

МІКРОБІОЦЕНОЗ КИШЕЧНИКА НА ТЛІ РЕВМАТОЇДНОГО АРТРИТУ З ОЗНАКАМИ ОСТЕОПОРОЗУ

Кучмак О.Б., Климяк С.І.

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського

Ревматоїдний артрит (РА) є органонеспецифічною формою аутоімунної патології, якою страждає 0,5-2,0% населення земної кулі. В Україні захворюваність на РА складає близько 325-340 чоловік на 100 тис. дорослого населення, що спричиняє не тільки страждання хворих, але й значні економічні втрати. За відсутності лікування РА, та й навіть на тлі стандартної терапії, через 20 років від початку хвороби 60-90% пацієнтів втрачають працездатність, а 1/3 стають повними інвалідами [6, 7]. Загрозливим є формування вторинного остеопорозу при цьому захворюванні [13]. Ознаки ураження системи травлення зустрічаються в 53-88% хворих на РА, проте ці ураження часто недооцінюються й залишаються не скорегованими. Зміни з боку ШКТ насамперед розглядаються лише як ускладнення проведеної патогенетичної терапії [2]. Враховуючи, що РА має імунокомпетентну природу, а ШКТ є своєрідним індикатором активності імунної системи кишечника, ступінь порушення мікробіоценозу кишечника корелює з наявною активністю функціонування імунної системи й впливає на перебіг патологічного процесу. Однак напрями змін кишкової мікрофлори на тлі перебігу РА залишаються до кінця не вивченими, адже дисбактеріоз може проявитися не тільки змінами видового спектру мікробних популяцій, але бути причиною порушення інших важливих функцій організму, в тому числі колонізаційної резистентності [1, 12]. Для відновлення нормобіоценозу кишечника пропонуються численні пробіотичні препарати, до складу яких входять лактобактерії, біфідобактерії, ентерококи, тощо, які мають виражені антагоністичні властивості [8, 9, 14, 15].

Метою роботи було визначення особливостей формування дисбактеріозів товсто-

го кишечника у хворих на РА з ознаками остеопорозу, які отримували різні види патогенетичного лікування, та обґрунтування використання препаратів на основі пробіотичного штаму *Lactobacillus rhamnosus* GG для корекції виявлених порушень.

Методи і матеріали досліджень. Під спостереженням знаходилися 72 хворих на ревматоїдний артрит, з яких було 54 жінки (75,0%) і 18 (25,0%) чоловіків. Вони були поділені на 2 групи відповідно до застосованої терапевтичної тактики. У I групу (50 осіб) входили ті пацієнти, які в патогенетичному лікуванні отримували гормонотерапію (дипроспан, дексаметазон) і цитостатик – метотрексат. Хворим II групи (22 пацієнти) призначали нестероїдні протизапальні засоби. Контрольну групу формували 50 осіб без ознак соматичної патології. Всім хворим було проведено денситометричне дослідження на наявність остеопорозу. Досліджувані групи були рівноцінні за віком (від 20 до 55 років).

Вивчення матеріалу хворих на наявність дисбактеріозу проводили класичним бактеріологічним методом шляхом кількісного посіву суспензії фекалій в ізотонічному розчині натрію хлориду в розведеннях від 10^{-2} до 10^{-9} на стандартні диференційно-діагностичні та селективні живильні середовища [10]. Мікроорганізми ідентифікували згідно “Определителя бактерий Берджи” (1997), використовуючи комерційні тест-системи виробництва “PLIVA-Lachema Diagnostica” (Чехія) [11].

Антагоністичну активність пробіотичного штаму *Lactobacillus rhamnosus* GG вивчали за методом відстроченого антагонізму, оцінюючи ступінь чутливості досліджуваних штамів до нього [4].

Статистичну обробку одержаних результатів виконували за методами варіаційної

статистики з використанням комп'ютерної програми "Excel".

