь болю і переважно для того, щоб знижувати біль.

У ще одному іншому варіанті здійснення мета винаходу полягає в тому, щоб відібрати засіб, наприклад, пробіотичний штам, який може бути ефективний при запобіганні нетримання фекалій.

У ще одному іншому варіанті здійснення мета винаходу полягає в тому, щоб відібрати засіб, наприклад, пробіотичний штам, який може бути ефективний для того, щоб підвищувати перемішування в тонкій і товстій кишці, не викликаючи якого-небудь болю і переважно знижуючи біль, щоб сприяти або вести до кращого захоплення поживних речовин суб'єктом, зокрема, пристарілим.

Далі представлені деякі приклади винаходу, які призначені не для того, щоб обмежувати використання винаходу, описаного в цьому документі, але для того, щоб детально представити

практичні приклади того, як можна використовувати винахід. Приклад 1 стосується опису програмного забезпечення, що підключається для просторово-часового картирування (StMap), а приклад 2 стосується стадій відбору ефективних засобів і приклад 3 відбору засобів для конкретного порушення моторики.

#### 5 ПРИКЛАД 1

Опис підключуваного розширення StMap для програмного забезпечення NIH ImageJ;

ImageJ являє собою публічний домен на основі програми для обробки зображень на Java, схожої на NIH Image для Macintosh. Його запускають або у вигляді онлайн-аплета або у вигляді додатку, що завантажується, на якому-небудь комп'ютері з віртуальною машиною Java 1.4 або старше.

Доступне поширення за допомогою завантаження для Windows, Mac OS, Mac OS X і Linux.

ImageJ розроблений з використанням відкритої архітектури, яка забезпечує розширюваність через підключувані розширення на Java. Спеціалізовані підключувані розширення для реєстрації, аналізу і обробки можна розробляти з використанням вбудованого редактора в ImageJ і компілятора Java. Написані користувачами підключувані розширення дозволяють вирішувати майже будь-яку проблему обробки або аналізу зображень.

Автори винаходу розробили підключуване розширення відповідне опису програмного забезпечення, доступному на (<http://rsbweb.nih.gov>) (National Institutes of Health (NIH), 9000 Rockville Pike, Bethesda, Maryland, USA), відповідно до подробиць фіг. 6.

ROI означає "область, що представляє інтерес".

#### 20 ПРИКЛАД 2

Відбір засобів, ефективних при порушеннях моторики.

Цей відбір включає двостадійний спосіб. На першій стадії використовують одночасну реєстрацію змін внутрішньопросвітного тиску в доповнення до відеореєстрації і просторово-часових карт. Друга стадія являє собою аналіз передачі сигналів по нервах.

Всі засоби порівнюють із контролем і засоби не порівнюють один з одним, це дає по одному графіку на протестований засіб.

Перша стадія, просторово-часовий аналіз

Автори винаходу використали дорослих самців мишей Swiss Webster (20-30 г), придбаних в Charles River LaboRatories (Wilmington, MA, USA). Мишей умертвляли за допомогою зміщення шийних хребців, нарівні з керівництвом McMaster з використання і догляду за тваринами. Всі подальші процедури проводили ex vivo.

Реєстрація моторики у ванні для органів

Сегмент тонкої кишки або дистальний сегмент ободової кишки довжиною 4 см вирізали і спорожняли вміст за допомогою промивання сегмента фізіологічним розчином Кребса при гравітаційному гідростатичному натиску 2 гПа. Кожний сегмент закріпили в 20 мл камері ванни для органів і занурювали в оксигенований Кребс (фіг. 1A). Ротовий і анальний кінці канюлювали і просвіт під дією сили ваги перфугували (95 % O<sub>2</sub> і 5 % CO<sub>2</sub>)-газованим Кребсом з використанням декількох посудин Маріюта. Внутрішньопросвітний компартмент перфугували 0,5 мл/хв з використанням буфера при кімнатній температурі (від 19 до 22 °C). Камеру з органом (серозний компартмент) перфугували попередньо нагрітим (34 °C) газованим карбогеном розчином Кребса зі швидкістю 5 мл/хв. Оксигенований буфер Кребса мав наступну композицію (мМ): 118 NaCl, 4,8 KCl, 25 NaHCO<sub>3</sub>, 1,0 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,2 MgSO<sub>4</sub>, 11,1 глюкози і 2,5 CaCl<sub>2</sub>, барботовану газоподібним карбогеном (95 % O<sub>2</sub> і 5 % CO<sub>2</sub>). На початку експерименту внутрішньопросвітний тиск коректували до 3 гПа і реєстрацію проводили при цьому тиску наповнення. Бактерії вносили за допомогою перемикування вхідного потоку в ротовий просвіт з посудин Маріюта, що містять Кребс, на ті, які містили Кребс плюс бактерії, за допомогою закривання і відкривання відповідних кранів, як проілюстровано на фіг. 1A. Зміни внутрішньопросвітного тиску вимірювали в середині подовжньої осі сегмента кишки. Сигнал тиску посилювали, оцифровували, зберігали на персональному комп'ютері і аналізували офлайн з використанням програмного забезпечення PClamp 9 (Molecular Devices, Sunny Vale, CA, USA).

Зображення реєстрували з використанням відеокамери (JVC Everio HaRd Disk CamcoRder моделі GZ-MG155U), яку вміщували в 10 см над сегментом кишки (фіг. 1A). Реєстрацію починали синхронно з реєстрацією тиску з використанням 8-12 см поле огляду протягом експерименту. Камера виводила дані в форматі необробленого відео (MOD) з частотою 30 кадрів на секунду (fps). Відеокліпи довжиною 10 хв вирізали з MOD файлу з використанням програмного забезпечення для відеомонтажу (Avidemux версії 2.5.0, програмне забезпечення з відкритим вихідним кодом, доступне на [www.avidemux.org](http://www.avidemux.org)). Потім кліпи конвертували в формат MOV з використанням відеоконвертера (конвертер Zune версії 1.1, програмне забезпечення з

відкритим вихідним кодом, доступне на <http://ffmpeg.mplayerhq.hu>). Повторно змінювали роздільну здатність кінцевих відеокліпів до  $384 \times 256$  пікселів і 25 fps. Відеореєстрацію аналізували з використанням власного програмного забезпечення для обробки зображень (StMap, див. приклад 1), розробленого у вигляді розширення, що підключається для NIH ImageJ (версія 1.43 з, програмне забезпечення з відкритим вихідним кодом, доступне на <http://rsbweb.nih.gov/ij/>). Програмне забезпечення конвертує зображення (IB) в кожному кадрі відео в чорно-білий силует (1C) і генерує просторово-часову карту з використанням підпрограми для виявлення країв. Підпрограма спочатку вимірює діаметр в кожному положенні вздовж кишки і потім представляє фізичний діаметр в кожному положенні у вигляді значення відтінку (діапазон 0-255, від чорного до білого). По мірі зменшення діаметра кишки під час скорочень, значення відтінку зменшується в напрямку 0 і повинне бути показане спрямованим до темніших значень. Коли програмне забезпечення читає кожний 10-хвилинний кліп, воно генерує просторово-часову карту - патерн смуг світлих і темних відтінків, що чергуються, який містить інформацію трьох типів: положення вздовж кишки (ордината), час (абсциса) і діаметр кишки (апліката або вісь z) (фіг. 1D). Використовуючи ці змінні, просторово-часова карта стає "відбитком" моторики, чутливість якого критично важлива при визначенні деталізованих і уточнених ефектів, які конкретні пробіотичні штами й інші засоби здійснюють на моторику і здатність провести відмінності між ними.

