

УДК 616.34:616-093/-098

*В. И. Симаненков<sup>1</sup>, А. Н. Суворов<sup>2</sup>, О. И. Соловьева<sup>1</sup>*

## **ВОЗМОЖНОСТИ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОМ ЯЗВЕННОМ КОЛИТЕ**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования<sup>2</sup>Институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург

Повышение эффективности терапии неспецифического язвенного колита (НЯК) и увеличение продолжительности фазы его ремиссии являются одной из актуальных задач современной гастроэнтерологии. Традиционная базисная терапия не позволяет полностью решить поставленные задачи. Кроме того, применение средств, направленных на подавление различных звеньев иммунитета, обладает рядом хорошо известных побочных эффектов [1, 2]. Учитывая роль кишечной микрофлоры в формировании иммунного ответа в слизистых оболочках, особенности строения и функционировании мукозоассоциированной лимфоидной ткани, следует считать актуальным изучение возможности повышения эффективности лечения НЯК посредством коррекции микробиоценоза [1, 3].

Нарушение качественно-количественного состава кишечной микрофлоры является облигатным коморбидным состоянием при НЯК [2, 4]. Описаны механизмы, посредством которых изменения в микробиоценозе способны утяжелять течение основного заболевания, создавая условия для прерывания ремиссии. К ним относятся влияние бактериальных эндотоксинов и продуктов метаболизма микроорганизмов, микробная сенсибилизация, нарушение синтеза секреторного иммуноглобулина А, стимуляция образования провоспалительных цитокинов [3, 5, 6].

Прекращение всасывания и утилизации ЛЖК колоноцитами при наличии воспалительных изменений в слизистой оболочке толстой кишки приводит к накоплению этих соединений в просвете толстой кишки, что способствует подавлению симбионтной флоры. Таким образом, формируется порочный круг, когда иммунно-воспалительные процессы в слизистой оболочке толстой кишки и нарушения в микробиоценозе поддерживают существование друг друга [3, 7].

Изменения в составе кишечной микрофлоры способствуют появлению антител к бактериальным антигенам, перекрестно реагирующим с эпителиальными клетками толстой и тонкой кишки [1, 4]. Токсины бактерий и продукты их метаболизма нарушают функцию толстой кишки, подавляют регенерацию эпителия и увеличивают антигенную нагрузку на иммунную систему, ассоциированную с кишечником [1].

Участие кишечной микрофлоры в патогенезе язвенного колита (извращение иммунного ответа, нарушение трофики колоноцитов вследствие нарушения взаимоотношений между просветной микрофлорой и иммунной системой) послужили основанием для экспериментального изучения возможности применения пробиотических препаратов при данном заболевании [3, 8, 9].

© В. И. Симаненков, А. Н. Суворов, О. И. Соловьева, 2009

**Материалы и методы исследования.** Пациенты с неспецифическим язвенным колитом средней тяжести (47 человек) методом случайных чисел были рандомизированы на две группы.

Первая группа пациентов (24 человека) получала терапию синбиотиком ламинолакт (в состав ламинолакта входят *Enterococcus faecium* L-3 в титре  $10^{6-7}$  КОЕ/г, пектин, соевый аминокислотный гидролизат, морская капуста в качестве источника микроэлементов) в дозе 3 драже 3 раза в день в течение 1 месяца на фоне базисной терапии месалазином в суточной дозе 2400 мг.

Во второй группе пациентов (23 человека) — контрольной — проводилась базисная терапия месалазином в суточной дозе 2400 мг.

По исходным данным (половой состав, возрастной состав, длительность заболевания, активность заболевания) группы были сравнимы.

