

УДК: 616.155.392:616.34+576.8.06

ДИСБІОТИЧНІ ЗМІНИ МІКРОБІОТИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ У ХВОРИХ НА ГОСТРУ ЛЕЙКЕМІЮ ТА ШЛЯХИ ЇЇ ВІДНОВЛЕННЯ

Л.М. Немировська, Ю.С. Пономаренко,
А.П. Рибальська, М.М. Мазур

ДУ «Інститут гематології та трансфузології НАМН України», Київ

Резюме. Вступ. Актуальність проблеми дисбактеріозу кишечника у хворих на гостру мієлоїдну лейкемію (ГМЛ) визначається необхідністю нормалізувати мікроекологію біотопу, мікробіота якого змінюється під впливом хіміотерапевтичних препаратів та на тлі імунodefіциту може провокувати інфекційно-запальні процеси. У практичному плані визначення стану нормальної мікрофлори кишечника хворих та корекція її за рахунок пробіотичних препаратів має важливе значення для покращення лікувального процесу.

Мета. Дослідити стан мікрофлори біотопу кишечника хворих на ГМЛ та визначити можливість її відновлення за допомогою пробіотичного препарату.

Матеріали та методи. Об'єкти дослідження – хворі на ГМЛ (7 осіб), пробіотик, що містить стартерні культур: не менше 1×10^8 колонієутворюючих одиниць в 1 г (KVO/г) *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*; не менше 3×10^7 KVO/г *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus acidophilus*; не менше 1×10^7 KVO/г *Propionibacterium freudenreichii*. Дослідження стану мікрофлори кишечника хворих у динаміці пробіотикотерапії проведено класичним методом.

Результати. На початку курсу пробіотикотерапії популяція кишечника хворих на гостру мієлоїдну лейкемію характеризувалася відсутністю кишкової палички *Escherichia coli* з нормальною фізіологічною активністю, факультативно-анаеробних бактерій роду *Lactobacillus* та анаеробів роду *Bifidobacterium*, наявністю в окремих осіб умовно патогенних бактерій *Proteus mirabilis* (2×10^6 KVO/г) і *Klebsiella pneumoniae* (3×10^6 KVO/г), кількість яких перевищувала фізіологічну норму. Після закінчення курсу пробіотикотерапії рівень відновлення мікроорганізмів окремих родів і видів мав індивідуальний характер. У цілому результати дослідження свідчать про позитивну динаміку відновлення мікроекології біотопу кишечника.

Висновки. Мікрофлора кишечника хворих на ГМЛ, які приймають курси протипухлинної терапії, зазнає дисбіотичних порушень. Вживання протягом двох тижнів пробіотичного препарату хворими на ГМЛ частково сприяє відновленню нормофлори біотопу. Термін застосування пробіотика, що становив два тижні, є недостатнім для повного відновлення мікробіоти біотопу.

Ключові слова: хворі на гостру мієлоїдну лейкемію, дисбактеріоз, кишечник, пробіотик, мікроорганізми.

**DYSBIOTIC CHANGES OF MICROBIOTA
OF THE GASTROINTESTINAL TRACT IN PATIENTS
WITH ACUTE LEUKEMIA AND WAYS OF ITS RECOVERY**

L.M. Nemyrovska, Y.S. Ponomarenko, A.P. Rybalska, M.M. Mazur

SI «Institute of Hematology and Transfusiology of NAMS of Ukraine», Kyiv

Resume. Introduction. *The urgency of the problem of intestinal dysbiosis in patients with acute myeloid leukemia (AML) is determined by the need to improve the microecology of the biotope, the microbiote of which suffers from the influence of chemotherapeutic drugs and against the background of the immune deficiency can provoke infectious and inflammatory processes. In practical terms, the determination of the state of normal intestinal microflora in patients and its correction due to probiotic drugs is essential for improving the therapeutic process.*

Aim. *To investigate the state of the microflora of the intestinal biotope in patients with AML and to determine the possibility of its recovery through a probiotic drug.*

Materials and methods. *Objects of study – patients with AML (7 persons), probiotic, containing starter cultures: at least 1×10^8 CFU/g Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium adolescentis; at least 3×10^7 CFU/g Streptococcus salivarius, Lactobacillus acidophilus; not less than 1×10^7 CFU/g Propionibacterium freudenreichii. The state of intestinal microflora of patients in the dynamics of probiotic therapy was investigated by the classical method.*

