

Т.С. Душина

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ И АССОЦИАЦИИ ЕЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ С КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫМИ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ У МОЛОДЫХ ПАЦИЕНТОВ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Научный руководитель: д-р мед. наук, проф. С.М. Кляшев

*Кафедра терапии с курсами эндокринологии,
функциональной и ультразвуковой диагностики
ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, г. Тюмень*

T.S. Dushina

THE FEATURES OF THE COLON MICROBIOTA AND THE ASSOCIATIONS OF ITS REPRESENTATIVES WITH SHORT-CHAIN FATTY ACIDS IN YOUNG PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

Tutor: professor S.M. Klyashev

*Department of therapy with courses in endocrinology,
functional and ultrasound diagnostics
Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia*

Резюме. По статистике, метаболический синдром (МС) поражает примерно каждого четвертого взрослого человека во всем мире, принимая характер эпидемии. В последнее время появляется все больше научных данных подтверждающих гипотезу о влиянии дисбактериоза кишечника на развитие как висцерального ожирения, так и на связанные с ним метаболические нарушения. Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), вещества, представляющие собой продукты анаэробной ферментации полисахаридов пищевых волокон, выступая своеобразными сигнальными молекулами, обеспечивают взаимодействие микробиоты кишечника и организма человека между собой. В нашем исследовании приняло участие 118 человек молодого возраста. 44 человека вошли в группу пациентов с ожирением и МС (МС+), 43 человека - в группу пациентов с ожирением без метаболического синдрома (МС-), группу контроля составляли 31 человек с нормальной массой тела и отсутствием метаболических нарушений. Исследование кишечной микробиоты проводилось с использованием метода полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ), содержание фекальных КЦЖК определяли методом газожидкостной хроматографии. По результатам исследования, в группе пациентов МС+ *отмечалось статистически значимое снижение* *Prevotella spp, Bifidobacterium spp и Faecalibacterium prausnitzii.* Были выявлены ассоциации общей бактериальной массы и *Ruminococcus spp* с долей бутирата, *Escherichia coli* и *Faecalibacterium prausnitzii* с долей бутирата и пропионата, *Clostridium perfringens* с абсолютным уровнем бутирата и *ИзоCn/Cn*, *Proteus vulgaris/mirabilis* с абсолютным уровнем и долей бутирата, *Blautia spp* и *Eubacterium rectale* с *ИзоC5/C5*. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о участии микробиоты кишечника в развитии МС, что в последующем, может сделать ее потенциальной мишенью в плане терапевтического воздействия. Однако, необходимы дальнейшие исследования.

Ключевые слова: микробиота кишечника, короткоцепочечные жирные кислоты, ожирение, метаболический синдром.

Resume. An estimated metabolic syndrome (MS) affects one in four adults worldwide, becoming an epidemic. In last time more and more scientific data have appeared confirming the hypothesis about the influence of intestinal dysbiosis on both the development of visceral obesity and associated metabolic disorders. Short-chain fatty acids (SCFA), substances that are products of anaerobic fermentation of dietary fiber polysaccharides, acting as a kind of signaling molecules, ensure the interaction of the intestinal microbiota and the human body with each other. 118 young people took part in our study. 44 individuals

were included in the group of patients with obesity and MS (MS+), 43 people - in the group of patients with obesity without metabolic syndrome (MS-), the control group consisted of 31 people with normal body weight and no metabolic disorders. Intestinal microbiota was studied by using real-time polymerase chain reaction (RT PCR), the content of fecal SCFAs was determined by gas-liquid chromatography. We found that MS+ patients had decreased level *Prevotella* spp, *Bifidobacterium* spp and *Faecalibacterium prausnitzii*. Were identified associations between the total bacterial mass and *Ruminococcus* spp with the proportion of butyrate, *Escherichia coli* and *Faecalibacterium prausnitzii* with the proportion of butyrate and propionate, *Clostridium perfringens* with the absolute level of butyrate and IsoCn/Cn, *Proteus vulgaris/mirabilis* with the absolute level and proportion of butyrate, *Blautia* spp and *Eubacterium rectale* with IsoC5/C5. Thus, the findings indicate the participation of the intestinal microbiota in the development of MS, which subsequently may make it a potential therapeutic target. However, further researches are required.

