

О.Б. Кучмак

ЗМІНИ МІКРОБІОЦЕНОЗУ ТОВСТОЇ КИШКИ У ХВОРИХ НА РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ НА ФОНІ ЗАСТОСУВАННЯ БІФІФОРМУ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

Досліджено мікробіоценоз товстої кишки у хворих на ревматоїдний артрит, які отримували різні схеми патогенетичного лікування – нестероїдні протизапальні препарати та нестероїдні протизапальні препарати в комбінації з глюкокортикоїдами. Здійснено спробу корекції мікробіоти товстої кишки хворих пробіотичним препаратом біфіформом. Показано його позитивний вплив на склад мікробіоценозу, елімінацію представників кишкової умовно-патогенної флори, збільшення колонізаційного рівня біфідобактерій, лактобацил, ентерококів.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, мікробіоценоз товстої кишки, бактерії, пробіотик біфіформ.

Ревматоїдний артрит є складною системною формою автоімунної патології з до кінця не з'ясованим патогенезом, у якому головну роль відводять поєднаним порушенням клітинної та гуморальної ланок імунітету [1, 2]. Численними дослідженнями показано, що стан мікрофлори кишечника може суттєво впливати на перебіг багатьох захворювань внутрішніх органів [1, 3-7]. Це зумовлюється великою кількістю мікроорганізмів, які колонізують слизову оболонку кишки, та їх важливими фізіологічними функціями, серед яких описані забезпечення колонізаційної резистентності, морфокінетична, участь у метаболізмі харчових субстратів, синтетична, імуногенна та здатність спричиняти різноманітні патологічні стани і захворювання – канцерогенез, ожиріння, гіперхолестеринемія, артеріальна гіпертензія, алергія, артрити, оксалатурія і сечокам'яна хвороба, тощо [8-11].

Доведено, що у хворих на ревматоїдний артрит часто (у 60 % випадків і вище) виявляються порушення еволюційно сформованих мікробіоценозів кишки, які корелюють з особливостями в функціонуванні імунної системи [11]. Одночасно розвитку автоімунних реакцій може сприяти підвищена кишкова проникність, транслокація мікроб-

ної флори, що поєднується з дисбіозом кишок, адже мікрофлора даного біотопу є високочутливим індикатором функціонального стану імунної системи. Було встановлено погіршення перебігу ревматоїдного артрити у хворих з супутнім дисбіозом товстої кишки, особливо при тяжких його ступенях [12-17]. Це вимагає зосередити певні зусилля на відновленні мікробіоценозу кишки за допомогою штамів-пробіотиків [17-20].

У літературі висвітлено коригуючий вплив щодо дисбіозу товстої кишки таких препаратів, як біфідумбактерин, біфілонг, біфікол, лактобактерин, ацилакт, колибактерин, лінекс, окарин [21-23]. Серед них можна зазначити також полікомпонентний капсульований пробіотик біфіформ, до складу якого входять життєвокорисні біфідобактерії та ентерококи [24, 25]. Але ці дослідження не можна вважати завершеними.

Усе вище зазначене обумовило доцільність вивчення стану мікробної екології товстої кишки у хворих на ревматоїдний артрит, яким застосовувалися різні схеми патогенетичного лікування, і встановлення ефективності використання пробіотиків. Тому метою дослідження було обґрунтування доцільності використання пробіотика біфіформу для корекції дисбіозу товстої кишки у хворих на ревматоїдний артрит на підставі вивчення її мікробіоценозу.

Пацієнти і методи

Обстежено 30 хворих на ревматоїдний артрит (РА) із різними ступенями прояву захворювання, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в ревматологічному відділенні Тернопільської університетської лікарні. Оцінку якісного і кількісного складу мікрофлори товстої кишки проводили бактеріологічним методом згідно відповідних методичних рекомендацій [26-28]. Кількість мікроорганізмів визначали за десятиковим логарифмом числа колонієутворюючих одиниць в 1 г матеріалу. Дослідження вмісту порожнини товстої кишки проведено

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

у пацієнтів до початку та через 2-3 дні після застосування пробіотика біфіформу на фоні різних схем лікування основного захворювання. Хворі вживали біфіформ перорально по 1 капсулі за 5-10 хв до прийому їжі двічі на добу впродовж 10-14 днів на базі стандартної терапії. Відповідно комплексну терапію, що включала пробіотик, отримало 11 хворих, які лікувалися нестероїдними протизапальними препаратами (I група) і 19 хворих, у курс лікування яких було включено глюкокортикостероїди та нестероїдні протизапальні засоби (II група).