Оскільки StMap вимірює зміни діаметра в кожному положенні, StMap можна інтерпретувати як графіки зі стоп з множиною двовірних діаметрів залежно від часу. Насправді, для карти, якщо ідентифікували місцеположення перетворювача тиску (пунктирна лінія на фіг. 2A), і воно показане у вигляді графіка у відтинках сірого залежно від часу (фіг. 2B), цей графік буде співпадати з одночасно зареєстрованим записом тиску залежно від часу в цьому місці (фіг. 2C).

Параметри моторики вимірювали безпосередньо по просторово-часовій карті з використанням підключуваного розширення StMap. У цій системі автори винаходу могли тестувати (з використанням тетродотоксинового глушіння нейронів), чи залежать скорочення від нервової системи кишечника або вони є міогенними (що приводяться в рух ритмічними м'язовими скороченнями, але незалежно від нейронів). Генеровані нервовою системою поширювані до анусу мігруючі моторні комплекси MC генерували товсті темні смуги, які нахилені по діагоналі зліва направо; швидкість поширення ( $\text{мм} \times \text{с}^{-1}$ ) вимірюють за нахилом(ами) кожної смуги (фіг. 3). Для кожного лікування нахили від 3-5 послідовних MC усереднювали для того, щоб обчислювати швидкість поширення. Частоту MC (мГц) вимірювали за допомогою підрахунку кількості темних MC смуг під час 10-хвилинного сегмента. MC амплітуду вимірювали безпосередньо від базового діаметра (фіг. 2B) або тиску (фіг. 2C) до наступного піка, причому для кожного лікування усереднювали 3 значення. Швидкість зміни діаметра ( $\text{см/с}$ ) обчислювали за часом, який був потрібен для максимального стиснення діаметра від базового рівня (хід MC вниз на (фіг. 2B)).

Засоби, що підлягають тестуванню

*Lactobacillus rhamnosus* (JB-1), *Lactobacillus Reuteri* (DSM 17938), *Lactobacillus Reuteri* ATCC PTA 6475, *Lactobacillus gasseri* 345A (DSM 27123), *Lactobacillus gasseri* 621A (DSM 27126), *Lactobacillus gasseri* T1 і *Lactobacillus gasseri* T2 тестували на першій стадії способів за винаходом.

Оптично визначали кількість клітин, а життєздатність завжди перевіряли по здатності рости після висівання на агарові чашки з середовищем для вирощування. Клітини із заморожених вихідних зразків розморожували і центрифугували на 2000 об./хв протягом 15 хв, і осад суспендували в рівному об'ємі буфера Кребса. Потім суспензію знов центрифугували, і клітини видаляли і ресуспендували в Кребсі у вихідній концентрації. Прямо перед використанням бактерії розводили до робочих концентрацій свіжим буфером Кребса.

Кребс, що містить бактерії, подавали у внутрішньопросвітний компартмент, при цьому модулюючі іонні канали лікарські засоби додавали в буфер Кребса, яким перфугували серозний компартмент. Час, необхідний для протікання розчину лікарського засобу від крана до реєстраційної камери, становив 30 с. Блокатор іонних каналів  $\text{IK}_{\text{Ca}}$  1-[(2-хлорфеніл)дифенілметил]-1Н-піразол (TRAM-34) (Tocris Bioscience, Ellisville, MO, USA) розчиняли в чистому диметилсульфоксиді (DMSO) для одержання 10 мМ вихідних розчинів, а їх розводили в оксигенованому Кребсі для одержання робочих концентрацій за 30 хв до використання. Відкриваючий канал  $\text{IK}_{\text{Ca}}$  засіб 5,6-дихлор-1-етил-2-бензimidазоліон (DCEBIO) (Tocris) розчиняли в DMSO для одержання 10 мМ вихідного розчину; кінцева робоча концентрація в буфері Кребса становила 0,1 або 1 мкМ.

Засоби аналізують відповідно до представленої вище стадії 1, а результати представлені на фіг. 7

## Статистика

Статистичні обчислення виконували з використанням GGraphPad Prism 5.0 (GGraphPad Software, San Diego, CA, USA). Статистичний опис даних у вигляді середнього + стандартне відхилення, але на графіках залежності відповіді від концентрації, похибки вибірки відображають з використанням стандартної похибки середньої величини; розмір вибірки позначений як  $n$ . Статично помітну різницю для критеріїв значущості задавали такою, що дорівнює  $P=0,05$ ; всі критерії були двосторонніми.

Друга стадія, аналіз передачі сигналів по нервах

Для всіх процедур дотримувалися керівництва Canadian Council on Animal Care і одержано схвалення Animal Research Ethics Board of McMaster University (дозвіл № 08-08-35).

