

УДК 616.345-053.2:616.72-002.77-08

В.В. Бережний, Ю.І. Бондарець

Порушення мікробіому товстого кишечника та його корекція у хворих на ювенільний ревматоїдний артрит

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ, Україна

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA.2019.2(98):76-84; doi 10.15574/SP.2019.98.76

Мета: дослідити стан мікробіоти товстого кишечника у хворих з ювенільним ревматоїдним артритом (ЮРА) на тлі лікування базисними, біологічними та хворобо-модифікуючими препаратами та оцінити ефективність комбінованого синбіотичного препарату (Ротабіотик) при виявлених порушеннях.

Матеріали і методи. Обстежено 29 дітей віком від 1,5 до 16 років з ЮРА. Проведено загальноклінічне, інструментальне обстеження згідно з Уніфікованим клінічним протоколом медичної допомоги дітям, хворим на ювенільний артрит (наказ МОЗ України №832 від 22.10.2012 р.). Додатково усім дітям проведено бактеріологічне дослідження фекалій до та після виявлених порушень мікробіоти кишечника.

Результати. При обстеженні шлунково-кишкового тракту у хворих з ревматоїдним артритом мали місце скарги: періодичний біль у животі — у 23 (79,31%), зниження апетиту — у 20 (68,97%), метеоризм — у 12 (41,38%), схильність до запорів — у 10 (34,48%) дітей. Встановлено порушення мікробіоценозу у 23 пацієнтів за рахунок зменшення кількості лакто- та біфідобактерій $<10^6$ КУО, а також збільшення кількості умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів: гриби роду *Candida* — у 5 (21,74%), стафілококи (гемолітичні, плазмкоагулюючі) — у 5 (21,74%), *Klebsiella pneumoniae* — у 3 (14,04%), *Enterococcus faecium* — у 2 (8,70%), *E. coli* зі зміненими ферментативними властивостями — у 2 (8,70%), *Proteus mirabilis* — у 1 (4,35%) хворого. Дисбіоз I ст. діагностовано у 8 (34,78%), II ст. — у 9 (39,13%), III ст. — у 6 (26,09%) пацієнтів. Після корекції мультикомпонентним синбіотичним комплексом (Ротабіотик) спостерігалась нормалізація мікрофлори товстого кишечника у 16 дітей (69,57%) ($p < 0,001$). Дисбіотичні зміни I ст. зберігались у 7 (30,43%) дітей, у яких на початку дослідження діагностовано дисбіоз II–III ст.

Висновки. У хворих на ЮРА на тлі лікування базисними протиревматичними, нестероїдними протизапальними та біологічними препаратами встановлено порушення мікробіоти товстого кишечника з розвитком дисбіозу різного ступеня, що ускладнює перебіг основного захворювання і погіршує якість життя. Використання мультикомпонентного синбіотичного препарату (Ротабіотик) у комплексному лікуванні хворих на ЮРА є ефективним засобом корекції порушень мікробіоценозу товстого кишечника.

Ключові слова: діти, ювенільний ревматоїдний артрит, мікробіоценоз товстого кишечника, дисбіоз, синбіотичний препарат.

Impaired colon microbiome and its correction in patients with juvenile rheumatoid arthritis

V.V. Berezhniy, Yu.I. Bondarets

Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine

Objective: to investigate the state of the colon microbiota in patients with juvenile rheumatoid arthritis (JRA) against the background of treatment with basic, biological disease-modifying drugs and to evaluate the effectiveness of the combined synbiotic preparation (Rotabiotic) with the revealed violations.

Materials and methods. In total of 29 children aged 1.5 to 16 years old were diagnosed with juvenile rheumatoid arthritis. A general clinical, instrumental examination was performed in accordance with a unified clinical protocol of medical care for children suffering from juvenile rheumatoid arthritis (Ministry of Health Order № 832 of October 22, 2012). In addition, all children underwent bacteriological examination of feces before and after the identified violations of the intestinal microbiota.

Results. When examining the gastrointestinal tract in patients with rheumatoid arthritis, there were complaints: intermittent abdominal pain in 23 (79.31%), loss of appetite — in 20 (68.97%), flatulence — in 12 (41.38%), tendency to constipation — in 10 (34.48%) children. A violation of the microbiocenosis was found in 23 patients by reducing lactic and bifidobacteria of $<10^6$ CFU, as well as increasing the number of conditionally pathogenic and pathogenic microorganisms: *Candida* fungi in 5 (21.74%), staphylococci (hemolytic, plasma-coagulating) in 5 (21.74%), *Klebsiella pneumoniae* in 3 (14.04%), *Enterococcus faecium* in 2 (8.70%), *E. coli* with altered enzymatic properties in 2 (8.70%) and *Proteus mirabilis* in 1 (4.35%) of the patient. I degree dysbiosis was diagnosed in 8 (34.78%), stage II — in 9 (39.13%), stage III — in 6 (26.09%) patients. After correction with a multicomponent synbiotic complex (rotabiotic), colon microflora normalization was observed in 16 (69.57%) children ($p < 0.001$). Dysbiotic changes in I st were preserved in 7 children (30.43%), who were diagnosed with dysbiosis II–III at the beginning of the study.

Conclusions. In patients with juvenile rheumatoid arthritis, on the background of treatment with basic antirheumatic drugs, non-steroidal anti-inflammatory drugs and biological antirheumatic drugs, a violation of the microbiota of the large intestine with the development of dysbiosis of various degrees has been established, which complicates the course of the underlying disease and worsens the quality of life. The use of a multicomponent synbiotic drug (rotabiotics) in the complex treatment of patients with JRA is an effective means of correcting disorders of the colon microbiocenosis.

Key words: children, juvenile rheumatoid arthritis, colon microbiocenosis, dysbiosis, synbiotic drug.

Нарушение микробиома толстого кишечника и его коррекция у больных ювенильным ревматоидным артритом

В.В. Бережний, Ю.І. Бондарець

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, г. Киев, Украина

Цель: исследовать состояние микробиоты толстого кишечника у больных ювенильным ревматоидным артритом (ЮРА) на фоне лечения базисными, биологическими болезньюмодифицирующими препаратами и оценить эффективность комбинированного синбиотического препарата (Ротабиотик) при выявленных нарушениях.

