

ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени И.М. Сеченова  
Кафедра пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета  
(зав. кафедрой – академик РАН, профессор В.Т. Ивашкин)

**КУЧУМОВА**  
Светлана Юрьевна

**Патогенетическое и клиническое  
значение кишечной микрофлоры  
у больных с синдромом раздраженного кишечника**

14.01.28 – гастроэнтерология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
д.м.н., профессор Шептулин А.А.

# Актуальность темы

- распространенность СРК в популяции – 20%
- значительное снижение качества жизни
- высокие материальные затраты на лечение и обследование больных
- недостаточная изученность патогенеза
- изменение кишечной микрофлоры – один из факторов, приводящих к формированию симптомов заболевания
- совершенствование методов диагностики и поиск более эффективных схем лечения

# Цель исследования

- изучить патогенетическое значение кишечной микрофлоры в развитии симптомов у больных с синдромом раздраженного кишечника, ее взаимосвязь с клиническим вариантом течения заболевания и наличием эмоциональных нарушений

## Задачи исследования

1. изучить качественный и количественный состав кишечной микрофлоры у больных СРК
2. сопоставить результаты применения современных методов оценки состава кишечной микрофлоры с широко распространенным методом бактериологического исследования кала
3. оценить наличие синдрома избыточного бактериального роста (СИБР) у больных СРК
4. оценить влияние различных групп препаратов на клиническую картину заболевания, состав кишечной микрофлоры и качество жизни у больных СРК

## Научная новизна

- у больных СРК впервые изучен состав кишечной микрофлоры с использованием 3-х методов диагностики: бактериологического исследования кала, водородного дыхательного теста с лактулозой, секвенирования 16S рРНК бактерий в образцах кала
- выявлены корреляции наличия СИБР с патогенетическими механизмами развития СРК (моторикой, ректальной чувствительностью, эмоциональными нарушениями)
- проведена оценка эффективности применения различных видов пробиотиков и энтерокинетиков в сравнении с плацебо и их влияния на купирование клинических симптомов, состояние кишечной микрофлоры и качество жизни при различных вариантах СРК

## Критерии включения в исследование

Мужчины и женщины в возрасте от 18 до 55 лет, с диагнозом СРК, подтвержденным соответствием жалоб пациентов «Римским критериям III», а также отсутствием органических изменений при проведении лабораторных и инструментальных исследований

# Протокол исследования

СРК-Д  
(n = 31)

СРК-З  
(n = 33)

- **клиническое обследование: сбор жалоб, изучение анамнеза заболевания, данные объективного исследования**
- **лабораторно-инструментальное обследование (анализы крови, мочи, кала, ЭКГ, УЗИ органов брюшной полости, гастро- и колоноскопия)**
- **бактериологический анализ кала**
- **секвенирование 16S рРНК в кале**
- **водородный дыхательный тест с лактулозой**
- **аноректальная манометрия высокого разрешения**
- **психологические опросники**

# Методы диагностики кишечной микрофлоры

- бактериологический анализ кала
- секвенирование 16S рРНК
- водородный дыхательный тест



прямые методы

непрямой метод

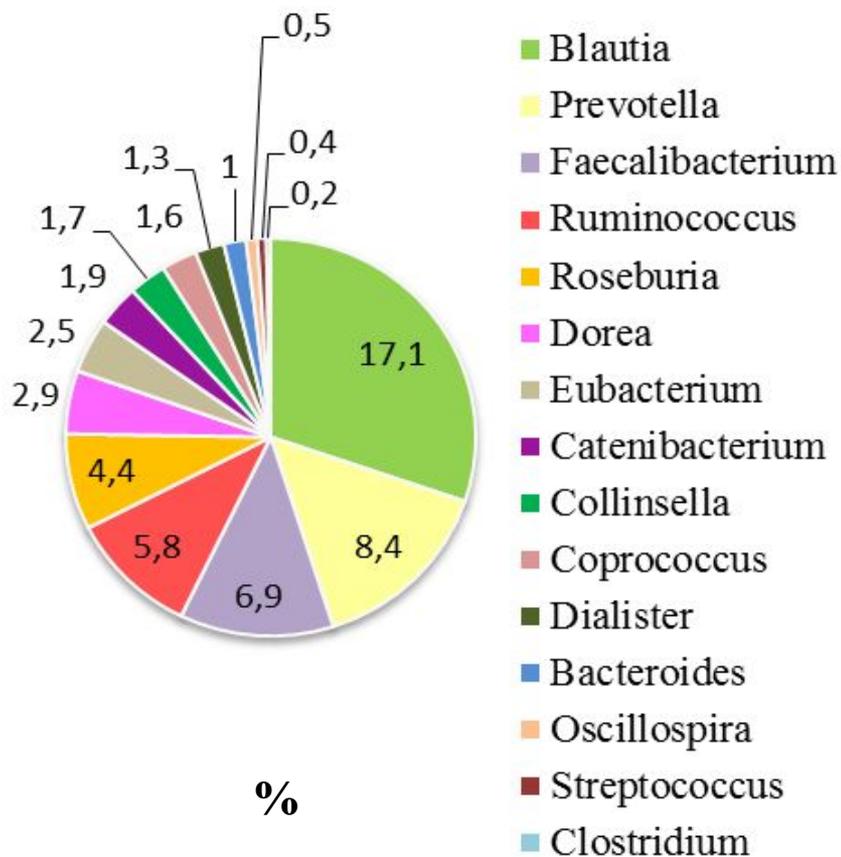
# Секвенирование 16S рРНК

метод основан на идентификации  
маркерных генов микроорганизмов (16S рРНК)

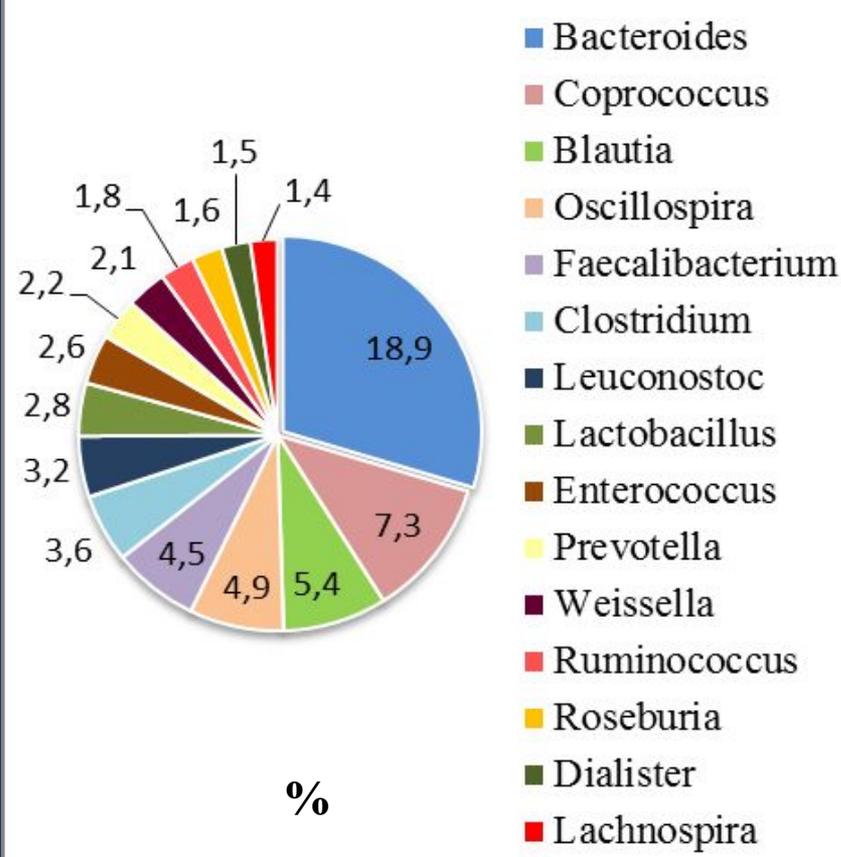
Чувствительность – 95-100%  
Специфичность – 90-100%



# Качественный и количественный состав кишечной микрофлоры в образцах кала у пациентов с СРК и здоровых добровольцев по данным секвенирования 16S рНК



Здоровые добровольцы (n = 9)



Больные СРК (n = 8)

# **Бактериологический анализ кала**

**метод основан на применении питательных сред для  
выращивания микробных популяций (живых культур)**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ПРИКАЗ**

**от 9 июня 2003 г. № 231**

**«ОБ УТВЕРЖДЕНИИ ОТРАСЛЕВОГО  
СТАНДАРТА**

**«ПРОТОКОЛ ВЕДЕНИЯ БОЛЬНЫХ.  
ДИСБАКТЕРИОЗ КИШЕЧНИКА»**

**Москва, 2003 г.**

# Степени выраженности микробиологических нарушений состава кишечной микрофлоры

1. снижение содержания бифидобактерий до  $10^8-10^7$  КОЕ/г, лактобактерий до  $10^6-10^5$  КОЕ/г, типичных эшерихий до  $10^6-10^5$  КОЕ/г, возможно повышение содержания типичных эшерихий до  $10^9-10^{10}$  КОЕ/г;
2. снижение содержания бифидобактерий до  $\leq 10^7$  КОЕ/г, лактобактерий до  $\leq 10^5$  КОЕ/г, повышение содержания гемолитических эшерихий или других условно патогенных бактерий до  $10^5-10^7$  КОЕ/г или обнаружение ассоциаций условно патогенных микроорганизмов до  $10^4-10^5$  КОЕ/г;
3. снижение содержания бифидобактерий до  $\leq 10^7$  КОЕ/г, лактобактерий до  $\leq 10^5$  КОЕ/г, обнаружение ассоциаций условно патогенных микроорганизмов  $\geq 10^6-10^7$  КОЕ/г