Results. *At the beginning of the course of probiotic therapy, the intestinal population of patients with AML was characterized by the absence of Escherichia coli with normal physiological activity, facultative anaerobic bacteria of the genus Lactobacillus and anaerobes of the genus Bifidobacterium, the presence of opportunistic bacteria Proteus mirabilis (2×10^6 CFU/g) and Klebsiella pneumoniae (3×10^6 CFU/g) that exceeded the physiological norm. At the end of the course of probiotic therapy, the level of recovery of microorganisms of individual genera and species was individual. In general, the results of the study indicate a positive dynamic of the restoration of microecology of the intestinal biotope.*

Conclusions. *Intestinal microflora of patients with AML, who take courses in anti-tumor therapy, undergoes dysbiotic disorders. Use within two weeks of a probiotic drug in patients with GML who take courses in antitumor therapy, helps to restore normal flora habitat. The use of probiotics, which is two weeks, is not sufficient for the complete restoration of the microecology of the biotope.*

Key words: *patients with acute myeloid leukemia, dysbiosis, intestines, probiotics, microorganisms.*

Вступ. Проблема дисбактеріозу кишечника до теперішнього часу є актуальною і потребує уваги дослідників. Зокрема, у хворих на гостру лейкемію внаслідок впливу хіміотерапевтичної терапії порушується мікроекологія біотопів і в першу чергу – кишечника, що призводить до

розвитку дисбіотичних змін та на тлі імунодефіциту провокує інфекційно-запальні процеси. У практичному плані визначення стану нормальної мікрофлори кишечника хворих та корекція її за рахунок пробіотичних препаратів має важливе значення для покращення лікувального процесу.

Термін «дисбактеріоз кишечника» означає якісну і кількісну зміну нормальної кишкової мікрофлори, зокрема, співвідношення її видів. Останнім часом широко використовується термін «дисбіоз кишечника» (лат. «дис» – порушення, розлад, «біос» – життя). Відомо, що кишкова мікрофлора бере участь у формуванні місцевого і системного імунітету за рахунок стимуляції продукції IgA, активації фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів, виробленні цитокінів мононуклеарами, біологічно активних речовин, що руйнують антигени. Саме наявність мікрофлори надає постійний антигенний захист. Участь мікрофлори кишечника в регуляції обміну холестерину, оксалатів та інших вторинних метаболітів визначає її важливу роль, що виходить за межі шлунково-кишкового тракту. Все це дозволяє виділити її як самостійний орган [3, 4, 5, 9]. Наукові дані свідчать про зв'язок кишкового мікробіоценозу зі захворюваннями травного тракту, серцево-судинної системи, ожирінням, цукровим діабетом, злоякісними новоутвореннями шлунка, товстої кишки та алергічними, аутоіммунними хворобами [6, 7, 8].

Дисбіоз кишечника різної локалізації може визначати розвиток або впливати на перебіг гіперхолестеринемії, коагулопатії, системного захворювання сполучних тканин, порушення водно-сольового, вуглеводного і пуринового обмінів, гострої мезентеріальної ішемії, спонтанного бактеріального перитоніту, печінкової енцефалопатії тощо. Тому дисбіоз кишечника представляє собою не тільки медичну, а й соціальну проблему [1, 2]. Дисбактеріоз не є самостійним захворюванням, а завжди вторинний, виникає в результаті дії певного шкідливого фактора або внаслідок захворювання та є складним клініко-мікробіологічним синдромом, виявлення якого не можливо без ретельно проведеного мікробіологічного дослідження.

Мета дослідження: у процесі протипухлинної терапії хворих на гостру мієлоїдну лейкемію визначити стан мікрофлори біотопу кишечника та можливість її відновлення за допомогою пробіотичного препарату.

Дослідження проведено у межах НДР на базі відділення захворювань системи крові ДУ «ІГТ НАМН».

Матеріали та методи. Об'єктом обстеження були 7 хворих на гостру мієлоїдну лейкемію (ГМЛ), в яких у динаміці пробіотикотерапії було досліджено мікрофлору кишечника та проведено корекцію кишкової мікробної популяції за допомогою вітчизняного пробіотичного препарату,

що містить стартерні мікробні культури: не менше 1×10^8 КУО/г *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*; не менше 3×10^7 КУО/г *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus acidophilus*; не менше 1×10^7 КУО/г *Propionibacterium freudenreichii*. Дози вживання пробіотика відповідали інструкції виробника. Пробіотик містить живі мікроорганізми, що позитивно впливають на здоров'я людини, нормалізують склад і функції мікрофлори шлунково-кишкового тракту, зокрема, перетворюють лактозу на молочну кислоту. Це служить консервантом завдяки зниженню рН і створенню несприятливих умов для росту інших мікроорганізмів.

