

## МИКРОБИОЦЕНОЗ ЖЕЛУДОЧНОКИШЕЧНОГО ТРАКТА У РЕВМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ НА ФОНЕ ПРИЕМА НПВП.

М.В.Сибиркина, Х.М.Маруфханов, А.Р.Гимадуддинова

Ташкентской медицинской академии

**Аннотация.** Современная ревматология особое внимание уделяет выявлению заболеваний на максимально ранних стадиях. На сегодняшний день имеются данные, что доклинический период системной аутоиммунной реакции связан с нарушением регуляции иммунных взаимодействий с синантропной микрофлорой. В статье рассматриваются вопросы нарушения микробного пейзажа у ревматологических больных и воздействия на микробиоту желудка и кишечника лекарственных препаратов, применяемых для лечения ревматологических заболеваний.

**Ключевые слова:** кишечный микробиоценоз, микробиота, ревматологические заболевания, нестероидные противовоспалительные средства.

Несмотря на высокий уровень развития научных исследований на современном этапе развития здравоохранения этиология и патогенез большинства ревматических заболеваний (РЗ) до сих пор неизвестны. Однако проведенные в последние годы исследования показали, что доклинический период системной аутоиммунной реакции связан с нарушением регуляции иммунных взаимодействий с синантропной микрофлорой [1]. На протяжении последних десятилетий особое внимание врачей сосредоточено на проблеме нарушения микробиоценоза человека и его роли в развитии аутоиммунных заболеваний, так получены доказательства теории, предполагающей, что измененная синантропная микрофлора является фактором инициации и поддержания хронического воспаления при ревматоидном артрите (РА) и спондилоартритах (СпА) [2-6]. По современным данным, доклиническая стадия РЗ состоит из нескольких фаз: период генетического риска, воздействия факторов окружающей среды, после чего возникает бессимптомная аутоиммунная реакция с развитием неспецифических клинических проявлений (пародонтит, субклиническое воспаление кишечника, мукостаз и др.), что приводит к дальнейшей активации системного иммуновоспалительного ответа и в итоге – к формированию



окончательных специфических клинических признаков РЗ, отвечающих его диагностическим критериям [8–11]. В этой связи микробную экосистему макроорганизма необходимо рассматривать как сложную взаимосвязанную систему, сформированную в процессе онто- и филогенеза, саморегулирующуюся и непрерывно взаимодействующую с окружающей средой [7]. Микробиота и обусловленная ей экосистема макроорганизма, несмотря на сложную организованность, полифункциональность, склонность к изменчивости является легко ранимой и очень чувствительной к воздействию экзо- и эндогенных факторов. Известно, что наиболее важные среди агентов, влияющих на микробиоценоз организма, являются «ятрогенные» воздействия. Многочисленными исследованиями доказано, что существенные изменения в микробиоценозе организма происходят после применения лекарственных средств, прежде всего противомикробных средств. Наряду с этим имеются доказательства, что кишечная микробиота участвует в биотрансформации лекарственных средств, оказывая влияние на эффективность фармакотерапии.

Микробиоценоз легко нарушается под влиянием различных факторов окружающей среды: заболевания органов ЖКТ, кишечные инфекции, несбалансированное питание, стрессовые ситуации, оперативные вмешательства, гормональная, лучевая и антибактериальная терапия. Вместе с тем, характер влияния других лекарственных групп на микробиоценоз отдельных биотопов остается не до конца изученными, к числу таких лекарственных групп относятся нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), которые являются наиболее широко применяемыми в повседневной практике. Изложенные обстоятельства явились основанием для проведения настоящего исследования.

**Цель исследования:** изучить микробный биоценоз кишечника у ревматологических больных и степень влияния НПВС на нормальную микробиоту кишечника в условиях *in vitro* диско-диффузионным методом.

