

Оригинальное исследование

DOI: 10.32415/jscientia_2023_9_3_5-11
EDN: AUKYRTОСОБЕННОСТИ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ У ПАЦИЕНТОВ
С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКАС. Н. Лагутина ¹, П. А. Чижков ^{1,2}, А. А. Зуйкова ¹, Е. Ю. Есина ¹,
И. С. Добрынина ¹, О. С. Скуратова ¹, М. Ю. Сыромятников ²¹ Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия² Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

✉ Лагутина Светлана Николаевна — svlagutina97@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ. Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) занимают лидирующие позиции в структуре заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), так как являются прогрессирующей хронической патологией с аутоиммунным типом воспаления. Изменение показателей микробиоты кишечника может определять морфологические изменения на латентном этапе заболевания.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Оценка родо-видового биоразнообразия микробиоты у пациентов с ВЗК. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Выполнено секвенирование 16S рРНК микробиоты кишечника у 15 пациентов с подтвержденным язвенным колитом (ЯК) и 20 здоровых лиц, которые являлись контрольной группой. Проведен анализ показателей общего анализа крови и уровня С-реактивного белка (СРБ). Для статистического анализа использовали программы Microsoft Excel и Statistica.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Среди исследуемых лабораторных показателей у пациентов с ВЗК было отмечено значительное увеличение уровня СРБ, лейкоцитов и нейтрофилов по сравнению с группой контроля. В результате секвенирования кишечной микробиоты у пациентов с ВЗК выявлено снижение нормобиоты, а также увеличение содержания представителей патогенного кластера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Выявлено снижение биоразнообразия микробиоты у пациентов с ВЗК по сравнению с группой контроля. Также наблюдалось значимое изменение патогенного кластера и дисбаланс представителей Bacteroidetes и Firmicutes.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: воспалительные заболевания кишечника, язвенный колит, секвенирование, микробиота кишечника, родо-видовое биоразнообразие, нормобиота, патогенный кластер, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Desulfovibrio*, *Methanobrevibacter*.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Лагутина С.Н., Чижков П.А., Зуйкова А.А., Есина Е.Ю., Добрынина И.С., Скуратова О.С., Сыромятников М.Ю. Особенности кишечной микробиоты у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника // *Juvenis scientia*. 2023. Том 9. № 3. С. 5-11. DOI: 10.32415/jscientia_2023_9_3_5-11. EDN: AUKYRT.



Original article

DOI: 10.32415/jscientia_2023_9_3_5-11
EDN: AUKYRT

FEATURES OF THE INTESTINAL MICROBIOTA IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY INTESTINAL DISEASES

S. N. Lagutina ¹, P. A. Chizhkov ^{1,2}, A. A. Zuikova ¹, E. Yu. Esina ¹,
I. S. Dobrynina ¹, O. S. Skuratova ¹, M. Yu. Syromyatnikov ²¹ Voronezh State Medical University named after N. N. Burdenko, Voronezh, Russia² Voronezh State University, Voronezh, Russia

✉ Lagutina Svetlana — svlagutina97@mail.ru

INTRODUCTION. Inflammatory bowel diseases (IBD) occupy a leading position in the structure of diseases of the gastrointestinal tract (GIT), as they are a progressive chronic pathology with an autoimmune type of inflammation. Changes in the composition of the gut microbiota can determine morphological changes at the latent stage of the disease.

AIM OF THE STUDY. To assess the genus-species biodiversity of the microbiota in patients with IBD.

PATIENTS AND METHODS. 16S rRNA sequencing of the intestinal microbiota was performed in 15 patients with confirmed ulcerative colitis (UC) and 20 healthy controls. The parameters of the full blood count and the serum level of C-reactive protein (CRP) were analyzed. The analysis of the obtained data was carried out using Microsoft Excel and Statistica software.

RESULTS. Among the studied laboratory parameters in patients with IBD, there was a significant increase in CRP, leukocyte and neutrophil counts compared to the control group. Sequencing of the gut microbiota showed a decrease in the normobiota, as well as an increase in the representatives of the pathogenic cluster.

CONCLUSION. In the present study, we demonstrated a decrease in the biodiversity of the gut microbiota in patients with IBD compared to the control group, a significant change in the pathogenic cluster, and an imbalance between the representatives of Bacteroidetes and Firmicutes.

