

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОФЛОРИ ТОВСТО КИШКИ У ХВОРИХ НА РЕВМАТО ДНИЙ АРТРИТ

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОФЛОРИ ТОВСТО КИШКИ У ХВОРИХ НА РЕВМАТО ДНИЙ АРТРИТ – Досліджено мікробіоценоз товсто кишки у хворих на ревмато дний артрит порівняно із клінічно здоровими особами. На моделі еритроцитів людини вивчено адгезивні властивості основних представників мікробіоценозу. Показано існування відмінностей в адгезивній активності бактерій, які входять до складу мікробіоценозу товсто кишки у хворих порівняно із здоровими особами

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ – Изучено микробиоценоз толстой кишки у больных ревматоидным артритом по сравнению с клинически здоровыми лицами. На модели эритроцитов человека изучено адгезивные свойства основных представителей микробиоценоза. Показано существование отличий в адгезивной активности бактерий, формирующих микробиоценоз толстой кишки у больных по сравнению со здоровыми лицами.

ADHESIVE PROPERTIES OF LARGE INTESTINE MICROFLORA IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS – Large intestine microbiocenosis in patients with rheumatoid arthritis compared with healthy people was studied. Human erythrocytes were used as a model for examination of adhesive properties of main representatives of gut microflora. The differences in microbes adhesive properties in patients with rheumatoid arthritis compared with healthy people were revealed.

Ключові слова: ревмато дний артрит, мікрфлора товсто кишки, бактері, адгезія.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, микрофлора толстой кишки, бактерии, адгезия.

Key words: rheumatoid arthritis, large intestine microflora, bacteria, adhesion.

ВСТУП Ревмато дний артрит (РА) є серйозною органоспецифічною патологією, від яко страждає до 0,5–2,0 % населення земної кулі. Захворованість на РА в Укра ні становить близько 325–340 чоловік на 100 тис. дорослого населення, що спричиняє значні економічні втрати як для пацієнтів, так і для держави [5, 10]. Ознаки ураження системи травлення зустрічаються у 53–88 % хворих на РА. Зміни з боку шлунково-кишкового тракту насамперед розглядають лише як ускладнення проведено патогенетично терапі [2, 18].

Відомо, що мікрофлора кишечника є високочутливим індикатором, що відображає загальний стан організму [7, 16]. Припускають, що порушення мікробіоценозу при РА є наслідком довготривало медикаментозно терапі [14, 21]. Однак в останні роки деякі вчені дотримуються концепції, що РА розвивається за умови антигенного впливу мікрофлори кишечника на лімфо-дну тканину в генетично схильних до цього процесу осіб. У таких випадках спостерігаються порушення в імункомпетентних клітинах кишечника, утворення та міграція лімфоцитів, тропних до синовіально оболонки суглобів, які викликають запалення [4, 20].

Однак напрями змін кишково мікрофлори на ті перебігу РА залишаються до кінця не вивченими і як наслідок – дисбактеріоз може проявитися не тільки змінами видового спектра мікробних популяцій, х біологічних властивостей, а також бути причиною порушення важливих функцій організму [1, 2, 18].

Порушення колонізаційно резистентності кишок, пов'язане зі зміною складу нормально мікрофлори, сприяє адгезі і колонізації слизово оболонки різними умовно-патогенними бактеріями, поступленню токсинів у кровообіг, пролонгуючи цим клінічні прояви основного захворювання. Початковий етап заселення біотопу мікроорганізмами забезпечує х адгезія до клітин макроорганізму. Порушення внаслідок ді несприятливих факторів, лікарських засобів функціонування біоплівки, що утворює в нормі мікробіота, полегшує адгезію чужорідних мікроорганізмів. Ступінь адгезивності може вказувати на епідемічну значущість штамів [3, 6, 7, 13, 15, 17, 19, 22].

