

УДК 616.351-006.6-036.17:616-018.1]-07

***Перепадя С.В., Жуков В.І., Зайцева О.В., Книгавко В.Г., Мещерякова О.П., Мірошниченко Н.М.**

**Харківська академія післядипломного навчання, м. Харків, Україна*

Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна

Метаболічна активність мікробіоценозу кишечника у хворих на колоректальний рак

При формуванні нормальної мікрофлори людини й тварин у процесі еволюційного розвитку світу відбувалось взаємне пристосування до бактерій як навколишнього середовища, так і макроорганізму. В результаті відповідного відбору утворилась симбіотична «мікробна сім'я» [1, 2, 4]. Відомо, що з порушенням ендоекології мікробіоценозу кишечника відбуваються численні структурні, функціональні та метаболічні зміни, які лежать в основі формування різноманітних патофізіологічних станів організму, зокрема і може бути, колоректального раку [2, 5, 6]. Дослідження метаболічної активності мікробіоценозу кишечника та рівня ендогенної інтоксикації при новоутвореннях шлунково-кишкового тракту (ШКТ) намічає новий аспект в проблемі профілактики і терапії канцерогенезу – обґрунтування системи заходів з ендоекологічної реабілітації хворих, тобто проблема екології внутрішнього середовища організму на сьогодні підлягає найвимогливішим дослідженням [7].

Метою роботи було вивчення профілю мікробіоценозу кишечника у хворих на колоректальний рак (КРР) і обґрунтування залежності між типом метаболічного профілю «мікробної сім'ї», рівнем розвитку ендогенної інтоксикації та імовірністю розвитку канцерогенезу товстого кишечника.

Об'єкт і методи дослідження. Із 239 обстежених хворих у віці від 35 до 76 років встановлений діагноз рак прямої кишки (РПК) у 54, сигмоподібної кишки (РСК) – 62, сліпої кишки (РСЛК) – 27, поперечно-ободової (РПОК) – 66, товстої (РТК) – 30. Референтну групу склали 43 умовно здорових пацієнти аналогічного віку й статі. Для з'ясування рівня дисбіозу кишечника

загальноприйнятим бактеріологічним методом визначали у фекаліях кількість біфідобактерій, бактероїдів, лактобацил, ешерихій, цитратсинтезуючих бактерій, синьогнійних паличок, ентерококів, стафілококів, пептострептококів, дріжджеподібних грибів [2, 7]. Метаболіти мікробіоценозу кишечника – карбонові кислоти (оцтова, пропіонова, масляна, молочна); дикарбонові кислоти (α -кетоглутарова, щавелевооцтова); ароматичні сполуки (п-крезол, індол, скатол, фенілпропіонова кислота); аміни (метиламін, гістамін, серотонін) вивчали методом газорідинної хроматографії на хроматографі «Цвет 1000». Бар'єрну функцію кишечника оцінювали за методикою І.В. Гмошинського [10, 11], суть якої полягає у визначенні твердофазним двовалентним імуноферментним методом у сироватці крові рівня овальбуміну (ОВА) через 3 години після прийому хворим нативного курячого яєчного білка.

Статистична обробка отриманих результатів виконана методами варіаційної статистики, прийнятими в медицині, із застосуванням критеріїв Ст'юдента-Фішера.

Результати досліджень та їх обговорення. Як показав аналіз даних вивчення мікробіоценозу хімусу товстого кишечника, виявлено значне зниження кількості біфідобактерій, бактероїдів, лактобацил і цитратсинтезуючих ентеробактерій, відповідно на 7,0%; 22,6%; 66,0% і 52,4%. Разом з тим встановлено підвищення загальної кількості *Esherichia coli* (кишкова паличка) на 27%, особливо лактозонегативних – на 33% і гемолітичних форм – на 124% (табл. 1). Ці дані вказують на зміну метаболічної активності і вірулентності бактерій *Esherichia coli* та придбання ними умовно-патогенних властивостей.