Материалы и методы. Обследовано 29 детей в возрасте от 1,5 до 16 лет с ЮРА. Проведено общеклиническое, инструментальное обследование согласно Унифицированному клиническому протоколу медицинской помощи детям, больным ювенильным артритом (приказ МЗ Украины №832 от 22.10.2012 г.). Дополнительно всем детям проведено бактериологическое исследование фекалий до и после выявленных нарушений микробиоты кишечника.

Результаты. При обследовании желудочно-кишечного тракта у больных ревматоидным артритом имели место жалобы: периодическая боль в животе — у 23 (79,31%), снижение аппетита — у 20 (68,97%), метеоризм — у 12 (41,38%), склонность к запорам — у 10 (34,48%) детей. Установлено нарушение микробиоценоза у 23 пациентов за счет уменьшения лакто- и бифидобактерий $<10^6$ КОЕ, а также увеличения количества условно-патогенных и патогенных микроорганизмов: грибы рода *Candida* — у 5 (21,74%), стафилококки (гемолитические, плазмкоагулирующие) — у 5 (21,74%), *Klebsiella pneumoniae* — у 3 (14,04%), *Enterococcus faecium* — у 2 (8,70%), *E. coli* с измененными ферментативными свойствами — у 2 (8,70%) и *Proteus mirabilis* — у 1 (4,35%) больного. Дисбиоз I ст. диагностирован у 8 (34,78%), II ст. — у 9 (39,13%), III ст. — у 6 (26,09%) пациентов. После коррекции мультикомпонентным синбиотическим комплексом (Ротабиотик) наблюдалась нормализация микрофлоры толстого

кишечника у 16 (69,57%) детей ($p < 0,001$). Дисбиотические изменения I ст. сохранялись у 7 (30,43%) детей, у которых в начале исследования диагностирован дисбиоз II–III ст.

Выводы. У больных ЮРА на фоне лечения базисными противоревматическими, нестероидными противовоспалительными и биологическими противоревматическими препаратами установлено нарушение микробиоты толстого кишечника с развитием дисбиоза различной степени, что осложняет течение основного заболевания и ухудшает качество жизни. Использование мультикомпонентного синбиотического препарата (Ротабиотик) в комплексном лечении больных ЮРА является эффективным средством коррекции нарушений микробиоценоза толстого кишечника.

Ключевые слова: дети, ювенильный ревматоидный артрит, микробиоценоз толстого кишечника, дисбиоз, синбиотический препарат.

Вступ

Кишковий гомеостаз визначається станом нормальної микробиоти слизової оболонки, колонізаційною резистентністю, мукозальним імунітетом. Кількісний та якісний склад мікрофлори дитини служить чутливим індикатором здоров'я і є клінічним маркером порушення гомеостазу. Важлива роль при цьому належить микробиому товстого кишечника як одному з найбільших біотопів, що містять нормальну мікрофлору людини. Кожна людина має унікальну, тільки їй притаманну, мікрофлору, яка залежить від особливостей режиму харчування, складу сім'ї, захворювань і їх лікування, регіональних відмінностей тощо.

Мікробіом розглядається як додатковий орган людини з впливом на всі функції організму. Його маса в товстому кишечнику становить від 1,2 до 2 кг.

Останніми роками сформувалося поняття типів кишкових мікробних співтовариств (ентеротипів або кластерів). Виділяють три ентеротипи: перший ентеротип включає роди *Bacteroides* і *Parabacteroides*, у тому числі лакто- та біфідобактерії, які володіють високою активністю щодо ферментації вуглеводів, білків та гліколізу. До другого типу відносять рід *Prevotella*. Третій ентеротип складається з родів *Ruminococcus*, *Clostridiales* (тип *Firmicutes*), які спричиняють деструкцію муцину, підвищуючи проходження вуглеводів через слизову оболонку кишечника. Формування ентеротипів багато в чому залежить від харчування.

Основний резервуар микробиоти людини знаходиться у товстому кишечнику і представлена облігатною (головною) мікрофлорою — анаеробними сахаролітичними бактеріями (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*). Перші три роди бактерій, які належать до першого ентеротипу, відіграють головну роль у підтриманні фізіологічного стану кишкового біоценозу [16]. Друга група микробиоценозу (другий ентеротип) — це факультативна (супутня) мікрофлора (*Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Fusobacterium*, *Clostridium* та ін.), яка представлена умовно-патогенними видами,

що виконують певні фізіологічні функції (синтез біологічно активних речовин, активація імунної системи, метаболізм речовин тощо). Проте при перевищенні їх популяцій у людини можуть виникати захворювання кишкового тракту. До третьої групи біоценозу належить транзиторна (алохтонна) мікрофлора (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Bacillus* та ін.), яка знаходиться у нормі в товстому кишечнику в незначній кількості.

До складу микробиому входять бактеріальний (бактеріом), вірусний (віром), фаги бактерій та архей (фагобіом), група вірусів, які вибірково вражають бактеріальні клітини (бактеріофаги), грибовий (міком), протозойний (найпростіші).

Основними функціями микробиоти є: метаболічна, захисна, імуногенна, генетична, детоксикаційна, синтетична (синтез нутрієнтів, вітамінів групи В, К, С, фолієвої та ніотинової кислот). При цьому головну роль виконують біфідо- та лактобактерії.

Роль біфідобактерій у микробиомі людини

Згідно з класифікацією, рід *Bifidobacterium* складається з 32 видів, з яких найчастіше в кишечнику дітей знаходять *B. bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis* та *B. adolescentes*.