Метою роботи стало дослідження мікробіоценозу товсто кишки у хворих на РА порівняно із здоровими особами та прояв адгезивних властивостей основних його представників для запобігання формування дисбактеріозу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Мікробіоценоз товсто кишки оцінено у 72 хворих на ревмато дний артрит. З них 54 (75,0 %) – жінки і 18 (25,0 %) – чоловіки. Контрольну групу склали 50 осіб, без ознак соматично патологі. Досліджувані групи були рівноцінні за віком (від 20 до 55 років). Мікробний пейзаж товсто кишки організму людини досліджували класичним методом [10]. Кількісно засівали суспензію фекалій в ізотонічному розчині натрію хлориду в розведеннях від 10^2 до 10^9 на стандартні диференційно-діагностичні та селективні поживні середовища (кров'яний МПА, Ендо, вісмут-сульфіт-агар, жовтково-сольовий агар, ентерокок-агар, середовище Сабуро, лактоагар, біфідоагар). Процес ідентифікації ентеробактерій проводили на основі х біохімічно активності із допомогою ідентифікаційних наборів "Микро-ЛА-Тест"; стафілококів – комерційно тест-системи СТАФІ-тест-16, виробництва фірми "PLIVA-Lachema" (Чехія). Мікроорганізми ідентифікували згідно з класифікацією Берджі [12].

Адгезивні властивості бактерій вивчено на моделі формалінізованих еритроцитів людини 0(I) групи Rh(+) [9]. х оцінювали за середнім показником адгезі (СПА), коефіцієнтом адгезі (КА) та індексом адгезивності мікроорганізмів (ІАМ). Мікроби вважали неадгезивними при $ІАМ \leq 1,75$; низькоадгезивними – від 1,76 до 2,5; середньоадгезивними – від 2,51 до 4,0, та високоадгезивними при ІАМ більш ніж 4,0.

Статистичну обробку одержаних результатів виконували з використанням комп'ютерно програми "Excel" із врахування середньо арифметично, помилки середньо арифметично та критерію достовірності Стьюдента [8].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ У 72 хворих на ревмато дний артрит у період загострення основно патологі проводили дослідження мікробіоценозу товсто кишки. Результати обстеження доводять, що у всіх хворих з цієї патологією є в наявності дисбактеріоз різного ступеня вираження (рис. 1).

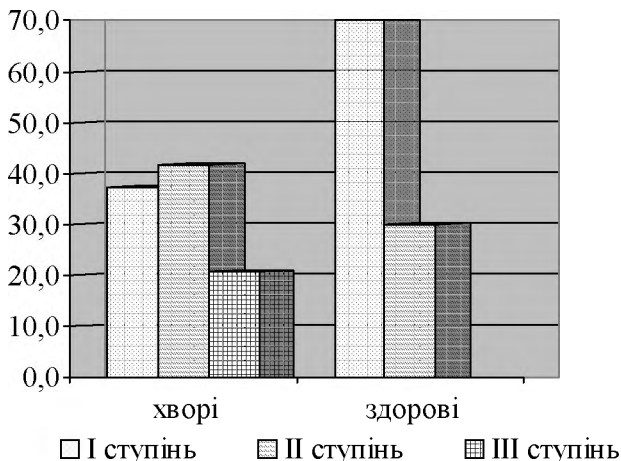


Рис. 1. Частота дисбактеріозу товстої кишки у хворих на ревматоїдний артрит і здорових осіб (%).

У них домінував дисбактеріоз II ступеня (41,7 %). Дещо меншою була частота виявлення дисбактеріозу I (37,5 %) і III ступенів (20,8 %). У клінічно здорових

осіб суттєво частіше зустрічався дисбактеріоз I ступеня (70,0 %) і не було дисбактеріозу III ступеня.

Діагноз дисбактеріозу товстої кишки підтверджувався високими титрами *Candida spp.*, *S. aureus*, коагулазонегативних стафілококів, умовно-патогенних кишкових бактерій, зокрема *Proteus spp.*, лактозонегативних *E. coli* та їх варіантів з гемолітичними властивостями тощо, зменшенням титрів лактобактерій та біфідобактерій. Не було виявлено достовірно залежності ступеня дисбактеріозу від віку і статі хворих.

Як відомо, адгезивна здатність бактерій є одним з факторів, який забезпечує початковий етап інфекційного процесу, а крім того підтримує колонізаційну резистентність практично будь-якого біотопу людини. Тому в подальшому було досліджено цю активність у 531 штаму мікроорганізмів, виділених від хворих на ревматоїдний артрит із дисбактеріозом товстої кишки, а також мікробів, які знаходилися в цьому ж біотопі, але ізольованих від клінічно здорових осіб, на моделі еритроцитів людини 0 (I) групи.

Проведені експерименти *in vitro* довели, що більшість бактерій мають різного ступеня вираження адгезивні властивості (табл. 1).

