

© Жуков В.И., Перепадя С.В., Зайцева О.В., Моисеенко О.В., Перепадя О.В., Горбач Т.В.  
УДК 616.351-006-089

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

*Жуков В.И., Перепадя С.В., Зайцева О.В., Моисеенко О.В., Перепадя О.В., Горбач Т.В.*

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков

*У хворих (n=239) на колоректальний рак (КРР) з різними стадіями (I-IV) і анатомічною локалізацією пухлинного процесу проведено дослідження складу кишкової мікрофлори, визначені показники метаболічної активності мікробіоценозу товстого кишечника (вміст ряду карбонових кислот: оцтова, пропіонова, олійна, молочна; ди-карбонових кислот:  $\alpha$ -кетоглутарова, щавелево-оцтова; ароматичних сполук: *p*-крезол, індол, скатол, феніл-пропіонова кислота; амінів: метиламін, гістамін, серотонін). Встановлено інгібування захисної й активація умовно патогенної мікрофлори на фоні порушення процесів перетворення вуглеводів, жирів, білків і накопичення токсичних продуктів обміну, що є важливим патогенетичним фактором активації, індукції, проліферації та метаплазії пухлинної тканини. Ведучим метаболічним показником мікробіоценозу при КРР є суттєве накопичення біогенних амінів (метиламіну, серотоніну, гістаміну), що може мати прогностичне значення для оцінки ефективності адекватного лікування, а також для виявлення групи ризику серед населення.*

Ключові слова: колоректальний рак, мікробіоценоз кишечника, метаболічні показники.

Микробиоценоз тонкого и толстого кишечника играет исключительно важную роль в процессах жизнедеятельности человека. Получено большое количество фактов, убедительно свидетельствующих о положительной функции микрофлоры кишечника в метаболизме пищеварения, обеспечении защитных реакций против многих заболеваний инфекционной и неинфекционной природы, синтезе многих биологически активных соединений – витаминов, белков, белково-полисахаридных комплексов и др., необходимых макроорганизму для физиологического протекания биохимических реакций в организме [1,2]. Нормальная микрофлора человека и животных формировалась в процессе эволюционного развития мира. Происходило взаимное приспособление бактерий окружающей среды и макроорганизма, в результате соответствующего отбора образовалась симбиотическая «микробная семья» – необходимое условие существования организма человека и животного [6,10]. Важнейшими функциями кишечной микрофлоры являются трофическая – продукты метаболизма микробов служат источником питания эпителиоцитов и стимулируют моторику кишечника; защитная – они обеспечивают колонизационную резистентность, формируют биопленку, предотвращают адгезию чужеродных микробов, обеспечивают продукцию лизоцима, органических и свободных жирных кислот, повышают скорость обновления клеток и др.; метаболитическая – участвуют в метаболизме клетчатки, неусвоенных нутриентов, синтезе холецестерина, биологически активных веществ; иммуноиндуцирующая – стимулируют синтез иммуноглобулинов и иммунокомпетентных клеток [1,5]. Нарушение любой из этих функций приводит к нарушению различных видов структурно-метаболических взаимоотношений, возникновению дефицита микронутриентов и иммунной недостаточности.

Исследователи отмечают тесную связь дисбактериоза с такими заболеваниями как дизентерия, брюшной тиф, гастриты, колиты, язвенная болезнь, гепатиты, нефриты, холециститы, панкреатиты. Он развивается при пеллагре, псориазе, сахарном диабете, опухолевом процессе, аутоинтоксикациях, вследствие рентгенооблучения, химиотерапии, антибиотикотера-

пии и др. [1,8,9]. Некоторые авторы высказывают гипотезу, что обусловленная дисбактериозом кишечника аутоинтоксикация может иметь некоторое патогенетическое значение для возникновения и развития рака толстого кишечника [3,4,8]. Им удалось установить, что под воздействием канцерогенных веществ меняется состав микрофлоры кишечника, увеличивается количество гемолитических, безиндолных штаммов кишечной палочки, а также штаммов со сниженной ферментативной и антагонистической активностью. Авторы, однако, не утверждают, что существует специфическая зависимость между состоянием кишечной микрофлоры и появлением и развитием рака толстого кишечника, но считают необходимым продолжить исследования в этом направлении. В связи с вышесказанным целью настоящей работы являлось изучение профиля микробиоценоза кишечника у больных колоректальным раком (КРР) и обоснование зависимости между типом профиля «микробной семьи», факторами питания и вероятностью развития канцерогенеза толстого кишечника.