# Микробиологические критерии (типы) нарушения состава кишечной микрофлоры

- 1) нарастание количества условно-патогенных микроорганизмов одного или нескольких видов при нормальном количестве бифидобактерий
- 2) повышение содержания одного или нескольких видов условно-патогенных микроорганизмов при снижении концентрации бифидобактерий на 1-2 порядка
- 3) снижение содержания бифидо- и/или лактобактерий без увеличения количества сапрофитной или условно-патогенной микрофлоры
- 4) умеренное или значительное ( $<10^7$ ) снижение содержания бифидобактерий, лактобактерий, появлением измененных форм кишечной палочки, обнаружением одного или нескольких представителей условно-патогенных микроорганизмов в высоких титрах (до  $10^7$ – $10^8$  КОЕ/г)

# Сравнение различных типов нарушения состава кишечной микрофлоры у больных СРК и в группе контроля



*Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных.  
Дисбактериоз кишечника». Москва, 2003г.*

## Сравнение степеней нарушения состава кишечной микрофлоры у больных СРК и в группе контроля



*Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных.  
Дисбактериоз кишечника». Москва, 2003г.*

# Чувствительность и специфичность бактериологического анализа кала

Чувствительность – 98 %  
Специфичность – 27 %

$$Ч = \frac{Ип}{Ип + Ло}$$

$$С = \frac{Ио}{Ио + Лп}$$

Ч - чувствительность;

С - специфичность;

Ип - истинноположительный результат

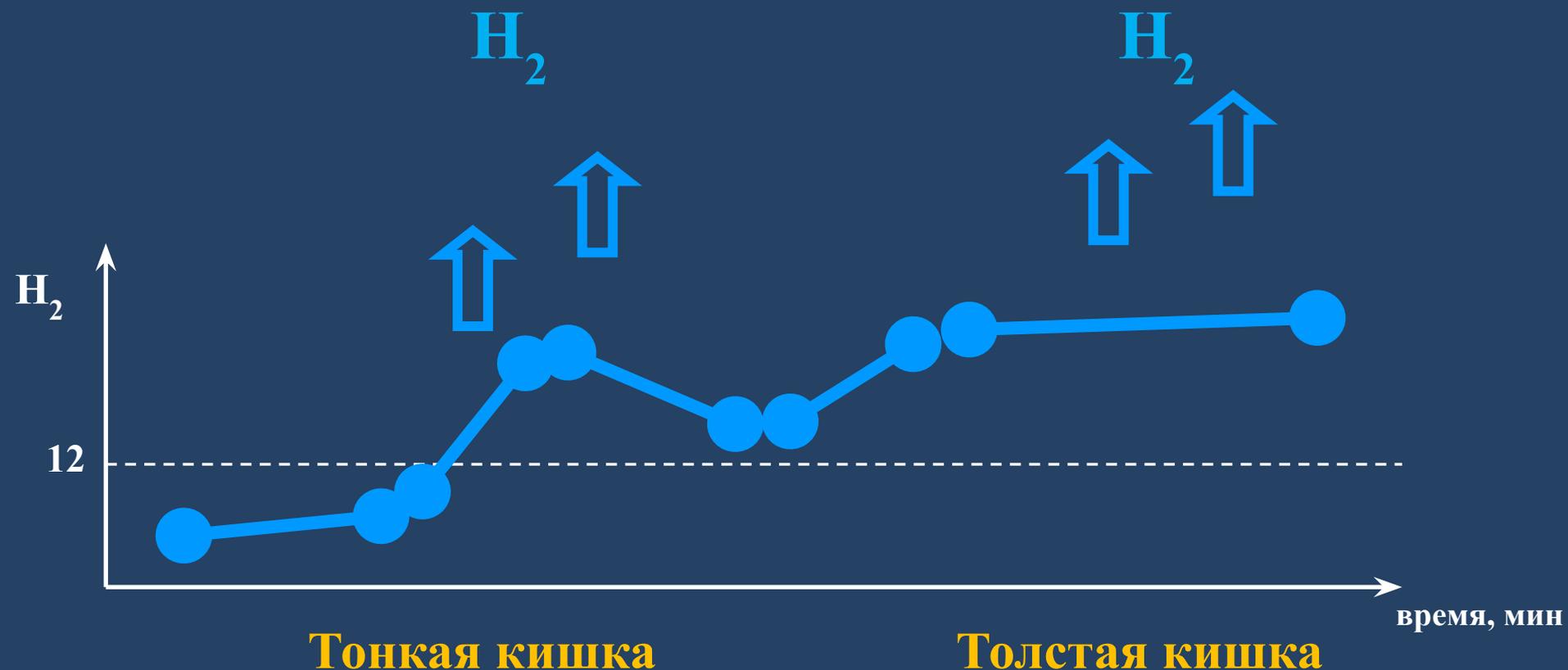
Ио - истинноотрицательный результат

Ло - ложноотрицательный результат

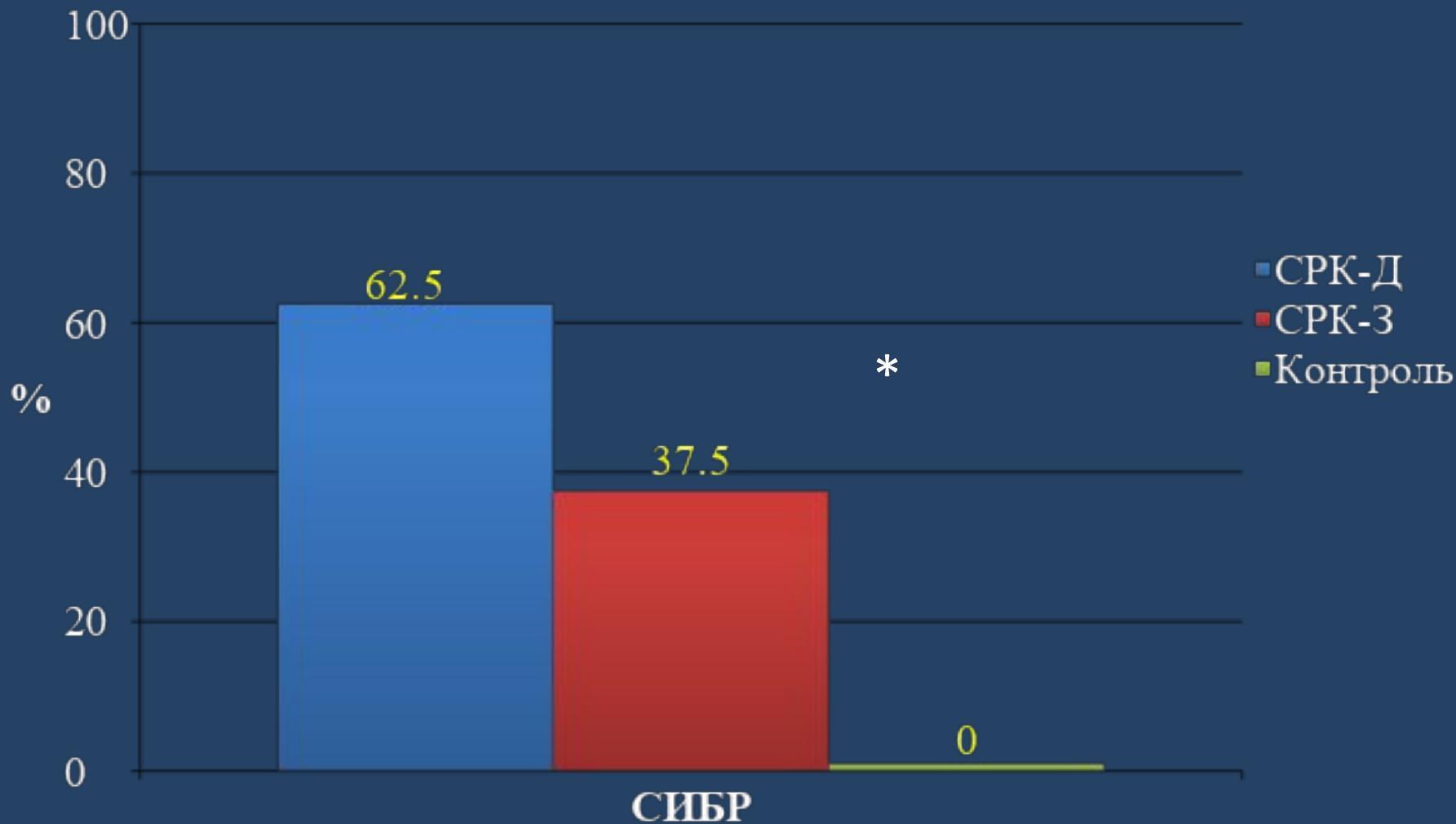
Лп - ложноположительный результат

# Водородный дыхательный тест с лактулозой

Метод основан на определении продуктов метаболизма кишечных бактерий (водорода) в выдыхаемом воздухе после приема углеводного субстрата (лактюлозы)