Формування микробної екологічної системи дитини починається з періоду новонародженості при проходженні через пологові шляхи матері та при грудному вигодовуванні. У дітей на грудному вигодовуванні домінує спектр біфідобактерій, представлений вищезазначеними видами. Стимуляцію росту нормальної мікрофлори в грудному періоді дитини здійснюють біфідогенні фактори грудного молока — олігосахариди. Найбільш значущими фізіологічними функціями біфідофлори у людей є участь у метаболічних процесах — ферментації вуглеводів з утворенням коротколанцюгових жирних кислот (оцтової, молочної, мурашиної та бурштинової), що є трофічним субстратом для колоноцитів [18]. Біфідобактерії беруть участь у метаболізмі жовчних кислот, холестерину, гормонів, ксенобіотиків; синтезують бактеріоцини, антибіотики, лізоцим, пероксид водню; володіють високою імуностимулюючою активністю;

покращують процеси гідролізу та абсорбцію ліпідів, протеїнів, вуглеводів; беруть участь у мінеральному обміні (заліза, кальцію, магнію).

Однією з важливих функцій біфідобактерій є перешкоджання адгезії і колонізації кишечника умовно-патогенною мікрофлорою (УПМ). Факторами прикріплення бактерій до епітеліальних клітин або субстрату (адгезії) є ворсинкоподібні структури – вирости, які виявлені у *B. bifidum*, *B. longum subsp longum*, *B. breve*, *B. dentium*, *B. adolescentes* та *B. animalis subsp. lactis*. Розміри ворсинкоподібних структур (ниток) різні і відрізняються довжиною, висотою та шириною ворсинок [23]. У якості адгезинів важливу роль відіграють поверхнево-активні білки з ферментативною активністю. У *B. bifidum* адгезином до муцину служить фермент трансальдолаза [24]. Ще одним фактором адгезії біфідобактерій до епітеліальних клітин є цукролітичний фермент енолаза, а також полімер ліпоейхоева кислота [20,21,30]. Завдяки наявності кількох факторів адгезії біфідобактерії успішно конкурують у боротьбі за сайти зв'язування на слизовій з патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами та при різноманітних патологічних станах дозволяють розкрити патогенетичну сутність мікроекологічних порушень кишечника [6].

Роль лактобактерій у мікробіомі людини

Широким спектром фізіологічних функцій у біоценозі товстого кишечника володіють лактобацили, які також розповсюджені в інших екосистемах: вагінальний біотоп, порожнина рота. Колонізація лактобацилами новонародженої дитини розпочинається при проходженні пологових шляхів матері, а також мікробним складом грудного молока. Грудне молоко крім біфідобактерій містить також лактобацили, кластридії, стрептококи, стафілококи і бактероїди. Одними з перших у грудному молоці були виділені *Lactobacillus gasseri*, *fermentum*, *rhamnosus*, *lactis*, *salivarius*, *reuteri*. Надалі відбувається зміна якісного складу мікробіоти дитини при введенні прикорму та харчуванні різними продуктами. Інший склад мікробіому дитини при штучному вигодовуванні та при частих використаннях антибактеріальних препаратів.

Рід *Lactobacillus* включає близько 60 видів, типовим представником цього виду є *Lactobacillus delbrueckii ssp Bulgaricus*. Одним з перших визначив роль молочнокислих бактерій (МКБ), переважно болгарської палички, у покращенні фізичного та психічного здоров'я людей І.І. Мечников, який розробив та використовував чисті культури МКБ («Лактобацимен»). На сьогодні

годні *Lactobacillus bulgaricus* використовується при створенні багатьох пробіотиків, кисломолочних продуктів (йогуртів, заквасок). *Lactobacillus bulgaricus* є транзиторним мікроорганізмом. Незважаючи на те, що вона не володіє адгезивними властивостями, має важливе значення для становлення нормального мікробіоценозу кишечника, володіє пригнічуючою властивістю по відношенню до *E.coli*, сальмонел, стрептококів шляхом продукції антибактеріальних речовин – перекису водню, молочної кислоти, термолабільної бактеріоциноподібної субстанції, чутливої до дії протеаз, та термостабільної речовини [2,19,27]. Вона здатна розщеплювати лактозу у дітей при її непереносимості. Деякі штами *Lactobacillus bulgaricus* стимулюють вироблення інтерферону, що свідчить про їх важливу захисну роль в імунній системі.

Лактобацили характеризуються високим рівнем синтезу молочної кислоти, адгезією до епітелію, імуномодельючою активністю, широким спектром синтезу бактеріоцинів (перекис водню, лактоцин, плантацин, ацидоцин, баварицин тощо). Беруть активну участь у метаболізмі білків, жирів, вуглеводів, жовчних кислот, холестерину, оксалатів, сприяють елімінації з кишечника *Helicobacter pylori*.

Слід зазначити, що існує штамоспецифічність індигенної мікрофлори по відношенню до метаболічної, бар'єрної, захисної, імунної та інших функцій. Однією з найважливіших функцій нормальної мікрофлори людини є стимуляція вродженого імунітету, формування імуногенної толерантності з переважанням Th-1 відповіді, модуляція продукції цитокінів – фактору некрозу пухлини α (ФНО- α), інтерферону γ (ІНФ- γ), інтерлейкіну 12 (ІЛ12) та проти-запальних – ІЛ4, ІЛ10, модуляція дендритних клітин, секреція sIgA [6].

Найчастіше з біотопів людини виділяють *Lactobacillus acidophilus*, *casei*, *plantarum*, *fermentum*, *brevis*, *salivarius*, *gasseri*, *helveticus*, *rhamnosus*, *reuteri* [17].

Одним з найбільш досліджених мікроорганізмів кишечника дітей є *Lactobacillus acidophilus*, яка стійка до шлункового соку та має високу адгезивну здатність до слизової оболонки кишечника, підсилюючи, таким чином, її бар'єрну функцію. Доведено, що *L. acidophilus* продукує природний антибіотичний фактор – ацидоцин, який володіє бактерицидною дією по відношенню до метицилінрезистентного золотистого стафілокока та *Clostridium difficile* [2,26]. Має високий антимікробний ефект проти

E. coli, *Salmonella*, *Candida albicans*, тому широко призначається пацієнтам, які страждають на кишкові розлади (діарея, синдром подразненого кишечника). Завдяки високій адгезивній активності до слизової оболонки піхви, шийки матки та уретри вона використовується для лікування та профілактики інфекцій сечовивідної системи, бактеріального вагінозу. Відновленню нормофлори сечовивідних шляхів і піхви сприяє вироблення перекису водню і зниження рН. Використання *L. acidophilus* у комплексному лікуванні *Helicobacter pylori* підвищує ефективність терапії [1].