### Материалы и методы исследования

В плане изучения микробиологического профиля обследовано 239 человек в возрасте от 35 до 76 лет с установленным диагнозом рак прямой кишки (РПК) (n=54; мужчин – 29; женщин – 25); сигмовидной кишки (РСК) (n=62; мужчин – 37; женщин – 25); слепой кишки (РСЛК) (n=27; мужчин – 15; женщин – 12); поперечно-ободочной кишки (РПОК) (n=66; мужчин – 48; женщин – 18); толстой кишки (РТК) (n=30; мужчин – 17; женщин – 13). В зависимости от стадии заболевания: первая (I) выявлена у 6 пациентов; вторая (II) – у 34; третья (III) – у 161 и четвертая (IV) – у 38 онкологических больных (неоперабельные формы рака толстого кишечника). Группу сравнения составили 43 условно здоровых донора в возрасте от 40 до 65 лет (мужчины – 23; женщины – 20). Для выяснения степени дисбиоза кишечника общепринятым бактериологическим методом определяли в фекалиях количество бифидобактерий, бактериоидов, лактобацилл, эшерихий, протей, синегнойной палочки, стафилококков, энтерококков, клостридий, дрожжевых грибов, пептострепто-

кокков [6,10]. Метаболиты микробиоценоза кишечника (уксусная, пропионовая, масляная, молочная, щавелево-уксусная,  $\alpha$ -кетоглутаровая, фенилпропионовая кислота, п-крезол, скатол, индол) изучали методом газожидкостной хроматографии на хроматографе «Цвет 1000». Исследуемые образцы экстрактов массой  $m=1 \cdot 10^{-3}$  кг фекалий объемом  $V_1=20 \cdot 10^{-3}$  л помещали в пробирки объемом  $V_n=40 \cdot 10^{-3}$  л, которые герметизировали и термостатировали при температуре  $t^\circ=85^\circ\text{C}$  в течение 600 секунд. Равновесную паровую фазу объемом  $V_2=5 \cdot 10^{-3}$  л отбирали нагретым медицинским шприцем и вводили в хроматограф. Хроматографирование проводили на стеклянной колонке  $300 \times 0,3$  ал, заполненной 20%  $\beta$ -метокси-( $\beta$ -цианэтокси)-диэтиловым эфиром на целите 545. Температура колонки и испарителя составляла  $t^\circ=40^\circ\text{C}$ . Скорость газа носителя (аргона) была  $v=4,1 \cdot 10^{-4}$  л/с. Определение метаболитов в экстракте фекалий проводилось по Р.Н. Мокеевой и соавт. [7]. Амины (метиламин, гистамин, серотонин) исследовались методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [6]. Статистическая обработка полученных результатов выполнена с использованием методов вариационной статистики с оценкой достоверности отличий по Стьюденту-Фишеру.

**Результаты и их обсуждение**

В результате изучения микробиоценоза химуса толстого кишечника обнаружено у больных КРР по сравнению с условно здоровыми значительное снижение количества бифидобактерий, бактериоидов, лактобацилл и цитратсинтезирующих энтеробактерий (табл. 1), соответственно на 70,9%, 82,5%, 66,0% и 52,3%. Вместе с тем установлено повышение общего количества эшерихий на 27,2%, из них лактозоотрицательных – на 33,1%; гемолитических форм – на 124,6%. Из неферментирующих микроорганизмов наблюдалось увеличение числа колоний энтерококков на 32,9%; стафилококков – на 188,5%, пептострептококков – на 43,8%, клостридий – на 129,0% и дрожжеподобных грибов – на 346,7%. Среди условно-патогенных микроорганизмов у больных раком толстого кишечника выявлено синегнойную палочку, гемолитические энтерококки, коагулазоположительные стафилококки и дрожжевые грибы рода *Candida albicans*. Исследования микробиоценоза при КРР свидетельствуют о нарушении межвидовых отношений микрофлоры в желудочно-кишечном тракте, динамического равновесия между макроорганизмом и микробными ассоциациями, заселяющими толстый кишечник. Это может являться одной из важнейших причин изменения трофической, защитной, метаболической и иммунологической функций, которые присущи физиологическому биотипу микробов толстого кишечника. Так, например, снижение уровня бифидобактерий, бактериоидов, лактобацилл (образующих в процессе своей жизнедеятельности молочную, уксусную, муравьиную, янтарную и др. кислоты) может быть причиной колонизации макроорганизма условно-патогенными видами бактерий в связи с изменением в кишечнике рН-среды [1,2,7]. Среди клинической симптоматики дисбактериоза кишечника у больных КРР наиболее часто отмечались диарея, метеоризм, дискомфорт в ЖКТ, запоры, нарушения моторной и пропульсивной способности кишечника. Многие авторы отмечают, что изменения в микробио-

ценозе макроорганизма, как правило, служат предвестником отклонений в клинико-физиологическом, метаболическом и морфологическом статусе организма хозяина [4,6,9].