Keywords: gut microbiota, short-chain fatty acids, obesity, metabolic syndrome.

Актуальность. Ожирение представляет собой глобальную проблему общественного здравоохранения. Параллельно с ростом избыточной массы тела и висцерального ожирения идёт опасный рост распространенности метаболических нарушений, связанных с ожирением, таких как гипертония, дислипидемия и нарушение толерантности к глюкозе. По последним данным, МС поражает примерно каждого четвертого взрослого человека во всем мире принимая характер эпидемии [1]. Метаболические заболевания имеют сложный патогенез, включающий взаимодействие как генетических факторов, так и факторов окружающей среды. Однако, в последнее время, появляется все больше научных данных подтверждающих гипотезу о влиянии дисбактериоза кишечника как на висцеральное ожирение, так и на связанные с ним метаболические нарушения [2]. Нарушение кишечного гомеостаза приводит к повышению проницаемости кишечного барьера, что ведет к транслокации бактерий и их компонентов, в частности, липополисахарида (ЛПС) грамотрицательных бактерий, в системный кровоток, с последующим развитием хронического низкоуровневого воспаления, метаболической эндотоксемии и инсулинорезистентности [3]. Влияние микробиоты кишечника на обменные процессы организма хозяина осуществляется через действие короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК). КЦЖК представляют собой вещества, образующиеся в результате анаэробной ферментации полисахаридов пищевых волокон. К основным КЦЖК относятся уксусная (C2, ацетат), пропионовая (C3, пропионат), масляная (C4, бутират) кислоты, в приблизительном молярном соотношении 60:20:20 в фекалиях [4]. КЦЖК поддерживают целостность кишечного барьера, энергетический баланс, путём регуляции чувства насыщения и расхода энергии, участвуют в углеводном и липидном обмене, оказывают противовоспалительное действие. На сегодняшний день, несмотря на то, что мы можем четко установить причинно-следственную связь между микробными профилями кишечника и МС в экспериментах на животных, работы, проведенные с участием людей часто противоречивы. Поэтому, необходимо проведение дополнительных клинических исследований, чтобы расширить наше понимание о патогенетических механизмах, лежащих в основе развития и прогрессирования метаболических нарушений, и возможных вариантах терапевтического воздействия [5].

Цель: изучить особенности микробного состава толстой кишки, а также ассоциации выявленных микроорганизмов с короткоцепочечными жирными кислотами у молодых пациентов с ожирением в зависимости от наличия или отсутствия метаболического синдрома.

Задачи:

1. Изучить и сравнить количественные показатели микроорганизмов в кале пациентов с ожирением в зависимости от наличия или отсутствия метаболического синдрома.
2. Выявить ассоциации выявленных представителей микробиоты с уровнями КЦЖК у молодых пациентов с ожирением в зависимости от наличия или отсутствия метаболического синдрома.