Під впливом різних екзо- та ендогенних факторів (антибактеріальна терапія, порушення харчування дітей, використання консервантів та різних лікувальних засобів, вплив алкогольних продуктів, стрес) виникають зміни кількісного та якісного складу мікрофлори, тобто розвиток дисбіозу. Зміна складу кишкової мікрофлори може сприяти пошкодженню ентероцитів, зниженню активності системи локального імунного захисту та порушенню фізіологічних процесів у кишечнику, що призводить до підвищеної проникності для макромолекул та компонентів коменсальної мікрофлори, порушення моторики, зниження захисних властивостей приєпітеліального слизового бар'єру та створення умов для патогенних мікроорганізмів з розвитком позакишкових захворювань [22,11,14]. У літературі зустрічаються такі назви синдрому підвищеної проникності: синдром «дірявого» кишечника або «протікання».

Порушення енетротипу кишкового мікробіому відображається на стані макроорганізму і може призвести до розвитку таких захворювань, як ожиріння, цукровий діабет, ревматоїдний артрит, функціональні і запальні зміни кишечника.

При дисбіозі кишечника можливий розвиток захворювання шлунково-кишкового тракту (функціональна диспепсія, хронічний гастродуоденіт, виразкова хвороба та ін.), обумовленого *Helicobacter pylori*, що сприяє високій частоті розвитку ерозивно-виразкових пошкоджень слизової оболонки гастродуоденальної зони, високій проникності слизової оболонки для антигенів та патогенних мікроорганізмів (*Ureaplasma urealyticum*, *Clostridium difficile*, клібсієла, кишкова паличка, стафілококи).

На сьогодні встановлена роль кишкової бактеріальної інфекції як пускового (тригерного) фактору розвитку реактивних артритів (РА).

Це стосується таких збудників, як *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Chlamydia*, що через пошкоджений бар'єр кишечника потрапляють у кров'яне русло та синовіальні клітини суглобів, викликаючи розвиток аутоімунного запалення [25].

У розвитку РА у дітей велике значення мають спадкові та середовищні фактори, серед яких найбільшу роль грає вірусна або вірусно-бактеріальна інфекція. За даними деяких авторів, питома вага гострих респіраторних вірусних інфекцій, які спровокували розвиток ювенільного РА (ЮРА), становила 42% випадків [3].

Інфекційна теорія розвитку РА підтверджена результатами дослідження, проведеними в ревматологічному відділенні наукового центру здоров'я дітей РАМН. Так, у 70% хворих на ЮРА виділені маркери різноманітних бактеріальних інфекцій у біологічних рідинах, при цьому у 50% пацієнтів частіше зустрічались збудники хламідійної, мікоплазменої, стрептокової, стафілокової інфекції [15].

Артритогенною активністю володіють також віруси (парвовірус В19, віруси ЕСНО, Коксакі, Епштейн—Барр). За даними деяких досліджень, вірус Епштейн—Барр виявлений у синовіальній оболонці та рідині [28]. Також у пацієнтів з РА у синовіальній рідині виявлялися антитіла до цитомегаловірусу, вірусу краснухи, кору, герпесвірусів у поєднанні з мікоплазмою та хламідіями [12].

Таким чином, сформувався концепція одного з ланцюгів патогенезу РА — ролі патогенної мікрофлори та вірусної інфекції як тригерного фактору в механізмі розвитку аутоімунного захворювання.

При РА окрім ураження суглобів спостерігаються зміни в інших органах і системах. Серед позасуглобових системних проявів РА виявляється патологія товстого кишечника з диспептичними проявами (абдомінальний біль, діарея, запор, метеоризм) та наявністю кишкового дисбіозу різного ступеня зі зменшенням кількості лакто- та біфідобактерій, формуванням вірусно-бактеріально-грибкових асоціацій [4]. При тривалості захворювання п'ять і більше років, за даним авторів, у 27% пацієнтів з РА за результатами ендоскопії і морфологічного дослідження виявлений синдром подразненого кишечника, а у більшості хворих (72,9%) діагностований хронічний невиразковий коліт і/або виразковий проктосигмоїдит.

За результатами дослідження інших авторів, у хворих на РА при проведенні морфологічного

дослідження біоптату слизової товстої кишки виявлені зміни у власній пластинці (lamina propria) з інфільтрацією лімфоцитами, плазмосидами, мікроерозіями [10].

Морфологічні зміни товстої кишки при РА підтверджені також результатами ще одного дослідження. Так, при моделюванні ЮРА у експериментальних тварин виявлені ультраструктурні ознаки дистрофії ендотеліоцитів слизової оболонки товстої кишки, наявність запальних інфільтратів з лімфоцитів, опасистих клітин і макрофагів навколо судин у власній пластині слизової оболонки, що свідчить про розвиток аутоімунного васкуліту та коліту [7].

Серед причин, які призводять до порушення нормального мікробіоценозу товстої кишки, важливе місце займає вплив фармакологічних препаратів. Рядом досліджень встановлений негативний вплив антибіотикотерапії на стан мікробіому кишечника, що корелює з ризиком розвитку ЮРА. При повторних курсах антибіотикотерапії, особливо у дітей раннього віку, виникають великі труднощі у відновленні кількісного та якісного складу мікрофлори кишечника, що спричиняє функціональні та метаболічні порушення у його роботі з високою вірогідністю розвитку аутоімунних захворювань [9].