Екологічний стан мікробіоценозу порожнини товстої кишки оцінювали за індексом постійності (С %): $C \% = p/P \times 100 \%$, де С % – індекс постійності, p – кількість зразків, які містять досліджуваний вид, P – кількість взятих зразків.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики з визначенням середньої геометричної вмісту бактерій у досліджуваному матеріалі. Ймовірність можливої помилки кожного показника визначали із застосуванням критерію достовірності відмінностей (p), ви-

значеного за непараметричними критеріями [29]. Відмінності між порівнюваними показниками вважались вірогідними при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Як показали результати досліджень, у хворих на ревматоїдний артрит було виявлено дисбіоз різного ступеня, переважно II і III.

При вивченні видового складу аеробних, факультативно-анаеробних та анаеробних автохтонних мікроорганізмів вмісту товстої кишки встановлено, що серед представників резидентної флори найчастіше зустрічались *Bacteroides spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* Як додаткову флору висівали *Escherichia spp.* (її гемолітичні та лактозонегативні варіанти), *Enterococcus spp.*, *Clostridium spp.* та ін.

Як показав подальший аналіз отриманих результатів, у хворих на РА I групи високим був коефіцієнт постійності у гемолізуючих *E. coli* та їх варіантів із зниженими ферментативними властивостями – по 63,6 % (табл. 1).

Таблиця 1

Мікробіоценоз вмісту товстої кишки у хворих на ревматоїдний артрит, яким біфіформ призначався на фоні НПЗП (С %)

Мікроорганізм	До застосування біфіформу (n ¹ = 11)		Після застосування біфіформу (n ¹ = 11)	
	n ²	С %	n ²	С %
<i>Bacteroides spp.</i>	11	100,0	11	100,0
<i>Bifidobacterium spp.</i>	11	100,0	11	100,0
<i>Lactobacillus spp.</i>	11	100,0	11	100,0
<i>E. coli</i> Lac (+)	5	45,5	11	100,0
<i>E. coli</i> Lac (-)	7	63,6	2	18,2
<i>E. coli</i> Hem (+)	7	63,6	1	9,1
<i>Citrobacter spp.</i>	4	36,4	2	18,2
<i>Enterobacter spp.</i>	6	54,5	2	18,2
<i>Hafnia spp.</i>	1	9,1	0	0,00
<i>Klebsiella spp.</i>	5	45,5	2	27,3
<i>Proteus spp.</i>	5	45,5	2	18,2
<i>Serratia spp.</i>	2	18,2	1	9,1
<i>Pseudomonas spp.</i>	3	27,3	2	18,2
<i>Enterococcus spp.</i>	10	90,9	11	100,0
<i>Enterococcus</i> Hem (+) <i>spp.</i>	5	45,5	1	9,1
<i>S. aureus</i>	6	54,5	2	18,2
<i>S. haemolyticus</i>	3	27,3	2	18,2
<i>S. epidermidis</i>	4	36,4	3	27,3
<i>S. saprophyticus</i>	4	36,4	1	9,1
<i>Bacillus spp.</i>	0	0	2	18,2
<i>Corynebacterium spp.</i>	0	0	3	27,3
<i>Clostridium spp.</i>	11	100,0	11	100,0
<i>Candida spp.</i>	4	36,4	1	9,1