Таблиця 1

Стан мікробіоценозу кишечника у хворих на КРР

Види мікроорганізмів	Кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) на 1 г фекалій (Lg), M \pm m	
	Хворі на КРР	Умовно здорові
Біфідобактерії	2,83 \pm 0,36*	9,73 \pm 0,65

Бактероїди	1,65±0,22*	9,45±0,82
Лактобацили	2,46±0,17*	7,24±0,44
Esherichia coli,	11,35±0,86	8,92±0,53
з них: лактозонегативні	8,97±0,45*	6,74±0,32
гемолітичні	2,83±0,27*	1,26±0,15
Цитратсинтезуючі ентеробактерії	2,16±0,19*	4,53±0,27
Синьогнійна паличка	3,75±0,28*	0
Ентерококи,	7,22±0,54*	5,43±0,48
з них: гемолітичні	2,34±0,36*	0
Стафілококи,	8,25±0,94*	2,86±0,35
з них: коагулазопозитивні	3,42±0,35*	0
Пептострептококи	7,28±0,52*	4,82±0,37
Клостридії	8,36±0,78*	3,65±0,46
Дріжджеподібні гриби,	12,24±1,15*	2,74±0,32
з них: Candida albicans	3,66±0,23*	0

Примітка: Lg – десятичний логарифм від КУО/г; * – $p < 0,05$ у порівнянні з даними референтної групи (умовно здорові).

Відомо, що гемолітичні і лактозонегативні види кишкових паличок продукують екзо- і ендотоксини, які проявляють інвазивні та адгезивні властивості до епітеліальних клітин слизової оболонки кишечника. У цих умовах вони здатні проникати в тканини, розмножуватись, викликати інтоксикацію на тлі хронізації запалення слизової кишечника, що супроводжується індукцією пробластомних цитокінів. У свою чергу пробластомні (прозапальні) цитокіни – інтерлейкіни (IL): IL-1 β , IL-6, IL-8 можуть впливати на експресію генів епітелію слизової оболонки кишечника і викликати індукцію перетворення нормальної клітини в злоякісну.

З неферментуючих мікроорганізмів спостерігалось збільшення числа колоній ентерококів на 32,9%; стафілококів – на 188%; пептострептококів – на

43,8%; клостридій – на 129% і дріжджеподібних грибів – на 346,7%. Серед умовно-патогенних мікроорганізмів у хворих на рак товстого кишечника визначалися синьогнійна паличка, гемолітичні ентерококи, коагулазопозитивні стафілококи і дріжджові гриби роду *Candida albicans*.

Дослідження мікробіоценозу при КРР свідчать про порушення міжвидових відносин мікрофлори в шлунково-кишковому тракті, динамічної рівноваги між мікроорганізмом і мікробними асоціаціями, що заселяють товстий кишечник. Це може бути однією з найважливіших причин зміни трофічної, захисної, метаболічної та імунологічної функцій, які притаманні фізіологічному біотипу мікробів товстого кишечника.

Дані дозволяють вважати, що у хворих на колоректальний рак активується прозапальна (пробластомна) мікрофлора, яка інгібує у нормальній мікрофлорі канцеролітичні властивості, а також канцеролітичні властивості різних органів і тканин [2, 6]. На думку багатьох авторів [4-7], канцеролітичні властивості організму можуть бути головними факторами протипухлинного захисту.

Вивчення протипухлинної активності мікробіоценозу кишечника може бути перспективним напрямком канцеролітичного захисту організму.

У табл. 2 наведені дані дослідження метаболічних показників мікробіоценозу у хворих на КРР.

Таблиця 2

Показники метаболічної активності мікробіоценозу товстого кишечника у хворих на КРР

Метаболічні показники (мг/л)	Група спостереження, М±m	
	Хворі на КРР	Умовно здорові
Карбонові кислоти:		
– оцтова	345,62±15,38*	1385,37±18,82
– пропіонова	78,43±6,25*	194,72±16,43
– масляна	54,27±4,52*	143,86±9,26
– молочна	86,33±7,14*	382,40±12,34

Дикарбонові кислоти:		
– α -кетоглутарова	68,34 \pm 4,92*	140,15 \pm 8,62
– щавелевооцтова	8,33 \pm 6,15	19,37 \pm 2,14
Ароматичні сполуки:		
– п-крезол	5,44 \pm 0,26*	1,14 \pm 0,04
– індол	6,18 \pm 0,35*	1,32 \pm 0,03
– скатол	6,53 \pm 0,42*	1,27 \pm 0,02
– фенілпропіонова кислота	4,96 \pm 0,37*	1,15 \pm 0,012
Аміни:		
– метиламін	2,53 \pm 0,22*	0,32 \pm 0,014
– гістамін	2,66 \pm 0,18*	0,28 \pm 0,018
– серотонін	8,24 \pm 0,57*	1,62 \pm 0,15

Примітка: * – $p < 0,05$ у порівнянні з даними референтної групи (умовно здорові).