Крім антибіотиків на стан мікробіому кишечника впливають протиревматичні засоби, імунобіологічна терапія. За даними деяких авторів, у 76% хворих на РА, які лікувались нестероїдними протизапальними препаратами (НПЗП) та метотрексатом, виявлявся дисбіоз кишечника, переважно III–IV ст. Розвиток дисбіозу також мав місце у пацієнтів, які приймали НПЗП разом з глюкокортикостероїдами (ГКС), – 42,2% обстежених. У всіх обстежених встановлені якісні та кількісні зміни мікрофлори кишечника за рахунок зниження лакто- і біфідобактерій. У пацієнтів, які приймали НПЗП і метотрексат, виділялись також УПМ (*Enterobacter spp*, *Clostridia spp*) і мікробні асоціації УПМ з *Candida spp*. У хворих, що отримували системні ГКС, переважав кандидозний дисбіоз (42,8% випадків), у той час як при лікуванні лише НПЗП у фекаліях виявлялися гемолізуюча паличка та золотистий стафілокок – 17,6% обстежених [8].

Результатами іншого дослідження було встановлено, що при лікуванні РА тільки НПЗП порушення мікробіоценозу відмічалось у 75% хворих, з них у 35% випадків мав місце

дисбіоз кишечника III–IV ст. і при цьому у 12% пацієнтів виявлялася тільки *Clostridium perfringens* [13].

За даними закордонних авторів, на ранніх стадіях РА (тривалість хвороби ≤ 6 міс.) за допомогою проточної цитометрії РНК-гібридації і ДНК-фарбування у фекальному мікробіомі хворих, які приймали хворобо-модифікуючі препарати та ГКС, виявлено зменшення кількості біфідобактерій та бактерій групи *Bacteroides* – *Porphyromonas* – *Prevotella*, *Bacteroides fragilis* та підгрупи *Eubacterium rectale* – *Clostridium coccoides* [29].

Важливі результати щодо негативного впливу хворобо-модифікуючих препаратів на мікробіоценоз товстої кишки у хворих на ЮРА отримані при дослідженні пацієнтів у відділенні хвороб сполучної тканини ДУ «Інститут ПАГ НАМН України». У переважній більшості пацієнтів (89,1%) були виявлені клінічні та бактеріологічні ознаки дисбіозу II–III ст.: помірно виражений абдомінальний біль і диспептичний синдром, зниження вмісту біфідо- і лактофлори та збільшення патогенних мікроорганізмів – золотистого стафілокока, грибів роду *Candida*, ентеробактерій, кишкової палички зі слабкими ферментативними властивостями [12]. Дослідники вважають, що пригнічення росту пробіотичної мікрофлори пов'язано з лікуванням РА метотрексатом, диклофенаком, метилпреднізолоном. Підтвердженням даного положення є результати дослідження *in vitro* щодо негативного впливу базисних протиревматичних препаратів на проліферативну активність музейного штаму *L. acidophilus* ВКПМВ-2707. Для корекції вищевказаних змін мікробіоценозу автори використовували мультикомпонентний пробіотик (біфідобактерії, лактобацили, пропіоновокислі бактерії, лактококи, стрептококи, оцтовокислі бактерії, екстракт прополісу) 20-денним курсом кожні 2 місяці протягом 6 місяців. Встановлені позитивні зміни результатів бактеріологічного дослідження фекалій: підвищення вмісту біфідо-, лактофлори та зменшення кількості дітей з наявністю у фекаліях УПМ. Однак помітної позитивної динаміки гістологічної картини слизової товстої кишки при застосуванні базисної та протизапальної терапії не виявлено.

Таким чином, наведені дані свідчать про важливу роль патогенної мікрофлори і вірусної інфекції як одного з важливих факторів у механізмі розвитку аутоімунного захворювання, що

виникає внаслідок порушення мікробіому та епітеліального бар'єру кишечника. Тому якісні і кількісні зміни мікробіому кишечника у хворих на ЮРА потребують використання засобів, які призводять до нормалізації мікробіоценозу.

У доступній літературі опубліковані дані лише поодиноких досліджень щодо використання пробіотиків у комплексному лікуванні хворих на ЮРА. Але вони не дають чітких уявлень про вплив окремих препаратів (НПЗП), базисної та імунобіологічної терапії на стан мікробіоти у дітей з РА, особливо в ранньому періоді захворювання, з урахуванням активності, тривалості і ремісії патологічного процесу. Тому доцільно провести подальші дослідження з вивчення ефективності багатокомпонентних пробіотичних препаратів при виявлених порушеннях мікробіоценозу у дітей.

Мета: дослідити стан мікробіоти товстого кишечника, визначити вплив хворобо-модифікуючих препаратів на мікрофлору у хворих на ЮРА та оцінити ефективність комбінованого синбіотику «Ротабіотик».

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводилось на базі кардіоревматологічного відділення Міської дитячої клінічної лікарні №1 м. Києва за протоколом, ухваленим локальним етичним комітетом установи, з дотриманням керівних принципів Гельсінської Декларації та після письмової інформованої згоди батьків дітей та самих пацієнтів старшого віку.

У дослідженні взяли участь 29 дітей віком від 1,5 до 16 років з діагнозом «Ювенільний ревматоїдний артрит», із середньою та низькою активністю процесу. Дебют захворювання становив від 6 міс. до 5 років (у середньому 1,9 року). Серед обстежених нами пацієнтів з ЮРА діагностована суглобова форма, олігоартрит із серонегативним варіантом у 14 (48,28%); суглобова форма, поліартрит із серонегативним варіантом — у 13 (44,83%); системно-суглобова форма, серопозитивний варіант — у 2 (6,9%) дітей. У двох дітей з олігоартрикулярною формою ЮРА виявлений увеїт. Найчастіше були уражені колінні суглоби — у 20 (69%) дітей, рідше — гомілковостопні — у 8 (27,59%), дрібні суглоби кистей і стоп — 4 (13,79%), кульшові та променево-зап'ясткові — у 3 (10,34%) хворих. Діти скаржились на біль, набряк та обмеження рухів в уражених суглобах, вранішню скутість.

При обстеженні шлунково-кишкового тракту у хворих мали місце наступні скарги: періо-

дичний біль у животі — у 23 (79,31%), зниження апетиту — у 20 (68,97%), метеоризм — у 12 (41,38%), схильність до запорів — у 10 (34,48%) дітей.

