

Т.Д. Звягинцева, д.м.н., профессор, С.В. Гриднева, к.м.н., кафедра гастроэнтерологии Харьковской медицинской академии последипломного образования

# Синдром раздраженного кишечника: пути коррекции дисбиоза

**В последние годы растущий интерес к изучению кишечной микрофлоры и ее влияния на организм человека привел к появлению новых направлений в изучении микробных популяций, в том числе с применением молекулярно-генетических методов исследования, что позволило пересмотреть стандартные представления о патогенезе функциональных расстройств желудочно-кишечного тракта, а именно синдрома раздраженного кишечника (СРК).**

Как и в случае развития аллергических реакций, бронхиальной астмы, воспалительных заболеваний кишечника, антибиотикассоциированной диареи, псевдомембранозного колита, фоном и причиной возникновения СРК являются длительные тяжелые дисбиотические изменения микроэкологии кишечника. В свою очередь, дисбиоз кишечника развивается вследствие нерационального питания (преобладание в рационе углеводов, жиров, жирных, мясных продуктов, отсутствие фруктов, зелени, овощей); длительных командировок с изменением качества воды и пищи, приводящим к дисбалансу между полезными и патогенными бактериями в пользу последних; массивной антибактериальной терапии, приема иммунодепрессантов, гормональных, обволакивающих, слабительных, желчегонных и других медикаментозных средств; стрессов; неблагоприятных экологических условий; заболеваний желудка, протекающих с ахлоргидрией, поджелудочной железы, печени, почек, витамин В<sub>12</sub>- и фолиеводефицитной анемии, нарушений перистальтики и др.

У 6-17% пациентов с СРК можно отметить перенесенную в анамнезе кишечную инфекцию, это т. н. постинфекционный СРК, который в большинстве случаев проявляется диарейной формой. При СРК с признаками воспаления в стенке кишечника отмечается повышенный синтез белков, участвующих в формировании структуры сигнальных рецепторов (toll-like receptor, TLR) и обеспечивающих взаимодействие организма человека с бактериальными клетками. Уровень синтеза данных протеинов зависит от качественного и количественного состояния кишечной микрофлоры. Он повышается при наличии избыточного бактериального роста, например, за счет патогенной *E. coli*, вытесняющей преобладающие в норме сапрофитные микроорганизмы. Повышенная пролиферация условно-патогенной микрофлоры у больных СРК сопровождается усилением ее агрессивных свойств, что может привести к воспалению слизистой оболочки кишечника и ухудшению регенерации эпителия. У таких пациентов повышена экспрессия провоспалительных и снижена экспрессия противовоспалительных цитокинов.

Изменение проницаемости кишечной стенки у пациентов с СРК отмечается за счет нарушения синтеза белков, формирующих плотные клеточные контакты между эпителиоцитами. Преобладающие в стенке кишки мастоциты выделяют триптазу, способствующую дисрегуляции тесных межклеточных контактов слизистой оболочки кишки. Некоторые продукты жизнедеятельности бактерий, содержащиеся в просвете кишечника, также повышают проницаемость кишечной стенки, воздействуя на рецепторы, расположенные на апикальной мембране эпителиальных клеток, вследствие чего возникает сокращение их цитоскелета.

Нарушение барьерной функции кишечника приводит к проникновению бактериальных антигенов через стенку кишки и последующему избыточному выбросу биологически активных веществ (гистамина, лейкотриенов, триптазы, кортиколиберина), в условиях цитокинового дисбаланса способствующему поддержанию воспалительных изменений в кишечной стенке.

В настоящее время изучается роль кишечной микрофлоры в регуляции деятельности центральной нервной системы (ЦНС), нарушение которой является одним из факторов возникновения и прогрессирования СРК. Кишечная микрофлора взаимодействует с ЦНС посредством иммунных, гуморальных и нервных механизмов. Сходство медиаторов нервной системы человека и сигнальных молекул бактерий как нельзя лучше подчеркивает важность «диалога» хозяина со своим микробиомом. Нарушения в этой цепи играют роль в патогенезе функциональных желудочно-кишечных и нервно-психических расстройств.