Результати дослідження та їх обговорення. Проведені дослідження показали, що в 61 обстеженого пацієнта (84,7%) було денситометрично підтверджено остеопороз. Серед хворих I групи з ознаками остеодefіциту спостерігали 46 осіб (92,0%), у II – 15 (68,2%).

Результати мікробіологічного дослідження, проведеного в обстежених, наведено в табл. 1.

У хворих I групи домінував дисбактеріоз II ступеня (44,0% осіб), однак у 12 з них (24,0%) діагностовано дисбактеріоз III ст., а у третини пацієнтів – I ступеня. У 50,0% хворих II групи, для яких використовували в схемі лікування НПЗЗ, виявлено дисбактеріоз I ст. й тільки в 13,6% випадків діагностовано III ступінь дисбактеріозу.

У контрольній групі домінували особи з I ступенем дисбактеріозу (70,0%), а III ступеня його прояву виявлено не було. Таким чином, мікробіологічні дослідження засвідчують, що у хворих на РА спостерігаються виражені порушення взаємозв'язків у складній екологічній системі товстого кишечника. Вони, враховуючи вірогідні несприятливі наслідки, вимагають проведення комплексу заходів щодо відновлення нормобіоценозу або його суттєвого поліпшення. Це можна забезпечити введенням у схеми лікування пробіотичних препаратів [3, 5, 16].

Тому надалі в умовах дослідів *in vitro* була визначена антагоністична активність пробіотичного штаму *Lactobacillus rhamnosus* GG, який входить до складу препарату «Біфі-форм® дитячий», стосовно умовно-патогенних мікроорганізмів, які формують або можуть формувати мікробіоценоз товстого кишечника.

У дослідях використано 151 клінічний штам мікроорганізмів: *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*. Усі вони були досліджені на чутливість до пробіотичного штаму лактобацил (табл. 2).

Як показали проведені дослідження, чутливість представників мікрофлори товстого кишечника хворих на РА до лактобацил різнилась у різних видів та родів мікроорганізмів. Так, 94,5% штамів *E. coli* були помірно-чутливими, чутливими або високочутливими до антагоністичної дії пробіотика. Однак серед них було 5,6% нечутливих варіантів. Від 28,6% до 50,0% штамів *K. pneumoniae* та ентерококів були чутливими або помірно чутливими до лактобацил, і в той же час ріст від 1/5 до 1/3 з них не пригнічувався лактобацилами. Клінічні варіанти псевдомонад переважно не інгібувалися пробіотичним штамом (66,7%).

Достатньо високу чутливість до антагоністичної дії *Lactobacillus rhamnosus* мали грампозитивні коки. Експерименти довели достатньо високий протимікробний ефект

Таблиця 1. Прояви дисбактеріозу кишечника у хворих на ревматоїдний артрит

Ступінь дисбактеріозу	Група обстежуваних					
	I		II		здорові особи	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
I	16	32,0	11	50,0	35	70,0
II	22	44,0	8	36,4	15	30,0
III	12	24,0	3	13,6	0	0,0
Всього	50	100,0	22	100,0	50	100,0

Таблиця 2. Антагоністична активність *Lactobacillus rhamnosus* GG щодо окремих представників мікрофлори кишечника

Мікроорганізм	Ступінь чутливості							
	високочутливі (>15 мм)		чутливі (10-15 мм)		помірно чутливі (5-10 мм)		нечутливі (<5 мм)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>E. coli</i> (n=36)	15	41,7	10	27,8	9	25,0	2	5,5
<i>Enterobacter</i> spp. (n=30)	0	0,0	9	30,0	15	50,0	6	20,0
<i>K. pneumoniae</i> (n=14)	0	0,0	4	28,6	5	35,7	5	35,7
<i>P. aeruginosa</i> (n=12)	0	0,0	0	0,0	4	33,3	8	66,7
<i>S. aureus</i> (n=31)	4	12,9	18	58,1	7	22,6	2	6,4
<i>E. faecalis</i> (n=28)	5	17,9	13	46,4	7	25,0	3	10,7

щодо *S. aureus* та *E. faecalis* (89,3-93,6% штамів із різним видом чутливості).

