

## Влияние кислотности желудочного сока на микрофлору кишечника

Н.С. Тропская<sup>1</sup>, И.Г. Шашкова<sup>1</sup>, Т.В. Черненькая<sup>1</sup>, Т.С. Попова<sup>1</sup>,  
Г.Д. Капанадзе<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва  
<sup>2</sup> – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

Контактная информация: д.б.н. Тропская Наталья Сергеевна, [ntropskaya@mail.ru](mailto:ntropskaya@mail.ru)

---

Исследовано влияние гипохлоргидрии на изменение качественного и количественного состава полостной микрофлоры тощей и слепой кишок крыс. Показано, что внутрижелудочное введение Париета в течение 16-ти суток приводит к колонизации *Escherichia coli* проксимальных отделов тонкого кишечника, что сопровождается потерей массы тела. Выявлено уменьшение видового состава микрофлоры тощей и слепой кишок. Обнаружено исчезновение количественного проксимо-дистального градиента микроорганизмов в кишечнике.

**Ключевые слова:** кишечная микрофлора, гипохлоргидрия, избыточный бактериальный рост.

---

### Введение

Известно, что одним из механизмов, контролирующих кишечную микрофлору, является кислотный барьер желудка [5]. При снижении желудочной кислотопродукции (медикаментозное или оперативное ее подавление) наблюдается колонизация микрофлорой проксимальных отделов тонкого кишечника [1].

Наиболее эффективно снижают кислотопродукцию в желудке ингибиторы протонной помпы, блокирующие конечный этап образования соляной кислоты – перенос протонов в секреторные каналцы париетальных клеток с помощью фермента H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-азы (омепразол, рабепразол и т.п.). У здоровых добровольцев и пациентов с язвенной болезнью желудка продемонстрировано, что через 5 недель приема омепразола по 20 мг/сут в желудочном и тон-

кокишечном содержимом увеличилось количество *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Enterococcus*, *Lactobacillus bifidus*, *Bacteroides vulgatus*, *B. uniformis*, *Eubacterium lentum*, *Eubacterium parvum*, *Corynebacterium granulosum* [7]. В этой работе отмечена корреляция между среднесуточным уровнем рН в желудке и выраженностью бактериальной колонизации тонкой кишки [7].

В большинстве экспериментальных и клинических работ по исследованию влияния ингибиторов протонной помпы на микрофлору кишечника приводятся результаты, касающиеся изменения микробного пейзажа желудка и верхних отделов тонкой кишки [3, 4, 8]. Кроме того, известно, что в норме количество микроорганизмов в просвете увеличивается в направлении дистальных отделов кишечника [2]. Однако в доступной

литературе мы не обнаружили сведений о влиянии подавления секреции соляной кислоты на состав микрофлоры слепой кишки, а также об изменении количественного проксимо-дистального градиента полостной микрофлоры кишечника.

**Цель** исследования – изучить влияние гипохлоргидрии на изменение качественного и количественного состава полостной микрофлоры тощей и слепой кишок.

### Материалы и методы

Исследования выполнены на 12-ти крысах-самцах популяции линий Wistar массой 420-490 г. Протокол исследований был одобрен локальным комитетом по биомедицинской этике НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

Контрольную группу составили 6 здоровых животных. В опытной группе (n=6) за 15 дней до экспериментов была проведена предварительная оперативная подготовка, для которой использовали р-р кетамина (0,3 мл/100 г массы тела внутривенно). Во время операции проводили срединную лапаротомию, вживляли зонд в антральную часть желудка. После фиксации зонд проводили через мягкие ткани брюшной стенки и тазовой области и затем с помощью специального инструмента протаскивали под кожей хвоста и выводили наружу. После чего животные помещались в металлические индивидуальные клетки.

Все животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды при температуре 20-24°C, влажности воздуха 45-65%, и 12-часовом режиме освещенности (8<sup>00</sup>-20<sup>00</sup> – свет, 20<sup>00</sup>-8<sup>00</sup> – сумеречное освещение).