Состояние микробиоценоза кишечника имеет определенное значение в возникновении феномена висцеральной гиперчувствительности, наблюдаемого у пациентов с СРК при отсутствии значимых морфологических изменений со стороны кишечника. Ускоренный пассаж содержимого тонкой кишки в толстую способствует неполному расщеплению и всасыванию углеводов, поступающих с пищей, и их микробному сбраживанию в просвете толстой кишки. Микроорганизмы, участвующие в этом процессе, оказываются в более благоприятных для питания и размножения условиях, чем другие представители кишечной флоры, что ведет к дисбиозу кишечника. В результате усиленного брожения в толстой кишке образуется чрезмерная концентрация органических кислот и других осмотически активных веществ. Это влечет за собой трансудацию, а при длительном воздействии — экссудацию в просвет кишки как следствие воспаления слизистой оболочки. Возникающие разжижение и увеличение объема содержимого наряду с избыточным газообразованием приводят к растяжению толстой кишки и возбуждению ее перистальтики. Возникает диарея, иногда чередующаяся с запорами, вызванными опустошающим освобождением кишечника от раздражающего содержимого.

Вопрос о первичности микробиотических изменений толстого кишечника, приводящих к развитию СРК, остается на повестке дня. С одной стороны, дисбиоз, индуцированный кишечной инфекцией, является триггерным фактором развития СРК. Стойкие нейроиммунные повреждения, возникающие при этом, могут приводить к формированию сенсомоторных дисфункций, обуславливающих симптомы СРК. Установлено, что микрофлора кишечника способна влиять на моторику кишечника. *Bifidobacterium bifidum* и *Lactobacillus acidophilus* усиливают пропульсивную моторику, *Escherichia spp.* — угнетает. С другой стороны, значимые нарушения кишечной микрофлоры зачастую возникают на фоне СРК. Воздействие со стороны ЦНС на кишечную микрофлору осуществляется посредством автономной нервной системы, регулирующей моторику, секрецию и иммунную защиту. Расстройства перистальтики изменяют доступ пребиотиков к микроорганизмам и внутрипросветный pH. Изменение секреции слизи — важного компонента биопленки — также может способствовать изменению состава микрофлоры.

Автономная иннервация влияет на взаимодействие макрофагов и тучных клеток с микроорганизмами. В условиях стресса усиливается проницаемость

кишечного барьера, и антигены вызывают иммунный ответ в слизистой оболочке — активацию глиальных клеток и мастоцитов, гиперпродукцию интерферона  $\gamma$ , подавление экспрессии белков межклеточных контактов.

Активация блуждающего нерва способствует изменениям, существенно влияющим на микробный состав кишечника: повышаются выработка антимикробных пептидов ( $\alpha$ -дефензинов) клетками Панета и секреция катехоламинов, серотонина, цитокинов нейронами, иммунными и энтерохромаффинными клетками.

Микрофлора пациентов СРК может быть сгруппирована в отдельный кластер, который значительно отличается от такового у здоровых индивидов. Несмотря на гетерогенность нарушений микробиоценоза при СРК, можно выделить некоторые общие закономерности, такие как уменьшение бактериального разнообразия микрофлоры, превалирование бактерий группы *Eubacterium gestale* — *Clostridium soccooides* в биопленках слизистой оболочки подвздошной и толстой кишки, уменьшение доли *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides*, *Lactobacillus* (при СРК с диареей), увеличение количества *Lactobacillus*, *Ruminococcus*, *Enterobacteria*, *S. aureus*, *Veillonella* (при СРК с запором), снижение количества бутиратпродуцирующих бактерий *Roseburia* (*E. rectale*) и повышение количества сульфатпродуцирующих бактерий (повышение уровня сульфидов) (при СРК с запором). Уменьшение количества бифидобактерий у пациентов с СРК по сравнению с таковым у здоровых добровольцев отмечалось в большинстве проведенных исследований независимо от варианта заболевания.