Виявлено значне зниження в екстракті фекалій вмісту карбонових кислот: оцтової, пропіонової, масляної та молочної, відповідно, на 75%; 60%; 66,3% і 77,8%, що узгоджується зі зниженням кількості захисної анаеробної кишкової мікрофлори (біфідобактерії, бактероїди, лактобацили). Спостерігалось зниження фізіологічних рівнів α -кетоглутарової, щавелево-оцтової кислот на 51,5% і 62%, що підтверджує слабку біохімічну активність як аеробних, так і анаеробних кишкових бактерій. Мікробіологічний профіль фекальних сполук характеризувався збільшенням більш ніж в 4 рази загальної кількості ароматичних субстратів – п-крезолу, індолу, скатолу і фенілпропіонової кислоти. Загальна кількість ароматичних речовин підвищувалась на 377%, п-крезолу – на 368%, індолу – на 414% і фенілпропіонової кислоти – на 279%. При дослідженні амінів – метиламіну, гістаміну і серотоніну – встановлено підвищення декарбоксилазної активності представників мікробіоценозу товстого кишечника у відношенні циклічних амінокислот (гістидин, триптофан). В екстрактах фекалій хворих на КРР у порівнянні з референтною

групою виявлено збільшення в 8 разів вмісту метиламіну (на 690%); гістаміну – в 9 разів (на 850%) і серотоніну – в 5 разів (на 408%).

Разом з тим слід зазначити, що при оцінці метаболічного профілю мікробіоценозу товстого кишечника в референтній групі спостереження було встановлено підвищення до рівнів хворих на КРР у трьох (7%) пацієнтів вмісту метиламіну, гістидину, серотоніну та у 9,3% пацієнтів – п-крезолу, індолу, скатолу, що характеризувало порушення у частині здорових пацієнтів міжвидових відносин, біохімічної активності мікрофлори і розвиток гнильних процесів. Ці дані дозволяють, з урахуванням літературних і власних досліджень, віднести таких умовно здорових пацієнтів до групи ризику можливого розвитку онкопатології товстого кишечника.

Результати досліджень свідчили, що провідним метаболічним профілем мікробіоценозу при раці товстого кишечника є значне накопичення біогенних амінів – метиламіну, серотоніну і гістаміну, що може мати прогностичне значення для діагностики, патогенетичної терапії та визначенні ролі харчових нутрієнтів у механізмах формування онкопатології, а також у виявленні групи ризику людей серед населення, які страждають дисбіотичними розладами ШКТ.

Дослідження бар'єрної функції кишечника виявили суттєві порушення проникності тонкого кишечника у хворих на КРР і його метаболічної активності (табл. 3).

Таблиця 3

Вміст овальбуміну в сироватці крові хворих на КРР до і після харчового навантаження яєчним білком в залежності від локалізації пухлинного процесу та статі

Локалізація раку	Концентрація ОВА (нг/мл), М±m			
	Чоловіки		Жінки	
	До харчового навантаження	Після харчового навантаження	До харчового навантаження	Після харчового навантаження
РПК	0,97±0,34	22,6±4,3*	0,86±0,30	23,4±5,6*

РСлК	0,85±0,28	24,3±4,1*	0,82±0,34	22,8±4,5*
РСК	0,93±0,32	28,4±5,8*	0,90±0,27	27,9±6,3*
РПОК	0,86±0,30	23,6±4,7*	0,82±0,29	24,5±4,3*
РТК	0,98±0,35	23,2±3,8*	0,92±0,36	22,6±4,1*
Умовно здорові	0,56±0,13	0,75±0,19	0,52±0,17	0,68±0,21

Примітка: * – $p < 0,05$ у порівнянні з даними референтної групи (умовно здорові).