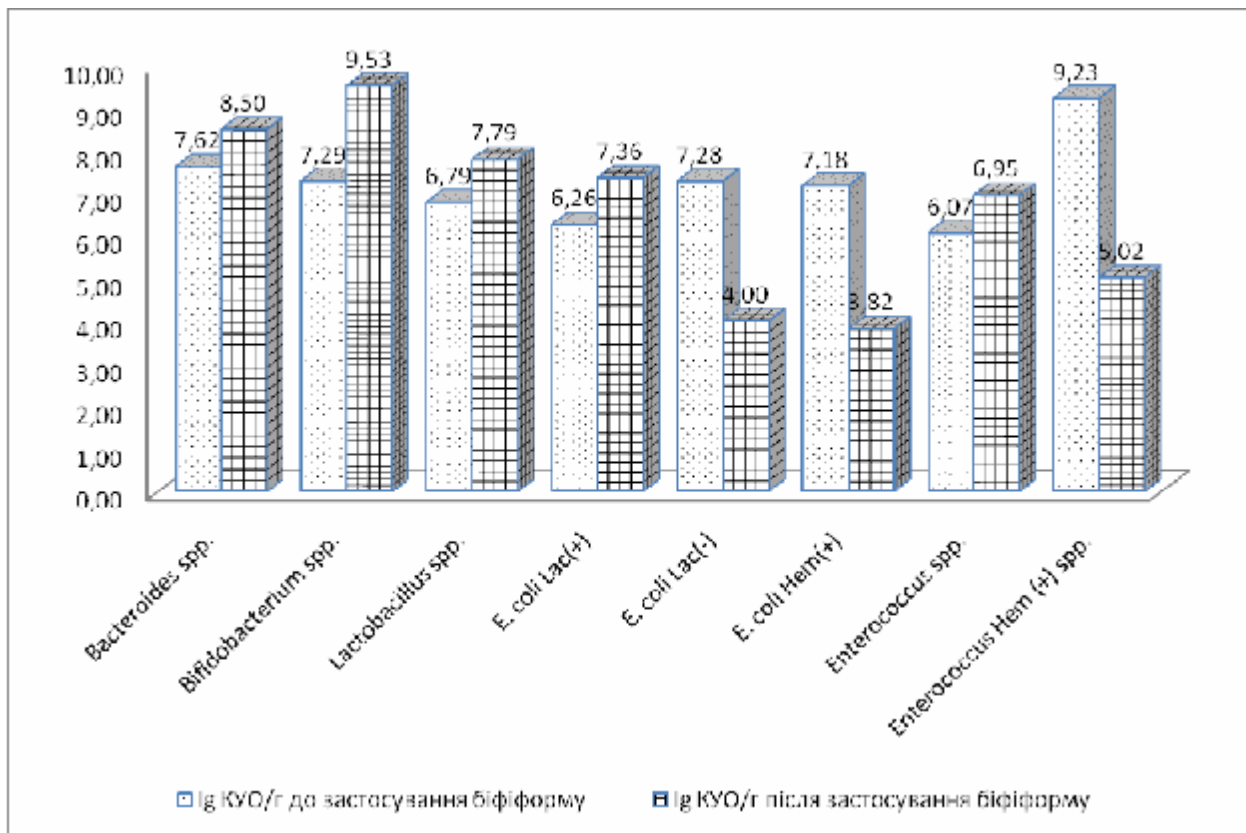
Примітки (тут і далі): n¹ – число хворих, n² – число штамів

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Було доведено присутність умовно-патогенних кишкових бактерій: *Enterobacter spp.* (54,5 %), *Klebsiella spp.* і *Proteus spp.* (45,5 %). Від 27,3 % хворих висівали *Pseudomonas spp.* Різні види стафілококів у вмісті товстої кишки зустрічалися практично у всіх хворих. Їх колонізаційний рівень сягав Ig 5,88 КУО/г – Ig 6,86 КУО/г. Після призначеного курсу біфіформу відмічено суттєві зрушення у складі мікробіоценозу, які засвідчують позитивний ефект цього пробіотика. Зокрема, в 6,8 разу зменшилося число гемолітичних та в 3,5 разу – лактозонегативних варіантів кишкової палички, в 4 рази зменшилось число хворих, у вмісті товстої кишки яких були дріжджоподібні гриби роду *Candida*, суттєво зменшився коефіцієнт