У больных СРК на фоне общего снижения количества лактобацилл и бифидобактерий выявлено увеличение числа факультативных бактерий, в основном за счет стрептококков и *E. coli*. Последняя со сниженными ферментативными свойствами, а также гемолизующие штаммы кишечной палочки высевалась в количестве, достоверно превышающем нормальные показатели, причем подтипы СРК практически не оказывали влияния на частоту модификации ферментативных свойств кишечной палочки. У больных СРК с запорами несколько чаще высевалась *E. coli* со сниженными ферментативными свойствами, а у пациентов с диареей — гемолизующие штаммы кишечной палочки. Также у пациентов с СРК имел место повышенный уровень *Citrobacter* и грибов рода *Candida*.

Коррекция нарушений микробного пейзажа кишечника и возобновление эубиоза проводятся посредством применения пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков.

К пробиотикам-биоэнтеросептикам относится Энтерожермина, которая содержит полиантибиотикорезистентные споры 4 штаммов непатогенной бактерии *Bacillus clausii* (N/R, O/C, SIN и T), искусственно наделенных свойством устойчивости к антибактериальным препаратам вследствие включения в их структуру гена антибиотикорезистентности, позволяющего сохранять все присущие им пробиотические свойства при одновременном приеме с указанными медикаментами. Энтерожермина



Т.Д. Звягинцева

содержит живые микроорганизмы, не присутствующие в составе облигатной микробиоты человека (транзиторная микрофлора), но способные элиминировать оппортунистическую микробиоту кишечника. Восстановление микробиологического барьера с помощью препарата Энтерожермина осуществляется благодаря способности *V. clausii* занимать свободные экологические ниши на слизистых оболочках кишечника, тем самым противодействуя патогенной колонизации и максимально снижая вероятность получения генов устойчивости. Своеобразная механическая защита – т. н. бактериальная кольчуга – предотвращает адгезию энтеропатогенных микроорганизмов по принципу конкурентного блокирования специфических локусов с дальнейшей трансформацией в метаболитически активные формы 90% бацилл в течение 1-х суток.

*V. clausii* восстанавливает утраченную метаболическую активность микробиоты за счет синтеза метаболитов, принимающих участие в углеводном (8 ферментов), липидном (липазы) и белковом обменах (2 протеазы, в т. ч. щелочная). Сравнительный анализ 4 изогенных штаммов *V. clausii* показал дифференциальную экспрессию протеинов с выраженной пробиотической активностью, что свидетельствует о специфических полезных свойствах каждого штамма. В ходе секретомного анализа был выделен ряд химических соединений, которые обуславливают пробиотические свойства штаммов *V. clausii*. Благодаря  $\alpha$ -энולהзе устраняются энтеропатогенные бактерии путем конкуренции *V. clausii* за участок связывания со слизистой оболочкой кишечника. Дегидрогеназа обеспечивает транспорт жидкости внутрь и наружу клетки. Восстановление коммуникативной активности кишечника осуществляется за счет секреции белка GroEL, который участвует в процессах иммуномодуляции, стимуляции секреции IL-8. Флагеллин, кроме препятствования адгезии, является лигандом для рецепторов клеток врожденной иммунной системы человека. Ферменты супероксиддисмутазы и 2-цис-пероксиредоксин принимают участие в окислительно-восстановительных реакциях. ABC-транспортеры способствуют усваиванию питательных веществ, хемотаксису, антибиотико- и фунгирезистентности.

Детоксикационная активность *V. clausii* обеспечивается белками, принимающими участие в инактивации ряда активных ферментов, метаболитов азот- и углеродсодержащих соединений, мочевины, гистамина, билирубина, холестерина, нитратов, например N-ацетилмурамил-L-аланинамидазой – белком, катализирующим деградацию пептидогликана клеточной стенки бактерий. Белки *V. clausii* активно влияют на процессы транскрипции, обеспечивая прочтение и интерпретацию генетической информации. Синтезируемая бациллами аминоксидоминералогической ферментативной активностью ответственна за созревание и деградацию белков, контроль клеточного цикла.

Высокая устойчивость спор *V. clausii* к воздействию хлористоводородной кислоты, пепсина, желчных кислот позволяет им выживать и сохранять свойства пробиотика в кислой среде желудка (при pH >2) и содержимом двенадцатиперстной кишки (при pH >4). При попадании в неизменном виде в тонкий кишечник 90% спор *V. clausii* трансформируются в вегетативные формы в присутствии как желчи, так и ограниченного количества кислорода уже через 2 ч после приема внутрь. Оптимальной средой для развития пробиотических штаммов *V. clausii* является pH 8.