## Позаклітинна реєстрація

Дорослих самців мишей Swiss Webster (20-30 г) одержували з Charles River Laboratories (Wilmington, MA, USA). Мишей умертвляли за допомогою зміщення шийних хребців. Всі подальші процедури проводили *ex vivo*. В евтаназованих тварин видаляли сегменти вирізаної дистальної худі кишки (~2,5 см) з прикріпленою брижовою тканиною (фіг. 4), і негайно вміщували їх в покриту Sylgard реєстраційну чашку Петрі, заповнену буфером Кребса наступної композиції (мМ): 118 NaCl, 4,8 KCl, 25 NaHCO<sub>3</sub>, 1,0 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,2 MgSO<sub>4</sub>, 11,1 глюкоза і 2,5 CaCl<sub>2</sub>, який барботували карбогеном (95 % O<sub>2</sub>/5 % CO<sub>2</sub>). Ротовий і анальний кінці сегмента кишки канюлювали пластмасовою трубкою і обережно спорожняли з використанням прикріпленого шприца, заповненого оксигенованим буфером Кребса; потім сегмент і брижову тканину приколювали і брижовий нервовий пучок виділяли за допомогою акуратного розтину під стереомікроскопом (фіг. 5), як описано в BaRbaRa et al (Gastroenterology, том 132, випуск 1, сторінки 26-37, січень 2007). Препарат переносили в інвертаційний мікроскоп і просвіт перфугували під дією сили ваги 0,5-1 мл/хв оксигенованим Кребсом при кімнатній температурі (~22 °C) і/або добавками з використанням декількох посудин Маріотта. Серозний компартмент окремо перфугували попередньо нагрітим (34 °C) розчином Кребса по 3-5 мл/хв. Нервовий пучок обережно втягували всмоктуванням в скляну піпетку, прикріплену до тримача електрода для фіксації потенціалу (CV-7B; Molecular Devices, Sunnyvale, California, USA), і виконували позаклітинну реєстрацію нервів з використанням підсилювача Multi-Clamp 700B і перетворювача сигналу Digidata 1440A (Molecular Devices). Електричні сигнали пропускали через полосний фільтр від 0,1 до 2 кГц, дискретизували на 20 кГц і зберігали на персональному комп'ютері із запущеним програмним забезпеченням pClamp 10 (Molecular Devices) для апостеріорного аналізу.

## Ваготомія

Для деяких експериментів здійснювали подіафрагмальну ваготомію, як описано раніше (van der Kleij H., Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 295:1131-1137, 2008)). Тварин залишали відновлюватися протягом 10-14 днів перед взяттям худі кишки і брижової тканини для електрофізіологічних експериментів. У 3 тварин здійснювали помилкову ваготомію. Після операції масу тіла і загальний стан здоров'я мишей визначали щодня. Автори винаходу не виявили свідомої значущої різниці в збільшенні маси через 1 тиждень після хірургічного втручання у тварин з ваготомією або з помилковою ваготомією. Всіх мишей з ваготомією тестували на закінченість процедури за допомогою реєстрації після кожного експерименту відповідей на серозне нанесення холецистокініну (ССК).

Ваготомію вважали ефективною, коли автори винаходу виявили, що ССК не збільшує рівень проходження імпульсів по брижових нервах.

## Цілісність сегментів худі кишки

Для того, щоб тестувати цілісність сегментів худі кишки з урахуванням транслокації бактерій через епітелій під час експерименту, автори винаходу мітили JB-1 з використанням 5-(6)-карбоксифлуоресцеїнсукцинімідолового ефіру (CFSE), вміщували їх в концентрації 109/мл Кребса в просвіт і після інкубації протягом 75 хв фіксували тканину в параформальдегіді і досліджували зрізи на їх присутність під епітелієм в конфокальній мікроскопії (мікроскопія з двома лазерами, LSM 510, Carl Zeiss, Germany). JB-1 промивали два рази в PBS і суспендували в кінцевій концентрації CFSE 5 мкМ в PBS з доданням 5 % ембріональної телячої сироватки і інкубували протягом 25 хв при 37 °C. Тканини ( $n=3$ ) фіксували в 4 % параформальдегіді при 4 °C протягом ночі, потім промивали 3 рази в PBS по 10 хв кожний, робили зрізи 10 і 30 мкм і переносили поперечні зрізи на предметне скло і закріплювали. Потім їх переглядали на оптичних зрізах способом укладання в стопу по осі Z.

## Засоби, що підлягають тестуванню

Lactobacillus rhamnosus (JB-1), Lactobacillus Reuteri (DSM 17938), Lactobacillus Reuteri ATCC PTA 6475, Lactobacillus gasseri 345A (DSM 27123), Lactobacillus gasseri 621A (DSM 27126),



*Lactobacillus gasseri* T1 і *Lactobacillus gasseri* T2 тестували на другій стадії способів за даним винаходом.

Кількість клітин визначали оптично, а життєздатність перевіряли по здатності рости після висівання на агарові чашки з середовищем для вирощування. Живі *L. rhamnosus* вирощували із заморожених (- 80 °C) 1 мл аліквот, які складалися з  $5 \times 10^9$  клітин в бульйоні Мана-Рогоза-Шарпа (Difco Laboratories, Sparks, MD, USA). Клітини із заморожених вихідних зразків розморожували і центрифугували на 2000 об./хв протягом 15 хв і суспендували осад в однаковому об'ємі буфера Кребса. Суспензію знов центрифугували, і клітини видаляли і ресуспендували в Кребсі у вихідній концентрації. Прямо перед використанням клітини розводили до робочих концентрацій буфером Кребса. Для деяких експериментів бактерії розводили безпосередньо до робочих концентрацій після розмороження (в бульйоні); бактерії завжди вносили в просвіт сегмента худі кишки. Сульфатували холецистокінін (25-33) (ССК; АнаСпес, FRemont, CA) розчиняли в DMSO для одержання 1 мМ вихідного розчину. Аліквоти розводили в день експерименту до робочої концентрації в буфері Кребса з кінцевою концентрацією DMSO  $\leq 0,0001$  %.

#### Аналіз даних офлайн

Частоти проходження мимовільних множинних і одиничних імпульсів по брижових аферентних нервових пучках вимірювали з використанням Clampfit 10.2 (Molecular Devices). Обидва способи (множинний спайковий розряд і аналіз форми хвилі) вимірювання звичайно використовують для того, щоб визначати зміни в збудливості волокон брижових нервів, що викликаються різним лікуванням. Тимчасові моменти множинних спайків визначали з використанням модуля для виявлення піків з Clampfit, а середню частоту обчислювали по інтервалах між спайками. Одиничну активність відділяли від множинної активності з використанням інструмента автоматичного виявлення шаблонів форми спайків з Clampfit (комп'ютерний аналіз форми хвилі). Після виявлення шаблону, роздільну здатність завжди перевіряли за допомогою візуальної перевірки і відкидали випадки, візуально не схожі на форму спайка, ( $<0,2$  %). Результати представлені на фіг. 8.

#### Статистика

Дані виражали у вигляді середнього + стандартна похибка середньої величини, де n означає загальну кількість зареєстрованих сегментів худі кишки; максимальну кількість зареєстрованих сегментів від однієї і тієї ж тварини дорівнювало двом. Критерій Уїлкоксона використовували для парного порівняння даних, а критерій Фрідмана з апостеріорним критерієм Данна для дисперсійного аналізу повторних вимірювань здійснювали з використанням програмного забезпечення Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Оскільки значні варіації в мимовільній активності можуть виникати між одним й іншим препаратами при множинній нервовій активності, всі порівняння парували з реєстрацією до і після лікування, яку виконували, коли кожний нервовий пучок служив як свій власний контроль. Відмінності вважали значущими, якщо  $P \leq 0,05$ .

