

ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

© 2017

Яковлев Анатолий Трофимович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом клинической лабораторной диагностики ФУВ *Волгоградский государственный медицинский университет (г. Волгоград, Российская Федерация)*

Поройский Сергей Викторович, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой медицины катастроф; заведующий лабораторией моделирования патологии

Кнышова Лилия Петровна, аспирант кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом клинической лабораторной диагностики ФУВ;

младший научный сотрудник лаборатории геномных и протеомных исследований

Морковин Евгений Игоревич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры фундаментальной медицины и биологии; старший научный сотрудник лаборатории геномных и протеомных исследований *Волгоградский государственный медицинский университет (г. Волгоград, Российская Федерация); Волгоградский медицинский научный центр (г. Волгоград, Российская Федерация)*

Аннотация. В данной статье рассматривается влияние хронической алкогольной интоксикации на качественный и количественный состав микробиоты кишечника у лиц с синдромом зависимости от алкоголя. Описывается хроническая алкогольная интоксикация, сопровождающаяся значительными нарушениями гомеостаза, которая проявляется в изменении белкового, углеводного, липидного, минерального обменов. Рассматривается роль алкоголя как одного из основных факторов, влияющих на дисбиотические сдвиги нормальной микробиоты кишечника человека. В работе представлены результаты сравнения обнаруженных ранее в ходе экспериментальной работы значительных изменений микробиоты кишечника крыс, подвергнутых хронической алкоголизации, и клинических результатов исследования микробного пейзажа у лиц с синдромом зависимости от алкоголя. При анализе результатов микробиологического исследования установлено, что под влиянием алкоголя наблюдается статистически достоверное сокращение сахаролитической микробиоты, изменение равновесия биоценоза кишечника в сторону патогенной флоры с преобладанием грамотрицательных протеобактерий, являющихся источником эндотоксинов. Полученные данные являются частью клинко-экспериментального исследования изменений состояния резистентности организма, подвергшегося хроническому воздействию алкоголя, и могут служить основой для дальнейшего изучения изменений микробиоты кишечника, учет которой является значимой составляющей персонализированного подхода к определению тактики лечения и реабилитации лиц с синдромом зависимости от алкоголя.

Ключевые слова: симбионтная микробиота; микробиоценоз; иммунный статус; эндогенная интоксикация; экспериментальное моделирование; микробный пейзаж кишечника; этанол; алкоголь; ацетальдегид; алкогольная интоксикация; синдром избыточного бактериального роста; дисбиотические сдвиги; патологические процессы.

Актуальность исследования

С начала XXI века наблюдается возрождение интереса к симбионтной микробиоте и ее влиянию на здоровье и болезни человека. Биологическое равновесие между человеком и микробной флорой, сложившееся в результате эволюции, является своеобразным индикатором состояния макроорганизма, реагируя на различные патологические процессы в организме и на любые изменения в окружающей среде [1]. Внешние факторы могут в значительной степени изменять таксономический и функциональный состав микробиоты, способствуя развитию различных заболеваний, таких как сахарный диабет, неалкогольная болезнь печени, ожирение, аллергические и аутоиммунные болезни. К такого рода факторам в полной мере можно отнести этанол [2; 3].

И.И. Мечников писал о полезных микроорганизмах как о «био пленке», состоящей из сотен видов микробов, покрывающей кожу и слизистые оболочки человека наподобие перчаток. Понятие биопленки осталось актуальным и в наши дни [4; 5; 6]. Сегодня уже не подвергается сомнению тот факт, что состояние микробиоты во многом определяет здоровье человека. Изучение микробиологии кишечника представляет «новые рубежи» в биологии и медицине. В кишечнике находится огромное количество микро-

организмов, которые представлены 17 семействами, 45 родами и более чем 500 видами. Его микробиота состоит из большого количества различных групп и видов бактерий. Общее количество просветной и пристеночной флоры на один грамм тканей кишечника может достигать 10¹² КОЕ [7]. Но при воздействии аномальных экзо- и эндогенных факторов микробиоценозы выходят из состояния микробиологического равновесия, что, в свою очередь, сопровождается возникновением дисбактериоза [8; 9].