## Сравнительная частота выявления СИБР у больных СРК и лиц контрольной группы



\* - статистическая достоверность

## Корреляции наличия СИБР

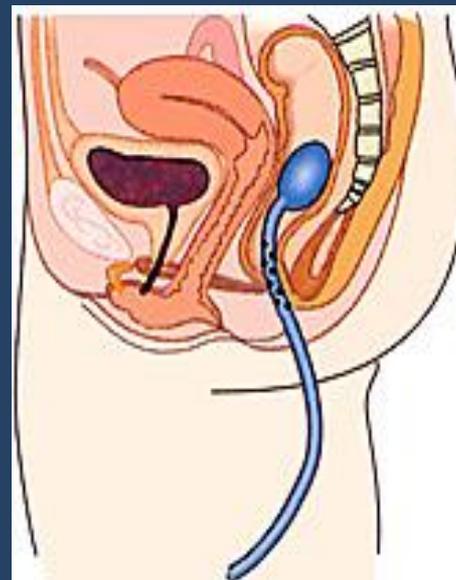
- **клинические симптомы**
- **чувствительность и моторика прямой кишки**  
(аноректальная манометрия высокого разрешения)
- **психоэмоциональный статус** (психологические опросники)

## Корреляции наличия СИБР с клиническими симптомами заболевания у больных СРК-Д и СРК-З

Показатели	СИБР у больных СРК-Д		СИБР у больных СРК-З	
	$\tau$ Кендалла	p	$\tau$ Кендалла	p
Интенсивность боли (ВАШ)	-0,24	0,063	-0,14	0,261
Частота боли (кол-во дней в неделю)	0,12	0,337	0,00	0,981
Продолжительность боли (кол-во часов в день)	-0,05	0,716	0,09	0,483
Диарея (кол-во дефекаций в неделю)	0,05	0,717		
Запор (кол-во дефекаций в неделю)			-0,03	0,783
Интенсивность метеоризма (ВАШ)	-0,01	0,917	0,16	0,187
Частота метеоризма (кол-во дней в неделю)	0,02	0,867	0,15	0,220
Продолжительность метеоризма (кол-во часов в день)	-0,01	0,937	0,16	0,195

# Аноректальная манометрия высокого разрешения

- Исследование аноректальной зоны методом манометрии с применением 20-канального водно-перфузионного катетера с баллоном
- Цель исследования: получение информации о тоне анальных сфинктеров и определение чувствительности прямой кишки



## Корреляции наличия СИБР с показателями аноректальной манометрии у больных СРК-Д и СРК-З

Показатели	СИБР у больных СРК-Д		СИБР у больных СРК-З	
	$\tau$ Кендалла	p	$\tau$ Кендалла	p
Длина АС	-0,14	0,297	0,07	0,587
Среднее давление АС в покое	0,13	0,331	0,13	0,347
Среднее давление сжатия АС	<b>-0,34</b>	<b>0,012*</b>	0,19	0,157
Среднее максимальное давление сжатия АС	<b>-0,35</b>	<b>0,011*</b>	<b>-0,27</b>	<b>0,046*</b>
Длительность сжатия АС	<b>0,27</b>	<b>0,047*</b>	-0,05	0,690
Амплитуда расслабления АС	0,14	0,289	-0,10	0,443
Процент расслаблений АС	0,12	0,397	-0,06	0,630
Длительность РАИР	-0,01	0,927	-0,04	0,790
Порог РАИР	0,20	0,142	0,09	0,514
Первая чувствительность	-0,14	0,289	-0,06	0,650
Первый позыв	0,01	0,952	-0,05	0,735
Постоянный позыв	-0,02	0,904	-0,08	0,572
Сильный позыв	<b>-0,31</b>	<b>0,022*</b>	-0,01	0,932
Максимально переносимый объем	<b>-0,31</b>	<b>0,025*</b>	-0,16	0,229

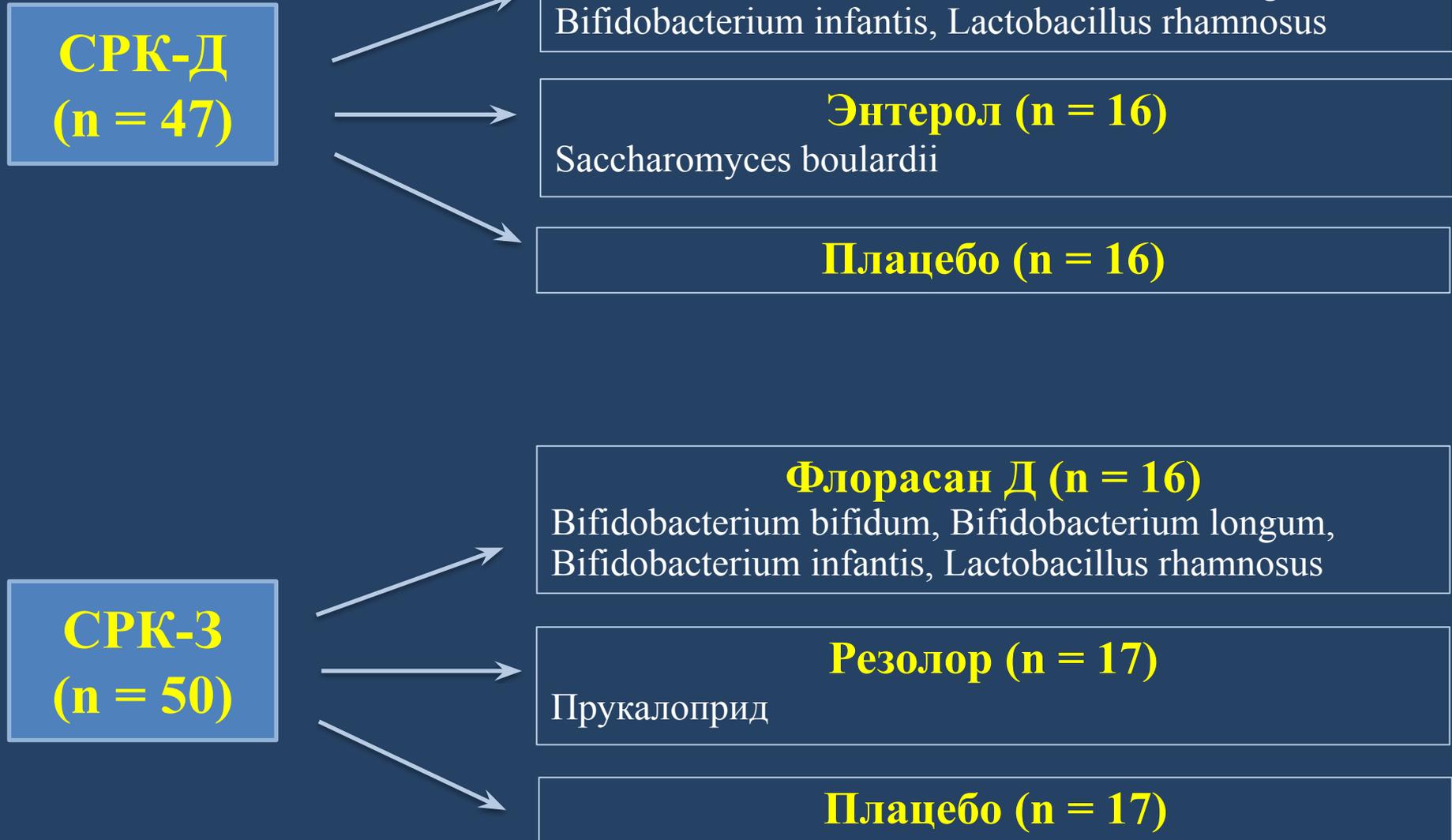
\* - статистическая достоверность

## Корреляции наличия СИБР с психоэмоциональным статусом больных СРК-Д и СРК-З

Показатели	Наличие СИБР в группе СРК-Д		Наличие СИБР в группе СРК-З	
	$\tau$ Кендалла	p	$\tau$ Кендалла	p
Наличие тревоги по HARS	<b>0,21</b>	<b>0,048*</b>	-0,08	0,495
Наличие депрессии по HDRS)	-0,12	0,344	0,14	0,240
Наличие депрессии по когнитивно-аффективной субшкале Бека	-0,08	0,538	<b>0,28</b>	<b>0,021*</b>
Наличие депрессии по субшкале соматических проявлений депрессии Бека	-0,04	0,756	0,06	0,626
Наличие депрессии по шкале Бека (суммарный результат)	-0,05	0,705	0,20	0,107