Таблиця 1. Середній показник адгезії (СПА) окремих представників мікробіоценозу товстої кишки

Мікроорганізм	Обстежувана група			
	хворі		здорові	
	абс.	СПА	абс.	СПА
<i>E. coli</i> Lac(-)	66	8,19±0,25*	18	2,68±0,17
<i>E. coli</i> Hem(+)	45	5,52±0,19*	11	2,01±0,25
<i>Enterobacter spp.</i>	50	7,79±0,30*	13	2,4±0,16
<i>Klebsiella spp.</i>	25	5,57±0,26*	8	3,15±0,35
<i>Pseudomonas spp.</i>	30	7,39±0,41*	7	3,77±0,07
<i>S. aureus</i>	24	5,45±0,36*	10	3,92±0,47
Коагулазонегативні стафілококи	55	2,54±0,14*	14	1,68±0,07
<i>Streptococcus spp.</i>	39	3,13±0,19*	19	2,06±0,23
<i>Enterococcus spp.</i>	43	2,55±0,16	16	2,50±0,25
<i>Candida spp.</i>	31	2,46±0,18*	7	1,83±0,10

Примітка. * – $p < 0,05$.

Практично всі досліджувані штами бактерій були адгезивно активними. Це стосувалося як ізолятів від хворих, так і здорових осіб. Достатньо високі СПА мали грамнегативні мікроорганізми, зокрема штами лактозонегативних *E. coli*, *Enterobacter spp.* (відповідно 8,19±0,25 та 7,79±0,30). У грамположитивних бактерій СПА адгезії були нижчими, ніж в попередній групі мікробів. Так, СПА грамположитивних стафілококів (*S. aureus*) становив 5,45±0,36. У дріжджо-подібних грибів СПА коливався в межах 1,83±0,10 (здорові) – 2,46±0,18 (хворі особи). Слід зазначити, що адгезивні властивості мікробів, які формують мікробіоценоз товстої кишки хворих на ревматоїдний артрит, у більшості випадків були суттєво вищими, ніж у тих, які виділялися від клінічно здорових осіб.

У подальшому було проаналізовано ступінь прилипання бактерій до еритроцитів за індексом адгезивності мікроорганізмів (табл. 2).

У пацієнтів із ревматоїдним артритом у мікробіоценозі товстої кишки домінували високоадгезивні та середньоадгезивні мікроорганізми. Ступінь адгезив-

ності бактерій був більш виражений у грамнегативних порівняно із грамположитивними мікроорганізмами. Так, від 80,0 % до 93,9 % кишкових паличок із гемолітичними властивостями та їх лактозонегативні варіанти були високоадгезивними. ІАМ у них коливався від 7,25±0,25 до 9,99±0,37. Серед *Klebsiella spp.* і *Enterobacter spp.* також переважали штами із високоадгезивними властивостями – 76,0 – 88,0 %. Індекси адгезивності цих представників родини *Enterobacteriaceae* були відповідно 7,14±0,36 і 9,28±0,25 (рис. 2).

Серед грамположитивних представників мікробіоценозу товстої кишки хворих не було виявлено бактерій з високою адгезивною активністю, за винятком *S. aureus*. Останні були як високо-, так і середньоадгезивними (по 50,0 %). У той же час понад 2/3 коагулазонегативних стафілококів, *Enterococcus spp.* та дріжджоподібні гриби роду *Candida spp.* мали низьку адгезивну здатність (табл. 2, рис. 2).

Серед мікроорганізмів, які входили до складу мікробіоценозу товстої кишки клінічно здорових осіб, домінували бактерії із середнім та низьким ступенем

Таблиця 2. Адгезивність окремих представників мікробіоценозу товсто кишки за ІАМ

Мікроорганізм	Ступінь адгезивності (%)					
	високоадгезивні		середньоадгезивні		низькоадгезивні	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
хворі						
<i>E. coli</i> Lac(-), n=66	62	93,9	4	6,1	0	0
<i>E. coli</i> Hem(+), n=45	36	80,0	9	20,0	0	0
<i>Enterobacter</i> spp., n=50	44	88,0	6	12,0	0	0
<i>Klebsiella</i> spp., n=25	19	76,0	6	24,0	0	0
<i>P. aeruginosa</i> , n=30	23	76,7	7	23,3	0	0
<i>S. aureus</i> , n=24	12	50,0	12	50,0	0	0
Коагулазонегативні стафілококи, n=55	0	0	20	36,4	35	63,6
<i>Streptococcus</i> spp., n=39	0	0	23	59,0	16	41,0
<i>Enterococcus</i> spp., n=43	0	0	15	34,9	28	65,1
<i>Candida</i> spp., n=31	0	0	10	32,3	21	67,7
здорові						
<i>E. coli</i> Lac(-), n=18	0	0	10	55,6	8	44,4
<i>E. coli</i> Hem(+), n=11	0	0	3	27,3	8	72,7
<i>Enterobacter</i> spp., n=13	0	0	4	30,8	9	69,2
<i>Klebsiella</i> spp., n=8	0	0	5	62,5	3	37,5
<i>P. aeruginosa</i> , n=7	0	0	7	100,0	0	0
<i>S. aureus</i> , n=10	3	30,0	7	70,0	0	0
Коагулазонегативні стафілококи, n=14	0	0	0	0	14	100,0
<i>Streptococcus</i> spp., n=19	0	0	4	21,1	15	78,9
<i>Enterococcus</i> spp., n=16	0	0	5	31,2	11	68,8
<i>Candida</i> spp., n=7	0	0	0	0	7	100,0