Программа обследования всех больных включала следующие разделы:

- Клинико-лабораторный (определение степени активности язвенного колита). Для оценки тяжести течения и динамики клинических проявлений НЯК применялся индекс клинической активности по D. Rachmilewitz (1989 г.).
- Эндоскопическое обследование пациентов. Включало тотальную фиброколоноскопию с использованием эндоскопа фирмы «Olympus» (Япония). При фиброколоноскопии выполнялась прицельная биопсия слизистой оболочки толстой кишки (по 2 биоптата) из измененных и неизмененных отделов. Динамика эндоскопических показателей активности язвенного колита оценивалась с помощью индекса эндоскопической активности по D. Rachmilewitz (1989 г.).
- Микробиологический (исследование кишечной микрофлоры). Материалом для исследования на дисбиоз кишечника служили испражнения, взятые из последней порции кишечного содержимого, полученного утром в день исследования. Посев производился на стандартные среды в аэробных и анаэробных условиях. Анализ характера роста микроорганизмов на селективных средах позволил провести идентификацию основных представителей флоры (бактероиды, фузобактерии, лактобактерии, бифидобактерии, эубактерии, пептострептококки и др.) до рода. Их видовую идентификацию проводили по биохимическим признакам. Для определения степени выявленных дисбиотических изменений пользовались классификацией Г. Г. Кузнецовой (1972 г.).
- Статистическая обработка полученных данных (STATISTICA 5.5).

Контрольные исследования проводились через 2 месяца после основного курса терапии и через 6 месяцев после лечения.

### **Результаты и их обсуждение**

#### *1. Состояние кишечного микробиоценоза в зависимости от проводимой терапии*

При исследовании кишечной микрофлоры у всех пациентов выявлены дисбиотические изменения, которые в большинстве случаев были представлены дисбиозом II и III степени. Так, дисбиоз I степени выявлен у 4 пациентов общей группы (9,7 %), дисбиоз II степени — у 15 (31,9 %), дисбиоз III степени — у 23 (49,6 %) и дисбиоз IV степени — у 5 пациентов с НЯК (10,7 %).

Дисбиотические изменения в подавляющей части случаев сопровождались снижением количества бифидо- и лактобактерий, лактозопозитивной кишечной палочки. Отмечалось увеличение количества представителей условно-патогенной флоры, а в ряде

случаев — повышение титров протей, стафилококка, грибов. У обследованных пациентов лишь в единичных случаях наблюдался рост гемолитической кишечной палочки, клебсиелы. Роста золотистого стафилококка получено не было (рис. 1). Практически у всех пациентов с язвенным колитом наблюдалось изменение соотношения анаэробной и аэробной флоры в сторону увеличения последней.

Достоверных различий между исследуемыми группами по выраженности дисбиотических изменений до лечения выявлено не было. Динамика выраженности дисбиотических изменений в исследуемых группах представлена на рис. 2.

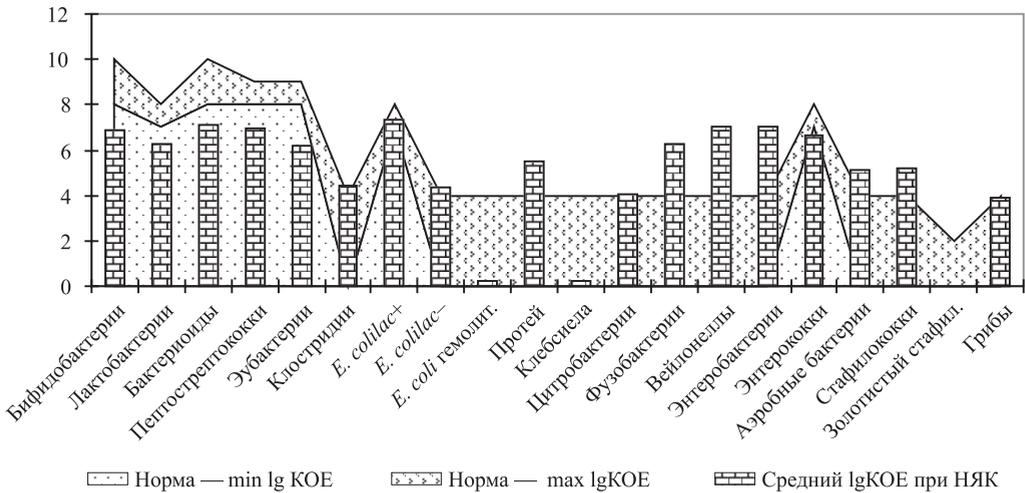


Рис. 1. Состав кишечной микрофлоры у пациентов с НЯК (по оси ординат — lgKOE)