В процессе трансформации спор *V. clausii* в вегетативные формы происходит интенсивная продукция ряда физиологически активных веществ: ксиланазы, целлюлазы, субтилизины, лизоцима, амилазы и липазы, каталазы и оксидазы, нормализующих процессы пищеварения; M-, H-, N-протеазы, а также других катализаторов, участвующих в гидролизе крахмала, деконъюгации желчных кислот и др. *V. clausii* способствует гидролизу желатина и крахмала, редуцированию нитратов.

Также *V. clausii* продуцируют аминокислоты (треонин, глутаминовую кислоту, аланин, валин, тирозин, гистидин, орнитин и др.), в т. ч. незаменимые; витамин B<sub>2</sub> (SIN- и T-штаммы синтезируют около 20 нг, O/C, N/R – около 10 нг, что позволяет организму человека физиологически компенсировать витаминную недостаточность); около 200 антибиотиков и дипиколиновую кислоту, что свидетельствует об их антимикробной активности. Дипиколиновая кислота, выделяемая *V. clausii*, обладает антисептическим действием, ингибируя *in vitro* рост большинства патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и не влияя на микрофлору кишечника.

Антибиотикоподобные субстанции препарата Энтерожермина – бактериоцины, органические кислоты, микроцины – обладают антимикробными свойствами в отношении некоторых грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *C. difficile*, *C. perfringens*, *Listeria monocytogenes*). Однако ни один из пробиотических штаммов *V. clausii* не обладает активностью в отношении грамотрицательных бактерий и грибов.

К классу бактериоцинов относят лантибиотики, способствующие бактериальному лизису. Антимикробное действие *V. clausii* заключается в продукции лантибиотика типа А, который взаимодействует с липидным промежуточным соединением в биосинтезе полимеров стенок бактериальных клеток.

Вегетативные формы *V. clausii* оказывают опосредованное влияние на выраженность воспалительной реакции, процессы апоптоза, клеточного роста и дифференциации. В настоящее время рассматривается возможность применения *V. clausii* в качестве транспортного средства для пероральных вакцин.

Иммуномодулирующий эффект *V. clausii* заключается в специфической стимуляции выработки IgA, IgG и неспецифическом усилении продукции интерферона  $\gamma$ , а также в увеличении процентного содержания T-лимфоцитов, положительных в отношении антигенов гистосовместимости лейкоцитов-DR (HLA-DR), являющихся маркерами активации T-клеток, и в индуцировании активности синтазы NOS-2.

Учитывая резистентность штаммов *V. clausii* к основным классам антибактериальных препаратов, Энтерожермина применяется для профилактики дисбиоза кишечника, вызванного селективным действием антибиотиков, а именно пенициллинов, цефалоспоринов, аминогликозидов (канамицина, тобрамицина, амикацина), макролидов, тетрациклинов, хлорамфеникола, рифампицина, линкомицина, изониазида, циклосерина, налидиксовой и пипемидиновой кислот. В то же время препарат сохраняет чувствительность к карбапенемам, триметоприму/сульфаметоксазолу, фторхинолонам, гликопептидам, оксазолидинонам, стрептограминам.

Достоинством препарата Энтерожермина является доказанное в ходе лабораторных исследований отсутствие передачи гена антибиотикорезистентности патогенным микроорганизмам при широком клиническом применении. Доказано отсутствие передачи гена антибиотикорезистентности штамма SIN *V. clausii* микроорганизмам *E. faecalis* и *E. faecium*, которые являются представителями нормальной кишечной микрофлоры, и *Bacillus subtilis*, являющемуся филогенетически родственным видом. Считается, что риск переноса гена антибиотикорезистентности от штаммов *V. clausii* к другим микроорганизмам является минимальным.

Энтерожермина продемонстрировала хороший профиль безопасности, подтвержденный многолетним клиническим опытом. Одной из вероятных причин хорошей переносимости препарата может быть отсутствие в его составе балластных веществ, стабилизаторов и консервантов. Единственным вспомогательным веществом в препарате Энтерожермина является высокоочищенная вода.