Алкоголь может быть одним из основных факторов, влияющих на состав и функции микробиоты кишечника. Анализ многочисленных исследований и публикаций, в которых рассматривались аспекты этой проблемы, показал, что в число биологических эффектов этанола входят развитие синдрома избыточного бактериального роста (СИБР) в тонкой кишке, нарушение барьерной функции кишечника, а также таксономические изменения микробиоты кишечника. Например, наличие (СИБР) описано в экспериментальных моделях алкогольной болезни печени (АБП) [10]. Предполагается, что в основе избыточного роста микроорганизмов лежат нарушение оттока желчи, дисмоторика кишечника, снижение кислотности в желудке и изменения иммунного статуса под влиянием этанола [11]. Аналогичные ре-

зультаты получены Т. Naugle и соавт., обнаружившими избыточный рост бактерий в двенадцатиперстной кишке больных алкоголизмом [12].

В связи с незначительной продукцией слизистой кишечника алкогольдегидрогеназы, предназначенной для расщепления этанола до токсического ацетальдегида, алкоголь оказывает при приеме внутрь в основном непосредственное токсическое воздействие, прежде всего на слизистую двенадцатиперстной и тощей кишки. В результате воздействия алкоголя на слизистую двенадцатиперстной и тонкой кишки уменьшается продукция собственных кишечных ферментов, обеспечивающих мембранный гидролиз (лактозы, сахарозы, мальтозы, щелочной фосфатазы, кишечной АТФазы). Нарушаются механизмы активного транспорта из кишки в кровь мономеров (глюкозы, аминокислот). СИБР приводит к повреждению слизистой оболочки тонкой кишки и нарушению всасывания витаминов (В1, В6, В12, А, Е, К, фолиевой кислоты), цинка и других нутриентов. В результате у пациентов отмечаются потеря массы тела, признаки гиповитаминозов [13; 14]. Алкогольная интоксикация сопровождается значительными нарушениями гомеостаза, проявляется изменениями белкового, углеводного, липидного, минерального обменов, немаловажную роль в этом принимают дисбиотические сдвиги нормальной микробиоты кишечника [13; 15; 16].

Ранее, в ходе экспериментальной работы, нами были обнаружены значительные изменения микро-

биоты кишечника крыс, подвергнутых хронической алкоголизации [17; 18]. Целью данного исследования стало клиническое подтверждение и оценка изменений микробиоты кишечника у лиц с синдромом зависимости от алкоголя (СЗА).

Материалы и методы

Лабораторные исследования выполнялись на кафедре клинической лабораторной диагностики ФУВ Волгоградского государственного медицинского университета, а также в Волгоградском медицинском научном центре. Клиническая часть исследования проводилась на базе наркологического отделения Волгоградской областной наркологической больницы. Обследовано 20 мужчин с СЗА (возраст от 20 до 35 лет). Для обследования отбирались лица без сопутствующих заболеваний (гепатит, СПИД, другие вирусные инфекции и интоксикации).

Материалом для исследования являлся кал лиц с СЗА. Определение видового и количественного состава кишечной копрокультуры проводили культуральными, биохимическим и микроскопическим методами, согласно методике, предложенной Московским НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Габрического, и оценивали по отраслевому стандарту [19] ОСТ 91500.11.0004–2003 [20].

Изучаемые микробиологические показатели, питательные среды, используемые для разведения, и условия культивирования различных микроорганизмов представлены в табл. 1.

Таблица 1 – Микробиологические показатели, питательные среды и условия культивирования, использованные при изучении кишечной микробиоты

Изучаемые микроорганизмы	Питательные среды	Время, условия культивирования
<i>Escherichia coli</i> <i>Escherichia coli hemolizing</i>	Среда Эндо	24 ч., аэробное, +37°C
<i>Staphylococcus</i> spp.	Желточно-солевой агар (среда Чистовича)	48 ч., аэробное, +37°C
<i>Bifidobacterium</i> spp.	Среда Блаурокка	48 ч., анаэробное, +37°C
<i>Lactobacterium</i> spp.	Среда для молочнокислых бактерий (типа MRS)	48 ч., анаэробное, +37°C, CO ₂ атмосфера
Дрожжеподобные грибы <i>Candida</i> spp.	Среда Сабуро пенициллином и стрептомицином	48 ч., аэробное, +35°C
<i>Proteus</i> spp.	Среда Эндо, среда Плоскирева	24 ч., аэробное, +37°C

Для проверки статистической гипотезы разности средних значений использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни в программе GraphPad Prism 5.0.