На початку дослідження усім дітям проведено загальноклінічне та інструментальне обстеження: загальний аналіз крові, визначення у сироватці крові С-реактивного протеїну (якісного), ревматоїдного фактору, антистрептолізину-О, циркулюючих імунних комплексів, фібриногену, серомукоїду, кальцію іонізованого та ультразвукове дослідження суглобів за загальноприйнятими методиками.

Також усім дітям проведено бактеріологічне дослідження фекалій на початку дослідження та після корекції виявлених дисбіотичних порушень. Визначали кількісний (підрахунок колонієутворюючих одиниць (КУО)) та якісний мікробний склад товстого кишечника. Оцінка порушення мікробіоти кишечника здійснювалась відповідно до класифікації дисбіозу за І.Б. Куваєвою та К.С. Ладодо (1991 р).

На момент первинного обстеження усі діти отримували базисну протиревматичну терапію (метотрексат 15 мг/м²), глюкокортикостероїди (преднізолон, метилпреднізолон) — 18 пацієнтів, біологічні хворобо-модифікуючі препарати (адаліумаб) — 5 хворих, додатково призначалось НПЗП коротким курсом (до 7 днів) 7 пацієнтам.

Корекція порушень мікробіоценозу кишечника проводилась комбінованим синбіотиком «Ротабіотик», до складу якого входять штами лактобактерій (*Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*), біфідобактерій — *Bifidobacterium ssp.* (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*), а також *Streptococcus thermophilus* та пребіотик інουλін 150 мг. В одній капсулі міститься 2,5 x 10⁹ КУО ліофілізованих бактерій.

Основні функції пробіотичних біфідо-, лактокомпонентів:

1. Неімунологічні: участь у метаболічних процесах; продукція коротколанцюгових жирних кислот; сприяння травленню і конкуренція за поживні речовини з патогенами; адгезія до епітелію за рахунок наявності ворсинок; синтез бактеріоцинів; утворення молочної, оцтової кислоти, зміна рН для створення несприятливого середовища розвитку патогенних мікроорганізмів; стимуляція епітеліальної продукції муцину; підсилення кишкової бар'єрної функції.

2. Імунологічні: індукція продукції ІЛ-10, ІЛ-2, ФНП-α, посилення вироблення Th-1 клітин та ІЛ-1, стимуляція вироблення В-лімфо-

цитів, нормалізація рівня прозапальних цитокінів, підвищення продукції IgA, як місцево, так і системно, активація локальних макрофагів; сприяння толерантності до харчових алергенів.

Функції інуліну:

1. Трофічна: вибіркова стимуляція проліферації власних корисних мікроорганізмів (біфідобактерій, лактобацил); є субстратом для життєдіяльності біфідогенних бактерій; служить джерелом для епітеліальних клітин слизової оболонки; зміщення рН фекалій у кислий бік; посилення перистальтики товстого кишечника; нормалізація випорожнень (зменшення їх щільності та збільшення кількості); зменшення частоти кольок, зригувань.

2. Імунна: взаємодія з рецепторами клітин імуногенезу (дендритними клітинами, Т-, В-лімфоцитами пейєрових бляшок); посилення синтезу протизапальних цитокінів (IL-10, секреторного IgA, P_g E2); вплив на активність натуральних кілерів, фагоцитарну активність макрофагів, γ-інтерферону, фактору некрозу пухлин; стимуляція Th-1 імунної відповіді (експериментальні дослідження при введенні вакцини); ефект прямого зв'язування патогенів.

3. Метаболічні ефекти: продукція коротколанцюгових жирних кислот, абсорбція іонів — Са, Fe, Mg та вітаміну D₃; посилення мінералізації кісткової тканини, її щільності, росту, резорбції та ремоделювання [5]; сприяння зниженню вмісту холестерину, глюкози крові та відкладення жиру; зниження рівня ліпопротеїдів у крові; покращення психічного здоров'я, когнітивного розвитку за рахунок впливу метаболітів на функцію головного мозку.

Таким чином, наявність пребіотика інуліну в складі синбіотика з пробіотичними штамами бактерій має перевагу та підсилюючу дію перед однокомпонентними пробіотиками.

Статистичну обробку результатів проведено за допомогою пакету програм Microsoft Excel 2010 та STATISTICA10.0.0.0.

Результати дослідження та їх обговорення

Усі діти були розподілені на три групи залежно від схеми лікування. До 1-ї групи увійшли діти, що отримували метотрексат (n=8), до 2-ї групи — метотрексат у комбінації з ГКС (n=16), до 3-ї групи — діти, які отримували метотрексат, ГКС та біологічні протиревматичні хворобо-модифікуючі препарати (n=5). Нестероїдні протизапальні препарати (вольтарен, нурофен) коротким курсом до 7 днів отримували 4 дитини.

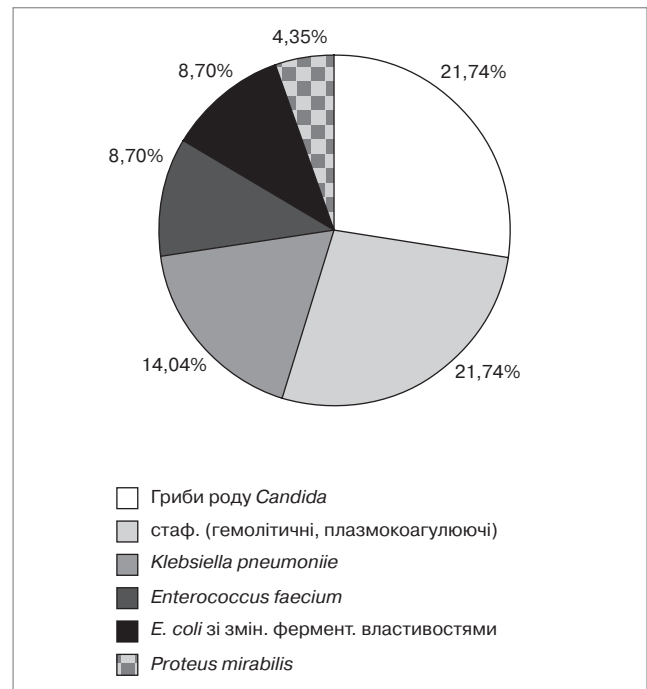


Рис. 1. Умовно-патогенна та патогенна мікрофлора товстого кишечника у дітей з ЮРА

