

7universum.com
UNIVERSUM:

МЕДИЦИНА И ФАРМАКОЛОГИЯ

ЭШЕРИХИИ КАК ТРИГГЕРНЫЙ ФАКТОР В РАЗВИТИИ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ

Корнейчук Елена Петровна

*д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии,
вирусологии и иммунологии Львовского национального медицинского
университета имени Данила Галицкого,
Украина, г. Львов
E-mail: o_korniychuk@ukr.net*

Данилейченко Валерий Васильевич

*д-р мед. наук, профессор кафедры микробиологии,
вирусологии и иммунологии Львовского национального медицинского
университета имени Данила Галицкого,
Украина, г. Львов
E-mail: danilejchenko@gmail.com*

Тымкив Мария Зеноновна

*старший преподаватель кафедры микробиологии,
вирусологии и иммунологии Львовского национального медицинского
университета имени Данила Галицкого,
Украина, г. Львов
E-mail: mtymkiv@ukr.net*

Бурова Лариса Михайловна

*канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии,
вирусологии и иммунологии Львовского национального медицинского
университета имени Данила Галицкого,
Украина, г. Львов
E-mail: burova.lm@gmail.com*

ESCHERICHIA AS TRIGGER FACTOR IN THE DEVELOPMENT OF NON-INFECTIOUS COLON DISEASES

Korniychuk Olena

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology of Danylo Galitskyi Lviv National Medical University, Ukraine, Lviv

Danyleychenko Valeriy

Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology of Danylo Galitskyi Lviv National Medical University, Ukraine, Lviv

Tymkiv Maria

Senior lecturer of the Department of Microbiology, Virology and Immunology of Danylo Galitskyi Lviv National Medical University, Ukraine, Lviv

Burova Larysa

candidate of Medical Sciences, Associate professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology of Danylo Galitskyi Lviv National Medical University, Ukraine, Lviv

АННОТАЦИЯ

Микроэкологические изменения кишечника при неинфекционных заболеваниях толстой кишки умеренно выражены и имеют общую тенденцию к снижению количественных уровней основных симбионтов при росте нетипичных и гемолитических эшерихий. Дисбиотические изменения при БК и РК имеют более однонаправленный характер. Инвазивные штаммы эшерихий изолированы от больных БК и РК. Наличие плазмид различных размерных классов у микроорганизмов обеспечивает им различные свойства, способствует развитию внутривидовых ассоциативных отношений в многокомпонентных биопленочных структурах толстой кишки.

ABSTRACT

Microecological bowel changes at non-infectious diseases of the colon are moderately expressed and have a general trend to reduction of quantitative levels of major symbionts with the growth of atypical and hemolytic Escherichia. Dysbiotic

changes in CD and CC are more unidirectional. Invasive strains of E.coli were isolated from patients with CD and CC. The presence of plasmids of different size classes of microorganisms gives them different properties, promotes intrapopulational associative relations in multicomponent biofilm structures of the colon.

Ключевые слова: эшерихии, неспецифический язвенный колит, болезнь Крона, рак толстой кишки, серотипы, плазмиды.

Keywords: Escherichia, ulcerative colitis, Crohn's disease, colon cancer, serotypes, plasmids.

Постоянный интерес к изучению хронических воспалительных заболеваний кишечника связан с ростом заболеваемости данной патологией во всем мире (составляют около 10 % всей хронической патологии органов пищеварения), в частности в наиболее развитых странах Европы и Америки, что связано с потреблением белковой пищи и рафинированных углеводов [3]. Хронизация воспалительных процессов во многих случаях связана с развитием дисбактериоза, сопровождающего основную болезнь, ухудшает течение, обременяет лечение недуга, а также приводит к ряду различных осложнений [1; 4; 6]. Рак толстой кишки является одним из наиболее серьезных осложнений хронических воспалительных заболеваний кишки [5]. В результате нарушения эндозкологии микробиоценоза кишечника происходят многочисленные структурные, функциональные и метаболические изменения, которые лежат в основе формирования различных патофизиологических состояний организма, в частности колоректального рака [2].