**Материалы и методы исследования:** Обследовано 40 больных с ревматологическими болезнями (РБ), 11 (27,5%) мужчин и 29 (72,5%) женщин,



средний возраст составил  $38,6 \pm 4$  года, средняя продолжительность заболевания составила 5,2 лет. РБ в качестве симптоматической терапии принимали неселективные ингибиторы ЦОГ–II. Исследования микрофлоры ЖКТ проводились в биотопах желудка и кишечника. Сравнение проведено по отношению к общепринятым показателям нормы. С целью изучения микробного пейзажа желудка и кишечника определялось общее количество аспорогенных анаэробов, лактобацилл, бифидобактерий и общее количество аэробной группы микробов (стрептококков, стафилококков, кишечных палочек, грибов рода Кандида и др.).

Посевы производились в чашках Петри, для выделения аэробных микроорганизмов применялся 5% кровяной агар, среды. Эндо и Сабуро, желточно-солевой агар. Культивировали в обычных условиях 24-48 часов при температуре  $37^{\circ}\text{C}$ . Для выделения аспорогенных анаэробов и лактобацилл применялся метод «запаянных» полиэтиленовых мешочков [13], заполненных магистральным природным газом [14], при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  в условиях термостата в течение 2 – 3 суток.

Наряду с определением микробного пейзажа изучаемых биотопов ЖКТ у РБ получавших НПВС нами также было изучено в условиях *in vitro* степень «лизиса» при применении нимесила, индометацина по сравнению с известным антибиотиком таривид – диско - диффузионным методом с последующим измерением зоны задержки роста в мм.

Результаты исследования статистически обрабатывали с помощью стандартных методов вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента по прикладной программе «Excel Office 2010» на компьютере Pentium IV.

### **Результаты и обсуждение.**

Проведен сравнительный анализ биотопов желудка и кишечника у обследуемых ревматологических больных представлены на фоне лечения НПВС. Результаты проведенных исследований биотопов желудка и кишечника у обследуемых ревматологических больных представлены в таблице №1. Полученные результаты показали, что на фоне применения НПВС в желудке общее количество анаэробов

увеличивается, а в кишечнике наоборот имеет тенденцию к уменьшению соответственно на 20% в отличие от анаэробов. Общее количество аэробов на фоне применения НПВС заметно увеличивается как в желудке, так и в кишечнике. По сравнению с контрольной группой на 35% и 24%, соответственно. К содержанию бифидобактерий на фоне применения НПВС, если увеличивается 1,3 раза, то в кишечнике наоборот 1,8 раза, соответственно по сравнению с показателями у здоровых лиц. В отличие от бифидобактерий, лактобактерий как в желудке, так и в кишечнике у ревматологических больных, получавших НПВС снижается (таб. 1).

**Таблица 1**

**Характеристика микрофлоры желудка и кишечника у ревматологических больных, принимающих нестероидные противовоспалительные средства**

lg M ± m КОЕ/г					
№	группы микробов	количество микробов в 1г/мл			
		желудок		кишечник	
		норма n-10	больные n-40	норма n-10	больные n-40
1	Обычное количество анаэробов	3,80 ± 0,17	5,30 ± 0,21	10,18 ± 0,21	8,15 ± 0,47
2	Бифидобактерии	1,00 ± 0,11	1,30 ± 0,05	9,60 ± 0,41	5,30 ± 0,31
3	Лактобактерии	3,30 ± 0,15	1,47 ± 0,02	7,47 ± 0,42	6,30 ± 0,32
4	Пептострептококки	1,11 ± 0,09	4,11 ± 0,19	0,75 ± 0,02	5,15 ± 0,29
5	Обычное количество аэробов	3,60 ± 0,19	5,47 ± 0,17	6,31 ± 0,29	8,30 ± 0,41
6	Стафил. золотистый	-	-	-	-
7	Стафил. сапрофитус	1,29 ± 0,01	-	2,31 ± 0,01	-
8	Стафил. эпидермис	2,00 ± 0,10	2,60 ± 0,11	2,47 ± 0,02	4,11 ± 0,21
9	Стрептококк гр. А	-	-	1,31 ± 0,11	-
10	Стрептококк гр. Д	1,32 ± 0,12	2,30 ± 0,12	5,42 ± 0,32	5,30 ± 0,25