#### ПРИКЛАД 3

А. Відбір оптимальних пробіотичних бактеріальних засобів для того, щоб допомагати при лікуванні порушень моторики (наприклад, констипації у пристарілих), з використанням певних стадій за даним винаходом;

*L. rhamnosus* (JB-1), *Lactobacillus Reuteri* (DSM 17938), *Lactobacillus Reuteri* ATCC PTA 6475, *Lactobacillus gasseri* 345A (DSM 27123), *Lactobacillus gasseri* 621A (DSM 27126), *Lactobacillus gasseri* T1 і *Lactobacillus gasseri* T2 аналізували згідно з прикладом 2. Результати зведені в таблиці 1.

Таблица 1

Засіб	Моторика			Передача больових сигналів
		Худа кишка	Ободова кишка	
JB-1	Частота MMC	↓	↓	↑
	Швидкість MMC	↑	↓	
	PPr	↓	↓	
DSM 17938	Частота MMC	↓	↑	↓
	Швидкість MMC	↓	↑	
	PPr	○	○	

Таблиця 1

Засіб	Моторика			Передача больових сигналів
		Худа кишка	Ободова кишка	
ATCC PTA 6475	Частота MMC	-	○	○
	Швидкість MMC	-	○	
	PPr	-	○	
LG345A	Частота MMC	-	↑	↓
	Швидкість MMC	-	↑	
	PPr	-	↑	
LG621A	Частота MMC	-	○	↓
	Швидкість MMC	-	↓	
	PPr	-	○	
T1	Частота MMC	-	○	○
	Швидкість MMC	-	○	
	PPr	-	↓	
T2	Частота MMC	-	↓	○
	Швидкість MMC	-	○	
	PPr	-	○	

L. Reuteri DSM 17938 і L. gasseri 345A збільшують швидкість MMC в ободовій кишці і також збільшують щонайменше один з параметрів PPr або частота MMC в ободовій кишці (L. Reuteri DSM 17938 збільшує частоту MMC і L. gasseri 345A збільшує PPr). Обидва ці штами збільшують частоту проходження мимовільних імпульсів по брижових аферентних нервових пучках. Отже, ці штами відібрали для лікування колік, наприклад, дитячих колік, оскільки ці штами збільшують швидкість хвилі поширення MC і одночасно знижують частоту проходження імпульсів по брижових аферентних нервових пучках.

Збільшення швидкості MMC і зниження частоти проходження мимовільних імпульсів по брижових аферентних нервових пучках, зумовлені L. Reuteri DSM 17938 і L. gasseri 345A, роблять їх придатними для лікування констипації, зокрема, у вагітних жінок, де зниження бажане, або у пристарілих.

L. rhamnosus JB-1 і L. gasseri 621A знижують швидкість MMC. L. gasseri 621, також знижують частоту проходження імпульсів по брижових аферентних нервових пучках і, отже, можуть бути застосовані для лікування порушень з швидким кризним проходженням, наприклад, IBS. L. rhamnosus JB-1 не здійснює ефекту на частоту проходження імпульсів по брижових аферентних нервових пучках і, отже, не застосовна для лікування порушень моторики.

L. Reuteri ATCC PTA 6475, L. gasseri T1 і L. gasseri T2 не демонструють якого-небудь ефекту, який здійснюється на швидкість MMC або частоту проходження мимовільних імпульсів по брижових аферентних нервових пучках і, отже, не рекомендовані для використання при порушеннях моторики.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Бактеріальний штам для лікування порушення моторики кишечника, що являє собою *Lactobacillus gasseri* LG345A, депонований за номером DSM 27123.

2. Бактеріальний штам за п. 1, де вказаний бактеріальний штам здатний знижувати проходження імпульсів по брижових аферентних нервах.

3. Бактеріальний штам за п. 1, де вказаний бактеріальний штам здатний знижувати передачу больових сигналів.

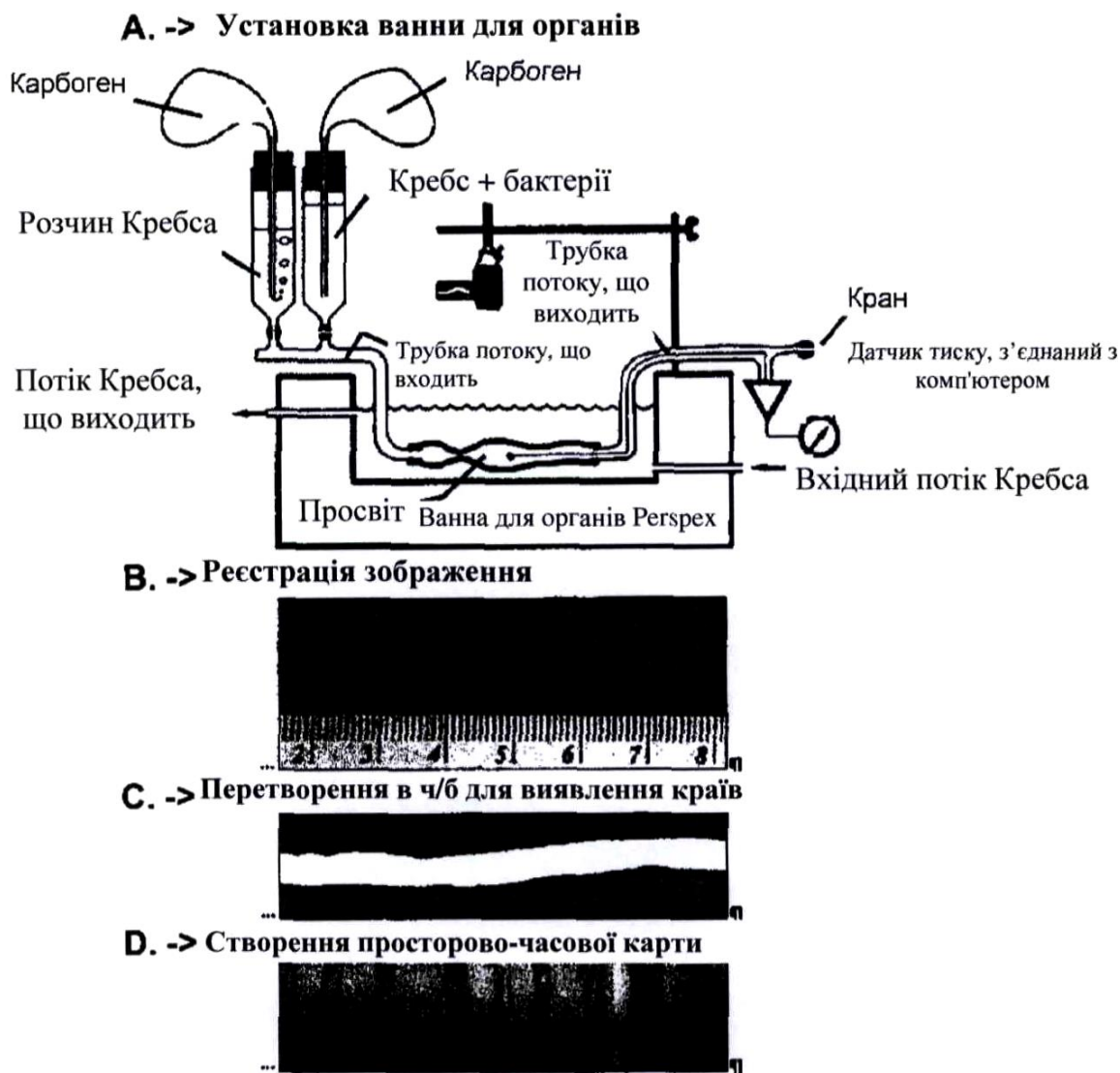
4. Бактеріальний штам для лікування порушення моторики кишечника, що являє собою *Lactobacillus gasseri* LG621A, депонований за номером DSM 27126.