Исследование микробиоценоза толстой кишки необходимо для изучения механизмов хронизации воспалительных заболеваний и, возможно, развития пролиферативного процесса. Исследование биологических свойств E. coli заслуживает особого внимания у больных как основного симбионта из группы грамотрицательных факультативных анаэробов.

Цель исследования — характеристика популяции *E. coli* у больных с неинфекционными заболеваниями толстой кишки.

Материал и методы

Исследовался микробиоценоз толстой кишки больных неспецифическим язвенным колитом (НЯК), болезнью Крона (БК) и колоректальным раком (РК). Обследовано 38 больных НЯК (25 мужчин и 13 женщин в возрасте от 28 до 64 лет), 30 больных БК (16 мужчин и 14 женщин в возрасте от 28 до 64 лет) в стадии обострения, страдающих данным заболеванием в течение 3—7 лет, и 38 лиц с впервые выявленным раком толстой кишки (28 мужчин и 10 женщин в возрасте от 44 до 70 лет), находившихся на лечении амбулаторно или стационарно в ОКБ, которые, согласно анамнестическим данным, указывали на нарушения со стороны кишечника в течение продолжительного времени (от 2-х до 10 лет). У онкологических больных была частично сохранена проходимость кишечника, не было обнаружено метастатических очагов, состояние оценивалось как операбельное. Контрольная группа — 35 человек (25 мужчин и 10 женщин в возрасте от 30 до 50 лет) — лица без нарушений со стороны желудочно-кишечного тракта, у которых хронические заболевания находились в стадии ремиссии. У всех пациентов проводили оценку состояния микрофлоры толстой кишки с определением степени дисбиотических нарушений. Исследуемые группы были сопоставимы по полу, возрасту, локализации патологического процесса. Изоляты эшерихий серотипировали с помощью ОК-иммуноглобулинов, определяли их чувствительность к антибиотикам диско-диффузионным методом, изучали плазмидный спектр щелочным методом. Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы Microsoft Excel. Достоверность различий рассчитывали по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

При язвенных колитах — НЯК и БК количественные показатели основной микробиоты отличаются незначительно. Так, частота высеваемости бифидобактерий, лактобацилл и бактероидов была достаточно высокой —

на уровне 90—97 % против 100 % в контроле. У больных с НЯК зафиксировано снижение частоты высеивания энтерококков (до 65,7 %), чего не наблюдалось в контрольной группе (94,2 %), при БК (93,3 %). Популяционный уровень энтерококков у больных РК тоже был несколько ниже (81,5 %), однако количество их в общей микробной популяции было несколько выше, чем в контроле и составило $6,2 \pm 1,1$ lg КОЕ/г у больных НЯК, $7,8 \pm 0,6$ lg КОЕ/г у больных БК и $6,6 \pm 1,0$ lg КОЕ/г у больных РК при $5,5 \pm 0,8$ lg КОЕ/г в контроле.

Зафиксировано активацию бактерий-оппортунистов как при НЯК, так и при БК. Так, неферментирующие бактерии высеивались у 7,8 % больных НЯК в количестве $6,1 \pm 1,2$ lg КОЕ/г, протеи у 23,6 % больных в количестве $4,8 \pm 0,9$ lg КОЕ/г, другие цитратассимилирующие бактерии высеивались у 39,4 % обследованных в количестве $6,2 \pm 1,4$ lg КОЕ/г. Достоверно чаще у больных с НЯК высеивались стафилококки (7,8 % и $4,0 \pm 0,6$ lg КОЕ/г соответственно) и клостридии у (73,6 % больных в количестве $4,9 \pm 0,7$ lg КОЕ/г). Активация дрожжеподобных грибов *Candida* была незначительной. Увеличение количества *Candida* обнаружено у 28,9 % больных НЯК в количестве $4,0 \pm 0,8$ lg КОЕ/г.