\* - статистическая достоверность

# Проводимая терапия в группах больных СРК-Д и СРК-З



## Сравнительная характеристика подгрупп пациентов СРК-Д до начала терапии

Показатели	Больные, получавшие Флорасан-Д, n=16	Больные, получавшие Энтерол, n=15	Больные, получавшие плацебо, n=16	P	
				Ф-Э	Ф-П
<b>Возраст</b>	27,0 [25,3; 32,5]	33,5 [31,1; 42,4]	32,5 [28,3; 40,5]	0,027	0,396
<b>Возраст к моменту начала заболевания</b>	20,0 [16,9; 25,4]	27,0 [24,4; 34,7]	29,5 [23,8; 31,3]	<b>0,011*</b>	0,147
<b>Длительность анамнеза</b>	6,0 [3,5; 10,3]	5,0 [2,1; 10,5]	4,5 [3,0; 10,8]	0,506	0,356
<b>Боль (ВАШ)</b>	4,0 [3,0; 5,8]	4,0 [2,5; 5,3]	3,5 [2,5; 5,0]	0,624	0,418
<b>Консистенция стула (Бристольская шкала)</b>	6,0 [5,1; 6,0]	6,0 [5,7; 6,1]	5,0 [4,5; 5,4]	0,183	0,060
<b>Частота стула (количество дефекаций в неделю)</b>	14,0 [11,8; 19,6]	20,5 [15,4; 26,1]	14,0 [13,5; 20,9]	0,097	0,925
<b>Метеоризм (ВАШ)</b>	7,0 [4,6; 8,0]	5,0 [3,5; 7,2]	3,0 [2,7; 5,3]	0,314	0,057

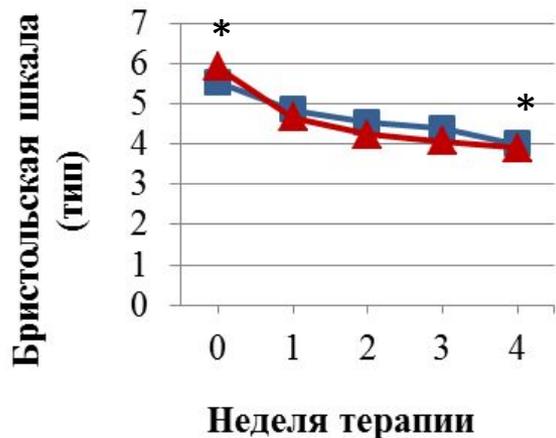
\* - статистическая достоверность (p<0,025)

**Корреляции основных клинических симптомов (4 неделя терапии)  
с возрастом пациентов и их возрастом к моменту начала заболевания  
в группе больных с СРК-Д**

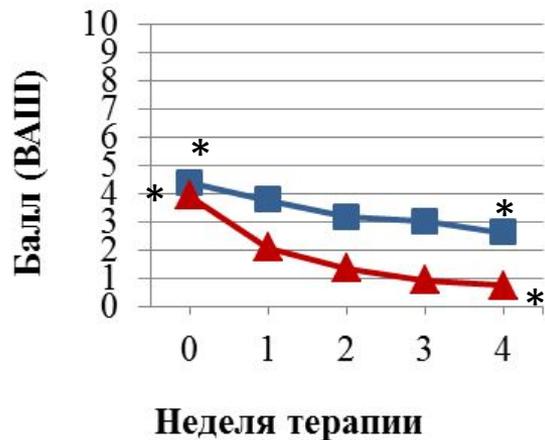
<b>Показатели</b>	<b><math>\tau</math> Кендалла</b>	<b>p</b>
<b>Абдоминальная боль (4 неделя)</b>		
<b>Возраст пациента к моменту начала заболевания</b>	-0,29	0,155
<b>Консистенция стула (4 неделя)</b>		
<b>Возраст пациента к моменту начала заболевания</b>	-0,22	0,295
<b>Частота стула (4 неделя)</b>		
<b>Возраст пациента к моменту начала заболевания</b>	-0,26	0,201
<b>Метеоризм (4 неделя)</b>		
<b>Возраст пациента к моменту начала заболевания</b>	-0,51	0,009 *