Результаты исследований и их обсуждение

В ходе исследования обнаружено, что в биотопах кишечника у лиц в наблюдаемых группах с СЗА происходят однотипные нарушения в составе микробиоты, связанные с уменьшением содержания облигатных микроорганизмов и повышением количества УПМ.

Анализ видового состава и численности микроорганизмов кишечника у лиц с СЗА выявил выраженную тенденцию уменьшения количества представителей пробиотических штаммов (рис. 1). Было отмечено достоверное сокращение *Bifidobacterium* spp. до 10³–10⁵ КОЕ/г, по сравнению с нормой – 10⁹–10¹⁰

КОЕ/г, таким образом отмечено снижение *Bifidobacterium* spp., *Lactobacterium* spp. в 3–4 и 1–2 раза соответственно. Содержание *Lactobacterium* spp. было также снижено и находилось в пределах 10²–10³ КОЕ/г, при норме в 10⁷–10⁸ КОЕ/г.

При анализе непатогенных штаммов по сравнению с нормой было показано статистически достоверное снижение концентрации *Escherichia coli* до 10³–10⁵ КОЕ/г при норме 10⁶–10⁸ КОЕ/г.

По результатам оценки состава протеолитической микробиоты была выявлена выраженная тенденция увеличения количества (10⁷–10⁸ КОЕ/г) *Escherichia coli hemolizing*.

Содержание *Enterococcus* spp. не выходило за пределы нормы и составляло 10⁸ КОЕ/г. Достоверных отличий в содержании *Proteus* spp. и *Candida* spp. выявлено не было, они регистрировались у единичных пациентов в количестве 10³–10⁵ КОЕ/г.