5. Бактеріальний штам за п. 4, де вказаний бактеріальний штам здатний знижувати проходження імпульсів по брижових аферентних нервах.

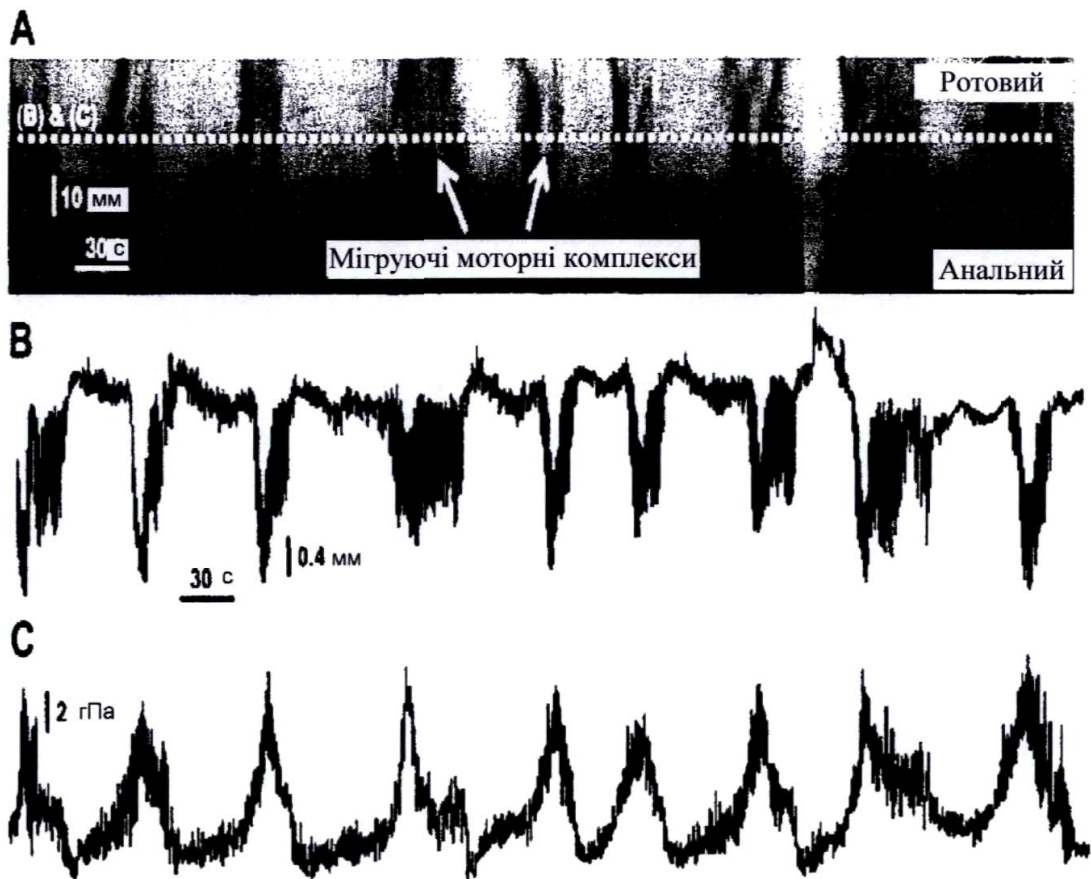
6. Бактеріальний штам за п. 4, де вказаний бактеріальний штам здатний знижувати передачу больових сигналів.

7. Застосування бактеріального штаму за будь-яким з пп. 1-6 для лікування порушення моторики кишечника.

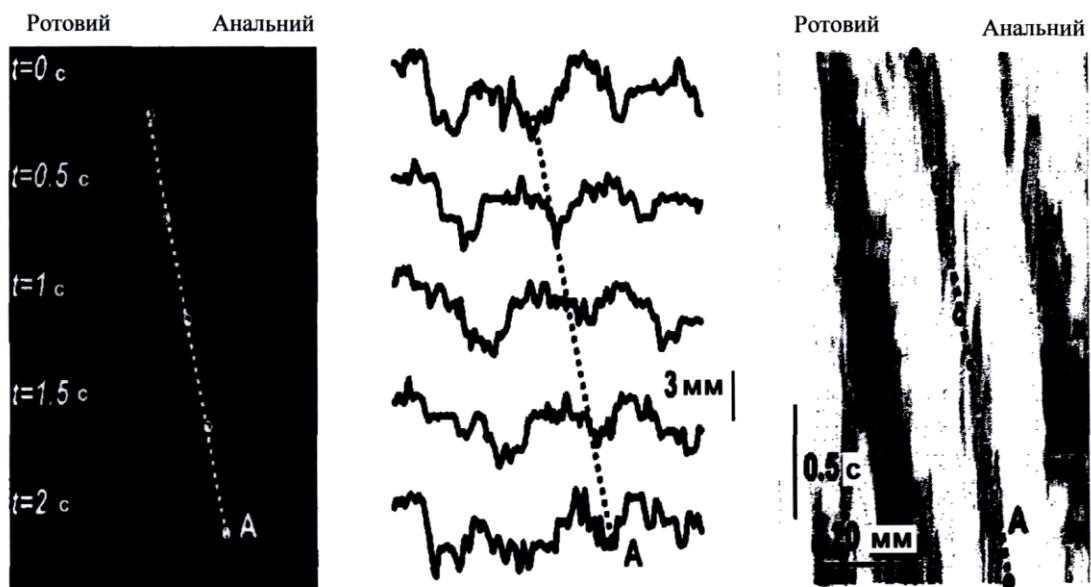
8. Застосування за п. 7, де порушення моторики кишечника являє собою констипацію або коліки.
9. Застосування за п. 8, де вказана констипація відбувається у престарілого пацієнта або вагітної жінки, або де вказані коліки являють собою дитячі коліки.
- 5 10. Застосування за п. 7, де порушення моторики кишечника являє собою синдром подразненої кишки.
11. Спосіб лікування суб'єкта з порушенням моторики кишечника, який включає введення бактеріального штаму за будь-яким з пп. 1-6 вказаному суб'єкту в кількості, ефективній для того, щоб лікувати вказане порушення моторики кишечника.