# Динамика выраженности клинических симптомов у больных СРК-Д, получавших Флорасан-Д и Энтерол

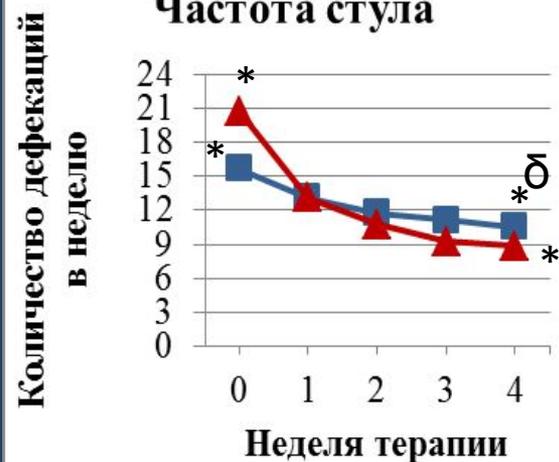
## Консистенция стула



## Абдоминальная боль

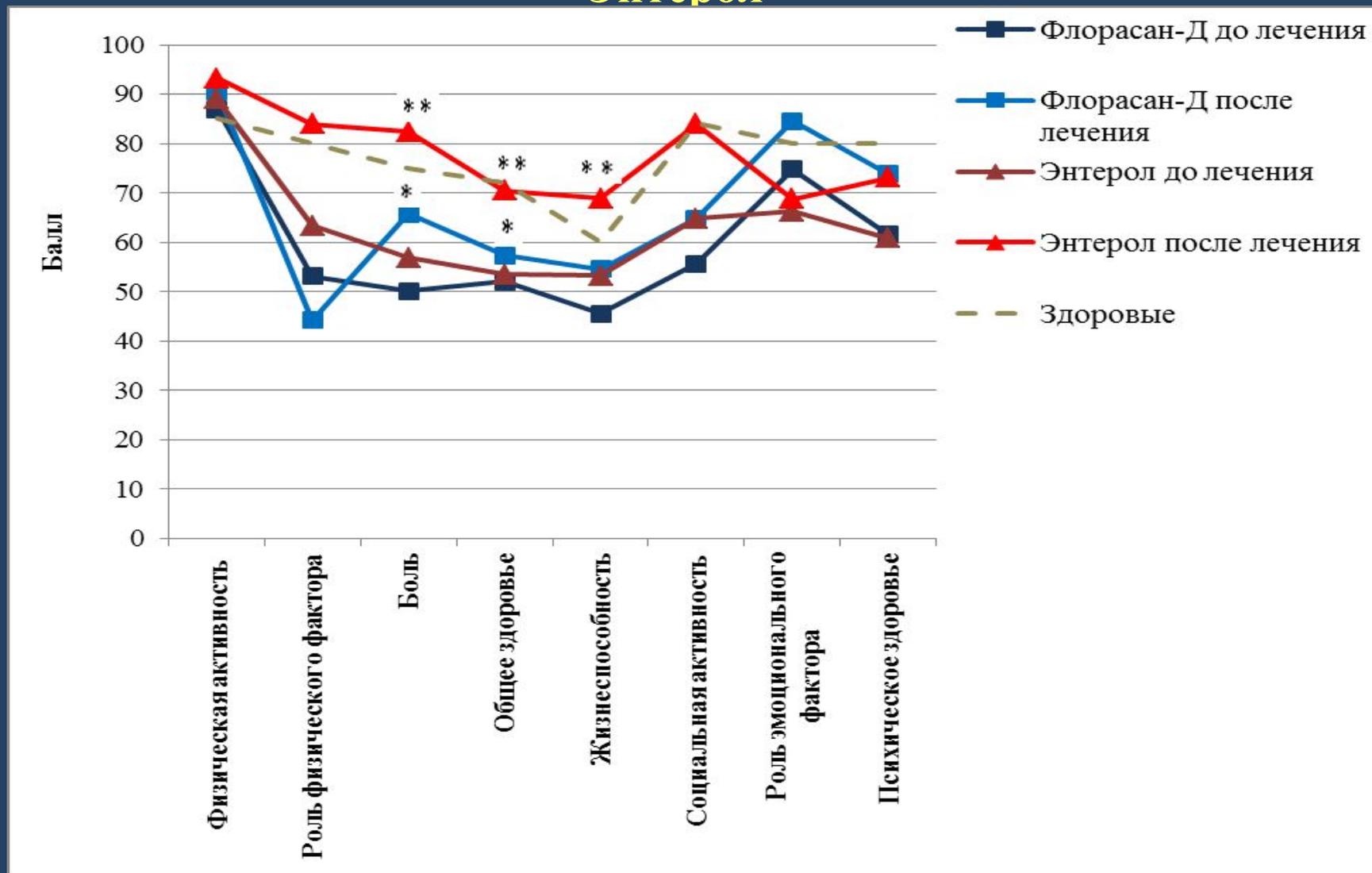


## Частота стула



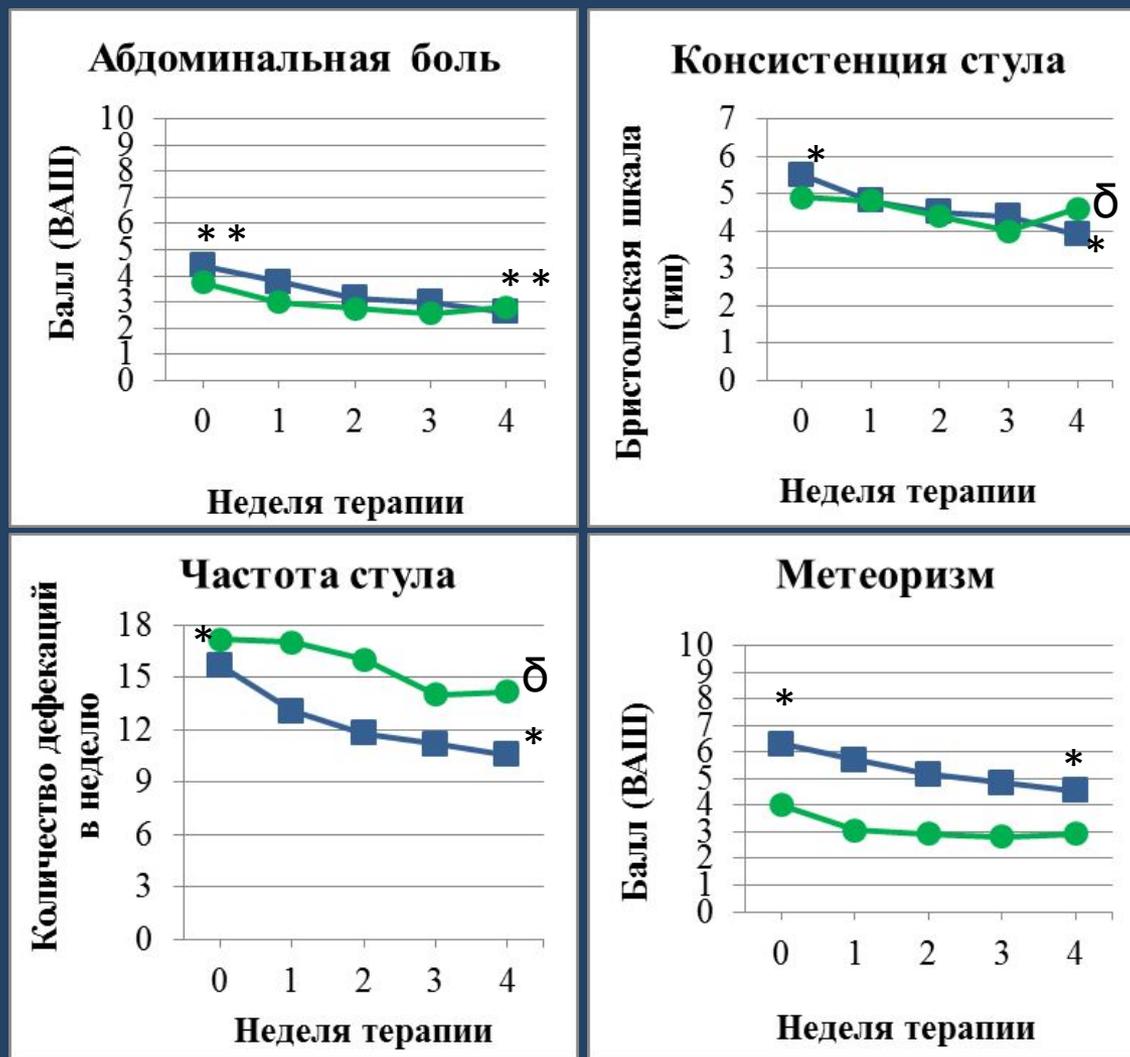
■ – Флорасан-Д    ▲ – Энтерол

# Динамика уровня качества жизни (SF-36) у здоровых и больных с СРК-Д до и после терапии препаратами Флорасан-Д и Энтерол