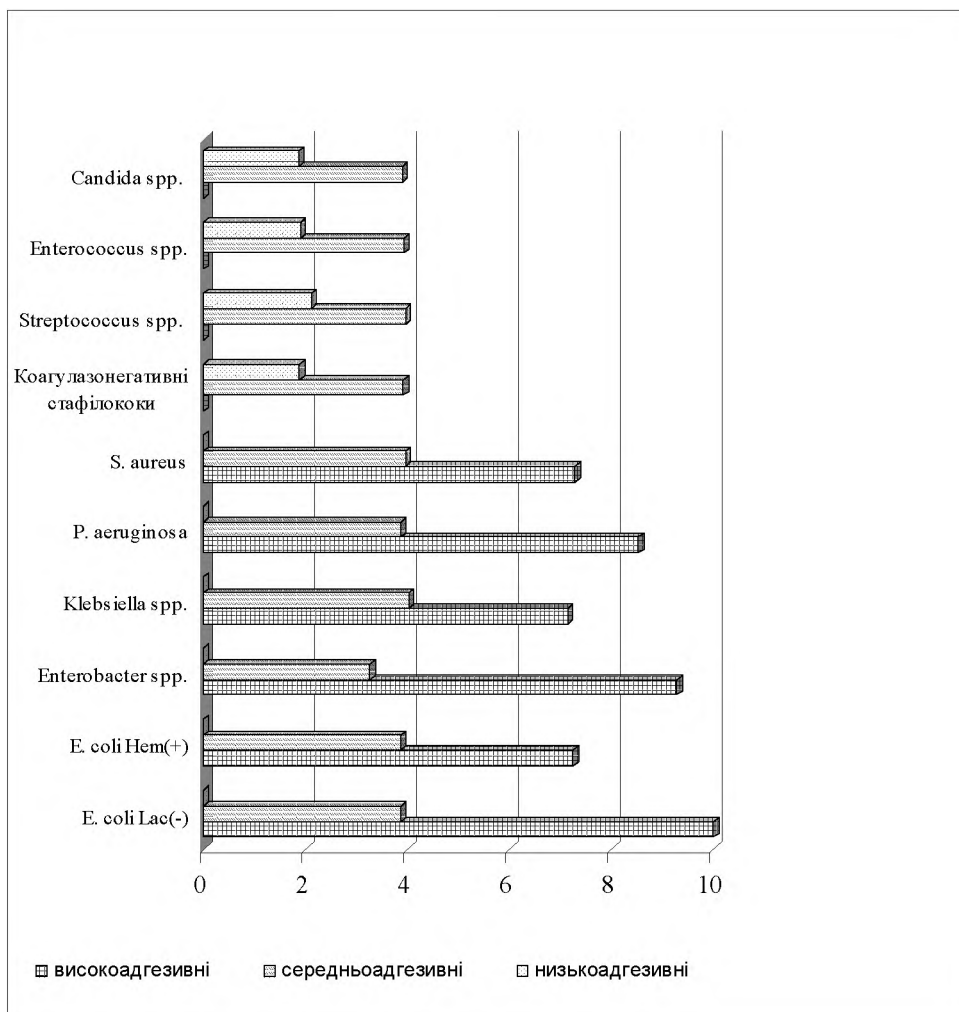


Рис. 2. Індекси адгезивності мікроорганізмів, виділених із товсто кишки хворих на ревматоїдний артрит.

адгезивно здатності. Тільки 30,0 % *S. aureus* мали вищі показники адгезивності (табл. 2).