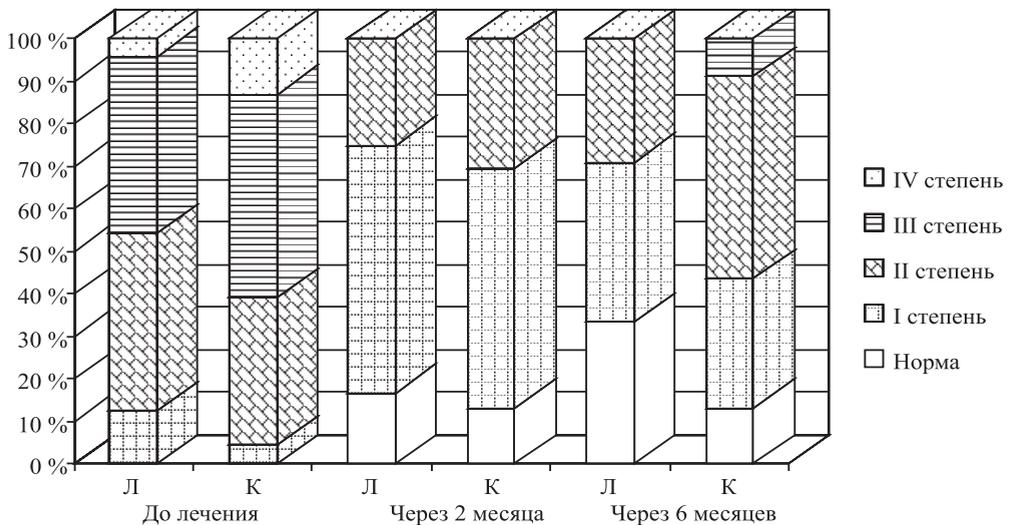


Рис. 2. Динамика выраженности дисбиотических изменений в исследуемых группах (Л — группа, получавшая ламинолакт в сочетании с месалазином, К — контрольная группа). В процентах выражена доля пациентов, имеющих ту или иную степень дисбиоза, от общего количества наблюдавшихся

Из рисунка видно, что через 2 месяца после завершения основного курса терапии в обеих группах наблюдения произошло перераспределение показателей дисбиотических изменений в сторону уменьшения степени дисбиоза. Так, на этом этапе исследования в обеих группах у подавляющего большинства пациентов либо отсутствовали дисбиотические изменения, либо выявлялся дисбиоз I степени. Ни у одного больного не было обнаружено дисбиоза тяжелее II степени. Достоверных различий между группами на этом этапе отмечено не было.

Наиболее значимы различия в состоянии кишечного микробиоценоза ( $p < 0,05$ ) через 6 месяцев после завершения основного курса терапии. У трети пациентов, получавших ламиналакт, микрофлора толстой кишки нормализовалась. Еще у 37 % пациентов этой группы был выявлен дисбиоз I степени. В контрольной же группе более чем в половине случаев (56,5 %) отмечался дисбиоз II и III степени.

Распределение дисбиотических изменений по степеням в сравниваемых группах через 6 месяцев после окончания курса основной терапии представлено на рис. 3. На диаграммах видно, что при контрольном исследовании через 6 месяцев состояние кишечной микрофлоры у подавляющего большинства пациентов, получавших синбиотическую терапию, нормальное или характеризуется дисбиозом I степени, в отличие от пациентов контрольной группы.