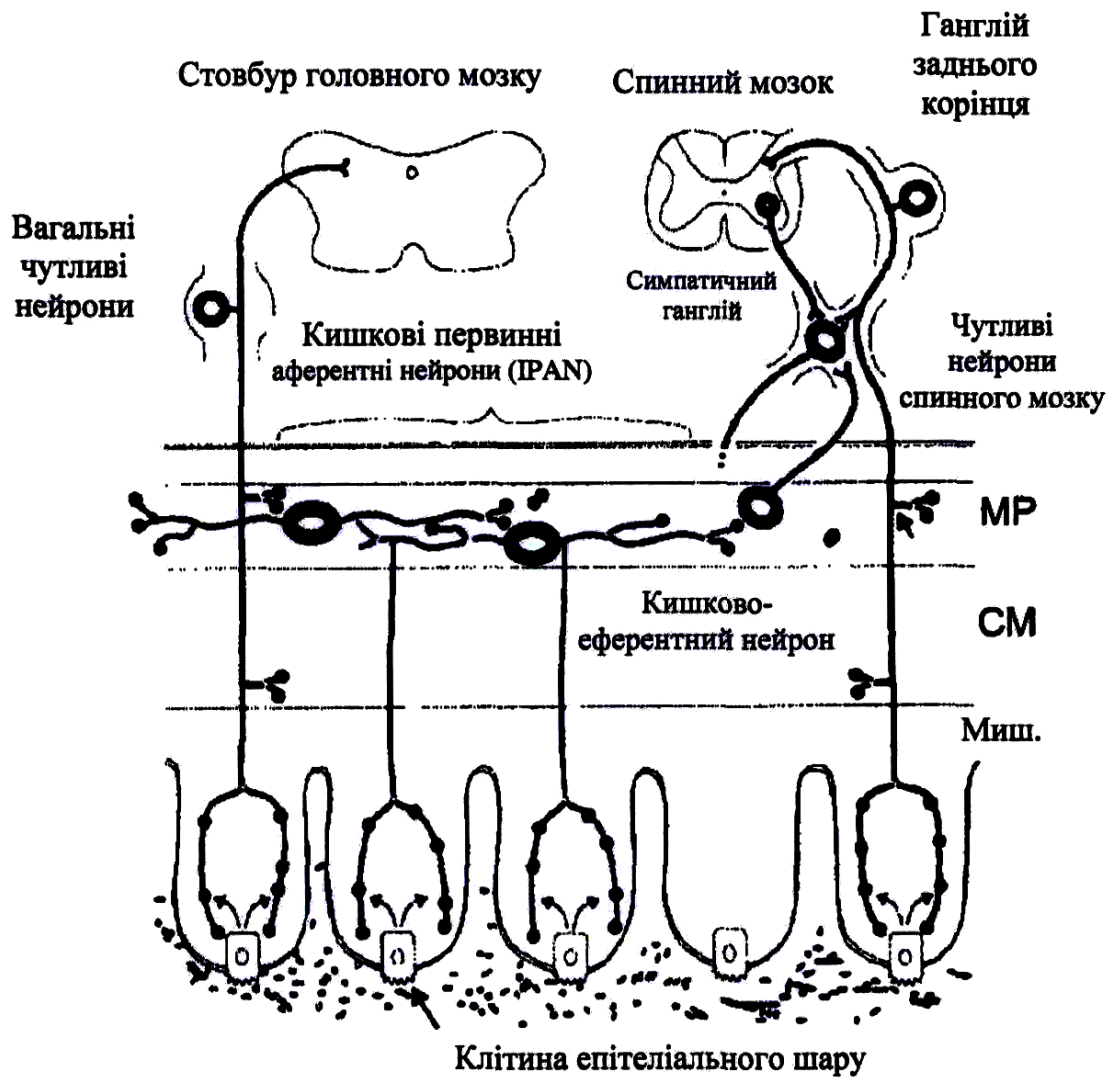
Фіг. 1



Фіг. 2



Фіг. 3



Фіг. 4