11	Грибы кандидас	-	4,47 ± 0,15	2,82 ± 0,42	4,30 ± 0,19
12	Эшерихии ЛП	-	2,30 ± 0,10	6,22 ± 0,21	6,11 ± 0,27
13	Эшерихии ЛН	2,11 ± 0,11	3,47 ± 0,16	2,52 ± 0,21	3,47 ± 0,19
14	Протей	-	-	2,11 ± 0,20	2,30 ± 0,11

n – количество обследованных людей

Изучение сапрофитной флоры желудка и кишечника у обследованных больных показывают, что содержание пептострептококка в желудке увеличивается 3,7 раза, то в кишечнике – 6,9 раза. *Staphylococcus epidermidis* 1,3 раза и 1,7 раза соответственно. В тоже время *staphylococcus saprophytes* на фоне проводимого лечение не выделяется. Микроорганизмы, относящиеся к стрептококкам группы «А» на фоне проводимого лечения в кишечнике так же, не высеиваются. В тоже время, микроорганизмы, относящиеся к стрептококку группы «Д» в биотопе желудка если увеличивается, то в биотопе кишечника существенно не изменяется (табл. №1).

В желудочном биотопе из грамотрицательных бактерий появляется лактоза-позитивные *E. Coli*, и 1,6 раза увеличивается титр в этом биотопе лактоза негативные *E. Coli*. В отличие от желудочного биотопа, в кишечнике на фоне лечения НПВС наблюдается лишь повышение титра лактоза негативных *E. Coli*, которые превышают значение контроля (здоровые лица) 1,4 раза. Следовательно, у обследованных больных на фоне лечения НПВС наблюдаются заметные сдвиги в содержании основных представителей микробного пейзажа в изучаемых биотопах. Что указывает на развитие дисбиотических явлений, как в желудке, так и в кишечнике. Действительно результатом такого дисбиотического изменения является появление в микробной флоре желудка грибов рода *Candida* и увеличении его титра в кишечной флоре в 1,5 раза, по сравнению с показателями нормы. Следовательно, у РБ, получающих НПВС, имеются отчетливые дисбиотические изменения микробиоценоза желудка и кишечника.

Развитие дисбиотических изменений в изучаемых биотопах, несомненно, отражается в функциональной деятельности ЖКТ и прежде всего в обеспечении его пищеварительной, защитной и синтетической функций, эти нарушения могут

отрицательно сказываться в течение основного заболевания за счет усиления аутоиммунных процессов. Наряду указанным становится, очевидно, необходимость выяснения причины возникновения дисбиотических изменений со стороны желудка и кишечника.

Известно, что, в основе развития РБ лежит системная дезорганизация соединительной ткани аутоиммунного характера, которые могут развиваться в соединительной ткани в строме любых органов и систем, в том числе и ЖКТ. Из этого следует, что у обследуемых больных изначально имеется возможность нарушения функциональной деятельности ЖКТ, что может привести к дисбиозу кишечника, с одной стороны и применяемые для них лечения НПВС с другой, так же могут оказывать непосредственное воздействие на микрофлору желудка и кишечника. Для подтверждения этого нами в условиях *in vitro* изучено степень «лизиса» известных микробных колоний под действием нимесила, индометацина и таривида (таб.2).