Матеріал для дослідження (фекалії) доставляли до лабораторії без консерванту не пізніше 2 годин з моменту відбору зразка у стерильному скляному посуді (чашки Петрі) у кількості до 20 грамів. Дослідження здійснювали за класичним методом десятикратних розведень з висівом 1 г матеріалу на щільні та напіврідкі поживні середовища: Ендо, ЖСА, ЖЕСА, Сабуро, 5% кров'яний агар, вісмут-сульфідний агар, Блаурока. Фізіолого-біохімічні ознаки досліджували на середовищах Олькеницького, Симонса, Кларка, Гісса з лактозою і манітом. Морфологічні ознаки, кількісний та видовий склад ізольованих мікробних культур оцінювали за параметрами фізіологічної норми та за визначником бактерій Бергі [10, 11, 12].

Результати та їх обговорення. Результати свідчать, що на початку дослідження у кишечній популяції хворих на ГМЛ переважають *Escherichia coli* зі зниженою ферментативною активністю (ЗФА), у переважній кількості (5 осіб) – не було виявлено факультативно-анаеробних бактерій роду *Lactobacillus*, у трьох – анаеробів роду *Bifidobacterium*. Кокові культури *Staphylococcus epidermidis* ($1-4 \times 10^4$ КУО/г) ізолювали з біотопу двох пацієнтів. Умовно патогенні бактерії (УПБ) виявлено у двох пацієнтів: з біотопу однієї хворої ізолювали α -гемолітичний штам *Enterobacter cloacae* (6×10^8 КУО/г), іншої хворої – одночасно ізолювали два види: *Proteus mirabilis* і *Klebsiella pneumoniae* ($2-3 \times 10^6$ КУО/г), кількість яких перевищувала фізіологічну норму. У кишечнику чотирьох хворих було виявлено дріжджі роду *Candida*, проте у межах фізіологічної норми (1×10^4 КУО/г). Взагалі мікрофлора кишечника усіх хворих не відрізнялася різноманіттям, на відміну від мікробіоценозу практично здорових осіб (табл. 1, рис. 1, 2).

Таблиця 1 – Характеристика мікрофлори кишечника хворих на лейкемію на початку вживання пробіотичного препарату

Мікроорганізми, кількість, норма [11]	Хворі; титр мікроорганізмів, КУО/г						
	С.	П.	Л.	М.	К.	Ш.	ПП.
Escherichia coli, НФА, 10 ⁶ ×10 ⁸ КУО/г	Нв	1×10 ⁸	7×10 ⁸	2×10 ⁷	Нв	Нв	4×10 ⁷
Escherichia coli, ЗФА, 10 ⁶ КУО/г	Нв	Нв	Нв	Нв	2×10 ⁶ α-ге- моліз	Нв	5×10 ⁶
УПБ, до 10 ⁴ ×10 ⁵ КУО/г	Enterobacter cloacae α-гемоліз, 6×10 ⁸	Нв	Нв	Нв	Нв	Нв	P. mirabilis, 2×10 ⁶ K.pneumoniae 3×10 ⁶
Staphylococcus, до 10 ⁴ КУО/г	S. epidermidis 1×10 ⁴	S. epidermidis 4×10 ⁴	Нв	Нв	Нв	Нв	Нв
Bifidobacterium, ≥10 ⁸ КУО/г	Нв	2×10 ⁸	1×10 ⁷	3×10 ⁸	Нв	Нв	2×10 ⁸
Lactobacillus, ≥10 ⁸ КУО/г	Нв	Нв	Нв	Нв	5×10 ⁸	Нв	2×10 ⁷
Enterococcus, 10 ⁶ ×10 ⁸ КУО/г	1×10 ⁹	Нв	1×10 ⁷	Нв	5×10 ⁸	1×10 ⁷	1×10 ⁸
Candida, 10 ³ ×10 ⁴ КУО/г	Нв	Нв	2×10 ⁴	2×10 ⁴	Нв	1×10 ⁴	1×10 ⁴

Примітка: НФА – кишечна паличка з нормальною ферментативною активністю; ЗФА – кишечна паличка зі зниженою ферментативною активністю; Нв – не виявлено.