постійності для різних видів стафілококів, у матеріалі з'явилися бацили та коринебактерії. Слід зазначити, що частота висівання звичайних *Enterococcus spp.* практично не змінилася, однак знизився коефіцієнт постійності їх гемолітичних варіантів у 5 разів. Особливо звертає на себе увагу те, що суттєво збільшився рівень ($p < 0,05$) основних антагоністів мікробіоти товстої кишки – біфідобактерій, лактобактерій, повноцінних *E. coli*, але знизився він у ентерококів з гемолітичними властивостями, опортуністичних кишкових бактерій, різних видів стафілококів, кандид (мал. 1).

Подібні тенденції спостерігали в II групі пацієнтів, яких лікували комбінаціями НПЗП та глюкокортикостероїдами (табл. 2).



Мал. 1. Колонізаційний рівень окремих представників мікробіоценозу товстої кишки у хворих на ревматоїдний артрит I групи до і після застосування біфіформу.

У них резидентну флору також формували бактероїди, біфідобактерії, лактобактерії, коефіцієнт постійності яких становив 100,0 %. Частота висівання гемолітичних і лактозонегативних кишкових паличок коливалася у межах 42,1-57,9 %. Від хворих часто висівали *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, які мали достатньо високий рівень об-

сіменіння вмісту товстої кишки – Ig 8,23-8,90 КУО/г. Високою була також частота наявності в матеріалі *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis* – 36,8-52,6 % (вміст у матеріалі – Ig 6,50-6,65 КУО/г). У цієї категорії хворих значним був популяційний рівень дріжджоподібних грибів роду *Candida* (42,1 %), від п'ятої частини з них ізолювали *Pseudomonas spp.*

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 2

Мікробіоценоз вмісту товстої кишки у хворих на ревматоїдний артрит, яким біфіформ призначався на фоні лікування глюкокортикоїдами і НПЗП (С %)

Мікроорганізм	До застосування біфіформу (n ¹ = 19)		Після застосування біфіформу (n ¹ = 19)	
	n ²	С %	n ²	С %
<i>Bacteroides spp.</i>	19	100,0	19	100,0
<i>Bifidobacterium spp.</i>	19	100,0	19	100,0
<i>Lactobacillus spp.</i>	19	100,0	19	100,0
<i>E.coli Lac (+)</i>	11	57,9	19	100,0
<i>E.coli Lac (-)</i>	7	57,9	2	10,5
<i>E.coli Hem (+)</i>	8	42,1	2	10,5
<i>Citrobacter spp.</i>	9	47,4	4	21,1
<i>Enterobacter spp.</i>	5	26,3	8	42,1
<i>Hafnia spp.</i>	1	5,3	3	15,8
<i>Klebsiella spp.</i>	8	42,1	3	15,8
<i>Proteus spp.</i>	6	31,6	3	15,8
<i>Serratia spp.</i>	3	15,8	0	0,0
<i>Pseudomonas spp.</i>	5	26,3	4	21,1
<i>Enterococcus spp.</i>	19	100,0	19	100,0
<i>Enterococcus Hem (+) spp.</i>	8	42,1	5	26,3
<i>S. aureus</i>	7	36,8	7	36,8
<i>S. haemolyticus</i>	10	52,6	8	42,1
<i>S. epidermidis</i>	10	52,6	5	26,3
<i>S. saprophyticus</i>	1	5,3	4	21,1
<i>Bacillus spp.</i>	0	0	2	10,5
<i>Corynebacterium spp.</i>	0	0	3	15,8
<i>Clostridium spp.</i>	19	100,0	19	100,0
<i>Candida</i>	8	42,1	4	21,1

Після курсу біфіформу у 5,5 разу зменшилась кількість лактозонегативних і в 4 – кишкових паличок із гемолітичними властивостями, удвічі – грибів роду *Candida*. Суттєво збільшилась частота висівання *Enterococcus spp.* (94,7 % проти 63,2 %), зменшилась кількість цих мікроорганізмів із гемолітичними властивостями. Одночасно знизилася частота висівання *Citrobacter spp.*, але зросла вона у *Enterobacter spp.*, у матеріалі з'явилися *Bacillus spp.*

Як і в попередній групі обстежених, відмічена виражена тенденція до збільшення колонізаційного рівня біфідобактерій і лактобацил, звичайних *E. coli*, ентерококів (p<0,05) (мал. 2).