KEYWORDS: inflammatory bowel diseases, ulcerative colitis, sequencing, gut microbiota, taxonomic diversity, eubiosis, pathogenic cluster, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Desulfovibrio*, *Methanobrevibacter*.

FOR CITATION: Lagutina SN, Chizhkov PA, Zuikova AA, Esina EY, Dobrynina IS, Skuratova OS, Syromyatnikov MY. Features of the Intestinal Microbiota in Patients with Inflammatory Intestinal Diseases. Juvénis scientia. 2023;9(3):5-11. DOI: 10.32415/jscientia_2023_9_3_5-11.



ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) занимают лидирующие позиции в структуре заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). ВЗК являются прогрессирующими хроническими заболеваниями с аутоиммунным типом воспаления, основными из них являются язвенный колит (ЯК), болезнь Крона. Длительность и степень тяжести воспалительного процесса приводят к высокому риску развития осложнений, в том числе колоректального рака. Именно бактериальный состав толстой кишки способен изменяться под воздействием различных факторов, что является эффективным средством для поддержания противовоспалительного состояния. В настоящее время известно, что при ВЗК наблюдается повышение уровня провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухоли α (ФНО- α) и различных интерлейкинов (ИЛ) [1]. При ЯК в развитии хронического воспаления участвуют клетки Th2 и Th17, продуцирующие различные цитокины. Основную роль во взаимодействии с микробиотой кишечника может играть ИЛ-33. Сигнальная ось ИЛ-33/ST2 вовлекается в патогенез ВЗК через индукцию ИЛ-4. Данный механизм способен определять тяжесть аутоиммунного воспаления в активной фазе заболевания, когда уже происходит образование язвенных дефектов в слизистой оболочке кишечника. Количественное и качественное изменение родового и видового составов кишечной микробиоты может определять признаки патологического воспаления на латентной стадии [2, 3]. Изучение представителей кишечной микробиоты может привести к обнаружению новых диагностических признаков, влияющих на эффективность лекарственной терапии, а также исход заболевания.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение родо-видового состава микробиоты кишечника у пациентов с ВЗК.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Было выполнено секвенирование 16S рРНК микробиоты кишечника у 15 пациентов с подтвержденным (по результатам колоноскопии с прицельной биопсией) язвенным колитом

и 20 здоровых лиц, которые являлись контрольной группой. Критерием включения в основную группу являлся первично установленный на амбулаторном этапе диагноз ЯК. Критерием исключения являлось проведение в течение последних трех месяцев терапии антибактериальными и гормональными препаратами. Пациенты получали симптоматическую терапию, которая включала в себя прием спазмолитических (мебеверин/дротаверин) и противодиарейных (смектит диоктаэдрический/лоперамид) препаратов. Все пациенты осуществляли сбор биоматериала (кал) в стерильный контейнер объемом 5 мл, после чего он был подвержен заморозке до проведения секвенирования 16S рРНК. Замораживание кала при подготовке к секвенированию проводилось при температуре -80°C в лабораторных условиях. Тяжесть атаки определялась согласно индексу Мейо. Сформированные группы были сопоставимы по полу и возрасту. У всех исследуемых был проведен анализ показателей общего анализа крови (ОАК: показатели лейкоцитарной формулы, скорость оседания эритроцитов (СОЭ)), С-реактивного белка (СРБ). Анализ полученных данных проводился с использованием программ Microsoft Excel, Statistica. Количественные данные были описаны с помощью медианы (Me), значений нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). Сравнение двух групп по количественному признаку, распределение которого отличалось от нормального, проводилось с помощью U-критерия Манна-Уитни. Различия в значении показателя между признаками считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди пациентов с ВЗК индекс Мейо был равен 2 баллам (легкая степень тяжести) у 45% (пациенты с ЯК), 4 баллам (средняя степень тяжести) у 33%, 6 баллам (тяжелая степень) у 22%. Среди исследуемых лабораторных показателей у пациентов с ВЗК было отмечено значительное увеличение СОЭ, лейкоцитов, нейтрофилов по сравнению с группой контроля (табл. 1).

В результате секвенирования кишечной микробиоты было выявлено отсутствие или крайне низкое значение показателей нормобиоты у пациентов с ВЗК (табл. 2).