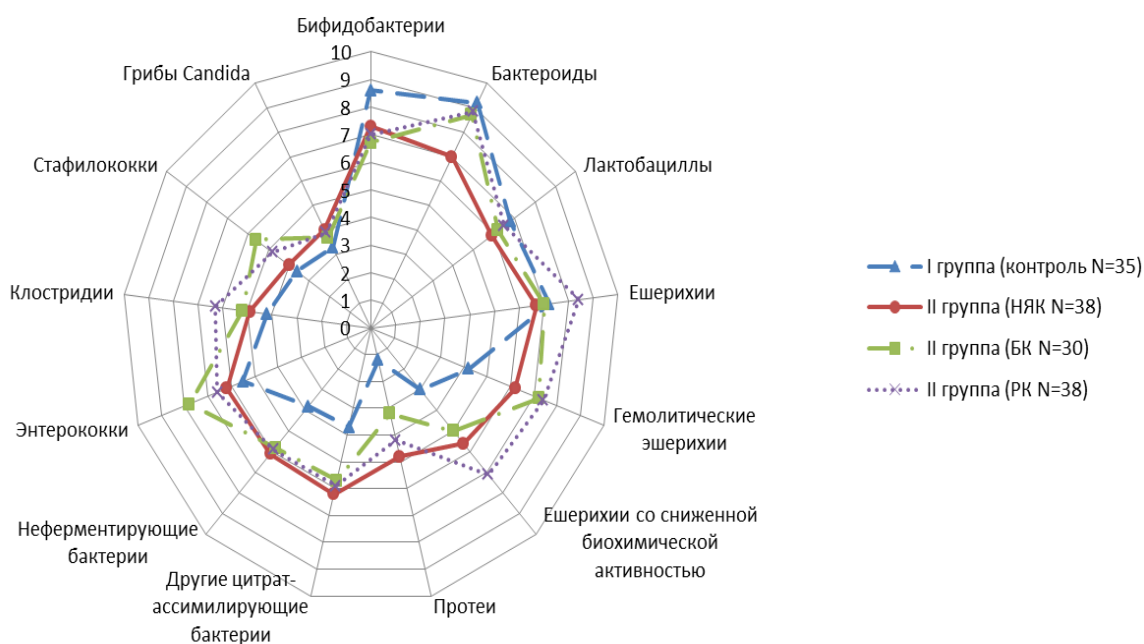


Рисунок 1. Микробиоценозы больных НЯК, БК и РК (lg КУО/г)

У больных с болезнью Крона неферментирующие бактерии выделены у 20 % больных в количестве $5,8 \pm 1,1$ lg КОЕ/г. Несколько реже высевались грибы (13,6 % в количестве $3,7 \pm 0,6$ lg КОЕ/г). У этих больных чаще высевались протеи (у 40 % в количестве $3,2 \pm 0,5$ lg КОЕ/г) и другие цитратассимилирующие бактерии (у 30 % больных в количестве $5,7 \pm 0,9$ lg КОЕ/г).

Изменения факультативной микрофлоры сохранили основную тенденцию к росту и у больных РК. И хотя частота высевания стафилококков и грибов была ниже (15,7 % и 13,1 %) по сравнению с контролем (42,8 % и 14,2 %), их популяционные уровни превышали показатели контрольной группы. Стафилококки высевались в количестве $4,8 \pm 1,0$ lg КОЕ/г ($3,6 \pm 1,0$ lg КОЕ/г в контроле), а грибы — в количестве $3,9 \pm 0,7$ lg КОЕ/г ($3,3 \pm 0,6$ lg КОЕ/г в контроле). От больных РК протеи высевались с частотой выше контрольного показателя в 2,1 раза. Популяционные уровни также были повышены ($4,2 \pm 0,9$ lg КОЕ/г и $1,2 \pm 1,0$ lg КОЕ/г соответственно). Значительно чаще высевались неферментирующие бактерии (44,7 % против 5,7 % в группе контроля), их количественные уровни были повышены в 1,5 раза, что было характерным также для энтерококков и клостридий.