Так, вивчення вмісту в сироватці крові овальбуміну після харчового навантаження нативним курячим білком у групі умовно здорових пацієнтів показало підвищення його концентрації на 34% і 31% відповідно у чоловіків і жінок. У хворих на КРР у порівнянні з референтною групою середнє значення концентрації ОВА до харчового навантаження у чоловіків і жінок були підвищені при всіх формах канцерогенезу більш ніж на 50%. Однак слід зазначити, що ці результати були все ж таки при наявності великих значень помилки середньої статистично невірними в порівнянні з групою умовно здорових пацієнтів. Після виконання процедури з харчовим навантаженням вміст досліджуваного білка в сироватці крові чоловіків збільшувався при РПК в 23,2; РСК – в 28; РСлК – в 30,5; РПОК – в 27,4 і РТК – в 23,6 рази.

Подібна динаміка зміни концентрації ОВА в сироватці крові спостерігалась і у жінок: при РПК відзначалось підвищення ОВА в 27,2; РСлК – в 27,8; РСК – в 31; РПОК – у 29,8 і РТК – в 24,5 рази. В усіх випадках при пероральному надходженні нативного білка в ШКТ його концентрація через трьохгодинну експозицію підвищувалась у сироватці крові більш ніж в 20 разів. Однак, найбільш високі рівні ОВА в крові були виявлені як у чоловіків, так і жінок, при РСК, РСлК та РПОК. Суттєвих відмінностей у динаміці накопичення ОВА між жінками і чоловіками не виявлено ($p > 0,05$).

Результати вивчення бар'єрної функції тонкого і товстого кишечника свідчили про порушення структурно-функціонального і метаболічного станів

епітелію, яке пов'язане зі збільшенням його проникності при колоректальному раці і може служити однією із провідних причин розвитку токсифікації організму метаболітами травлення і продуктами життєдіяльності мікробіоценозу, що, у свою чергу, може бути преморбідним станом розвитку канцерогенезу ШКТ.

Аналіз і узагальнення отриманих результатів дозволяють зробити наступні висновки:

1. Рак товстого кишечника супроводжується пригніченням захисної і активацією умовно-патогенної мікрофлори, якій властива пробластомна дія, що потенціює розвиток канцерогенезу. Провідним метаболічним профілем мікробіоценозу при раці товстого кишечника є амінний тип, що супроводжується накопиченням біогенних амінів – метиламіну, серотоніну і гістаміну. Пацієнти, у яких мікробіоценоз кишечника має амінний метаболічний тип, можуть бути групою ризику розвитку колоректального раку.

2. Колоректальний рак протікає на тлі дисбіозу шлунково-кишкового тракту та порушення бар'єрної функції товстого кишечника, що супроводжується збільшенням його проникності і зміною метаболічної активності залозистого апарату і функції травлення, що може виступати найважливішою ланкою індукції канцерогенезу і зниження специфічної і неспецифічної імунологічної резистентності організму. У всіх випадках відзначається спряженість профілю мікробіоценозу, бар'єрної функції кишечника та рівня ендогенної інтоксикації.

Бібліографічний список

1. Бабак О.Я. Синдром дисбіотичних порушень мікрофлори кишечника: сучасний погляд на проблему / О.Я. Бабак // Сімейна медицина. – 2006. – №2. – С. 4-6.

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 // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2008. – Т. 146, №11. – С. 552-555.

3. Низов А.А. Прогностическое значение проницаемости кишечного барьера при заболеваниях желудочно-кишечного тракта / А.А. Низов, И.В. Гмошинский, А.С. Луняков [и др.] // Российский журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1996. – №3. – С. 26-29.

4. Bozzetti F. Nutritional support and tumor growth in humans: a narrative review of the literature / F. Bozzetti, V. Mori // Clin. Nutr. – 2009. – №28. – P. 226-230.

5. Gellad Z.F. Colorectal cancer: national and international perspective on the burden of disease and public health impact / Z.F. Gellad, D. Provenzale // Gastroenterology. – 2010. – №138. – P. 2177-2190.

6. Schwandner O. Clinicopathologic and prognostic significance of matrix metalloproteinases in rectal cancer / O. Schwandner, A. Schlamp, R. Broll, H.P. Bruch // Int. J. Colorectal Dis. – 2007. – №22. – P. 127-136.

7. Wolpin B.M. Adjuvant treatment of colorectal cancer / B.M. Wolpin, J.A. Meyerhardt, H.J. Mayer // CA Cancer J. Clin. – 2007. – №57. – P. 168-185.