Таким чином, застосування біфіформу сприяє змінам мікробної екології вмісту товстої кишки у хворих на ревматоїдний артрит, які отримують різну патогенетичну терапію.

Висновки

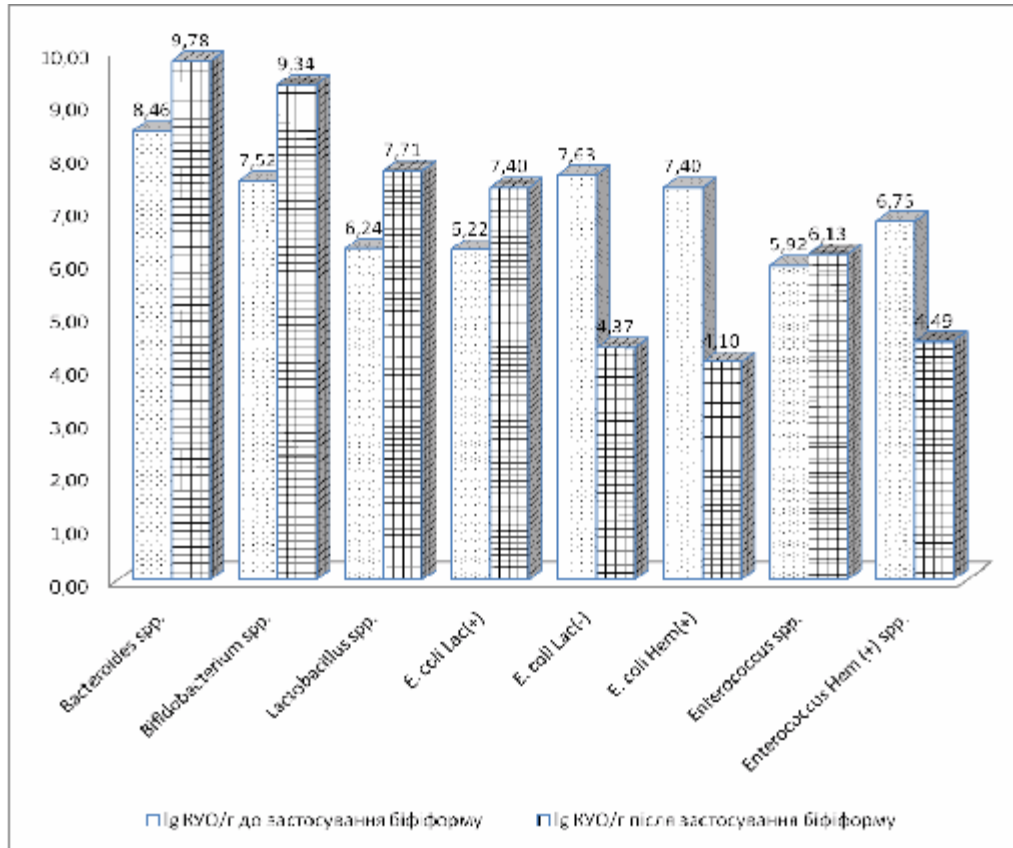
1. У хворих на ревматоїдний артрит суттєво зрушений популяційний склад мікробіоти вмісту порожнини товстої кишки, які можна розцінювати як дисбіоз різного ступеня тяжкості.

2. Введення біфіформу у комплекс лікування хворих на ревматоїдний артрит позитивно впливає на склад мікробіоценозу вмісту товстої кишки, що проявляється зменшенням частоти висівання *E. coli* із гемолітичними властивостями та їх лактозонегативних варіантів, псевдомонад, умовно патогенних мікроорганізмів кишкової групи, стафілококів, дріжджоподібних грибів роду *Candida*.

3. У хворих суттєво зростає колонізаційний рівень важливих *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, нормальних варіантів *E. coli*.