**Таблица 2.**

**Чувствительность микроорганизмов к некоторым препаратам – *in vitro***

lg M $\pm$ m КОЕ/г					
№	группы микробов	Без препаратов	Нимесил	Индо-метацин	Таривид
1	Грибы кандиды	+	-	-	5,0 $\pm$ 0,2
2	Антиколицеты	+	-	-	12,0 $\pm$ 0,5
3	Плесневые грибы	+	-	-	5,0 $\pm$ 0,2
4	Стафил. золотистый	+	-	6,0 $\pm$ 0,2	18,0 $\pm$ 0,7
5	Стафил. эпидермис	+	5,0 $\pm$ 0,2	12,0 $\pm$ 0,5	18,0 $\pm$ 0,6
6	Стрептококк гр. А	+	6,0 $\pm$ 0,3	10,0 $\pm$ 0,3	20,0 $\pm$ 0,6
7	Стрептококк гр. Д	+	8,0 $\pm$ 0,2	12,0 $\pm$ 0,4	20,0 $\pm$ 0,4
8	Эшерихии ЛП	+	6,0 $\pm$ 0,3	8,0 $\pm$ 0,2	25,0 $\pm$ 0,7
9	Эшерихии ЛН	+	6,0 $\pm$ 0,3	6,0 $\pm$ 0,3	20,0 $\pm$ 0,5
10	Псевдомонас	+	-	-	20,0 $\pm$ 0,5



11	Дифтероид	+	10,0±0,3	14,0±0,2	22,0±0,3
12	Клебсиэлла	+	6,0±0,2	8,0±0,3	25,0±0,8
13	Протей	+	6,0±0,1	8,0±0,3	20,0±0,4
14	Лактобактерии	+	6,0±0,1	10,0±0,2	21,0±0,5
15	Бифидобактерии	+	5,0±0,1	10,0±0,2	18,0±0,4

зона задержки роста в мм.

Как видно из данных, представленных в таблице, под действием известного противомикробного препарата таривида происходит «лизис» колоний практически всех использованных образцов микрофлоры. В то же время индометацин не оказывает существенного влияния на флоры псевдомонасы, плесневых грибов, актиномицетов и грибов рода *Candida*, а нимесил наряду с вышеуказанными на колонии золотистого стафилококка. На остальные колонии микроорганизмов как индометацин, так и нимесил оказывает лизирующее действие, но заметно в меньшей степени, чем таривид. Так на фоне применения индометацина и нимесила диаметр «лизиса» колоний *staphylococcus epidermidis* была ниже, чем у таривида 1,5 раза и 3,6 раза. *Streptococcus* группы «А» в 2 раза и 3.3 раза *Streptococcus* группы «Д» 1,7 раза и 2,5 раза. Лактоза позитивные *E. Coli* в 3,1 раза и 4,2 раза и другие соответственно. Следовательно, индометацин оказывает лизирующее действия на колонии микроорганизмов заметно в меньшей степени чем таривид, то нимесил заметно в меньшей степени, чем индометацин. В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что представленные группы микробов были высоко чувствительны к таривиду, чувствительными к действию индометацина и умеренно устойчивыми к действию нимесила.

Следовательно, в условиях *in vitro* неселективные НПВС, как и противомикробные лекарственные средства могут оказывать губительные действия на микроорганизмы. Отличительной чертой их воздействия на микроорганизмы являются преимущественно губительное действия на нормофлору при отсутствии подобного действие на патогенную флору. Если учесть полученные результаты, то становится понятным, что в изменение микрофлоры желудка и кишечника у



обследованных нами больных есть роль и НПВС. Однако это не исключает роль самой патологии, нами обнаруженного изменения в микробиоценозе ЖКТ у РБ. Видимо основная патология создает условие для воздействия к реализации отрицательного влияния НПВС на ЖКТ и делает легко доступным микрофлору желудка и кишечника к их губительному действию. Следовательно, на фоне лечения НПВС необходимо разработать методы и способы профилактики возможных дисбиотических нарушений со стороны ЖКТ.

В ходе исследования у обследованных больных, на фоне применения НПВС выявлены частые нарушения стула (частота 2-3 раза в месяц), запоры периодические с задержкой стула от 48 до 72 часов (с частотой 4-5 раз в месяц), у 65% пациентов отмечалось вздутие кишечника. Результаты бактериологических анализов показали, наличие у 70% больных дисбактериоза II-степени, у 30% - дисбактериоз III-степени. Практически у всех больных дисбактериоз был вызван снижением естественной микрофлоры и увеличением плесневых грибов, грибов *Candida* и *Clebsiel*.