В начале экспериментов всех животных взвешивали. В качестве препарата для подавления секреции соляной кислоты использовался Париет (международное непатентованное название – Рабепразол) – ингибитор протонной помпы. Во время экспериментов через желудочный зонд вводили 0,1 мл р-ра Париета в дозе 0,14 мг/кг ежедневно, однократно в течение 16-ти дней. До (фон) и через 2 ч после введения Париета измерялся рН содержимого желудка с помощью универсальной лакмусовой индикаторной бумаги. На 17-е сутки животных взвешивали и выводили из эксперимента. После введения летальной дозы наркоза (обеим группам животных) и вскрытия брюшной полости проводили забор содержимого тощей (20 см за связкой Трейтца) и слепой кишок для бактериологического анализа. Также выделяли печень, почки, надпочечники, селезенку, слепую кишку для определения относительной массы органов.

Микробиологическое исследование содержимого тощей и слепой кишок проводилось в соответствии с нормативными документами, принятыми для исследования кала у людей: отраслевым стандартом 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». Были изучены 9 групп микроорганизмов: *Escherichia coli* (*E.coli*), *Enterococcus* spp., *Proteus mirabilis*, *Enterobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp., плесневые грибы, *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. Количество бактерий в каждом виде выражали в КОЕ/мл.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0. Для каждой группы животных для всех параметров расчи-

тывали среднее значение, стандартное отклонение, медиану, персентили. В связи с тем, что распределение значений не носило нормального характера, данные в окончательном варианте представляли как медиану и персентили – Me (25;75)%, и для статистического анализа использовали непараметрические критерии. При сравнении фоновых значений кислотности содержимого желудка в различные сроки экспериментов (1-16-й дни) применяли непараметрический критерий – ранговый дисперсионный анализ по Фридману. При сравнении значений кислотности содержимого желудка до введения Париета со значениями после введения (с 1-го по 16-й день эксперимента) применяли Т-критерий Уилкоксона. При сравнении данных бактериологических исследований и значений относительной массы органов опытной группы с контрольной использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. При сравнении количества бактерий в

тощей и слепой кишке (как в контрольной, так и в опытной группах) использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считались значения при  $p < 0,01$  и  $p < 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

В первый день эксперимента до введения Париета значение рН содержимого желудка составляло 2 (2;2), после введения – 3 (2,5;4,5) ( $p < 0,05$ ). Отметим, что уже на третий день эксперимента наблюдалось увеличение фоновое значения рН содержимого желудка с двух (2;2) до 5,5 (5,5;5,5), причем данное различие было статистически значимым по сравнению с первым днем ( $p < 0,01$ ). Кроме того, в эти сроки значения рН до и после введения Париета не отличались. На 9-й день у всех животных происходило устойчивое снижение кислотности желудочного сока, с сохранением результатов в последующие дни введений. Значения рН представлены на рис. 1.

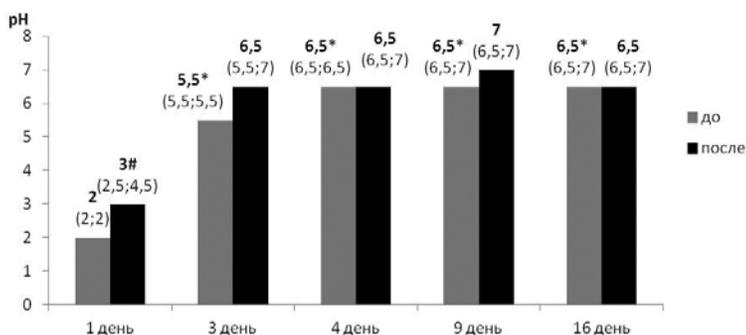


Рис. 1. Динамика изменения кислотности содержимого желудка в опытной группе в различные дни эксперимента.

*Примечание:*

\* – отличия фоновых значений статистически значимы (1-3 день, 1-4 день, 1-9 день, 1-16 день), ранговый дисперсионный анализ по Фридману,  $p < 0,01$ ;

# – отличия фоновых значений (до) и после введения Париета статистически значимы, Т-критерий Уилкоксона,  $p < 0,05$ .

Данные по бактериологическим исследованиям представлены в табл. 1 и 2.