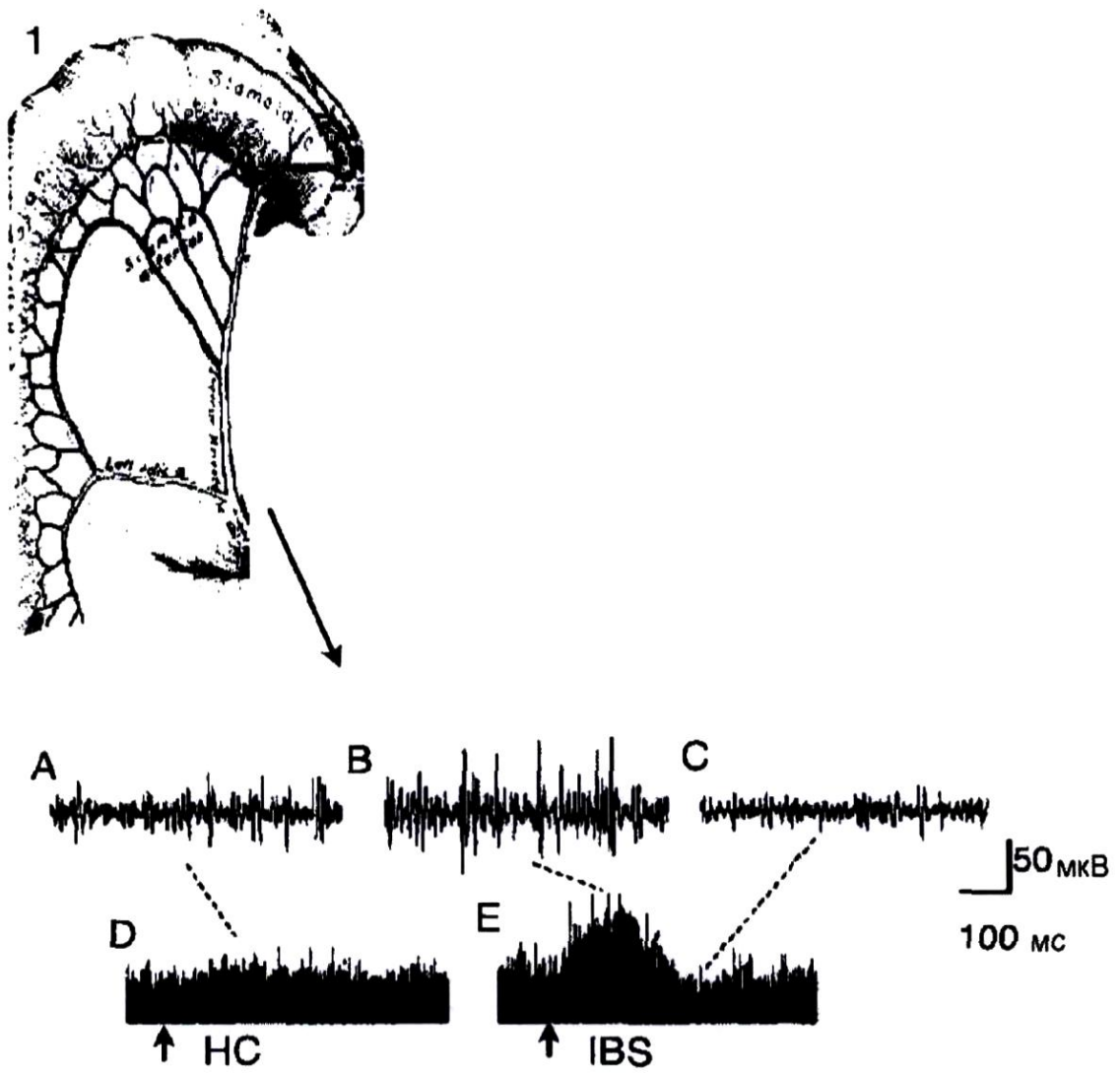
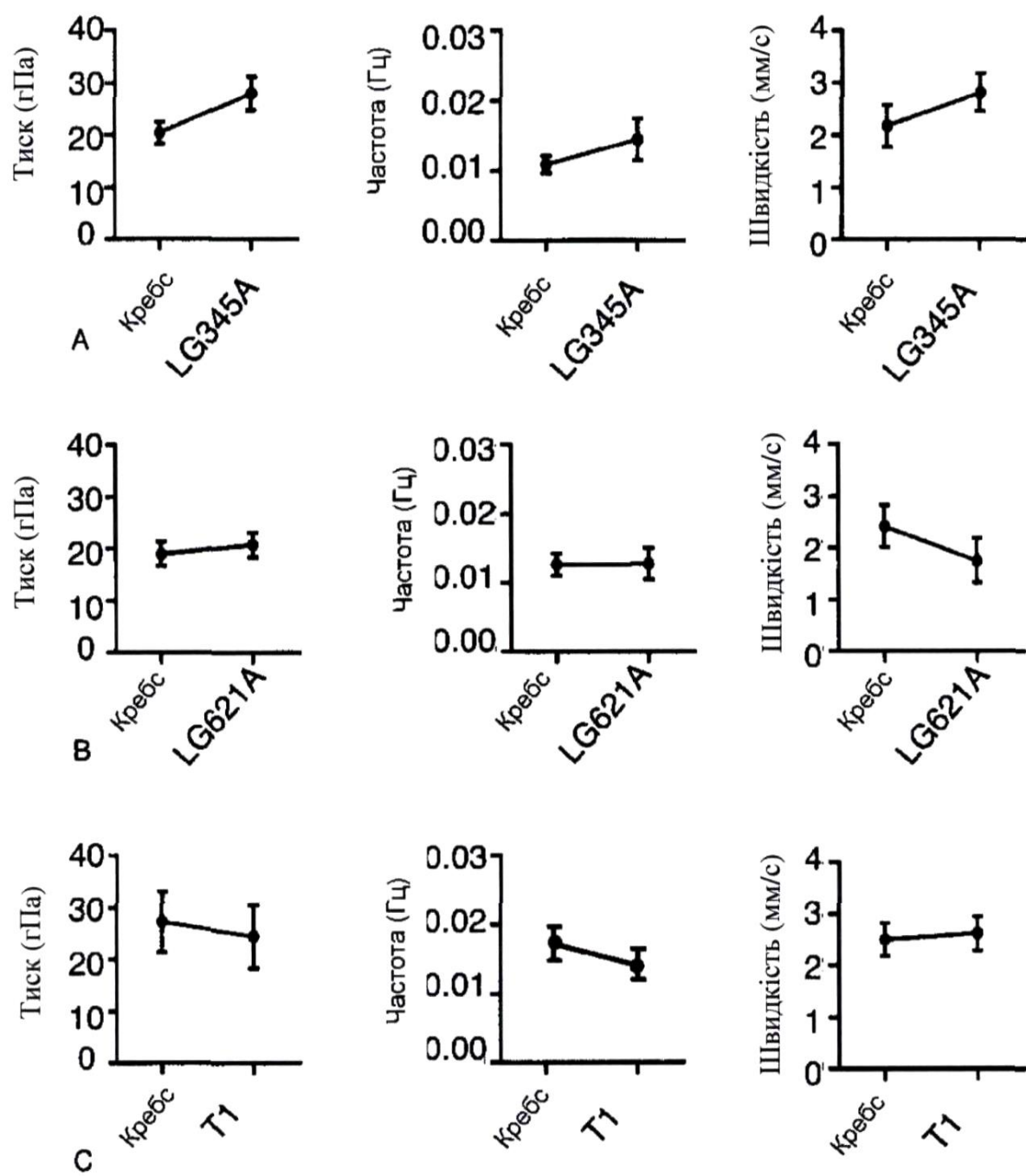