Таблиця 2 – Характеристика мікрофлори кишечника хворих на лейкомію після закінчення курсу вживання пробіотичного препарату

Мікроорганізми, кількість, норма [11]	Хворі; титр мікроорганізмів, КУО/г						
	С.	П.	Л.	М.	К.	Ш.	ПП.
Escherichia coli, НФА, $10^6 \times 10^8$ КУО/г	3×10^6	Нв	1×10^6	2×10^6	4×10^8	Нд	7×10^7
Escherichia coli, ЗФА, 10^6 КУО/г	Нв	1×10^6 β-гемоліз	Нв	Нв	Нв	←←	Нв
УПБ, до $10^4 \times 10^5$ КУО/г	Enterobacter cloacae, α-гемоліз, 1×10^6	Нв	Proteus mirabilis 1×10^6	Нв	Нв	←←	P. morgani, 7×10^6
Staphylococcus, до 10^4 КУО/г	S.epidermidis 6×10^5	Нв	Нв	Нв	Нв	←←	Нв
Bifidobacterium, $\geq 10^8$ КУО/г	Нв	Нв	1×10^7	Нв	Нв	←←	2×10^9
Lactobacillus, $\geq 10^8$ КУО/г	1×10^8	Нв	1×10^8	1×10^8	1×10^8	←←	1×10^9
Enterococcus, $10^6 \times 10^8$ КУО/г	2×10^8	Нв	2×10^8	1×10^8	2×10^8	←←	1×10^9
Candida, $10^3 \times 10^4$ КУО/г	6×10^5	4×10^4	Нв	1×10^4	Нв	←←	Нв

Примітка: НФА – кишечна паличка з нормальною ферментативною активністю; ЗФА – кишечка паличка зі зниженою ферментативною активністю; Нв – не виявлено; Нд – немає даних.

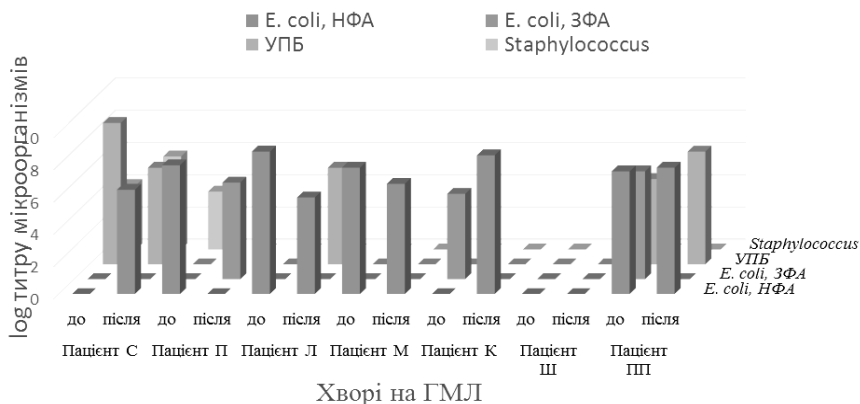


Рис. 1 Характеристика мікрофлори хворих на ГМЛ до та після вживання пробіотика.

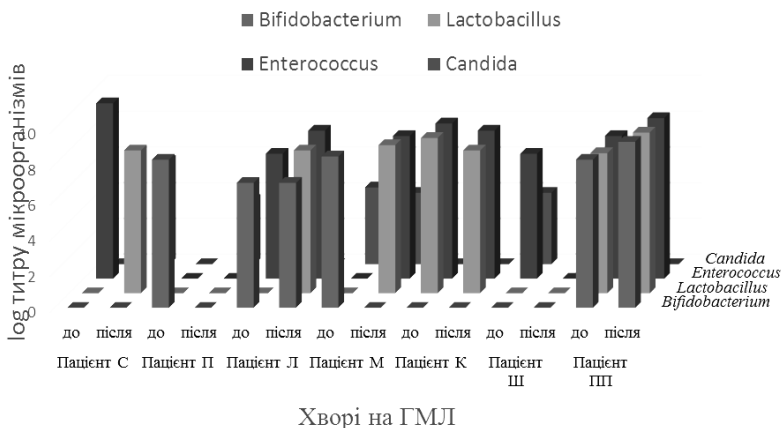


Рис. 2 Характеристика мікрофлори хворих на ГМЛ до та після вживання пробіотика.