4. Все вищезазначене засвідчує доцільність включення пробіотика біфіформу у лікувальні схеми для хворих на ревматоїдний артрит, які мають дисбіоз товстої кишки.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні механізмів формування дисбіозу товстої кишки при застосуванні різних схем лікування хворих на ревматоїдний артрит, дослідженні можливого впливу застосованих медичних препаратів на біологічні властивості основних представників мікробіоценозу, ретельній розробці



Мал. 2. Колонізаційний рівень окремих представників мікробіоценозу товстої кишки у хворих на ревматоїдний артрит II групи до і після застосування біфіформу.

схем застосування пробіотиків при різних ступенях тяжкості основного процесу, дисбіозу при застосуванні різних схем патогенетичного лікування.

Література

- Блудова Н.Г. Особливості специфічного імунного захисту хворих на ревматоїдний артрит в поєднанні з дисбактеріозом товстої кишки / Н. Г. Блудова // Укр. журн. екстремальної медицини ім. Л. О. Можаєвої. – 2005. – Т. 6, № 2. – С. 66-69.
- Современная модель патогенеза ревматоидного артрита и ее место в клинической практике / [С.В. Сучков, А.Н. Хитров, Т.Е. Наумова и др.] // Терапевт. архив. – 2004. – № 12. – С. 83-87.
- Барановский А.Ю. Дисбиоз кишечника / А.Ю. Барановский, Э.А. Кондрашина. – СПб: Питер, 2008. – 240 с.
- Коваль Г.Д. Залежність імунологічної реактивності у хворих на хронічний обструктивний бронхіт від ступеня дисбактеріозу кишечника / Г.Д. Коваль // Буковинський мед. вісник. – 2003. – Т. 7, № 3. – С. 37-41.
- Лініченко О.Р. Особливості імунних і метаболічних порушень у хворих на хронічний обструктивний бронхіт, асоційований з дисбактеріозом товстого відділу кишечника / О.Р. Лініченко // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. праць. – Київ – Луганськ – Харків, 2002. – Вип. 4 (43). – С. 120-126.
- Бондаренко В.М. Дисбактериоз кишечника как клинко-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. Руководство для врачей / В.М. Бондаренко, Т.В. Мацулевич. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 304 с.
- Hawrelak J.A. The causes of intestinal dysbiosis: a review / J.A. Hawrelak, S.P. Myers // Altern. Med. Rev. – 2004. – Vol. 9, N 2. – P. 180-197.
- Кременчуцький Г.Н. Роль мікроекології організму людини і принципи її корекції / Г.Н. Кременчуцький, С.А. Рьженко, С.И. Вальчук. – Днепропетровск: Пороги, 2003. – 230 с.
- Янковский Д.С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления / Д.С. Янковский. – К.; Эксперт ЛТД, 2005. – 362 с.
- Широбоков В.П. Микробная экология человека с цветным атласом. Учебное пособие / В.П. Широбоков, Д.С. Янковский, Г.С. Дымент. – К: ООО «Червона Рута-Турс», 2010. – 340 с.
- Янковский Д.С. Интегральная роль симбиотической микрофлоры в физиологии человека / Д.С. Янковский, В.П. Широбоков, Г.С. Дымент. – К: ООО «Червона Рута-Турс», 2011. – 169 с.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