Понад половини (55,6 %) штамів лактозонегативних *E. coli* мали середню адгезивну здатність, у той час як серед *E. coli* із гемолітичними властивостями перева-

жали низькоадгезивні ізоляти (72,7 %). *Enterobacter spp.* були переважно низькоадгезивними (69,2 %), а 62,5 % штамів *Klebsiella spp.* – середньоадгезивними. Гриби роду *Candida* мали низьку адгезивну здатність. Цифрові значення IAM цієї групи представлено на рисунку 3.

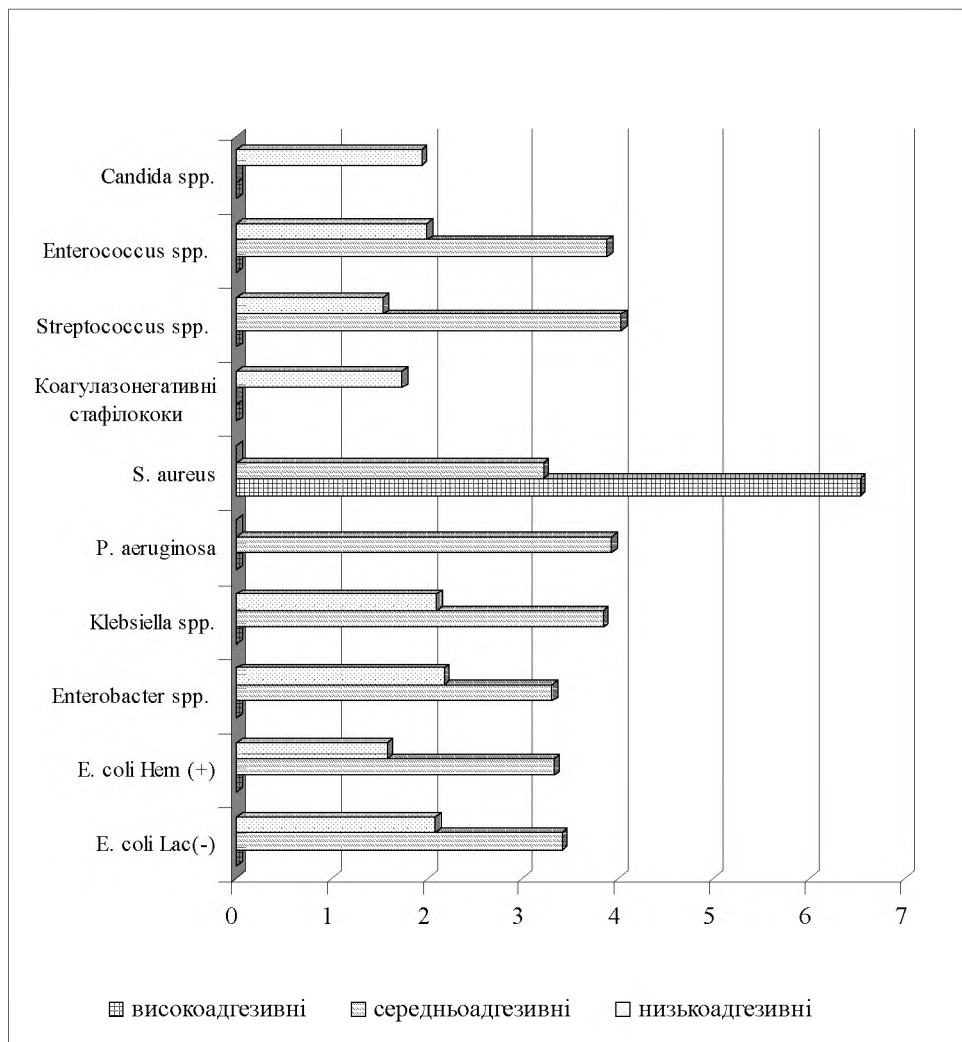


Рис. 3 Індекси адгезивності мікроорганізмів, виділених із товсто кишки здорових осіб.

ВИСНОВКИ 1. У хворих на ревматоїдний артрит виявлено дисбактеріоз товстої кишки переважно II (41,7 %) і I (37,5 %) ступенів. В 1/5 випадків зустрічався дисбактеріоз III ступеня. У клінічно здорових осіб переважно зустрічаються ознаки дисбактеріозу I ступеня.

2. Середні показники адгезії досліджуваних мікроорганізмів, які представлені у мікробіоценозі товстої кишки хворих, вище, ніж у здорових осіб.