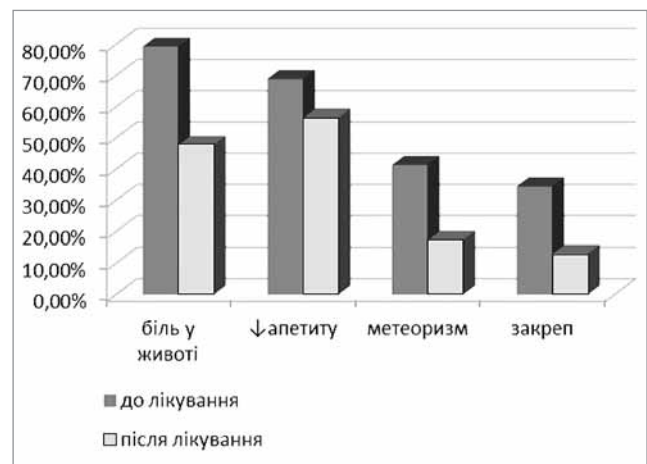


Рис. 2. Динаміка клінічної картини порушення дисбіозу товстого кишечника у дітей з ЮРА до та після застосування синбіотику (Ротабіотик)

У загальному аналізі крові обстежених дітей виявлено: підвищення кількості лейкоцитів до $10,1-11,6 \times 10^9/\text{л}$ (при нормі $4-9 \times 10^9/\text{л}$) — у 4 пацієнтів, прискорення ШОЕ до 27–50 мм/год (норма 10–15 мм/год) — у 3 пацієнтів, анемію легкого ступеня — у 3 дітей, збільшення С-реактивного білка від + до +++ — у 5 пацієнтів. При УЗД уражених суглобів у 17 дітей виявлено ексудативно-проліферативний синовіт: наявність рідини, розширення суглобової щілини, потовщення синовіальної оболонки.

При первинному бактеріологічному дослідженні калу 29 пацієнтів порушення дисбіозу товстого кишечника виявлено у 23 дітей, серед яких дисбіоз I ст. — у 8 (34,78%), дисбіоз II ст.

Таблиця

Стан мікробіоти товстого кишечника дітей до і після лікування

Показник	1 група		2 група		3 група	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Порушень не виявлено	3 (37,50%)	2 (40%)	2 (12,5%)	10 (71,43%)	1 (20%)	4 (100%)
I ст.	1 (12,5%)	3 (60%)	5 (31,25%)	4 (28,57%)	2 (40%)	–
II ст.	3 (37,5%)	–	4 (25%)	–	2 (40%)	–
III ст.	1 (12,5%)	–	5 (31,25%)	–	–	–

– у 9 (39,13%), дисбіоз III ст. – у 6 (26,09%) дітей. У всіх хворих відмічалось зменшення кількості лакто- та біфідобактерій $<10^6$ КУО, а також спостерігалось збільшення кількості умовно-патогенної та патогенної мікрофлори: гриби роду *Candida* (21,74%), стафілококи (гемолітичні, плазмокоагулюючі 21,74%), *Klebsiella pneumoniae* (14,04%), *Enterococcus faecium* (8,70%), *E. coli* зі зміненими ферментативними властивостями (8,70%), *Proteus mirabilis* (4,35%) (рис. 1).

Для корекції порушень мікрофлори призначали Ротабіотик: дітям віком від 1 до 3 років – по 1 капсулі 1 раз на добу, дітям від 3 до 12 років – по 1 капсулі 2 рази на добу, дітям старше 12 років – по 1 капсулі 3 рази на добу. Тривалість застосування становила один місяць, після чого проводилось повторне бактеріологічне дослідження калу.

Результати досліджень показали позитивну динаміку клінічних симптомів захворювання за рахунок зменшення болю у животі з 79,31% до 47,83%, покращання апетиту у 43,48%, зменшення проявів метеоризму з 41,38% до 17,39%, запорів – з 34,48% до 13,03% (рис. 2).

При контрольному бактеріологічному дослідженні фекалій нормалізацію вмісту мікрофлори товстого кишечника виявлено у 16 (69,57%) дітей. Дисбіотичні зміни I ст. зберігались у 7 (30,43%) дітей, у яких на початку дослідження діагностовано дисбіоз II–III ст. ($p < 0,001$) (табл.).

Наведені дані свідчать, що використання Ротабіотика у комплексному лікуванні хворих на ЮРА є ефективним засобом корекції порушень мікробіоценозу товстого кишечника.

Скорочення тривалості лікування дисбіозу товстого кишечника у дітей з ЮРА за допомогою Ротабіотика є визначальним в оцінці фармако-економічного ефекту застосування мультикомпонентного синбіотика.

Висновки

1. У хворих на ЮРА на тлі лікування базисними протиревматичними препаратами, НПЗП та біологічними препаратами встановлено порушення мікробіоти товстого кишечника з розвитком дисбіозу різного ступеня за рахунок зменшення кількості нормальної мікробіоти та підвищення умовно-патогенної і патогенної мікрофлори, що ускладнює перебіг основного захворювання і погіршує якість життя.

2. Встановлений позитивний вплив синбіотика (Ротабіотик) на клінічні прояви диспептичного синдрому та відновлення складу бактеріального мікробіому у переважної більшості пацієнтів з ЮРА.