## 2. Динамика активности язвенного колита в условиях различных схем терапии, применявшихся в исследовании

Как отмечалось выше, динамика активности язвенного колита у наблюдавшихся пациентов оценивалась по изменению индексов клинической (ИКА) и эндоскопической (ИЭА) активности по D. Rachmilewitz. Динамику этих показателей в группах наблюдения до лечения и при контрольных исследованиях иллюстрируют рис. 4, 5.

На диаграмме видно, что через 2 месяца после окончания основного курса терапии в обеих группах наблюдения произошло достоверное уменьшение индекса клинической активности НЯК. Спустя 6 месяцев в группе пациентов, получавших ламиналакт, индекс

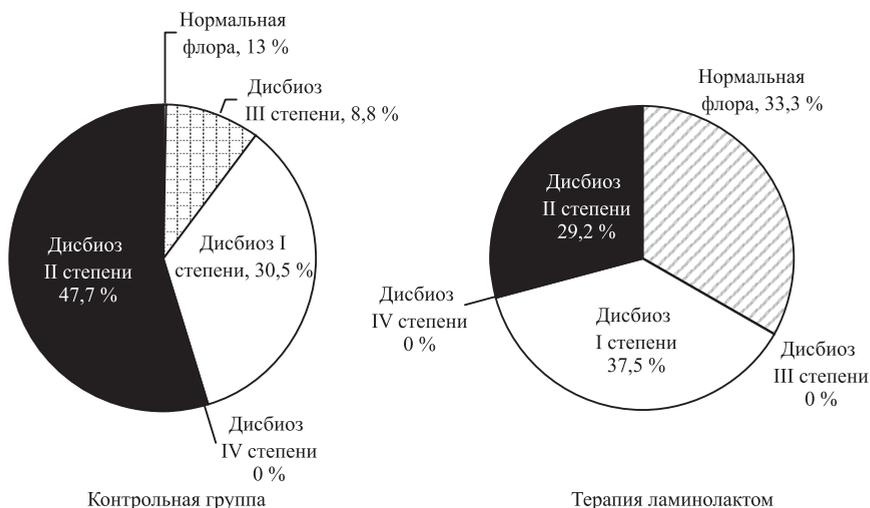


Рис. 3. Распределение степеней дисбиоза (в % от общего числа наблюдавшихся) в группах сравнения через 6 месяцев после окончания основного курса терапии

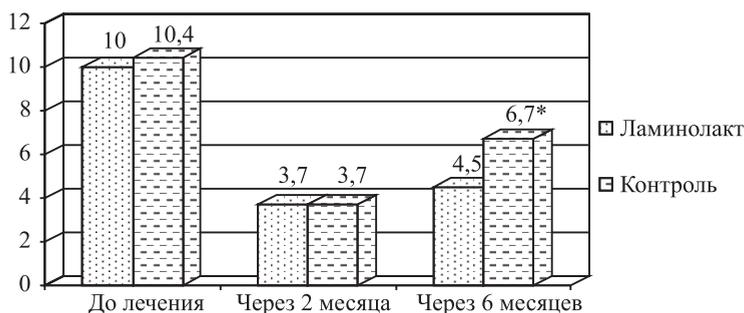


Рис. 4. Динамика индекса клинической активности (в баллах) НЯК в зависимости от группы наблюдения (\* $p < 0,05$ )



Рис. 5. Динамика индекса эндоскопической активности (в баллах) НЯК в зависимости от группы наблюдения (\* $p < 0,05$ )

практически не изменился по сравнению с предыдущим исследованием. В контрольной же группе ИКА достоверно увеличился в сравнении с предыдущим показателем, хотя и не достиг исходной цифры.

Динамика индекса эндоскопической активности аналогична изменениям индекса клинической активности.