Один флакон (5 мл) препарата Энтерожермина содержит  $2 \times 10^9$  спор полирезистентного штамма *V. clausii*. Препарат назначается внутрь по 1 флакону 2-3 р/сут или в капсулах по 2-3 капсулы в сутки в течение 7-14 дней. Препарат начинает действовать уже через 2 ч после приема.

Под нашим наблюдением находились 82 пациента с СРК с диареей – 55 (67%) женщин и 27 (33%) мужчин в возрасте от 22 до 50 лет. Длительность заболевания варьировала от 1 до 5 лет. Диагноз верифицирован при помощи клинко-лабораторных и инструментальных (ректороманоскопии, ирригографии и колоноскопии) методов исследования. Бактериологическое исследование фекалий проводилось при помощи посева на питательные среды согласно методическим рекомендациям по микробиологической диагностике дисбактериоза до лечения и через 2 нед после начала терапии.

Клинически до лечения у 52 (63%) больных СРК с диареей отмечались жидкий стул 3 р/сут и болевой синдром разной степени выраженности.

При бактериологическом исследовании кала до лечения у этих больных был выявлен дисбактериоз II степени – сниженное число бифидо- ( $<10^7$  КОЕ), лактофлоры ( $<10^6$  КОЕ) сочеталось с повышенным количеством условно-патогенной флоры (гемолизующая кишечная палочка 50-60%), *Klebsiella pneumoniae*  $>10^5$  КОЕ, *Enterobacter*  $>10^5$  КОЕ).

У 30 (37%) пациентов с СРК с диареей на фоне болевого синдрома имели место жидкий стул 4-5 р/день, дисбактериоз III степени – повышенное количество кишечной палочки со слабовыраженными ферментными свойствами ( $10^7$ - $10^8$  КОЕ) и условно-патогенной флоры (*K. pneumoniae*  $10^8$  КОЕ, *Enterobacter*  $>10^8$  КОЕ, *Citrobacter*  $10^8$  КОЕ), сниженное количество бифидо- и лактофлоры ( $10^5$ - $10^6$  КОЕ), выявлены также грибы рода *Candida* ( $10^4$ - $10^5$  КОЕ).

Все пациенты получали препарат Энтерожермина по 1 флакону 2 р/день за 30 мин до еды в течение 2 нед. После лечения микрофлора кишечника у 44 (85%) пациентов с дисбактериозом II степени (до лечения) восстановилась до эубиоза, у 8 (15%) участников сохранялись изменения, присущие дисбактериозу I степени (сниженное количество бифидобактерий до  $10^7$  КОЕ, лактобактерий до  $10^6$  КОЕ). Болевой синдром у этих больных после лечения не отмечался, число дефекаций восстановилось до 1 р/сут.

У 25 (83%) больных СРК с диареей, у которых до лечения отмечался дисбактериоз III степени, после лечения имели место нарушения микрофлоры, свойственные дисбактериозу I степени (сниженное количество бифидобактерий до  $10^7$  КОЕ, лактобактерий до  $10^6$  КОЕ, сниженное общее количество кишечной палочки), болевой синдром не выявлялся, стул восстановился до 1 р/сут.

У 5 (17%) пациентов с СРК с диареей и дисбактериозом III степени до лечения после терапии сохранялись изменения, характерные для дисбактериоза II степени, а именно повышенное количество условно-патогенной флоры (*K. pneumoniae*  $10^6$  КОЕ, *Enterobacter*  $10^6$  КОЕ), сниженное количество бифидобактерий (до  $10^7$  КОЕ), лактобактерий (до  $10^6$  КОЕ). У этих больных клинически сохранялись умеренно выраженные боли по ходу кишечника и неоформленный стул 2 р/сут.

**Таким образом, пробиотик-биоэнтеросептик Энтерожермина является полифункциональным препаратом, позволяющим проводить эффективную фармакотерапию нарушений микроэкологии кишечника у пациентов с СРК с диареей. Энтерожермина улучшает клиническую картину заболевания, восстанавливает микрофлору кишечника у больных с дисбиозом I и II степени. При наличии дисбиоза III степени для коррекции нарушений микрофлоры кишечника целесообразно назначение Энтерожермины сроком на 3-4 нед.**