Они показали, что в контрольной группе у большинства животных в содержимом тощей кишки присутствовали *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. и *Enterobacter* spp. У трех животных из шести присутствовали *E.coli*, у двух – *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp., у одного животного высевалась *Klebsiella* spp. При анализе микрофлоры каждого отдельного животного было установлено, что микробиоценоз тощей кишки

здоровых животных составлял от одного до шести видов бактерий. В содержимом слепой кишки у всех животных присутствовали *Staphylococcus* spp, *E.coli*, и *Bifidobacterium* spp. У большинства животных высевались *Proteus mirabilis*, *Enterococcus* spp. У трех животных из шести присутствовали плесневые грибы и *Lactobacillus* spp., у двух – *Enterobacter* spp. и у одного животного высевалась *Klebsiella* spp. Состав микрофлоры слепой кишки каждого животного составлял от пяти до семи видов микроорганизмов.

Таблица 1

Содержание различных видов микроорганизмов в тощей и слепой кишке в контрольной группе (здоровые животные) и в опытной группе (животные после 16-суточного введения Париета), КОЕ/мл, Ме (25;75)%

Вид микроорганизмов	Тощая		Слепая	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
<i>Staphylococcus</i> spp.	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;0) #	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )	0 (0;0)*
<i>Enterococcus</i> spp.	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> ) #	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>5</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )
<i>E.coli</i>	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	10 <sup>7</sup> (10 <sup>6</sup> ;10 <sup>9</sup> ) #	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )	10 <sup>8</sup> (10 <sup>7</sup> ;10 <sup>9</sup> )*
<i>Proteus mirabilis</i>	0 (0;0)	10 (0;10 <sup>2</sup> )	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>5</sup> )
<i>Enterobacter</i> spp.	10 <sup>3</sup> (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>5</sup> )	0 (0;10 <sup>6</sup> )	0 (0;10 <sup>5</sup> )	0 (0;10 <sup>5</sup> )
<i>Klebsiella</i> spp.	0 (0;0)	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>5</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>5</sup> (0;10 <sup>8</sup> )
Плесневые грибы	0 (0;0)	0 (0;0)	10 (0;10 <sup>2</sup> )	10 (0;10 <sup>2</sup> )
<i>Lactobacillus</i> spp.	0 (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;10 <sup>3</sup> )	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;10 <sup>4</sup> )
<i>Bifidobacterium</i> spp.	0 (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>4</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )

Примечание: \* и # – отличия опытной группы от контрольной статистически значимы при p<0,01 и p<0,05 соответственно. При сравнении данных бактериологических исследований опытной группы с контрольной использовали непараметрический U- критерий Манна-Уитни.

Таблица 2

Количество видов микроорганизмов, обнаруженных у каждого отдельного животного в содержимом тощей и слепой кишки в контрольной и опытной группах

	Тощая кишка		Слепая кишка	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Количество видов микроорганизмов (минимум - максимум)	1-6	3-5	5-7	4-6

В опытной группе после 16-суточного введения Париета отмечались разнонаправленные тенденции в количественном отношении некоторых микроорганизмов. Так, в содержимом тощей кишки исчезли *Staphylococcus* spp. Статистически значимо увеличилось количество *Enterococcus* spp. и *E.coli*. Также увеличилось количество *Klebsiella* spp., но было статистически незначимым. У трех животных появились *Proteus mirabilis*. Статистически незначимо уменьшилось количество *Enterobacter* spp. и *Bifidobacterium* spp. Видовое разнообразие микрофлоры тощей кишки у каждого животного уменьшилось по сравнению с контролем и составляло от трех до пяти видов микроорганизмов. В содержимом слепой кишки исчезли *Staphylococcus* spp. Статистически значимо увеличилось количество *E.coli*. Количество *Enterococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis* и *Bifidobacterium* spp. также возросло, но было статистически незначимо.

Количество *Lactobacillus* spp. было статистически незначимо снижено. Видовое разнообразие микрофлоры слепой кишки у каждого животного уменьшилось по сравнению с контролем и составляло от четырех до шести видов микроорганизмов.