Таким образом, из представленных данных видно, что через 2 месяца после окончания основного курса терапии не наблюдалось различий ни в клиническом, ни в эндоскопическом индексах активности в сравниваемых группах. Другими словами, независимо от наличия в схеме терапии синбиотика удалось достигнуть достоверного снижения активности заболевания. Однако через 6 месяцев оба индекса активности оставались достоверно меньшими в группе пациентов, получивших ламиналокт, чем в контрольной группе. На основании этих данных можно предположить, что сочетание базисной терапии с синбиотиком позволяет добиться «удержания» медикаментозно индуцируемой ремиссии заболевания.

Для всех хронических воспалительных заболеваний кишечника характерны нарушения регуляции иммунной системы слизистой оболочки [1, 5]. Особенность мукозасоциированной лимфоидной ткани толстой кишки (GALT) состоит в ее взаимодействии с очень большим количеством антигенов [1, 3]. В этих условиях основными функциями GALT-системы являются, с одной стороны, обеспечение толерантности по отношению к антигенам, а с другой — выработка высокоселективного и высокоспецифичного

иммунного ответа. В условиях нарушения барьерной функции эпителия из просвета кишечника в организм проникают бактерии, токсины (в том числе и бактериальные), антигены. Антигенная и токсическая нагрузка на GALT-систему значительно увеличивается в условиях дисбиоза, что в условиях нарушения равновесия между популяциями T×1- и T×2-лимфоцитами приводит к развитию иммунопатологических реакций [1, 2, 6].

Кроме того, хорошо известны тесные симбиотические отношения колоноцитов и представителей нормофлоры кишечника, основанные на трофоэнергетических взаимодействиях. Микрофлора кишечника создает для эпителия толстой кишки как энергетическую, так и сырьевую базу синтетической деятельности (летучие жирные кислоты, лактат). Муцин, являющийся одним из компонентов слизи, является одним из источников питания нормофлоры кишки [7]. Наличие кишечного дисбиоза способствует появлению антител к бактериальным клеткам, перекрестно реагирующих с эпителиальными клетками толстой и тонкой кишки.

Анализ современной литературы, посвященной вопросам пробиотической терапии, показал возможность ее успешного применения при лечении язвенного колита. В экспериментальных работах было продемонстрировано, что применение пробиотиков способно как предотвращать развитие колита, так и уменьшать активность воспалительных процессов в толстой кишке. У моделей с экспериментальным колитом на фоне пробиотической терапии было отмечено значительное улучшение барьерной функции слизистой оболочки толстой кишки, что оценивалось по уменьшению количества циркулирующих антител к эндотоксинами и уменьшению проницаемости кишечной стенки [9–12].

Было показано, что пробиотики способны улучшать иммунологический барьер слизистой оболочки толстой кишки преимущественно за счет увеличения синтеза секреторного IgA. Особенно важной в отношении язвенного колита является способность пробиотических препаратов снижать продукцию интерлейкина-4, являющегося маркером иммунологической реакции T×2-типа, гиперактивация которой имеется при этом заболевании [8, 13]. Использование пробиотиков на основе бифидобактерий и лактобацилл позволяло снизить уровень экспрессии провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-8 [10].

С целью нормализации микрофлоры кишечника у наблюдавшихся пациентов с НЯК был использован синбиотик ламинолакт. В составе ламинолакта помимо комплекса пробиотиков содержится пробиотик *Enterococcus faecium* L-3. Одним из определяющих качеств для использования этого микроорганизма в нашем исследовании явилась его способность подавлять рост условно-патогенной флоры, избыток которой наблюдается в микробном пейзаже пациентов с НЯК, и стимулировать восстановление нормальной микрофлоры, в первую очередь уровня содержания бифидобактерий. Антагонистическое действие осуществляется за счет продукции бактериоцинов (в геноме этого штамма содержатся гены двух бактериоцинов — энтероцинов А и В), конкуренции за рецепторы адгезии и питательные вещества, нормализации иммунной реактивности слизистой оболочки [14].