Fig. 5



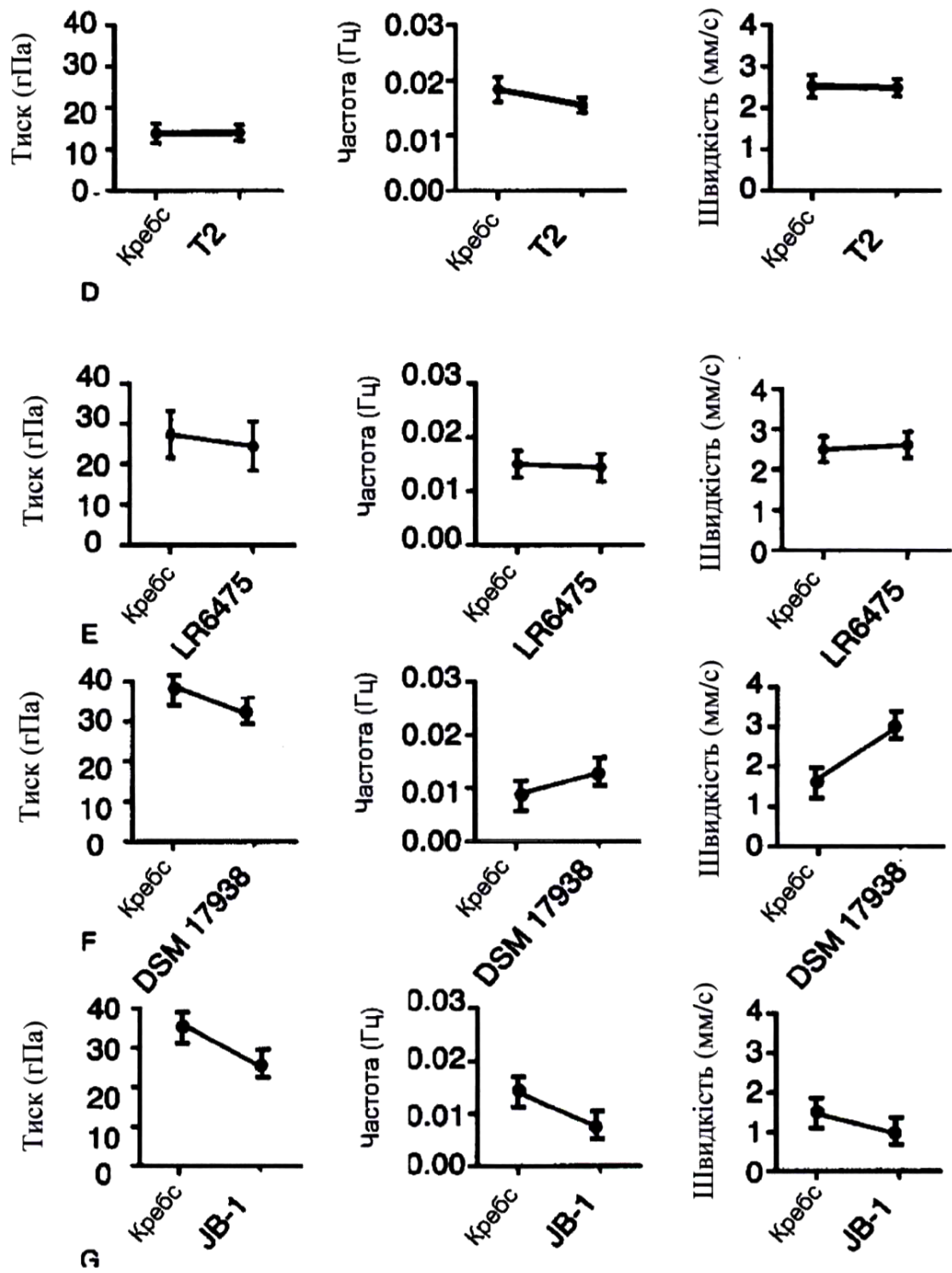
Фіг. 6



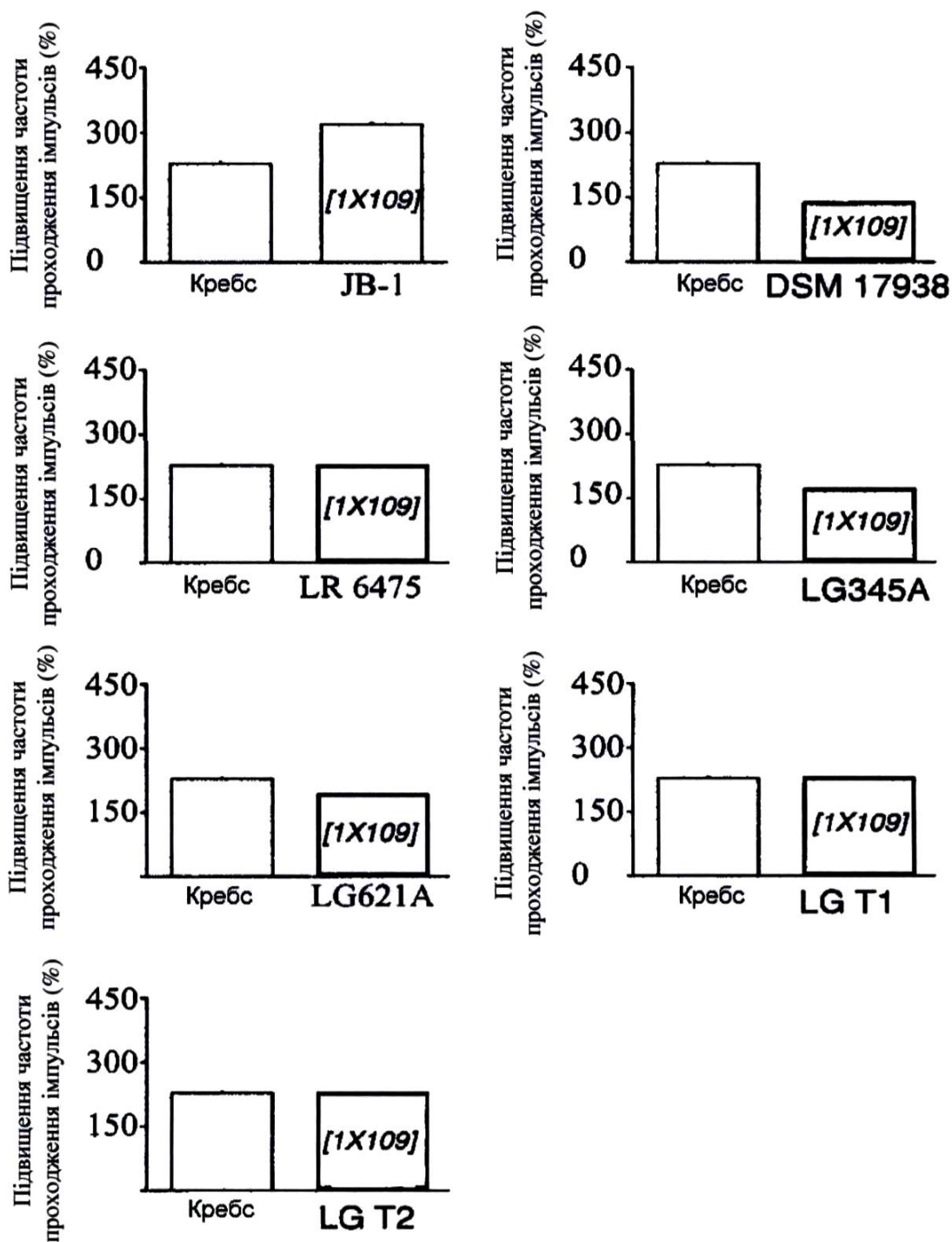


Фіг. 7





Фіг. 8



Фіг. 9

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601