12. Фильчаков И.В. Персистенция бактерий: механизмы и иммунная реактивность организма / И.В. Фильчаков, А.М. Зарицкий // Сучасні інфекції. – 2003. – № 3. – С. 71-82.
13. Лобзин Ю.В. Дисбактериоз кишечника (клиника, диагностика, лечение): Руководство для врачей / Ю.В. Лобзин. – СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2003. – С. 165-205.
14. Блудова Н.Г. Вплив пробіотичних препаратів на мікрофлору порожнини товстої кишки у хворих на ревматоїдний артрит із супутнім дисбіозом кишечника / Н.Г. Блудова // Укр. мед. альманах. – 2005. – Т. 8, № 5. – С. 18-21.
15. Гульнева М.Ю. Мікробний біоценоз товстої кишки при ревматоїдному артриті / М.Ю. Гульнева, С.М. Шкарпеток // Клін. медицина. – 2011. – № 4. – С. 45-48.
16. Блудова Н.Г. Клінічна характеристика хворих на ревматоїдний артрит в сполученні з дисбіозом кишечника / Н.Г. Блудова // Зб. наук. праць І нац. конгресу лікарів внутрішньої медицини. – Київ, 2005. – С. 110-111.
17. Блудова Н.Г. К вопросу о патогенезе поражения толстого кишечника у больных ревматоидным артритом / Н.Г. Блудова // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 6(26). – С. 44-47.
18. Галисина Т.В. Клинические аспекты применения *Lactobacillus rhamnosus* GG / Т.В. Галисина, С.В. Бельмер // Вопросы детской диетологии. – 2009. – Т. 7, № 2. – С. 30-35.
19. Романов В.А. Адгезивні властивості мікроорганізмів, що колонізують організм хворих на ревматоїдний артрит і червоий вовчак / В.А. Романов, Л.Н. Шитов, М.Ю. Гульнева // Журн. мікробіол., епідеміол., імунобіол. – 2011. – № 2. – С. 57-61.
20. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens / [P. Hutt et al.] // J. Appl. Microbiol. – 2006. – Vol. 6, N 100. – P. 1324-1332.
21. Impact of Environmental and Genetic Factors on Biofilm Formation by the Probiotic Strain *Lactobacillus rhamnosus* GG / [Sarah Lebeer et al.] // Microbiology. – 2007. – Vol. 73, N. 21. – P. 6768-6775.
22. Пробиотичні властивості промислових штамів лактобацил і біфідобактерій / [Н.К. Коваленко та ін.] // Мікробіологічний журнал. – 2010. – Т. 72, № 1. – С. 5-17.
23. Are probiotics effective in the treatment of fungal colonization of the gastrointestinal tract? Experimental and clinical studies / [M. Zwolinska-Wcislo, T. Brzozowski, T. Mach et al.] // J. Physiol. Pharmacol. – 2006. – Vol. 57, Suppl. 9. – P. 35-49.
24. Грачева Н.М. Пробиотические препараты в терапии и профилактике дисбактериоза кишечника / Н.М. Грачева, В.М. Бондаренко // Инфекционные болезни. – 2004. – № 2. – С. 53-58.
25. Бондаренко В.М. Пробиотики, пребиотики и синбиотики в терапии и профилактике кишечных дисбактериозов / В.М. Бондаренко, Н.М. Грачева // Фарматека. – 2003. – № 7. – С. 56-63.
26. Методики клинических лабораторных исследований: Справочное пособие. Том 3. Клиническая микробиология. Бактериологические исследования. Микологические исследования. Паразитологические исследования. Инфекционная иммунодиагностика. Молекулярные исследования в диагностике инфекционных заболеваний / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Лабора, 2009. – С. 71-83.
27. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. [пер. с англ. под ред. Г.А. Заварзина]. – М.: Мир, 1997. – 800 с.
28. Бактеріологія і вірусологія: Нормативне виробничо-практичне видання. – К.: МНІАЦ медичної статистики; «Медінформ», 2004. – С. 94-109.
29. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа., 1990. – 352 с.

CHANGES OF COLON CONTENTS MICROBIOCENOSIS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AFTER BIFIFORM USE

O.B. Kuchmak

SUMMARY. The colon contents microbiocenosis in patients with rheumatoid arthritis was examined. These patients were treated with non-steroidal anti-inflammatory drugs and combinations of non-steroidal anti-inflammatory drugs with glucocorticosteroids. The attempt to correct colon microbiota of these patients with probiotic bifiform was made. The positive influence of bifiform concerning colon microbiocenosis, elimination of opportunistic enteric bacteria, increase of bifidumbacteria, lactobacilli, and enterococci colonization level were found.

Key words: *rheumatoid arthritis, colon contents microbiocenosis, bacteria, probiotic bifiform.*

Отримано 17.05.2012 р.