Таблица 1  
Состояние микробиоценоза кишечника у больных колоректальным раком

Виды микроорганизмов	Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1г фекалий (Lg), M $\pm$ m	
	Больные КРР	Условно здоровые
Бифидобактерии	2,83 $\pm$ 0,36 *	9,73 $\pm$ 0,65
Бактероиды	1,65 $\pm$ 0,22*	9,45 $\pm$ 0,82
Лактобациллы	2,46 $\pm$ 0,17*	7,24 $\pm$ 0,44
Эшерихии, из них:	11,35 $\pm$ 0,86	8,92 $\pm$ 0,53
лактозоотрицательные	8,97 $\pm$ 0,45 *	6,74 $\pm$ 0,32
гемолитические	2,83 $\pm$ 0,27 *	1,26 $\pm$ 0,15
Цитратсинтезирующие энтеробактерии	2,16 $\pm$ 0,19*	4,53 $\pm$ 0,27
Синегнойная палочка	3,75 $\pm$ 0,28 *	0
Энтерококки из них гемолитические	7,22 $\pm$ 0,54 *	5,43 $\pm$ 0,48
Стафилококки, из них коагулазоположительные	8,25 $\pm$ 0,94 *	2,86 $\pm$ 0,35
3,42 $\pm$ 0,35*	0	
Пептострептококки	7,28 $\pm$ 0,52 *	4,82 $\pm$ 0,37
Клостридии	8,36 $\pm$ 0,78 *	3,65 $\pm$ 0,46
Дрожжеподобные грибы, из них <i>Candida albicans</i>	12,24 $\pm$ 1,15*	2,74 $\pm$ 0,32
3,66 $\pm$ 0,23 *	0	

Примечание: Lg - десятичный логарифм от КОЕ/г; \* – различия с условно здоровыми достоверные,  $p < 0,05$ .

В табл. 2 представлены метаболические показатели микробиоценоза у больных КРР. Как видим, наблюдается значительное снижение в экстракте фекалий содержания карбоновых кислот: уксусной, пропионовой, масляной и молочной кислоты соответственно на 75,0%, 60,0%, 66,3% и 77,8%, что согласуется с уменьшением количества защитной анаэробной кишечной микрофлоры (бифидобактерии, бактериоиды, лактобациллы). Обнаружено снижение физиологических уровней дикарбоновых кислот:  $\alpha$ -кетоглутаровой и щавелево-уксусной кислоты на 51,5% и 62,0%, что подтверждает слабую биохимическую активность как аэробных, так и анаэробных кишечных бактерий, особенно в отношении превращения углеводов. Оценка соотношения в экстрактах фекалий содержания производных ароматических аминокислот выявила повышение активности представителей толстокишечной микрофлоры. При этом профиль фекальных соединений характеризовался увеличением более чем в 4 раза общего количества ароматических субстратов: п-крезола, индола, скатола и фенилпропионовой кислоты. Общее количество ароматических веществ повышалось на 311%, п-крезола – на 368%, индола – на 414% и фенилпропионовой кислоты – на 279%. Определение аминов – метиламина, гистамина и серотонина – выявило повышение декарбоксилазной активнос-

ти представителей микробиоценоза толстого кишечника, именно, циклических аминокислот (гистидин, триптофан). Сопоставление профиля аминов обнаружилось в экстрактах фекалий больных КРР увеличение в 8 раз содержания метиламина (на 690%), гистамина – в 9 раз (на 850%) и серотонина – в 5 раз (на 408%) в сравнении с группой условно здоровых доноров.

Таблица 2  
Показатели метаболической активности микробиоценоза толстого кишечника у больных КРР

Метаболические показатели (мг/л)	Группа наблюдения, М±m	
	Больные КРР	Условно здоровые
Карбоновые кислоты: - уксусная	345,62±15,38*	1385,37±18,82
-пропионовая	78,43±6,25*	194,72±16,43
-масляная	54,27±4,52*	143,86±9,26
-молочная	86,33±7,14*	382,40±12,34
Дикарбоновые кислоты: -α-кетоглутаровая	68,34±4,92*	140,15±8,62
-щавелево-уксусная	8,33±6,15	19,37±2,14
Ароматические соединения: - п-крезол	5,44±0,26*	1,14±0,04
-индол	6,18±0,35*	1,32±0,03
-скатол	6,53±0,42*	1,27±0,02
-фенилпропионовая кислота	4,96±0,37*	1,15±0,012
Амины: - метиламин	2,53±0,22*	0,32±0,014
- гистамин	2,66±0,18*	0,28±0,018
-серотонин	8,24±0,57*	1,62±0,15

Примечание: \* – различия с условно здоровыми достоверные,  $p < 0,05$ .

Следует отметить, что при оценке метаболического профиля микробиоценоза толстого кишечника условно здоровой группы было установлено у 3 пациентов повышение до уровней больных КРР содержания метиламина, гистидина, серотонина и у 4 пациентов – п-крезола, индола, скатола, что характеризовало усиление биохимической активности микрофлоры и развитие гнилостных процессов. Эти данные позволяют, с учетом литературных и собственных исследований, отнести таких пациентов в группу риска возможного развития онкопатологии толстого кишечника.