Поскольку эшерихии являются основными представителями факультативно-анаэробной микрофлоры толстой кишки и участвуют в патогенезе как язвенных колитов, так и опухолевых процессов, именно эта популяция микроорганизмов была предметом более детального исследования.

Эшерихии выделялись у 100 % пациентов всех исследованных групп, но у лиц с НЯК и БК количество их было в определенной степени снижено ($6,7 \pm 1,4$ lg КОЕ/г и $7,0 \pm 1,4$ lg КОЕ/г соответственно) по сравнению с лицами контрольной группы ($7,2 \pm 0,4$ lg КОЕ/г) и раком толстой кишки ($8,4 \pm 1,4$ lg КОЕ /г). Во всех группах наблюдалось увеличение частоты высеваемости кишечных палочек со сниженной ферментативной активностью: 36,8 % у больных с НЯК, 46,6 % у пациентов с болезнью Крона, 26,3 % у больных РК при 22,8 % в контроле, при этом количественные показатели также превышали показатели контрольной группы. Частота и количественные характеристики высеваемости

гемолитических эшерихий были выше по сравнению с контролем в группах НЯК и ХК (23,6 % и 46,6 % против 14,2 %). Среди энтеробактерий, выделенных от лиц с опухолями толстой кишки, эшерихии с гемолитическими свойствами высевались реже по сравнению с контролем (13,1 % против 14,2 %), но количественные показатели превышали показатели группы контроля.

При определении чувствительности к антибиотикам установлено, что штаммы *E. coli*, изолированные от больных с НЯК, обладали абсолютной чувствительностью к ципрофлоксацину, цефтриаксону и цефотаксиму. Эти штаммы микроорганизмов оказались резистентными к тетрациклину (90 %), офлоксацину (71 %) и ампициллину (67 %). Среди этих микроорганизмов не выявлено штаммов, резистентных к канамицину, норфлоксацину, хлорамфениколу, цефтриаксону и цефотаксиму. Штаммы эшерихий, выделенные от больных с БК, обнаружили абсолютную чувствительность к ципрофлоксацину, цефтриаксону, а также к гентамицину и канамицину. Половина штаммов *E. coli*, изолированных от этих пациентов, оказались резистентными к ампициллину. Гораздо больше устойчивых штаммов в этой группе микроорганизмов зафиксировано к тетрациклину (58 %), офлоксацину (45 %), несколько меньше к цефалотину — (40 %). В целом наивысшую чувствительность эшерихий, изолированных от онкобольных, обнаружено к фторированным оксихинолонам. Всего 35 % штаммов этой группы больных были чувствительны к ампициллину. Наибольшее количество резистентных штаммов в этой группе больных выявлено также к этому антибиотику (30 %), а также к тетрациклину (30 %) и хлорамфениколу (20 %).

21 штамм *E. coli*, выделенных от больных БК, 28 штаммов от больных НЯК, 26 — от больных с колоректальным раком изучали с помощью групповых сывороток для определения серотипа бактерий. С помощью групповых сывороток ОКА, ОКВ, ОКС, ОКД и ОКЕ удалось установить серогруппу не для всех исследованных штаммов. Изоляты, которые не были

полоагглютинабельными, отнесены к серогруппам ОКВ, ОКС и ОКД. При этом ни одна из исследованных культур не принадлежала к серогруппе ОКА.

Энтеропатогенные и энтеротоксигенные кишечные палочки выделялись во всех исследуемых группах. Энтероинвазивные кишечные палочки обнаружены в группах БК и РК. В группе онкобольных изолированы эшерихии серогруппы 0408, которая редко встречается.