Проведені дослідження підтвердили наявність вираженої антагоністичної дії штамів *Lactobacillus rhamnosus* щодо представників мікрофлори товстого кишечника у хворих на РА. Це створює перспективи вивчення доцільності застосування даного пробіотичного штаму з метою корекції змінених мікробіоценозів товстого кишечника у хворих на ревматоїдні захворювання. Доцільним вважаємо також вивчення участі нормальних представників мікрофлори людини в метаболізмі кальцію у організмі.

Висновки. Таким чином, у результаті проведеного дослідження виявлено, що 84,7% хворих на ревматоїдний артрит мають ознаки остеопорозу. Від 50,0% до 68,8% хворих мають дисбактеріоз II-III ступеня. Пробіотичний штам *Lactobacillus rhamnosus* GG має виражену антагоністичну активність щодо найзначущих представників мікробіоценозу товстої кишки: *E. coli*, *Enterococcus* spp., *K. pneumoniae*, *S. aureus* та *E. faecalis*, однак понад 60,0% клінічних штамів псевдомонад нечутливі до дії антагоніста.

Література

1. Блудова Н.Г. Вплив пробіотичних препаратів на мікрофлору порожнини товстої кишки у хворих на ревматоїдний артрит із супутнім дисбіозом кишечника // Укр. мед. альманах. – 2005. – Т.8, №5. – С. 18-21.
2. Блудова Н.Г. К вопросу о патогенезе поражения толстой кишки у больных ревматоидным артритом / Н.Г. Блудова // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – №6 (6). – С. 44-47.
3. Галицина Т.В., Бельмер С.В. Клинические аспекты применения *Lactobacillus rhamnosus* GG // Вопросы детской диетологии / – 2009. – Т.7, №2. – С.30-35.
4. Егоров Н.С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности / Егоров Н.С. – М.: Высшая школа. – 1965. – 211 с.
5. Калюжная О.С. Изучение антагонистической активности лактобактерий / О.С. Калюжная, Л.С. Стрельников, О.П. Стрилец // II Междунар. науч. конф. молодых ученых-медиков: сб. тр.– Курск, 2008. – С. 264–266.
6. Коваленко В.Н. Руководство по кардиологии // Электронный ресурс. – 2008. – <http://depositfiles.com/files/n7apwwzcl>.
7. Коваленко В.Н. Ревматоидный артрит: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение // Ліки України. – 2005. – №1. – С. 24-26.
8. Коваленко Н.К. Пробиотичні властивості промислових штамів лактобацил і біфідобактерій / Н.К. Коваленко, О.П. Лівінська, О.А. Полтавська та ін. // Мікробіологічний журнал. – 2010. – Т.72, №1.– С. 9-17.
9. Кременчуцкий Г.Н. Роль микроэкологии организма человека и принципы ее коррекции: Монография. / Кременчуцкий Г.Н., Рыженко С.А., Вальчук С.И. – Днепропетровск: Пороги, 2003. – 230 с.
10. 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.
11. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейнли, С. Уилльямса [пер. с англ. под ред. акад. РАН Г.А. Заварзина]. – М.: Мир, 1997. – 800 с.
12. Шендеров Б.А. Функциональное питание и его роль в профилактике метаболического синдрома – М.: ДеЛи принт, 2008. – 319 с.
13. Шостак Н.А., Мурадянц А.А. Ревматоидный артрит и остеопороз. // Электронный ресурс: <http://www.medlinks.ru/article.php?sid=22685>. – 2005.
14. Янковский Д.С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. – К.; Эксперт ЛТД, 2005. – 362 с.
15. Hütt P., Shchepetova J., Lxivukene K. et al. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens // J. Appl. Microbiol. – 2006. – Vol. 6, no 100. – P. 1324-1332.
16. Lebeer S., Verhoeven T.L.A., Véléz M.P. et al. Impact of environmental and genetic factors on biofilm formation by the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG // Applied and Environmental Microbiology. – 2007. – Vol. 73 (21). – P. 6768-6775.