Таблица 1
Результаты лабораторной диагностики

Показатели	Статистические показатели	Значения
Контрольная группа		
Лейкоциты, ($\times 10^9/\text{л}$)	Me	3,8
	Q1 – Q3	3,1-4,9
Нейтрофилы палочкоядерные, (%)	Me	5
	Q1 – Q3	1-8
Нейтрофилы сегментоядерные, (%)	Me	56
	Q1 – Q3	48-70
СОЭ, мм/ч	Me	7
	Q1 – Q3	1-12
Пациенты с ВЗК (ЯК)		
Лейкоциты, ($\times 10^9/\text{л}$)	Me	6,1
	Q1 – Q3	2,3-26,5
Нейтрофилы палочкоядерные, (%)	Me	20
	Q1 – Q3	12-36
Нейтрофилы сегментоядерные, (%)	Me	68
	Q1 – Q3	56-90
СОЭ, мм/ч	Me	10
	Q1 – Q3	1-54

Таблица 2
Показатели нормальной микрофлоры кишечника у пациентов с ВЗК

Состав бактерий, %	Статистические показатели	Значения
Контрольная группа		
<i>Lactobacterium</i> (0,02%-0,1%)	Me	0,02
	Q1 – Q3	0-0,3
<i>Bifidobacterium</i> (0,1%-1%)	Me	0,5
	Q1 – Q3	0,2-3,1
<i>Faecalibacterium</i> (5%-9%)	Me	6,3
	Q1 – Q3	4,8-9,1
<i>Bacteroides</i> (9%-19%)	Me	9,5
	Q1 – Q3	7-15,7
Пациенты с ВЗК (ЯК)		
<i>Lactobacterium</i> (0,02%-0,1%)	Me	0,01
	Q1 – Q3	0-0,02
<i>Bifidobacterium</i> (0,1%-1%)	Me	0,01
	Q1 – Q3	0-0,02
<i>Faecalibacterium</i> (5%-9%)	Me	0,1
	Q1 – Q3	0-6,1
<i>Bacteroides</i> (9%-19%)	Me	0,6
	Q1 – Q3	0-5,8

ОБСУЖДЕНИЕ

Отмечалось увеличение показателей патогенного кластера, что также может настораживать в отношении воспалительных процессов и риска развития колоректального рака (табл. 3).

При оценке кластера сульфатредуцирующих бактерий отмечалось значительное увеличение доли бактерий родов *Desulfovibrio* и *Methanobrevibacter* — 2,9% и 6,1%, соответственно (рис. 1).

Были выявлены прямые, статистически значимые корреляционные связи между показателями *Desulfovibrio*, *Methanobrevibacter* и уровнем СРБ ($p=0,012$, $p=0,044$, соответственно), а также между *Fusobacterium* и уровнем СОЭ ($p=0,017$).

Увеличение количества представителей типа Firmicutes может настораживать в отношении воспалительных процессов и новообразований, за счет выделения активных метаболитов, которые способствуют значительному снижению барьера слизистой, что напрямую может способствовать развитию новообразований [3].

Увеличение представителей сульфатредуцирующей группы бактерий может говорить о степени тяжести основного заболевания. Благодаря своей уникальной способности превращать водород и углекислый газ в метан *Desulfovibrio* и *Methanobrevibacter* помогают эффективно расщеплять пищевые волокна, а также влияют на иммунные клетки организма и выработку антибак-

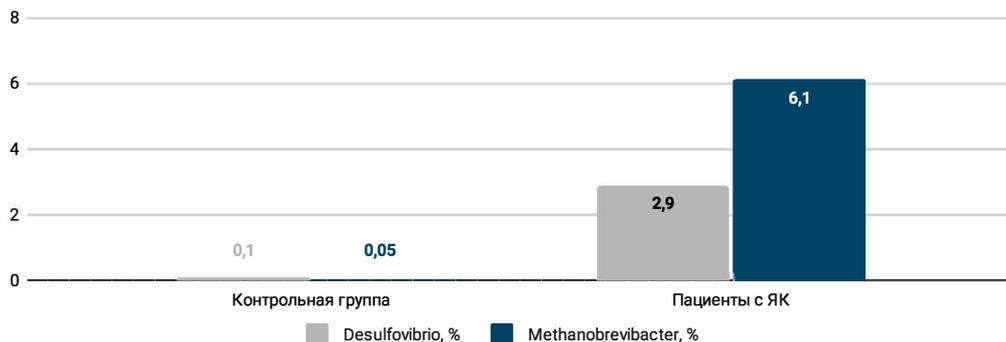


Рисунок 1. Оценка состава сульфатредуцирующих бактерий у пациентов с ВЗК.