Проанализирована структура плазмидного профиля исследованных штаммов кишечных палочек. Установлено, что среди изолятов интактных лиц штаммы — носители плазмид составили 64,5 %, лиц, больных БК — 72,0 %, с язвенным колитом — 87,5 %, а онкобольных — 83,3 %. Исследованные штаммы имели от 1 до 5 плазмид размерами от 1 до 240 тпн. Большинство исследованных штаммов характеризовалось множественностью содержания плазмид (60 % среди плазмидместительных штаммов в группе контроля, 33 % в группе БК, 71 % в группе НЯК и 80 % в группе РК).

В результате проведенных исследований установлено, что среди контрольных штаммов эшерихий преобладают изоляты с мелкими плазмидами. Также относительно часто оказываются генетические элементы размером 90—104 тпн, возможно, определяющие синтез микроворсинок. Среди изолятов эшерихий группы БК превалировали большие плазмиды размерного класса 140—221 тпн. Такого размера плазмиды определяют инвазивные свойства у шигелл и энтероинвазивных эшерихий. От пациентов с БК удалось выделить штаммы с плазмидами размерного класса 70—89 тпн. Среди плазмид указанного размера встречаются элементы, детерминирующие адгезивные свойства. В изолятах эшерихий, выделенных от опухолевых больных, чаще, чем от больных других исследовательских групп, встречались сверхбольшие плазмидные элементы размером > 221 тпн, отнесены к криптическим плазмидам. От больных раком толстой кишки, как и в группе интактных лиц, до 26,7 % изолированы мелкие плазмиды.

Выводы.

1. Микробиологические изменения кишечника при неинфекционных заболеваниях толстой кишки умеренно выражены и имеют общую тенденцию к снижению количественных уровней основных симбионтов кишечника. Дисбиотические изменения при БК и РК имеют более однонаправленный характер. Дефицит молочнокислых микроаэрофильных симбионтов сопровождался активацией оппортунистической микрофлоры, повышением частоты высеваемости атипичных форм эшерихий.

2. Результаты по изучению спектра эшерихий указывают на их выраженную популяционную неоднородность как по составу серотипов, так и по чувствительности к антибиотикам во всех группах исследуемых лиц.

3. Наличие плазмид различных размерных классов обеспечивает микроорганизмам, выделенным от больных НЯК, БК и РК, различные свойства, способствует развитию внутривидовых ассоциативных отношений в многокомпонентных биопленочных структурах толстой кишки.

Перспектива дальнейших исследований заключается в разработке биокорректирующей терапии с целью предупреждения рецидивов хронических заболеваний и процессов малигнизации.

Список литературы:

1. Аряев Н.Л. Уточнение концепции дисбактериоза кишечника / Н.Л. Аряев // Ж. Акад. мед. Наук Украины. — 2006. — Т. 12, № 3. — С. 510—516.
2. Делекторская В.В. Клинические значения содержания молекулярно-биологических маркеров в зонах инвазивного фактора рака толстой кишки / В.В. Делекторская, Д.А. Головкин, Н.Е. Кушлинский // Бюл. exper. биол. и мед. — 2008. — Т. 146, 311. — С. 552—555.
3. Роль цитокінової ланки імунорегуляції у формуванні ендотеліальної дисфункції при хронічних запальних захворюваннях кишечника / Бойко Т.Й., Стойкевич М.В., Сорочан О.В. [і ін.] // Буковинський медичний вісник. — 2011. — Т. 15, № 2. — С. 189—192.

4. Galland L. Intestinal dysbiosis and the causes of disease / Galland L. // Health World Online (digestive system). — 2003. — V. 10. — P. 1—12.
5. Joanne A.P. Wilson, M.D. Tumor Necrosis Factor α and Colitis-Associated Colon Cancer // N Engl. J. Med. — 2008; 358. — P. 2733—2734.
6. Sokol H. The intestinal microbiota in inflammatory bowel diseases: time to connect with the host / H. Sokol, P. Seksik // Curr. Opin. Gastroenterol. — 2010. — Vol. 26, No 4. — P. 327—331.