3. Запропонований синбіотик (Ротабіотик) є ефективним та безпечним засобом для корекції порушень мікробіоценозу товстого кишечника у хворих на ЮРА.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

ЛІТЕРАТУРА

- Абатуров АЕ, Герасименко ОН. (2011). Хеликобактерная инфекция у детей: особенности диагностики и лечения. *Здоровье ребенка*. 4(31): 93–95.
- Абатуров АЕ, Герасименко ОН, Высочина ИЛ и соавт. (2013). Бактерицидная активность пробиотических средств. *Здоровье ребенка*. 8(51): 95–97.
- Валиева СИ, Алексеева ЕИ, Бзарова ТМ и соавт. (2008). Оценка эффективности препарата «Бифиформ» у больных ювенильным артритом, в условиях антибактериальной терапии. *Вопросы современной педиатрии*. 7(4): 109–114.
- Жмылева ОС, Козлова ИВ, Мясина ЮН. (2012). Диагностическое значение изменений толстой кишки при ревматоидном артрите. *Фундаментальные исследования*. 7(2): 324–329.
- Зайченко ОЕ. (2014). Пребиотики, пробиотики и синбиотики в профилактике остеопороза. *Український терапевтичний журнал*. 1: 85–94.
- Захарова ЮВ. (2016). Факторы адгезии бифидобактерий. *Журн Микробиол*. 5: 80–87.
- Каладзе НН, Филоненко ТГ, Сизова ОА. (2013). Особенности ультраструктурных изменений слизистой толстого кишечника при экспе-

- риментальном моделировании адьювантного артрита. Здоровье ребенка. 1(44): 18—21.
8. Лисенко ГІ, Білко ІП, Нікольська ОІ., Теслиук Л.В. (1999). Діагностика та лікування дисбактеріозу кишечника у ревматологічних хворих. Метод. рекомендації. Київ: Знання: 22.
 9. Меркулова А. (2016). Антибиотикотерапія, дисбактеріоз і можливі ризики. Здоров'я України — XXI сторіччя. 20: 72—73.
 10. Муквич ЕН, Задорожня ТД, Полук ТА, Людвик ТА. (2012). Ювенильний ідіопатический артрит і іммунопатологіческа роль нарушенний мікробіоти кишечника. Современная педиатрия. 3(43): 53—57.
 11. Новокшенов АА, Мазанкова ЛН, Соколова НВ. (2002). Патогенетическое обоснование оптимальной терапии ОКИ у детей. Детские инфекции. 1: 32—37.
 12. Петров АВ, Дударь ЛВ, Малый КД. (2004). Персистенция различных инфекционных агентов в мононуклеарных лейкоцитах крови в дебюте ревматоидного артрита. Терапевтический архив. 5: 32—35.
 13. Фризен БН. (1995). Сравнительная эффективность базисной терапии ревматоидного артрита сульфопрепаратами (сульфасалазином, салазопиридазином, салазодиметоксином) и метотрексатом, а также влияние лечения на микробиоценоз кишечника и морфологическую картину слизистой прямой кишки. ЯГТУ: 60.
 14. Челпаченко ОЕ, Бухарин ОВ, Данилова ЕИ, Федотова ЛП. (2015). Современные представления о роли микробного фактора в развитии воспалительных ревматических заболеваний. Вестник Уральской медицинской академии наук. 3: 73—80.
 15. Чомахидзе АМ, Алексеева ЕИ. (2007). Прокальцитонинный тест в дифференциальной диагностике синдрома аллергосепсиса. Вопросы современной педиатрии. 6(2): 42—47.
 16. Ширококов ВП, Янковський ДС, Димент ГС. (2009). Мікробна екологія людини з кольоровим атласом. Навч. посіб. Київ: Червона Рута-Турс: 312.
 17. Янковский ДС, Дымент ГС. (2008). Микрофлора и здоровье человека. Киев: Червона Рута-Турс: 552.
 18. Янковский ДС. (2005). Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. Киев: Эксперт ЛТД: 362.
 19. Abedi D, Feizizadeh S, Akbari V et al. (2013). In vitro antibacterial and antiadherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* on *Escherichia coli*. Res Pharm Sci. 8(4): 260—268.
 20. Camp HJM, Oosterhof A, Veerkamp JH. (1985). Interaction of bifidobacterial lipoteichoic acid with human intestinal epithelial cells. Immunity. 1: 332—334.
 21. Candela M., Biagi E., Centanni M et al. (2009). Bifidobacterial enolase, a cell surface receptor for human plasminogen involved in the interaction with the host. Microbiology. 155: 3294—3303.
 22. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V (2003). Intestinal microflora in early infancy: composition and development. Acta Paediatr. 91(441): 48—55.
 23. Foroni E, Serafini F, Amidani D et al. (2011). Genetic analysis and morphological identification of pilus-like structures in members of the genus *Bifidobacterium*. Microb. Cell Factories. 10(1): 16—29.
 24. Gonzales-Rodrigues I, Sanchez B, Ruiz L et al. (2012). Role of extracellular transaldolase from *Bifidobacterium bifidum* in mucin adhesion and aggregation. Appl. Environ. Microbiology. 78(11): 3992—3998.
 25. Kempell KE, Cox CJ, Hurlle M et al. (2000). Reverse transcriptase-PCR analysis of bacterial rRNA for detection and characterization of bacterial species in arthritis synovial tissue. Infect Immun. 68(10): 6012—26.
 26. Mkrtychyan H, Gibbons S, Heidelberger S et al. (2010). Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain Narine. Int J Antimicrob Agents. 35(3): 255—260.
 27. Ohland CL, Macnaughton WK. (2010). Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 6:807—819.
 28. Takeda T, Mizugaki Y, Matsubara L et al. (2000). Lytic Epstein-Barr virus infection in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 43(6):1218—1225.
 29. Vaahtovuori J, Munukka E, Korkeamaki M et al. (2008). Fecal Microbiota in Early Rheumatoid Arthritis. J of Rheumatol. 35(8):1500—1505.
 30. Wei X, Yan X, Chen X et al. (2014). Proteomic analysis of the interaction *Bifidobacterium longum* NCC2705 with the intestine cells Caco-2 and identification of plasminogen receptors. J. Proteomics. 108:89—98.

Сведения об авторах:

Бережной Вячеслав Владимирович — д.мед.н., проф. каф. педиатрии № 2 НМАПО имени П.Л. Шупика. Адрес: г. Киев, ул. Богатырская, 30; тел. (044) 412-16-70.

Бондарец Юлия Ивановна — аспирант каф. педиатрии №2 НМАПО имени П.Л. Шупика. Адрес: г. Киев, ул. Богатырская, 30; тел. (044) 412-16-70.

Статья поступила в редакцию 21.11.2018 г.; принята в печать 24.02.2019 г.