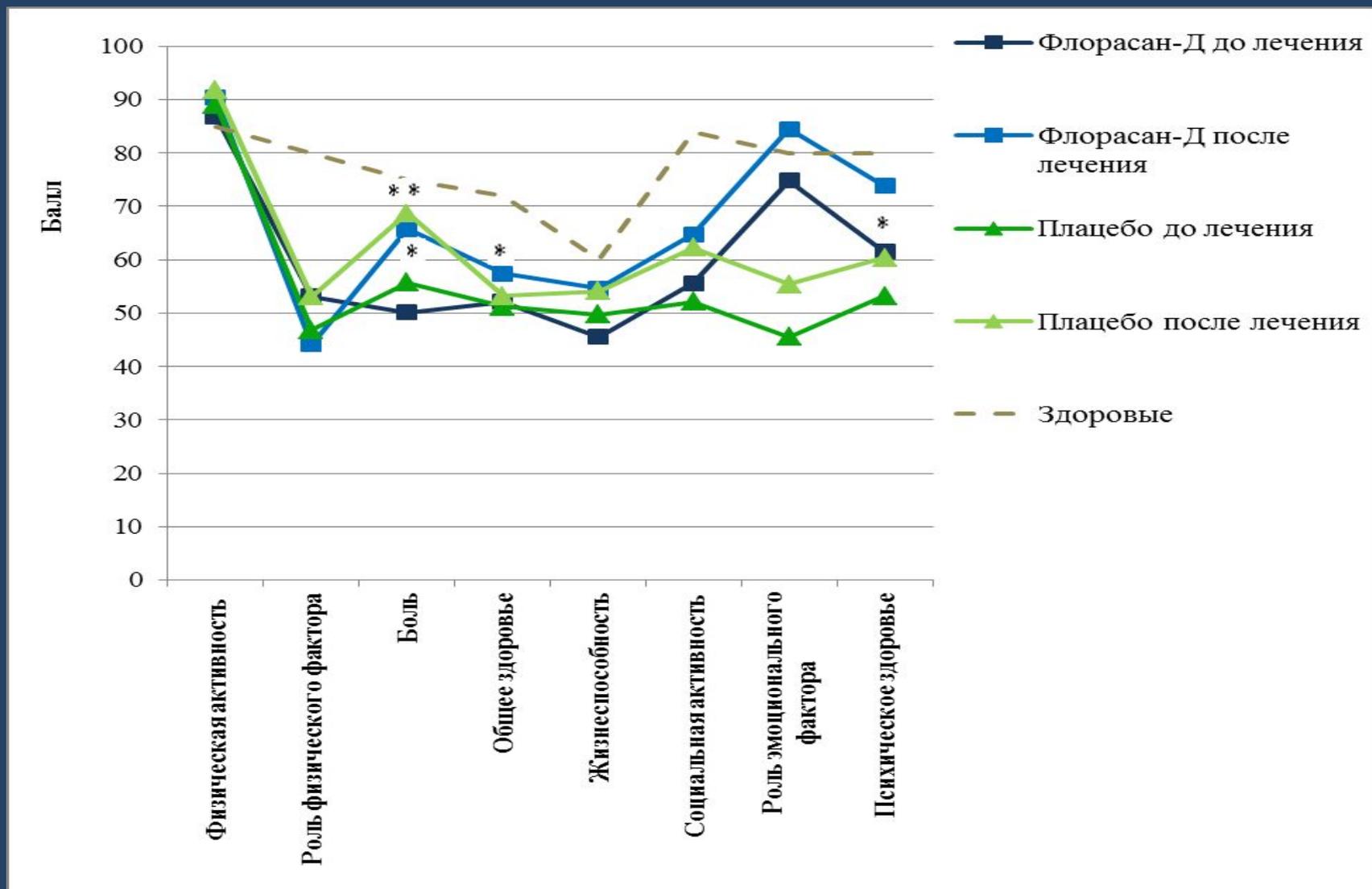
\* - Флорасан-Д, \*\* - Энтерол

# Динамика выраженности клинических симптомов у больных СРК-Д, получавших Флорасан-Д и плацебо



■ – Флорасан-Д    ● – Плацебо

# Динамика уровня качества жизни у здоровых и больных с СРК-Д до и после терапии препаратами Флорасан-Д и плацебо



\* - Флорасан-Д, \*\* - плацебо

## Сравнительная характеристика подгрупп пациентов СРК-3 до начала терапии

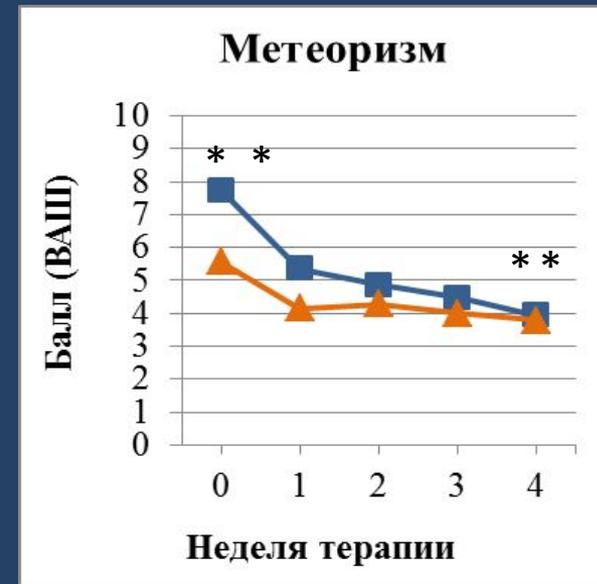
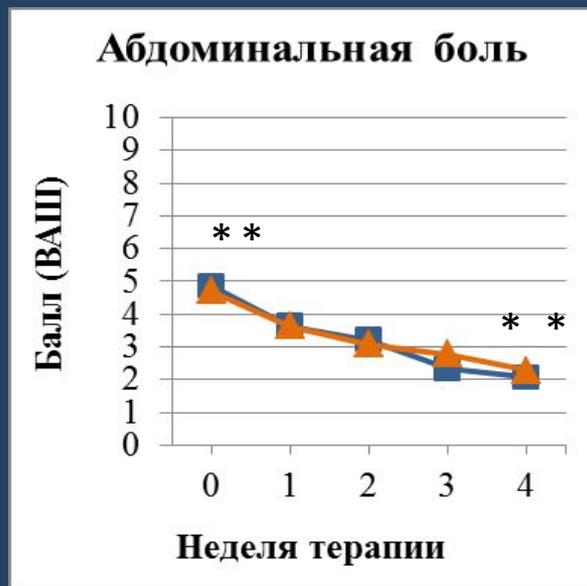
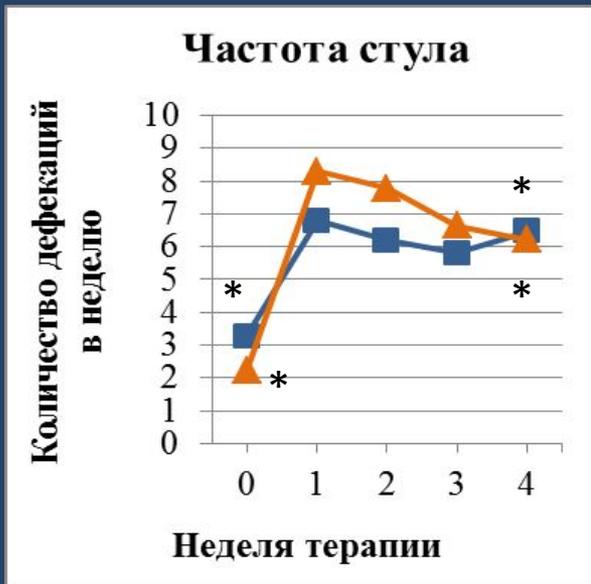
Показатели	Больные, получавшие Флорасан-Д, n=16	Больные, получавшие Резолор, n=17	Больные, получавшие плацебо, n=17	P	
				Ф-Р	Ф-П
<b>Возраст</b>	27,0 [24,1; 36,8]	49,0 [39,2; 53,6]	34,0 [29,4; 39,2]	<b>0,003 *</b>	0,201
<b>Возраст к моменту начала заболевания</b>	25,0 [19,3; 27,7]	25,0 [20,8; 39,2]	25,0 [21,2; 29,4]	0,371	0,815
<b>Длительность анамнеза</b>	6,5 [3,6; 8,8]	14,0 [8,6; 20,2]	7,0 [5,1; 13,1]	0,026	0,340
<b>Боль (ВАШ)</b>	4,0 [3,8; 5,9]	5,0 [3,5; 5,9]	4,0 [3,2; 4,7]	0,983	0,387
<b>Консистенция стула (Бристольская шкала)</b>	2,0 [1,8; 2,3]	1,0 [0,9; 1,8]	2,0 [1,6; 2,6]	<b>0,006 *</b>	0,928
<b>Частота стула (количество дефекаций в неделю)</b>	3,0 [2,4; 4,1]	2,0 [1,5; 2,9]	4,0 [3,4; 4,6]	0,045	0,117
<b>Метеоризм (ВАШ)</b>	7,0 [6,7; 8,7]	5,5 [3,9; 7,2]	6,0 [3,6; 6,2]	0,038	<b>0,003*</b>

\* - статистическая достоверность (p<0,025)

**Корреляции основных клинических симптомов (4 неделя терапии)  
с их исходными значениями в группе больных с СРК-3**

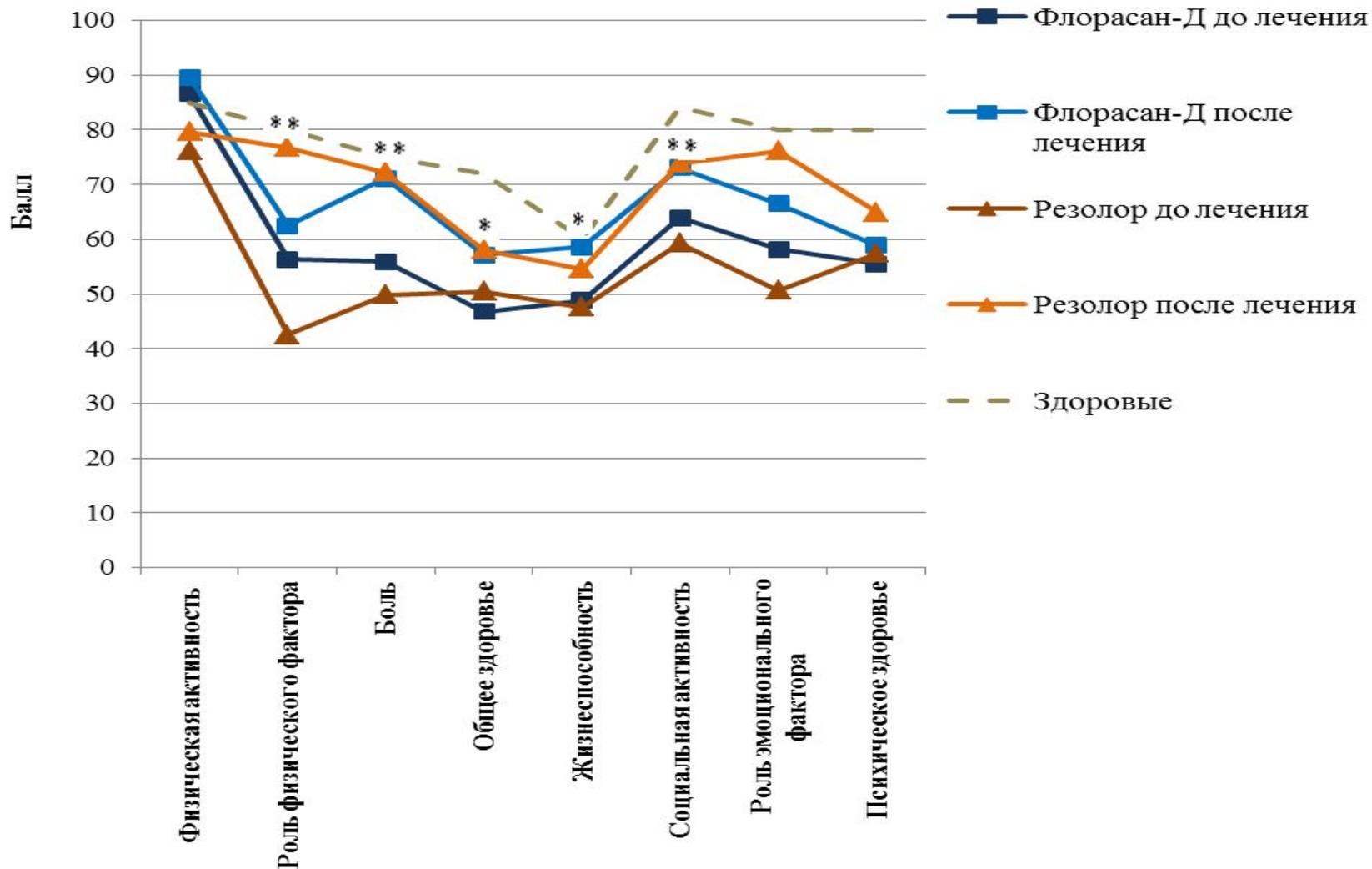
Показатели	$\tau$ Кендалла	p
<b>Абдоминальная боль (4 неделя)</b>		
Возраст пациентов	0,24	0,209
Консистенция стула до начала лечения (Бристольская шкала)	-0,12	0,537
Выраженность метеоризма до начала лечения (ВАШ)	0,24	0,217
<b>Консистенция стула (4 неделя)</b>		
Возраст пациентов	0,33	0,090
Консистенция стула до начала лечения (Бристольская шкала)	-0,59	<b>0,001*</b>
Выраженность метеоризма до начала лечения (ВАШ)	-0,01	0,948
<b>Частота стула (4 неделя)</b>		
Возраст пациентов	-0,21	0,279
Консистенция стула до начала лечения (Бристольская шкала)	0,30	0,127
Выраженность метеоризма до начала лечения (ВАШ)	-0,18	0,344
<b>Метеоризм (4 неделя)</b>		
Возраст пациентов	-0,02	0,933
Консистенция стула до начала лечения (Бристольская шкала)	0,01	0,951
Выраженность метеоризма до начала лечения (ВАШ)	0,54	<b>0,002*</b>

# Динамика выраженности клинических симптомов у больных СРК-З, получавших Флорасан-Д и Резолор



■ – Флорасан-Д    ▲ – Резолор

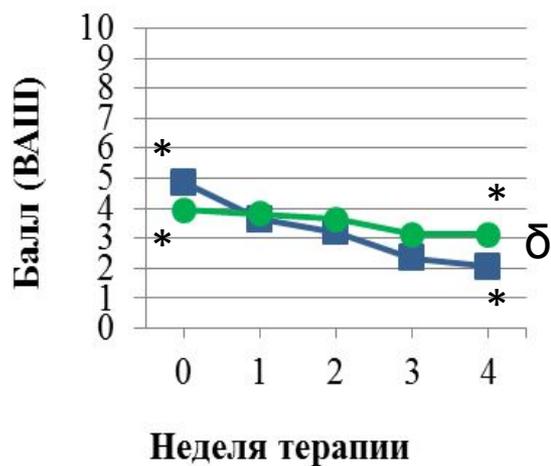
# Динамика уровня качества жизни у здоровых и больных с СРК-З до и после терапии препаратами Флорасан-Д и Резолор