Таблица 3
Показатели патогенной микрофлоры
кишечника у пациентов с ВЗК

Состав бактерий, %	Статистические показатели	Значения
Контрольная группа		
<i>Escherichia coli</i> (0%-1%)	Me	0,02
	Q1 – Q3	0-2,2
<i>Klebsiella</i> (0%-0,02%)	Me	0,01
	Q1 – Q3	0-0,02
<i>Clostridium spp</i> (0%-1%)	Me	0,01
	Q1 – Q3	0-0,02
<i>Campylobacter</i> (0%-0,02%)	Me	0,01
	Q1 – Q3	0-0,01
<i>Fusobacterium</i> (0%-0,02%)	Me	0,01
	Q1 – Q3	0-0,02
Пациенты с ВЗК (ЯК)		
<i>Escherichia coli</i> (0%-1%)	Me	6,3
	Q1 – Q3	4,5-19,8
<i>Klebsiella</i> (0%-0,02%)	Me	1,2
	Q1 – Q3	3,2-17,5
<i>Clostridium spp</i> (0%-1%)	Me	2,6
	Q1 – Q3	1-13,3
<i>Campylobacter</i> (0%-0,02%)	Me	1,2
	Q1 – Q3	0-9,8
<i>Fusobacterium</i> (0%-0,02%)	Me	2,5
	Q1 – Q3	0-6,9

териальных пептидов, при этомотягощая течение заболевания за счет активации фактора некроза опухоли (ФНО α) и α 4 β 7-интегрина [4, 5]. Избыточное количество этих бактерий коррелирует с патологией кишечника, включая ЯК и болезнь Крона.

Бутират-продуцирующие бактерии синтезируют важный метаболит, необходимый для защиты целостности эпителиального барьера кишечника и сохранения иммунного гомеостаза хозяина за счет дифференцировки регуляторных Т-клеток [6]. Снижение уровня бутирата вызывает дисфункцию кишечного эпителиального барьера и приводит к экспрессии нескольких воспалительных маркеров [7, 8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного исследования выявлено уменьшение родо-видового биоразнообразия нормальной микробиоты кишечника у пациентов с ВЗК по сравнению с группой контроля. Исследование кишечной микробиоты может позволить обнаружить новые диагностические признаки и способствовать раннему выявлению заболеваний кишечника и выработке дифференцированных подходов к лечению.

Финансирование: Исследование было выполнено при финансовой поддержке УМНИК (№ 88696-У).

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов: Все авторы подтверждают соответствие своего авторства, согласно между-

народным критериям *ICMJE* (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). С. Н. Лагутина — анализ и интерпретация данных; П. А. Чижков — разработка концепции и дизайна; О. С. Скуратова — анализ и интерпретация данных; А. А. Зуйкова — окончательное утверждение для публикации рукописи; Е. Ю. Есина — обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания; И. С. Добрынина — обоснование рукописи; М. Ю. Сыромятников — окончательное утверждение для публикации рукописи.

Соответствие принципам этики. Научно-исследовательский проект соответствует этическим

стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Все лица, участвующие в исследовании, подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Также от пациентов получено добровольное информированное согласие на публикацию медицинских данных в научных целях в журнале. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО ВГМУ имени Н. Н. Бурденко Минздрава России (протокол № 5 от 18.10.2022 года).