Слід зазначити, що після включення хворим до курсу протипухлинної терапії пробіотичного препарату радикальних змін у мікроекології кишечника не відбулося, однак, враховуючи короткий термін вживання пробіотика (два тижні), динаміку змін можна вважати позитивною (табл. 2, рис.1, 2). Так, у хворій С. на початку дослідження не було виявлено аеробів кишкової групи, біфідобактерій, лактобактерій. Натомість,

переважали кокові культури і УПБ. Після закінчення курсу пробіотикотерапії у мікробіоценозі кишечника у межах фізіологічної норми виявили кишечну паличку *E.coli*, лактобактерії (відповідно, 3×10^6 КУО/г, 1×10^8 КУО/г) та дріжджі роду *Candida*, що також мають бути присутніми у нормоценозі. Якщо кількість *E. cloacae* на початку перевищувала фізіологічну норму та становила 1×10^8 КУО/г, то кінцевий титр цих ентеробактерій зменшився на два порядки порівняно з початковим (1×10^6 КУО/г) і це також можна вважати позитивною тенденцією. Можливо, подовження курсу пробіотикотерапії для хворої С. сприятиме отриманню більш позитивного результату.

З кишечника хворого Л. після вживання пробіотика на фоні відновлення числа лактобактерій (1×10^8 КУО/г) було ізольовано УПБ *P. mirabilis* у кількості, що на два порядки вище фізіологічної норми (1×10^6 КУО/г). Слід зазначити, що ці мікроорганізми засвоюють лактозу і цілком обґрунтовано можуть мешкати у кишечнику здорових людей у межах фізіологічної норми [13].

У хворого М. після курсу пробіотикотерапії виявили факультативні анаероби – лактобактерії і ентерококи (однаково по 1×10^8 КУО/г), які вважаються постійними мешканцями біотопу здорових людей, проте біфідобактерій, що висівалися на початку, виявлено не було. Вочевидь, термін вживання пробіотика був недостатнім.

На початку дослідження у хворої П. виявлено у межах фізіологічної норми кишечну паличку з нормальною ферментативною активністю (1×10^8 КУО/г), біфідобактерії (2×10^8 КУО/г) та *S. epidermidis* (1×10^4 КУО/г), але після курсу пробіотикотерапії не було висіяно навіть цих груп мікроорганізмів, ізолювали тільки β -гемолітичну кишечну паличку (1×10^6 КУО/г) зі зниженою ферментативною активністю і дріжджі роду *Candida* (4×10^4 КУО/г), що свідчить про негативний вплив хіміотерапевтичних препаратів на стан слизової оболонки кишечника пацієнтки та про недостатній рівень відновлення популяції.

Нема даних щодо кінцевих результатів дослідження мікроекології кишечника хворого Ш., оскільки пацієнт помер.

У хворої ПП. на початку дослідження рівень лактобактерій і біфідобактерій був достатньо високим, проте кількість УПБ *P. mirabilis* (2×10^6 КУО/г) і *K.pneumoniae* (3×10^6 КУО/г) перевищувала фізіологічну норму. Після закінчення курсу кишечної палички зі ЗФА не було виявлено, бактерії роду *Klebsiella* з кишечника не висівалися, однак культура протею залишилася. У той же час, кількість мікроорганізмів родів *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* і *Enterococcus* збільшилася до рівня 10^9 КУО/г, що свідчить про позитивну мікроекологію.

Зміни мікрофлори кишечника хворого К. після закінчення курсу також набули позитивної тенденції, оскільки замість *E. coli* зі зниженою ферментативною активністю (α -гемоліз) висівали фізіологічно активну кишечну паличку. Рівень біфідо- і лактобактерій після закінчення курсу залишився початковим і становив 10^8 КУО/г.

Впродовж прийому пробіотики не було відмічено появи побічних ефектів та скарг хворих.

Таким чином, можливо, нормалізація мікрофлори кишечника, що має сприяти відновленню усіх функціональних груп мікробіоценозу (анаероби, аероби, факультативні анаероби, дріжджі тощо) у фізіологічних межах, може статися за більш тривалий термін.

Висновки

1. Результати дослідження мікрофлори кишечника хворих на гостру мієлоїдну лейкемію свідчать про мікроекологічні порушення популяції біотопу на початку курсу пробіотикотерапії.