**Заключение.** На сегодняшний день формируется представление о параметрах, характеризующих микробиом желудка и кишечника в норме, большое количество микроорганизмов и их роль в организме человека остаются неидентифицированными. В связи с этим изучение изменений микробиома у ревматологических больных и возможностей коррекции, выявленных нарушений будут способствовать развитию персонализированной медицины и повышению эффективности лечения. На основании проведенных исследований можно сделать следующие **выводы:**

1. У РБ на фоне лечение НПВС наблюдается изменение микробной флоры желудка и кишечника.
2. Характерной особенностью дизбиоза является уменьшение удельного веса представительной нормальной флоры микробного пейзажа желудка и кишечника и увеличение условно-патогенных и патогенных микробов.



3. Для НПВС, особенно неселективных препаратов, характерно противомикробное действие в условиях *in vitro* в отношении нормальной микрофлоры ЖКТ.

### Список литературы:

1. Лиля А.М., Галушко Е.А., Гордеев А.В., Семашко А.С. Роль микробиома в патогенезе иммуновоспалительных заболеваний (дискуссионные вопросы). Современная ревматология. 2021;15(1):15-19.
2. Winthrop KL, Weinblatt ME, Bathon J, et al. Unmet need in rheumatology: reports from the Targeted Therapies meeting 2019. *Ann Rheum Dis*. 2020; Jan;79(1):88-93. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-216151. Epub 2019 Oct 29.
3. Насонов ЕЛ, Лиля АМ. Ингибиторы Янускиназ при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях: новые возможности и перспективы. Научно-практическая ревматология. 2019;57(1):8-16.
4. Costello M, Robinson P, Benham H, et al. The intestinal microbiome in human disease and how it relates to arthritis and spondyloarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2015 Apr;29(2):202-12.
5. Галушко ЕА, Гордеев АВ. Современный взгляд на патогенез спондилоартритов – молекулярные механизмы. Научно-практическая ревматология. 2015;53(3): 299-307.
6. Goldblatt F, O'Neill SG. Clinical aspects of autoimmune rheumatic diseases. *Lancet*. 2013 Aug 31;382 (9894):797-808.
7. Янковский Д.С., Дымент Г.С. Микрофлора и здоровье человека Д.С. Янковский, Г.С. Дымент. – К.: Червона Рута-Турс, 2008. – 552.
8. Ruff WE, Kriegel MA. Autoimmune hostmicrobiota interactions at barrier sites and beyond. *Trends Mol Med*. 2015 Apr; 21(4): 233-44.
9. Raza K, Gerlag DM. Preclinical inflammatory rheumatic diseases. *Rheum Dis Clin North Am*. 2014 Nov;40(4):569-80.
10. Гордеев АВ, Галушко ЕА, Савушкина НМ, Лиля АМ. Пародонтит – предвестник ревматоидного артрита? Научно-практическая ревматология. 2018;56(5):613-21.



11. Галушко ЕА, Гордеев АВ. Концепция «болезни барьерного органа» в патогенезе спондилоартритов. Научно-практическая ревматология. 2016;54(2): 199–205.
12. Малаева Е.Г., Стома И.О. Возможности и перспективы модификации кишечного микробиома. Архивъ внутренней медицины. 2022; 12(5): 341-351.
13. Сомова Л.А., Блинова Н.И., Чахава О.В. О простом методе выращивания беспоровых анаэробных микроорганизмов на плоских средах// Лаб. дело. –2007. – №9. –С. 57-58.
14. Аманов Н.А., Адылов Ш.К. Способ выращивания аспорогенных микроорганизмов с использованием природного газа в качестве заполнителя «запаянных мешочков»: Рац.предложение. –Ташкент, 2006.
15. Макарова С. Г., Броева М. И. Влияние различных факторов на ранние этапы формирования кишечной микробиоты. Педиатрическая фармакология. 2016; 13 (3): 270-282.