Материалы и методы. Проведено одноцентровое, одномоментное, поперечное, контролируемое исследование с участием 118 молодых людей, из них 87 человек - группа больных с ожирением (ИМТ 37,2 [34,1;42,05]), и 31 человек, с нормальной массой тела (ИМТ 21,9 [20,2;23,5]), составляли группу контроля. Основываясь на критериях NCEP АТР III, группу лиц с ожирением разделили на две подгруппы, в зависимости от наличия МС. В подгруппу пациентов с МС (МС+) вошли 44 человека, подгруппа пациентов без МС (МС-) включала в себя 43 человека. Подгруппы статистически значимо не отличались по полу, возрасту, ИМТ. Критерии включения: возраст от 18 до 44 лет, подписание информированного согласия, отсутствие соматической патологии. Критерии невключения: острые воспалительные заболевания в течение последнего месяца, применение препаратов, влияющих на микробный состав и моторику кишечника за последние 3 месяца. Оценка состояния микробиоты толстой кишки проведена методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с применением набора реактивов «Колонофлор-16 (премиум)» (ООО «АльфаЛаб», Россия) с флуоресцентной детекцией результатов амплификации BioRad CFX96 (США). Набор «КОЛОНОФЛОР-16 (премиум)» объединяет наборы реагентов «Колонофлор-16 (биоценоз)» и «Колонофлор-16 (метаболизм)», и позволяет количественно (lg КОЕ/г) определить общую бактериальную массу, *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Escherichia coli*, *Akkermansia muciniphila*, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli* enteropathogenic, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Candida* spp, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Proteus vulgaris/mirabilis*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Blautia* spp., *Acinetobacter* spp., *Eubacterium rectale*, *Streptococcus* spp., *Roseburia inulinivorans*, *Prevotella* spp., *Methanobrevibacter smithii*, *Methanospaera stadmanae*, *Ruminococcus* spp, Соотношение *Bacteroides* spp./*Faecalibacterium prausnitzii*. Анализ выполнен на базе клиничко-биохимической лаборатории Университетской многопрофильной клиники ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России (зав. лабораторией – к.м.н. Южакова Н.Ю.). Количество КЦЖК в фекалиях определено методом газожидкостной хроматографии (оборудование "Хромос" ГХ-1000) в лаборатории INVITRO. Для статистических расчетов был использован пакет прикладных программ Microsoft Excel 2010, IBM SPSS Statistics 26.0. Результаты оценивались, как статистически значимые при уровне $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При количественной оценке уровня микроорганизмов, отмечалось статистически значимое снижение бактерий рода *Bifidobacterium* spp (семейство Bifidobacteriaceae) ($p=0,040$) в группе МС+. Как показано в многочисленных исследованиях на животных, представители рода *Bifidobacterium* обладают выраженным противовоспалительным действием, за счёт способности синтезировать бактериоцины, снижать бактериальную транслокацию, уменьшая тем самым эндотоксемию, нормализовывать метаболические параметры. В группе МС+ мы обнаружили также статистически значимое снижение еще одного рода бактерий *Prevotella* spp (семейство Prevotellaceae) ($p=0,036$). Нужно отметить, что бактерии этого рода обладают провоспалительными свойствами, реализующимися через способность стимулировать выработку провоспалительных цитокинов. На уровне вида, в группе лиц МС+, достоверно было снижено количество *Faecalibacterium prausnitzii* ($p=0,030$) (семейство Ruminococcaceae). *Faecalibacterium prausnitzii* является одним из основных продуцентов бутирата, а так же способствует стимуляции секреции муцина, что по видимому, определяет его способность улучшать целостность кишечного барьера, уменьшать бактериальную транслокацию. Снижение *Faecalibacterium prausnitzii* связывают с развитием хронического воспаления. Наши результаты согласуются с исследованием Pircalabioru G.G., которые также обнаружили снижение *Faecalibacterium prausnitzii* у МС+ пациентов. Кроме того, исследовательская группа обнаружила, что пациенты МС+ имеют микробиоту обогащенную Enterobacteriaceae, Turicibacter sp., Clostridium coccoides, Clostridium leptum и обедненную Butyricicoccus sp., Akkermansia muciniphila [6]. Частичное расхождение результатов, возможно, связано с тем, что в исследуемую популяцию вошли только лица, взятые из румынского населения, а также применялась отличная от нашей методика - секвенировании генов 16S рРНК. В исследовании M.Alcazar [7] для «метаболически нездоровой» группы характерна более низкая относительная численность родов Christensenellaceae группы R7 и Akkermansia, и более высокая относительная численность рода Bacteroides. Однако, исследование проводилось на детях. В нашем исследовании отмечалась отрицательная корреляция *Faecalibacterium prausnitzii* с долей пропионата ($r=-0,319$, $p=0,040$), и положительная с долей бутирата ($r=0,325$, $p=0,036$). Бутират является важнейшим кишечным метаболитом. Данная кислота не только служит основным источником энергии для колоноцитов и улучшает барьерную функцию слизистой оболочки толстой кишки, но также проявляет иммуномодулирующее действие, уменьшая канцерогенез, окислительный стресс и оказывая противовоспалительное действие, за счет подавления провоспалительных цитокинов. Противоположные *Faecalibacterium prausnitzii* результаты показала Escherichia coli, корреляция которой с долей пропионата была положительной ($r=0,411$, $p=0,007$), а с долей бутирата отрицательной ($r=-0,526$, $p=0,000$). С долей бутирата так же отрицательная корреляционная связь выявлена с общей бактериальной массой ($r=-0,325$, $p=0,036$), Ruminococcus spp ($r=-0,399$, $p=0,026$) и Proteus vulgaris/mirabilis ($r=-0,900$, $p=0,037$). Кроме того, Proteus vulgaris/mirabilis коррелировали с абсолютным уровнем бутирата ($r=-0,900$, $p=0,037$), так же как и Clostridium perfringens ($r=-0,786$, $p=0,021$). Ассоциации так же были выявлены с показателями изоформ КЦЖК. Например, корреляция с индексом,