2. Застосування протягом двох тижнів пробіотичного препарату, що був включений до схеми протипухлинного лікування хворих на ГМЛ, має позитивну тенденцію щодо відновлення нормофлори біотопу.

3. Характер нормалізації мікрофлори кишечника хворих на ГМЛ є індивідуальним, термін вживання пробіотики, що складає два тижні, є недостатнім для повного відновлення мікроекології біотопу та потребує подовження терміну вживання.

Література

1. Бондаренко В.М. Дисбактеріоз шлунково-кишкового тракту / В.М. Бондаренко, І.А. Ликовенко // Український науково-практичний спеціалізований журнал: Сучасна гастроентерологія. – 2012. – № 4 (42). – С. 66–70.

2. Дядик А.І. Дисбіоз кишечника та принципи його корекції / А.І. Дядик, С.С. Чубенко, В.О. Гайдуков // Медичний журнал фармації. – 2012. – № 11. – С. 7–89.

3. Коршунов В.М. Проблема регуляції мікрофлори кишечника / В.М. Коршунов // Ж. Мікробіологія. – 2007. – № 3. – С. 45–48.

4. Костюкевич О.І. Сучасні уявлення про мікробіоценоз кишечника. Дисбактеріоз і методи його корекції / О.І. Костюкевич // РМЖ. – 2007. – № 28. – С. 2176–2182.

5. Передерий В.Г. Синдром раздраженной кишки как самостоятельный диагноз и одно из наиболее распространенных гастроэнтерологических заболеваний / В.Г. Передерий, С.М. Ткач, С.В. Скопиченко // 2007. – С. 114–132.

6. Римарчук Г.В. Нарушение микрофлоры кишечника / Г.В. Римарчук, Л.А. Щеплягина, И.В. Круглова, Т.К. Тюрина // Медицинский журнал. – 2009. – № 2. – С. 32.

7. Сидоренко С.В. Клиническое значение антибиотикорезистентности грамположительных микроорганизмов / С.В. Сидоренко // Инфекции и антимикробная терапия. – 2009. – № 5. – С. 3–15.

8. Скрипник І.Н. Функціональна роль мікробіоти кишечника і диференційні підходи по корекції порушень мікробіоценозу / І.Н. Скрипник // Здоров'я України. – 2009. – № 6/1. – С. 51–53.

9. Малов В.А. Микробиоценоз желудочно-кишечного тракта: современное состояние проблемы / В.А. Малов, Н.М. Гюлязян // Лечащий врач. – 2011. – № 6. – С. 10–13.

10. Метаболизм микроорганизмов. Практикум. / Под ред. проф. Н.С. Егорова. – М. : Московский университет, 1986. – 253 с.

11. Методические рекомендации по микробиологической диагностике дисбактериозов. – К. : МОЗ УРСР, 1986. – 17 с.

12. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита [и др.]; пер. с англ. Г.А. Заварзина. – М. : Мир, 1997. – 800 с.

13. Goodacre R. Metabolomics of a superorganism / R.J. Goodacre / Nutrilon. – 2007. – V. 5. – P. 259–266.

Надійшла 06.11.2017 року.

УДК 616-006.441-085

РЕЗУЛЬТАТИ ІМУНОТЕРАПІЇ ТА МІСЦЕВОГО АНТИСЕПТИЧНОГО ЛІКУВАННЯ УРАЖЕНЬ ШКІРИ ПРИ ГРИБОПОДІБНОМУ МІКОЗІ ТА СИНДРОМІ СЕЗАРІ

**В.Л. Новак, Д.М. Курган, М.В. Кокоруж, Ю.В. Деркач,
В.Є. Логінський, С.В. Примак, М.Г. Курган**

*ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України»,
Львів*

Резюме. В статті проаналізовано результати лікування 64 хворих, з них: 54 пацієнти на різних стадіях грибоподібного мікозу та 10 з синдром Сезарі. Як доповнення до загальнопоширеної терапії Т-клітинних лімфом шкіри (фотоферез) запропоновано оригінальний метод лікування, що включає детоксикацію і посилення захисних імунних реакцій шляхом застосування лікувального плазмаферезу, гепарину та вобензиму, а також місцеве лікування уражень шкіри за допомогою аплікацій поперемінно з розчинами гідрокарбонату натрію і оцтової кислоти. Ремісія наступила у 78% хворих.

Ключові слова: Т-клітинні лімфоми шкіри, субпопуляції лімфоцитів, плазмаферез, фотоферез.