3. У хворих на ревматоїдний артрит домінують мікроорганізми із високою та середньою адгезивністю, у здорових осіб – середньоадгезивні та низькоадгезивні варіанти.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні змін адгезивних властивостей представників мікрофлори товстої кишки при застосуванні різних патогенетичних схем лікування ревматоїдного

артриту, порівнянні адгезивно здатності мікробів не тільки щодо еритроцитів людини, але й епітеліоцитів, дослідженні впливу на прилипання бактерій до клітин людини пробіотичних штамів бактерій.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- 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.
- Блудова Н. Г. К вопросу о патогенезе поражения толстой кишки у больных ревматоидным артритом / Н. Г. Блудова // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 6. – С. 44–47.
- Гульнева М. Ю. Адгезивные свойства микроорганизмов, колонизирующих организм больных ревматоидным артритом и системной красной волчанкой / М.Ю. Гульнева // Журн. микробиол. эпидемиол. иммунобиол. – 2011. – № 2. – С. 57–61.

4. Иммунорегуляция в системе микрофлора – интестинальный тракт / С. С. Хромова, Б. А. Ефимов, Н. П. Тарабрина [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2004. – № 2. – С. 265–271.
5. Коваленко В. Н. Ревматоидный артрит: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение / В. Н. Коваленко // Ліки України. – 2005. – № 1. – С. 24–26.
6. Копча В. С. Корекція мікробіоценозу при лікуванні гострих кишкових інфекцій / В. С. Копча, С. А. Деркач // Інфекційні хвороби. – 2008. – № 2. – С. 31–37
7. 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.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. Спец. Вузov – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа., 1990. – 352 с.
9. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В. И. Брилис, Т. А. Брилене, Х.П. Ленцнер [и др.] // Лабораторное дело. – 1986. – № 4. – С. – 210–212.
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. – 880 с.
11. Насонов Е. Л. Фармакотерапия ревматоидного артрита – взгляд в XXI век / Е. Л. Насонов // Клини. мед. – 2005. – № 6. – С. 8–12.
12. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. ; под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита [и др.] [пер. с англ. под ред. акад. РАН Г. А. Заварзина]. – М. : Мир, 1997. – 800 с.
13. Покришко О. В. Адгезивні властивості мікрофлори шкіри ступні хворих на цукровий діабет / О. В. Покришко, С. І. Климчук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2007. – № 1. – С. 87–91.
14. Муравьев Ю. В. Проницаемость защитного барьера кишечника у больных ревматическими заболеваниями, длительно получающих нестероидных противовоспалительные препараты / Ю. В. Муравьев, В. В. Лебедева, В. К. Мазо [и др.] // Клиническая фармакология и терапия. – 2003. – № 12. – С. 23–26.
15. Риженко С. А. Антагоністична активність пробіотиків у відношенні мікроорганізмів / С. А. Риженко // Аналі Мечниковського Інституту. – 2005. – № 1. – С. 43–47.
16. Янковский Д. С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления / Д. С. Янковский. – К. : Эксперт ЛТД, 2005. – 362 с.
17. Cell surface hydrophobicity, biofilm formation, adhesives properties and molecular detection of adhesins genes in *Staphylococcus aureus* associated to dental caries / B. Kouidhi, T. Zmantar, H. Hentati [et al.] // Microb. Pathog. – 2010. – Vol. 49, № 1–2. – P. 14–22.
18. Changes of Intestinal Microflora in Patients with Rheumatoid Arthritis during Fasting or a Mediterranean Diet / A. Abendroth, A. Michalsen, R. Ludtke [et al.] // Forsch Komplementmed. – 2010. – Vol. 17, № 6. – P. 307–313.
19. Characterization of biofilm formation by clinical isolates of *Mycobacterium avium* / G. Carter, M. Wu, D. C. Drummond [et al.] // J. Med. Microbiol. – 2003. – Vol. 52, № 9. – P. 747–752.
20. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases / H. Tlaskalova-Hogenova, R. Stepankova, T. Hudcovic T. [et al.] // Immunol. Lett. – 2004. – Vol. 93, № 2-3. – P. 97–108.
21. Hawrelak J. A. The causes of intestinal dysbiosis: a review / J. A. Hawrelak, S. P. Myers // Altern. Med. Rev. – 2004. – Vol. 9, № 2. – P. 180–197.
22. Moschioni M. Adhesion determinants of the *Streptococcus* species / M. Moschioni, W. Pansegrau, M. A. Barocchi // Microb. Biotechnol. – 2010. – Vol. 3, № 4. – P. 370–388.

Отримано 04.07.11