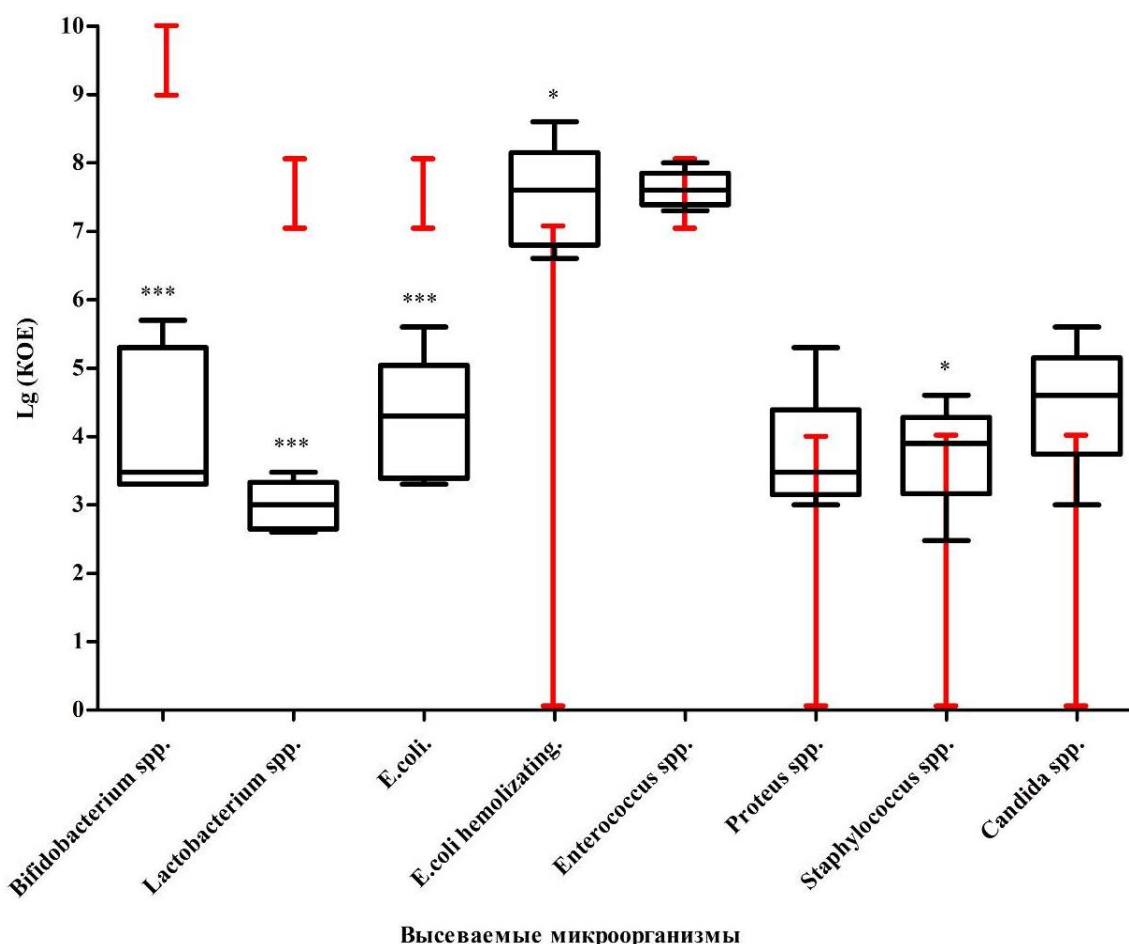


Рисунок 1 – Состояние микробиоты кишечника лиц с СЗА

Выводы

В ходе выполнения работы нами отмечено увеличение активности аэробов, способных к гемолизу (*Escherichia coli hemolizing*) на высоте алкогольобусловленной интоксикации, что свидетельствует о наличии воспалительных процессов и является маркером дисбиотических нарушений в кишечнике. Изменения лабильных структур микробного гомеостаза подтверждаются характером нарушений среди представителей облигатной микробиоты кишечника, усугублением дефицита сахаролитической микробиоты (*Bifidobacterium* spp., *Lactobacterium* spp.) и сокращением титра кишечной палочки, что может быть одной из причин функциональных и органических изменений в кишечнике при хронической алкогольной интоксикации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Ley R.E., Lozupone C., Hamady M., Knight R. and Gordon J.I. Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota // *Nature Rev Microbiol.* 2008. Vol. 6. P. 776–788.
2. Пауков В.С., Угрюмов А.И., Беляева Н.Ю. Межорганные отношения при алкогольной интоксикации // *Архив патологии.* 1991. Т. 53, № 3. С. 3–10.
3. Bode C., Bode J.C. Effect of alcohol consumption on the gut // *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2003. Vol. 17, № 4. P. 575–592.
4. Бондаренко В.М., Воробьев А.А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2004. № 1. С. 84–87.
5. Воробьев А.А., Несвижский Ю.В., Буданова Е.В., Зуденков А.Е. Сравнительное изучение пристеночной микрофлоры толстой кишки в эксперименте на мышах // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2001. № 1. С. 62–67.
6. Несвижский Ю.В., Богданов Е.А., Зверев В.В., Воробьев А.А. Микробиоценоз пристеночного муцины желудочно-кишечного тракта крыс с индуцированным дисбиозом // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2007. № 3. С. 57–60.
7. Парфенов А.И., Осипов Г.А., Ручкина И.Н. Теоретические вопросы дисбактериоза кишечника // *Consilium Medicum.* 2003. № 6. С. 328–330.
8. Митрохин С.Д. Дисбактериоз: современные представления. Диагностика. Возможности лечения // *Антибиотики и химиотерапия.* 2004. Т. 49, № 7. С. 22–33.
9. Кнышова Л.П., Яковлев А.Т. Дисфункция микробиоценоза кишечника в структуре эндогенной интоксикации // *Национальная ассоциация учёных.* 2016. № 3–1 (19). С. 42–43.
10. Yan A.W., Fouts D.E., Brandl J., Stärkel P. et al. Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease // *Hepatology.* 2011. Vol. 53, № 1. P. 96–105.
11. Бакулин И.Г., Шаликиани Н.В. Алкоголь и изменения микрофлоры кишечника: современные представления // *Доктор.Ру. Гастроэнтерология.* 2016. № 1 (118). С. 38–42.
12. Hauge T., Persson J., Danielsson D. Mucosal bacterial growth in the upper gastrointestinal tract in alcoholics (heavy drinkers) // *Digestion.* 1997. Vol. 58, № 6. P. 591–595.