Таким образом, при стойком понижении кислотности желудочного содержимого произошло уменьшение видового состава микрофлоры как проксимальных участков тощей кишки, так и дистальных участков кишечника (слепая кишка).

При изучении закономерностей количественного проксимо-дистального градиента микроорганизмов были проанализированы только те виды бактерий, содержание которых статистически значимо отличалось между контрольной и опытной группами. Как видно из рис. 2, в контрольной группе количество *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. и *E.coli* в просвете увеличивается в направлении дистальных отделов – от тощей к слепой кишке. В опытной группе

### Количественный градиент бактерий в контрольной группе

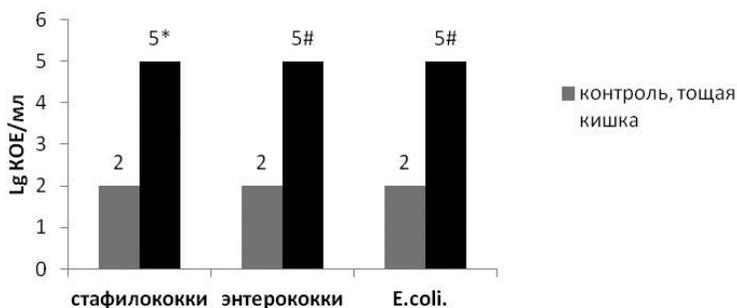


Рис. 2. Количественный градиент бактерий контрольной группы животных.

Примечание: \* и # – отличия количества бактерий в тонкой и слепой кишке в контрольной группе статистически значимы при  $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно (непараметрический U-критерий Манна-Уитни).

### Количественный градиент бактерий в опытной группе

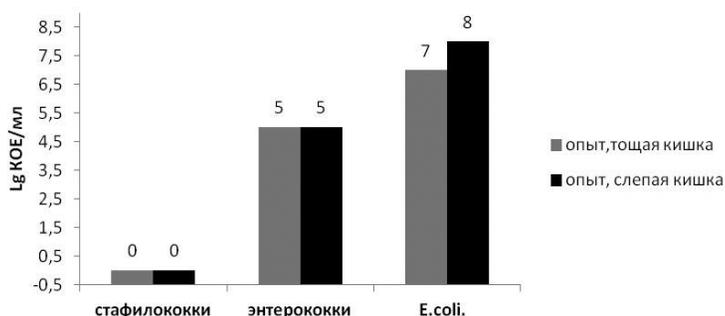


Рис. 3. Количественный градиент бактерий опытной группы животных.

*Примечание:* \* и # – отличия количества бактерий в тонкой и слепой кишке в опытной группе статистически значимы при  $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно (непараметрический U-критерий Манна-Уитни).

(рис. 3) количественный проксимо-дистальный градиент отсутствует: количество микроорганизмов как в тощей, так и слепой кишке статистически значимо не отличается.

При взвешивании животных выявлено, что в опытной группе произошло резкое снижение массы тела животных с 457-ми (451;475) до 248-ми (223;265) г, т.е. в 1,84 раза ( $p < 0,05$ ). Данные по относительной массе органов представлены в табл. 3.

Из табл. 3 видно, что после 16-суточного применения ингибитора протонной помпы наблюдается статистически значимое увеличение относительной массы почек и надпочечников, а также уменьшение относительной массы слепой кишки.

### Заключение

Таким образом, при стойком понижении кислотности желудочного содержимого наблюдается существенное снижение массы тела эксперименталь-

Таблица 3  
Относительная масса органов, МЕ (25;75%)

Группа / Орган	Относительная масса органов, МЕ (25;75%)				
	Печень	Селезенка	Почки (пара)	Надпочечники (пара)	Слепая кишка
Контроль	2,05 (1,94;2,10)	0,20 (0,18;0,21)	0,49 (0,47;0,52)	0,012 (0,010;0,013)	0,92 (0,82;0,98)
Опыт	2,02 (1,76;2,21)	0,13 (0,11;0,18)	0,67* (0,63;0,69)	0,026* (0,020;0,029)	0,72# (0,66;0,77)

*Примечание:* \* и # – отличия опытной группы от контрольной группы статистически значимы при  $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно (непараметрический U-критерий Манна-Уитни).