Дополнение базисной терапии НЯК синбиотиком (ламинолакт) позволило добиться «удержания» медикаментозно индуцируемой ремиссии заболевания по сравнению с контрольной группой. Достигнутое через 2 месяца снижение ИЭА и ИКА в группе, получавшей ламинолакт, оставалось практически на том же уровне и через 6 месяцев, тогда как в контрольной группе активность язвенного колита значительно повысилась, хотя и не достигла исходных цифр.

Состояние кишечного микробиоценоза при оценке через 2 месяца наблюдения значительно улучшилось в обеих группах пациентов независимо от предпринятой тактики

лечения. Очевидно, основным фактором в данном случае явилось значительное снижение степени активности НЯК и стабилизация состояния слизистой оболочки толстой кишки, что способствовало улучшению состояния микрофлоры. При контрольном обследовании через 6 месяцев было выявлено, что состояние кишечного микробиоценоза в группе, получавшей синбиотическую терапию, было достоверно лучшим, чем в контрольной группе, что сочеталось с достоверно более низкими показателями активности основного заболевания.

Представленные данные позволяют сделать заключение, что сочетание стандартной базисной терапии неспецифического язвенного колита с синбиотиком дает возможность «удержать» медикаментозно индуцируемую ремиссию основного заболевания.

## Литература

1. Адлер Г. Болезнь Крона и язвенный колит / Пер. с нем. А. А. Шептулина. М., 2001. 500 с.
2. Белоусова Е. А. Язвенный колит и болезнь Крона. Тверь, 2002. 128 с.
3. Jewell D. P., Mortensen N. J., Steinhart A. H. e. a. Challenges in Inflammatory Bowel Disease. Oxford, 2006. 400 p.
4. Парфенов А. И. Энтерология. М., 2002. 744 с.
5. Ардатская М. Д., Дубинин А. В., Мишушкин О. Н. Дисбактериоз кишечника: современные аспекты изучения проблемы, принципы диагностики и лечения // Терапевт. архив. 2001. № 2. С. 67–72.
6. Наврузов С. Н., Даутов Ф. А., Якубова Н. Р. Микрофлора кишечника при неспецифическом язвенном колите // Врачебн. дело. 1990. № 8. С. 23–29.
7. Дубинин А. В., Бабин В. Н., Раевский П. М. Трофические и регуляторные связи макроорганизма и кишечной микрофлоры // Клинич. медицина. 1991. № 7. С. 24–28.
8. Campieri M., Gionchetti P. Probiotics in inflammatory bowel disease: new insight to pathogenesis or a possible therapeutic alternative // Gastroenterol. 1998. Vol. 116. P. 1246–1260.
9. Kennedy R. J., Kirk S. J., Gardiner K. R. e. a. Probiotic therapy stabilises the gut mucosal barrier in the IL-10 knockout mice model of colitis // Br. J. Surg. 2000. Vol. 87. P. 689.
10. Mallon P., McKay D., Kirk S., Gardiner K. Probiotics for induction of remission in ulcerative colitis // Cochrane Database Syst. Rev. 2007. Is. 4. Art. No: CD005573. DOI: 10.1002/14651858.CD005573.pub2.
11. Rembacken B. J., Snelling A. M., Hawkey P. M. e. a. Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial // Lancet. 1999. Vol. 354. P. 635–639.
12. Shanahan F. Probiotics in inflammatory bowel disease // Gut. 2001. № 48. P. 609–611.
13. Dugas B., Mercenier A., Lenoir-Wijnkoop I. e. a. Immunity and probiotics // Immunol. Today. 1999. Vol. 20. P. 387–390.
14. Суворов А. Н., Захаренко С. М., Алехина Г. Г. Энтерококки как пробиотики выбора // Пробиотики нового поколения: Сб. статей. СПб., 2003. С. 32–40.

Статья принята к печати 18 февраля 2009 г.