13. Isolauri E., Kalliomaki M., Laitinen K., Salmi-
nen S. Modulation of the maturing gut barrier and mi-
crobiota: a novel target in allergic disease // *Curr Pharm*
Des. 2008. Vol. 14. P. 1368–1375.
14. Лейхтер С.Н., Шидакова Н.А., Лебедева О.В.
Влияние дисбиотических нарушений на характер ме-
таболических сдвигов при острой алкогольной ин-
токсикации // *Бюллетень СГМУ.* 2004. № 1. С. 135–
136.
15. Кирпич И.А., Шелыгин К.В. Систематизация
проявлений патогенного влияния алкогольной ин-
токсикации // *Бюллетень СГМУ.* 2000. № 2. С. 45–46.
16. Успенский Ю.П., Балуква Е.В. Тревожные
расстройства и их коррекция в гастроэнтерологиче-
ской практике // *Consilium-Medicum.* 2008. Т. 10,
№ 8. С. 102–105.
17. Кнышова Л.П., Поройский С.В., Яковлев А.Т.,
Морковин Е.И. Влияние экспериментальной хрони-
ческой эндогенной алкогольной интоксикации на
микрофлору кишечника // *Вестник Волгоградского
государственного медицинского университета.* 2016.
№ 4 (60). С. 40–44.
18. Кнышова Л.П., Поройский С.В., Яковлев А.Т.,
Морковин Е.И., Тарасов А.С. Критерии достоверно-
сти воспроизведения экспериментальной модели
хронической алкогольной интоксикации // *Волго-
градский научно-медицинский журнал.* 2016. № 4
(52). С. 48–52.
19. Отраслевой стандарт «Протокол ведения
больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ
91500.11.0004–2003. Приказ Минздрава России от
09.06.2003 г. № 2.
20. Бондаренко В.М., Лиходед В.Г. Методические
рекомендации. Микробиологическая диагностика ди-
сбактериоза кишечника. М.: ГУ НИИ-ЭМ им.
Н.Ф. Гамалеи РАМН, 2007. 48 с.

CHANGES OF THE INTESTINAL MICROBIOTA DURING CHRONIC ALCOHOL INTAKE

© 2017

Yakovlev Anatoly Trofimovich, doctor of medical sciences, professor,
head of Clinical Laboratory Diagnostics Department

Volgograd State Medical University (Volgograd, Russian Federation)

Poroytsky Sergey Viktorovich, doctor of medical sciences, associate professor,
head of Disaster Medicine Department, head of Experimental Pathology Laboratory

Knyshova Liliya Petrovna, postgraduate student of Clinical Laboratory Diagnostics Department;
junior researcher of Genomic and Proteomic Researches Laboratory

Morkovin Evgeny Igorevich, candidate of medical sciences, associate professor of Fundamental
Medicine and Biology Department; senior researcher of Genomic and Proteomic Researches Laboratory
*Volgograd State Medical University (Volgograd, Russian Federation);
Volgograd Medical Research Center (Volgograd, Russian Federation)*

Abstract. This paper examines the influence of chronic alcoholic intoxication on the qualitative and quantitative composition of the intestinal microbiota in patients with syndrome of alcohol dependence. The authors describe chronic alcoholic intoxication, accompanied by significant violations of homeostasis, which is manifested by changes in protein, carbohydrate, lipid, and mineral metabolism. The authors examine the role of alcohol as one of the main factors that affect dysbiotic shifts in the normal microbiota of human intestines. The paper presents the results of the comparison found earlier in the course of experimental work, significant changes of the intestinal microbiota of rats subjected to chronic alcoholism and clinical results of the study of the microbial landscape in patients with syndrome of alcohol dependence. The authors established that under the influence of alcohol there is a statistically significant reduction in saccharolytic microbiota. The obtained data are a part of a clinic-experimental study of changes in the state of resistance of the organism exposed to the chronic effects of alcohol and can serve as a basis for further study of the intestinal microbiota changes, which is an important component of a personalized approach to the definition of tactics of treatment and rehabilitation of people with the syndrome of alcohol dependence.

Keywords: symbiotic microbiota; microbiocenosis; immune status; endogenous intoxication; experimental model-
ing; microbial landscape of intestine; ethanol; alcohol; acetaldehyde; alcohol intoxication; bacterial overgrowth syn-
drome; dysbiotic shifts; pathological processes.