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Burakova I, Smirnova Y, Gryaznova M, et al. *The Effect of Short-Term Consumption of Lactic Acid Bacteria on the Gut Microbiota in Obese People*. *Nutrients*. **2022**;14(16):3384. DOI: 10.3390/nu14163384.
2. Loke YL, Chew MT, Ngeow YF, et al. *Colon Carcinogenesis: The Interplay Between Diet and Gut Microbiota*. *Front Cell Infect Microbiol*. **2020**;10:603086. DOI: 10.3389/fcimb.2020.603086.
3. Caparrós E, Wiest R, Scharl M, et al. *Dysbiotic microbiota interactions in Crohn's disease*. *Gut Microbes*. **2021**;13(1):1949096. DOI: 10.1080/19490976.2021.1949096.
4. Glassner KL, Abraham BP, Quigley EMM. *The microbiome and inflammatory bowel disease*. *J Allergy Clin Immunol*. **2020**;145(1):16-27. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.11.003.
5. Torres J, Mehandru S, Colombel JF, Peyrin-Biroulet L. *Crohn's disease*. *Lancet*. **2017**;389(10080):1741-1755. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31711-1.
6. Gajendran M, Loganathan P, Catinella AP, Hashash JG. *A comprehensive review and update on Crohn's disease*. *Dis Mon*. **2018**;64(2):20-57. DOI: 10.1016/j.disamonth.2017.07.001.
7. He Y, Hu Y, Yuan M, et al. *Prognostic and therapeutic implication of m6A methylation in Crohn disease*. *Medicine (Baltimore)*. **2022**;101(51):e32399. DOI: 10.1097/MD.00000000000032399.
8. Sokol H, Landman C, Seksik P, et al. *Fecal microbiota transplantation to maintain remission in Crohn's disease: a pilot randomized controlled study*. *Microbiome*. **2020**;8(1):12. DOI: 10.1186/s40168-020-0792-5.

АВТОРЫ [AUTHORS]

✉ Лагутина Светлана Николаевна, ординатор 2 курса специальности «Общая врачебная практика (семейная медицина)» Воронежского государственного медицинского университета имени Н.Н. Бурденко; ORCID: 0000-0003-3730-5265; email: svlagutina97@mail.ru.

✉ Lagutina Svetlana Nikolaevna, resident of the 2nd year of the specialty "General Medical Practice (Family Medicine)", Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko; ORCID: 0000-0003-3730-5265; email: svlagutina97@mail.ru.

Чижков Павел Андреевич, ординатор 2 курса специальности «Общая врачебная практика (семейная медицина)» Воронежского государственного медицинского университета имени Н.Н. Бурденко, аспирант 2 курса специальности «Генетика, цитология, биоинженерия» Воронежского государственного университета; ORCID: 0000-0002-5626-0579.

Зуйкова Анна Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой поликлинической терапии Воронежского государственного медицинского университета имени Н.Н. Бурденко; ORCID: 0000-0002-5378-4959.

Есина Елена Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры поликлинической терапии Воронежского государственного медицинского университета имени Н.Н. Бурденко; ORCID: 0000-0001-7048-9428.

Добрынина Ирина Сергеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры поликлинической терапии Воронежского государственного медицинского университета имени Н.Н. Бурденко; ORCID: 0000-0002-4849-0200.

Скуратова Ольга Сергеевна, ординатор 2 курса специальности «Общая врачебная практика (семейная медицина)» Воронежского государственного медицинского университета имени Н.Н. Бурденко; ORCID: 0000-0002-1471-8267.

Сыромятников Михаил Юрьевич, доктор медицинских наук, доцент кафедры генетики, цитологии и биоинженерии Воронежского государственного университета; ORCID: 0000-0001-9028-0613.

Chizhkov Pavel Andreevich, resident of the 2nd year of the specialty “General Medical Practice (Family Medicine)”, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, 2nd year postgraduate student of the specialty “Genetics, Cytology, Bioengineering”, Voronezh State University; ORCID: 0000-0002-5626-0579.

Zuykova Anna Alexandrovna, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Polyclinic Therapy, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko; ORCID: 0000-0002-5378-4959.

Esina Elena Yurievna, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Polyclinic Therapy, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko; ORCID: 0000-0001-7048-9428.

Dobrynina Irina Sergeevna, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Polyclinic Therapy, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko; ORCID: 0000-0002-4849-0200.

Skuratova Olga Sergeevna, resident of the 2nd year of the specialty “General Medical Practice (Family Medicine)”, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko; ORCID: 0000-0002-1471-8267.

Syromyatnikov Mikhail Yurievich, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University; ORCID: 0000-0001-9028-0613.

Поступила в редакцию: 28.04.2023

Принята к печати: 21.06.2023

Опубликована: 30.06.2023