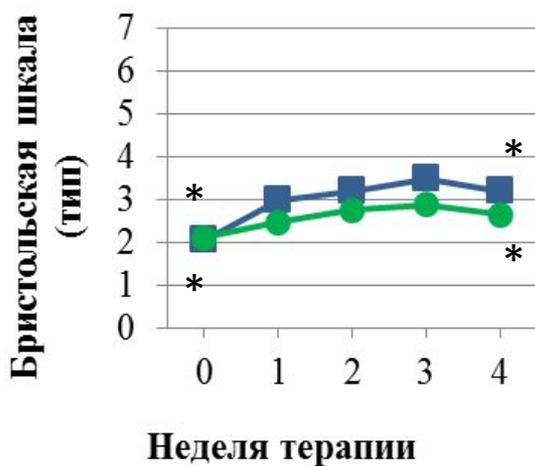
\* - Флорасан-Д, \*\* - Резолор

# Динамика выраженности клинических симптомов у больных СРК-3, получавших Флорасан-Д и плацебо

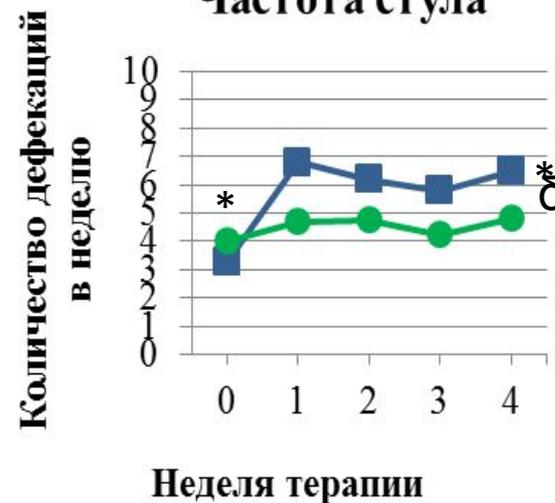
## Абдоминальная боль



## Консистенция стула

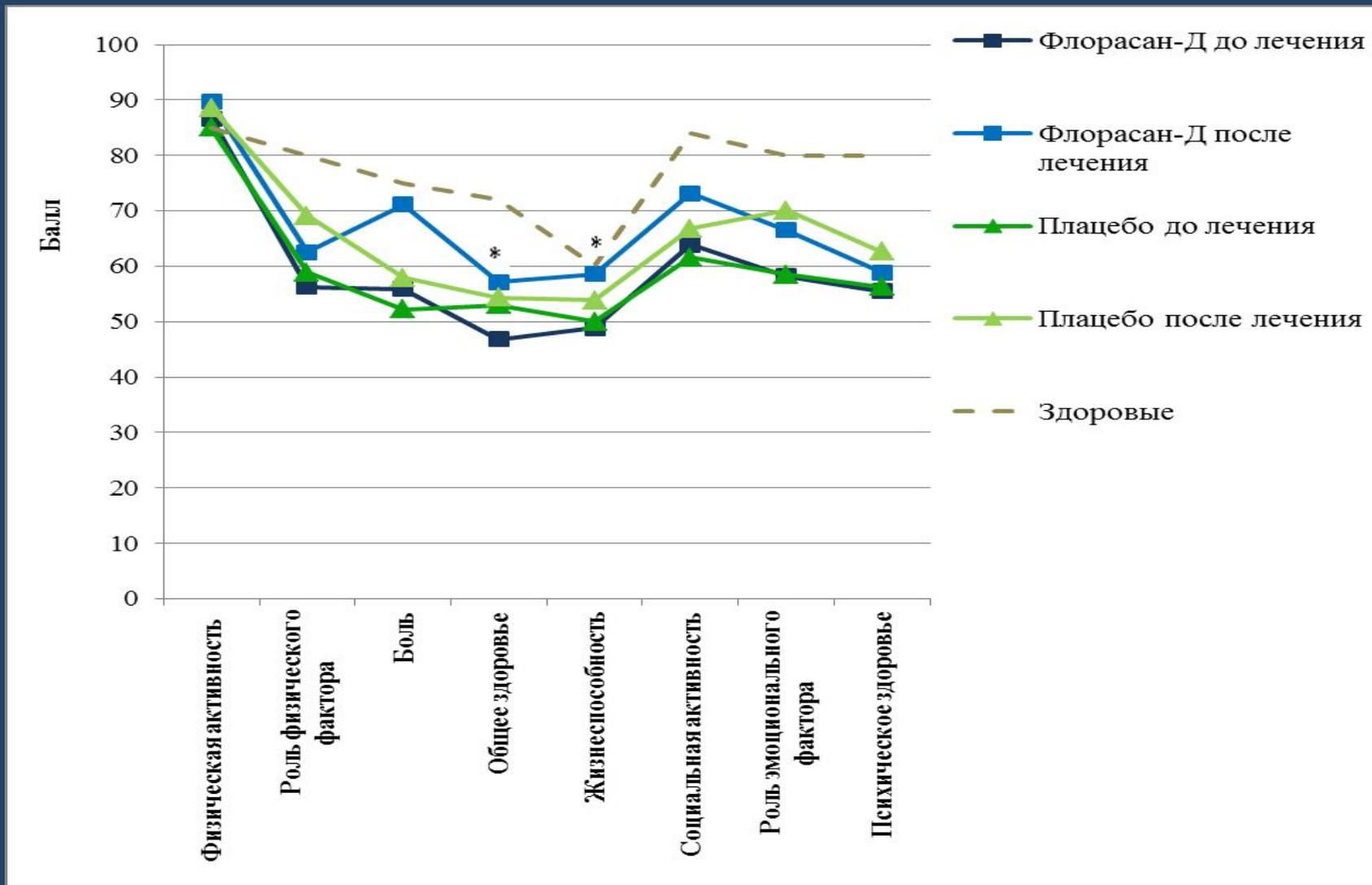


## Частота стула



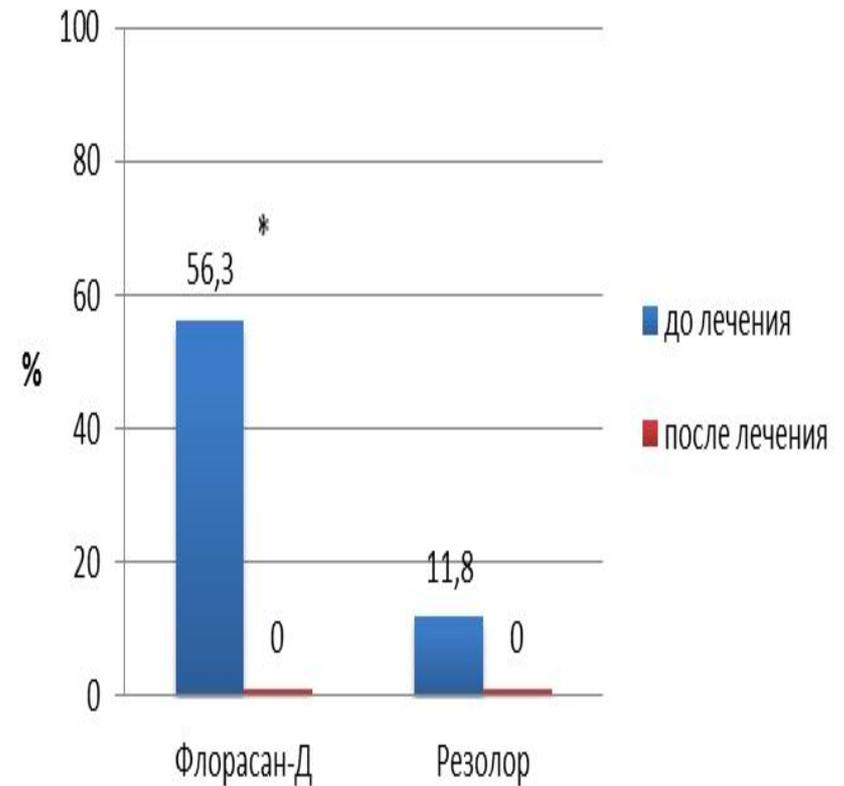
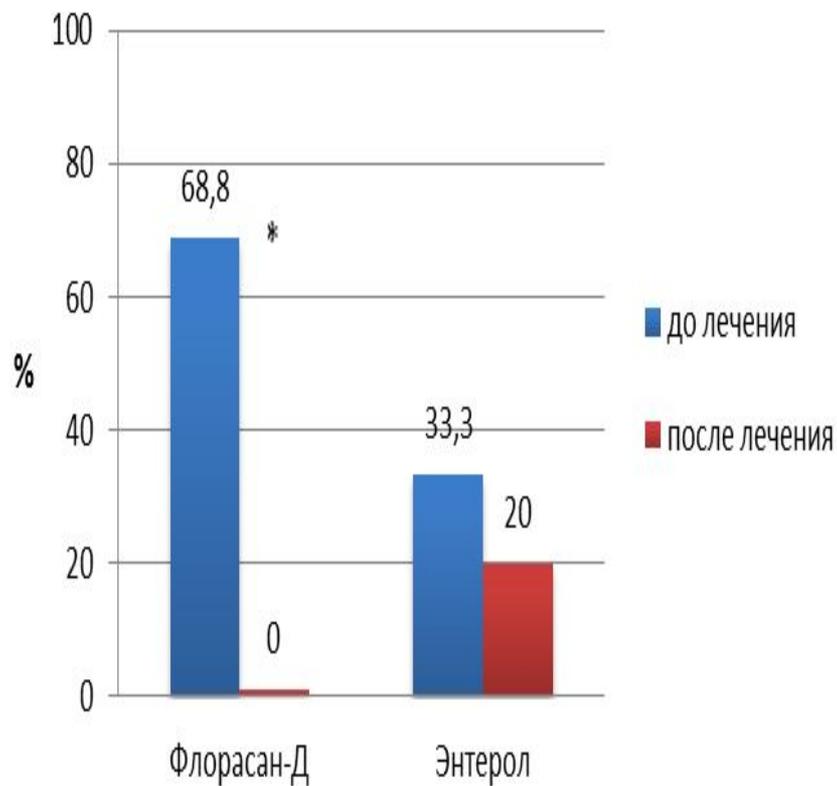
■ – Флорасан-Д    ● – Плацебо