### Выводы

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о развитии у больных КРР дисбактериоза кишечника, который характеризуется ингибированием

защитной и активацией условно патогенной микрофлоры на фоне нарушения процессов превращения углеводов, жиров, белков и накопления токсичных продуктов обмена, что является важным патогенетическим фактором активации, индукции, пролиферации и метастазии опухолевой ткани. Ведущим метаболическим показателем микробиоценоза при раке толстого кишечника является значительное накопление биогенных аминов – метиламина, серотонина и гистамина, что может иметь прогностическое значение для оценки эффективности адекватного лечения и определения роли пищевых нутриентов в механизмах формирования онкопатологии, а также для выявления группы риска среди населения.

### Литература

1. Бабак О.Я. Синдром дисбиотичних порушень мікрофлори кишечника: сучасний погляд на проблему / О.Я. Бабак // Сімейна медицина. – 2006. – №2. – С. 4-6.
2. Бондаренко В.М. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта / В.М. Бондаренко, Б. В. Боев, Е.А. Лыкова, А. А. Воробьев // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998 – № 1. – С. 75-77.
3. Винник Ю.А. Состояние обмена мелатонина у больных колоректальным раком и его прогностическое значение в патогенетическом лечении / Ю.А. Винник, С.В. Перепада, В.И. Жуков, О.В. Зайцева // Вісник проблем біології і медицини. – 2009. – Вип. 2. – С. 49-52.
4. Жуков В.И. Прогностическое значение серотонина в диагностике стадии заболевания и эффективности патогенетического лечения колоректального рака / В.И. Жуков, С.В. Перепада, Ю.А. Винник, О.В. Зайцева // Проблеми екології та медицини. – 2009. – Т.13, №3-4. – С.20-22.
5. Иммунорегуляция в системе микрофлоры – интестинальный тракт / С.С. Хромова, Б.А. Ефимов, Н.П. Тарабрина [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2004. – №2. – С. 265-271.
6. Комплексная диагностика, лечение и профилактика дисбактериоза кишечника в клинике внутренних болезней / С.Д. Митрохин, М.Д. Аргатская, Е.В. Никушкин, [и др.] Методические рекомендации. М., 1997. – 45с.
7. Мокеева Р.Н. Определение низкомолекулярных примесей в сточных водах производства полиоксипропиленполиолов хроматораспределительным методом / Р.Н. Мокеева, Я.А. Царфин, А.А. Карнишин // Журн. аналит. химии. – 1979. – Т. 34, №9. – С. 1821 – 1824.
8. Олейник С.Ф. Биология канцеролиза / С.Ф. Олейник, М.В. Панчишин. К.: Вища школа, 1978. – 177с.
9. Особенности обмена триптофана у больных псориазом с нарушенным микробиоценозом кишечника / П.П. Рыжко, О.В. Зайцева, Н.В. Жукова [и др.] // Проблеми екології та медицини. – 2008. – Т.12, №1-2. – С. 22-24.
10. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника / В.П. Иванов, А.Г. Бойцов, А.Д. Коваленко [и др.] // Информационное письмо. Санкт-Петербург, 2002. – 3 с.

**Summary**

**RESEARCH OF INTESTINE MICROBIOCYNOSIS PROFILE IN PATIENTS RECEIVING COLORECTAL CANCER**

Zhukov V.I., Perepadya S.V., Zaytseva O.V., Moisseenko A.S., Perepadya O.V., Gorbach T.V.

Key words: colorectal cancer, intestine microbiocynosis, metabolic indices.

In patients (n=239) receiving colorectal cancer with different (I-IV) stages and anatomic localization of tumoric process it was investigated content of intestinal microflora, indices of intestine microbiocynosis metabolic activity (concentrations of some carbonic acids:  $\alpha$ -ketoglutaric, oxalic-acetic; aromatic compounds: n-cresol, indol, skatol, phenylpropionic acid; amines: methylamine, histamine, serotonin) were determined. It was detected the inhibition of protective relative pathogenic microflora and activation of the against a background of disorder of carbohydrates, fats, proteins conversion processes and accumulation of toxic metabolites that is important pathogenic factor of tumoric tissue activation, induction, proliferation and metaplasia. Leading metabolic index of microbiocynosis under colorectal cancer is significant accumulation biogenic amines (methylamine, serotonin, histamine), it can has prognosis meaning for estimate of efficiency of adequate treatment as well as for detection of risk group among population.

Ukrainian Ministry of the Health Public Service, Kharkiv National Medical University, Lenin av., 4, Kharkiv, 61022

*Матеріал надійшов до редакції 01.02.2010 р.*