ных животных, нефромегалия, гипертрофия надпочечников и уменьшение относительной массы слепой кишки. В нашем исследовании подтверждено, что при гипохлоргидрии происходит колонизация *E. coli* проксимальных отделов тонкого кишечника, что, по данным литературы, сопровождается потерей массы тела и мальабсорбцией [1, 6, 7]. При бактериологических исследованиях нами выявлены однонаправленные изменения как в проксимальных участках тощей кишки, так и в дистальных, выражающиеся в уменьшении видового состава микрофлоры тощей и слепой кишок. Кроме того, обнаружено исчезновение количественного проксимодистального градиента микроорганизмов в кишечнике. Эти результаты убедительно свидетельствуют о том, что кислотный барьер желудка не только контролирует колонизацию и рост бактерий в проксимальных отделах тощей кишки, но также регулирует популяцию и состав кишечной микрофлоры в слепой кишке.

### Список литературы

1. *Ардатская М.Д., Минушкин О.Н., Иконников Н.С.* Дисбактериоз кишечника: понятие, диагностические подходы и пути коррекции. Возможности и преимущества биохимического исследования кала: пособ. для врачей. - М., 2004.
2. *Сереброва С.Ю., Добровольский О.В.* Терапия язвенной болезни и проблемы сохранения микроэкологии желудочно-кишечного тракта // Русский медицинский журнал. 2007. № 16. С. 1193-1198.
3. *Brummer R.J., Stockbrügger R.W.* Effect of nizatidine 300 mg at night and omeprazole 20 mg in the morning on 24-hour intragastric pH and bacterial overgrowth in patients with acute duodenal ulcer // Dig. dis. sci. 1996. Vol. 41. No. 10. P. 2048-2054.
4. *Diogo Filho A., Santos P.S., Duque A.S., Cezário R.C., Gontijo Filho P.P.* Experimental model in the qualitative and quantitative assessment of non-*Helicobacter* gastric microflora under proton pump inhibitors action // Acta Cir. Bras. 2006. Vol. 21. No. 5. P. 279-284.
5. *Gasbarrini A., Lauritano E.C., Garcovich M., Sparano L., Gasbarrini G.* New insights into the pathophysiology of IBS: intestinal microflora, gas production and gut motility // Eur. rev. med. pharmacol. sci. 2008. Vol. 12. Suppl. 1. P. 111-117.
6. *Lo W., Chan W.W.* Proton pump inhibitor use and the risk of small intestinal bacterial overgrowth: a meta-analysis // Clin. gastroenterol. hepatol. 2013. Vol. 11. No. 5. P. 483-490.
7. *Shindo K., Machida M., Fukumura M., Koide K., Yamazaki R.* Omeprazole induces altered bile acid metabolism // Gut. 1998. Vol. 42. No. 2. P. 266-271.
8. *Theisen J., Nehra D., Citron D., Johansson J., Hagen J.A., Crookes P.F., DeMeester S.R., Bremner C.G., DeMeester T.R., Peters J.H.* Suppression of gastric acid secretion in patients with gastroesophageal reflux disease results in gastric bacterial overgrowth and deconjugation of bile acids // J. Gastrointest. surg. 2000. Vol. 4. No. 1. P. 50-54.

## Influence of gastric acidity on intestinal microflora

N.S. Tropuskaya, I.G. Shashkova, T.V. Chernen'kaya, T.S. Popova,  
G.D. Kapanadze

The effect of hypochlorhydria on qualitative and quantitative composition of the luminal microflora in the jejunum and cecum of rats was studied. It is shown that intragastric administration of pariet for 16 days leads to the *Escherichia coli* colonization of the proximal small intestine, which is accompanied by loss of body weight. It is found a decrease in the composition of microbiota in the jejunum and cecum. Quantitative disappearance of the proximal-distal gradient of microorganisms in the intestine was detected.

**Key words:** intestinal microflora, hypochlorhydria, bacterial overgrowth.