# Динамика уровня качества жизни у здоровых и больных с СРК-3 до и после терапии препаратами Флорасан-Д и плацебо



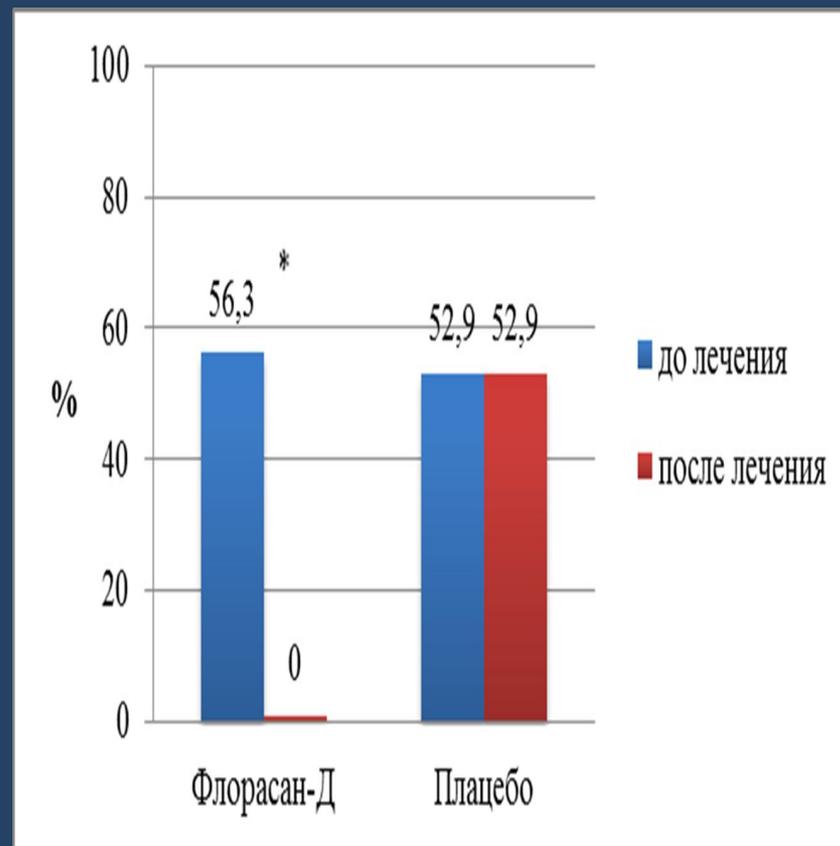
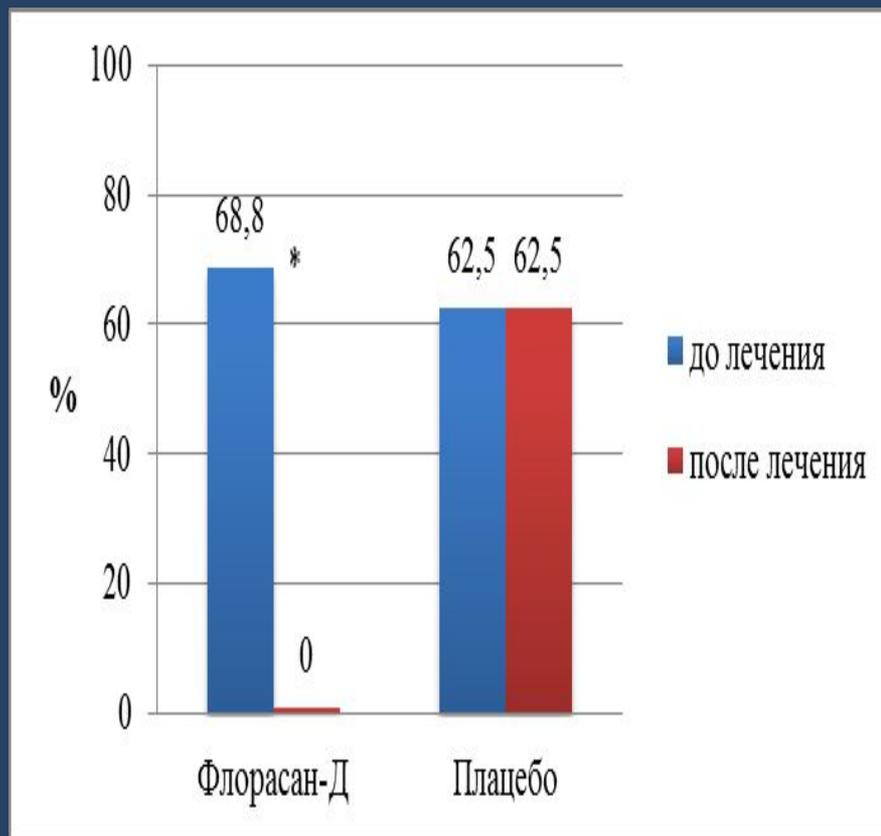
\* - Флорасан-Д, \*\* - плацебо

## Динамика результатов дыхательного теста в группах больных СРК-Д и СРК-З



\* - статистическая достоверность

# Динамика результатов дыхательного теста в группах больных СРК-Д и СРК-З на фоне приема препарата Флорасан-Д и плацебо



\* - статистическая достоверность

## Выводы

- Результаты молекулярно-генетического исследования кишечной микрофлоры (секвенирование 16S рРНК) свидетельствуют о достоверных различиях ( $p < 0,05$ ) в составе кишечного микробиома у здоровых лиц и больных СРК. У здоровых лиц преобладают бактерии рода *Blautia* (17,1%), *Prevotella* (8,3%), *Faecalibacterium* (6,9%), у больных СРК – микроорганизмы рода *Bacteroides* (18,9%) и *Coprococcus* (7,3%).
- Прямые методы исследования состава кишечной микрофлоры (бактериологический анализ кала, секвенирование 16S рРНК) не применимы в клинической практике в связи с трудоемкостью выполнения, длительностью проведения и сложностью в интерпретации результатов молекулярно-генетического исследования; низкой информативностью бактериологического анализа кала (специфичность 27%).
- Синдром избыточного бактериального роста (СИБР), диагностируемый при помощи водородного дыхательного теста, выявляется у 62,5% больных с СРК-Д, 37,5% пациентов с СРК-З и не встречается у здоровых добровольцев. Различия между больными СРК и лицами контрольной группы достоверны ( $p < 0,05$ ).

## Выводы (продолжение)

- У больных СРК отмечается взаимосвязь наличия СИБР с основными патогенетическими механизмами формирования заболевания (моторика и чувствительность толстой кишки, эмоциональные нарушения).
- По данным аноректальной манометрии высокого разрешения у больных с СРК-Д обнаружены прямые корреляции наличия СИБР с показателями, характеризующими состояние анального сфинктера (АС): длительностью сжатия АС ( $p=0,047$ ), средним давлением сжатия АС ( $p=0,012$ ) и средним максимальным давлением сжатия АС ( $p=0,011$ ), а также обратные корреляции с показателями ректальной чувствительности: порогом сильного позыва на дефекацию ( $p=0,022$ ) и максимально переносимым объемом нагнетаемого в баллон воздуха ( $p=0,025$ ). У больных СРК-З отмечается прямая корреляция между наличием СИБР и средним максимальным давлением сжатия АС ( $p=0,046$ ).

## Выводы (продолжение)

- У пациентов с СРК-Д оба пробиотика (Флорасан-Д, Энтерол) достоверно уменьшают выраженность основных клинических симптомов заболевания. Оба препарата способствуют улучшению показателей качества жизни по данным опросника SF-36. Однако, при назначении Флорасана-Д, уменьшение клинических проявлений заболевания происходит параллельно с нормализацией кишечной микрофлоры по данным водородного дыхательного теста.
- У пациентов с СРК-З пробиотик Флорасан-Д и энтерокинетик Резолор достоверно эффективны для уменьшения выраженности абдоминальной боли, метеоризма и нормализация частоты стула. Оба препарата способствуют улучшению показателей качества жизни по данным опросника SF-36 и нормализации кишечной микрофлоры по данным водородного дыхательного теста.
- У больных с СРК-Д пробиотик Флорасан-Д достоверно эффективнее плацебо способствует нормализации частоты ( $p=0,024$ ) и консистенции стула ( $p=0,022$ ). У пациентов с СРК-З Флорасан-Д достоверно эффективнее плацебо позволяет купировать боль в животе ( $p=0,023$ ) и улучшить частоту стула ( $p=0,002$ ). Только в случае приема Флорасана-Д отмечается нормализация кишечной микрофлоры независимо от варианта течения заболевания.