отражающим протеолитическую активность микробиоты - ИзоСп/Сп, выявлена у *Clostridium perfringens* ($r=0,738$, $p=0,037$). Индекс, отражающий активность гемолитической флоры, служащий признаком деструкции приэпителиального слоя защиты – ИзоС5/С5 коррелировал с *Blautia* spp ($r=-0,561$, $p=0,004$) и *Eubacterium rectale* ($r=-0,395$, $p=0,012$).

Выводы:

1. У пациентов с МС выявлены значительные различия в составе кишечной микробиоты. На уровне рода статистически значимо были снижены *Prevotella* spp семейства *Prevotellaceae*, и *Bifidobacterium* spp семейства *Bifidobacteriaceae*, на уровне вида - *Faecalibacterium prausnitzii*. *Bifidobacterium* spp и *Faecalibacterium prausnitzii* обладают выраженными противовоспалительными свойствами, а также способностью поддерживать целостность кишечного барьера.

2. Выявлены ассоциации представителей микробиоты толстой кишки с параметрами КЦЖК, а именно: общей бактериальной массы и *Ruminococcus* spp с долей бутирата, *Escherichia coli* и *Faecalibacterium prausnitzii* с долей бутирата и пропионата, *Clostridium perfringens* с абсолютным уровнем бутирата и ИзоСп/Сп, *Proteus vulgaris/mirabilis* с абсолютным уровнем и долей бутирата, *Blautia* spp и *Eubacterium rectale* с ИзоС5/С5. Полученные данные расширяют наше понимание о вкладе микробиоты кишечника в патогенез МС.

Литература

1. Belete R, Ataro Z, Abdu A, Sheleme M. Global prevalence of metabolic syndrome among patients with type I diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Diabetol Metab Syndr*. 2021;13(1):25. <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00641-8>.
2. Cox T.O., Lundgren P., Nath K., Thaiss C.A. Metabolic control by the microbiome. *Genome Med*. 2022;14:80. <https://doi.org/10.1186/s13073-022-01092-0>.
3. Croci S, D'Apolito LI, Gasperi V, Catani MV, Savini I. Dietary Strategies for Management of Metabolic Syndrome: Role of Gut Microbiota Metabolites. *Nutrients*. 2021;13(5):1389. <https://doi.org/10.3390/nu13051389>.
4. Deleu S, et al. Short chain fatty acids and its producing organisms: an overlooked therapy for IBD? *EBioMedicine*. 2021;66:103293. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103293>.
5. Busch CBE, Bergman J, Nieuwdorp M, van Baar ACG. Role of the intestine and its gut microbiota in metabolic syndrome and obesity. *Am J Gastroenterol*. 2024 Feb 19. doi: 10.14309/ajg.0000000000002730.
6. Gradisteanu Pircalabioru G, Ilie I, Oprea L, Picu A, Petcu LM, Burlibasa L, Chifiriuc M-C, Musat M. Microbiome, Mycobiome and Related Metabolites Alterations in Patients with Metabolic Syndrome—A Pilot Study. *Metabolites*. 2022; 12(3):218. <https://doi.org/10.3390/metabo12030218>.
7. Alcazar M, Escribano J, Ferré N et al. Gut microbiota is associated with metabolic health in children with obesity. *Clinical Nutrition*. 2022;41(8): 1680-1688. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2022.06.007>.