Модуляция микробиоты кишечника как ведущий фактор патогенеза формирования фенотипов синдрома раздраженного кишечника

К.м.н. О.В. Гаус, член-корреспондент РАН М.А. Ливзан

ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, Омск

РЕЗЮМЕ

Введение: *модуляция кишечной микробиоты является одним из ключевых патогенетических механизмов синдрома раздраженного кишечника (СРК) и перспективной мишенью для «таргетной» терапии заболевания.*

Цель исследования: *оценить состав кишечной микробиоты у больных с СРК во взаимосвязи с особенностями клинического течения заболевания, пищевыми привычками, уровнем тревоги и депрессии, а также в зависимости от выделенных фенотипов.*

Материал и методы: *из когорты пациентов с СРК (n=263), находящихся под динамическим наблюдением в исследовательском центре, выделено 4 подгруппы в соответствии с предложенными авторами фенотипами заболевания: постинфекционный СРК (n=45), СРК у лиц с избыточной массой тела и ожирением (n=49), коморбидный СРК (n=75) и эссенциальный СРК (n=51). В группу контроля вошли 40 здоровых лиц, сопоставимые по полу и возрасту. У всех пациентов с СРК оценивали степень тяжести и вариант заболевания по преобладающему типу нарушения кишечной моторики (с преобладанием запоров, с преобладанием диареи или смешанный вариант). Для всех пациентов с СРК и лиц группы контроля проводилось анкетирование по опросникам: GSRS, WHO CINDI program questionnaire, «Информация о питании и пищевом поведении», госпитальная шкала тревоги и депрессии HADS, показатель специфической гастроинтестинальной тревоги VSI. Также проведена оценка содержания кортизола в утренней и вечерней порциях слюны, серотонина в сыворотке крови, дофамина в плазме крови, зонулина в кале. Дополнительно изучен состав кишечной микробиоты методом 16s-секвенирования бактериальной РНК у 40 пациентов с СРК (по 10 образцов каждого фенотипа) и 10 здоровых лиц. Образцы для исследования были отобраны рандомно (методом конвертов).*

Результаты исследования: *выявлены различия в таксономическом составе профилей кишечной микробиоты пациентов с СРК и здоровых лиц. Установлено, что они зависят от варианта клинического течения и фенотипа заболевания. В кишечной микробиоте пациентов с преобладанием диареи снижена представленность бутиратпродуцирующих бактерий семейств Ruminococcaceae и Erysipelatoclostridiaceae, рода Methanobrevibacter, однако повышено содержание бактерий рода Escherichia / Shigella. В группе пациентов с преобладанием запоров в большем количестве встречаются бактерии родов Methanobrevibacter и Alistipes, в меньшем количестве представлены бактерии рода Sutterella. В группе пациентов со смешанным вариантом заболевания в меньшем количестве обнаруживались бактерии семейства Ruminococcaceae и порядка Clostridiales. В образцах кишечной микробиоты пациентов с тяжелым течением заболевания в большем количестве встречались бактерии родов Ruminococcus torques group и Blautia, в меньшем количестве — бактерии семейства Ruminococcaceae и вида Bacteroides stercoris. Вместе с тем кишечная микробиота пациентов с тяжелым течением СРК характеризуется низким синтезом бутирата. У пациентов с «постинфекционным» фенотипом СРК повышено содержание бактерий родов Bacteroides и Escherichia / Shigella семейства Enterobacteriaceae, снижена представленность бактерий семейств Erysipelatoclostridiaceae и Ruminococcaceae. У пациентов с фенотипом СРК «у лиц с избыточной массой тела и ожирением» выявлено снижение содержания бактерий родов Bifidobacterium и Bacteroides, повышение — бактерий родов Alistipes и Methanobrevibacter. У пациентов с коморбидным фенотипом СРК повышено содержание бактерий рода Ruminococcus torques group на фоне значимого снижения содержания бактерий родов Lactobacillus, Erysipelatoclostridium, Methanobrevibacter и семейства Ruminococcaceae. Микробиота пациентов с эссенциальным фенотипом СРК оказалась сопоставимой с таковой у здоровых лиц, отмечена лишь тенденция к снижению численности бактерий рода Bifidobacterium.*

Заключение: *кишечная микробиота пациентов с СРК отличается низкой метаболической активностью, неспособностью противостоять воздействию факторов окружающей среды и находится в тесной взаимосвязи с особенностями питания, уровнем тревоги и депрессии. Модуляция кишечной микробиоты посредством модификации таких факторов риска, как диета, высокий уровень тревоги и депрессии, в зависимости от фенотипа СРК позволит индивидуализировать подходы к ведению пациентов и повысить эффективность терапии.*

Ключевые слова: *синдром раздраженного кишечника, кишечная микробиота, фенотипы заболевания, коморбидный фенотип, постинфекционный синдром раздраженного кишечника, пробиотики.*

Для цитирования: *Гаус О.В., Ливзан М.А. Модуляция микробиоты кишечника как ведущий фактор патогенеза формирования фенотипов синдрома раздраженного кишечника. РМЖ. 2023;5:12–19.*

ABSTRACT

Gut microbiota modulation as a leading factor in the pathogenesis of the IBS phenotypes

O.V. Gaus, M.A. Livzan

Omsk State Medical University, Omsk

Background: *gut microbiota modulation is one of the key pathogenetic mechanisms of irritable bowel syndrome (IBS), being a promising goal for targeted therapy.*

Aim: *to evaluate the gut microbiota composition in patients with IBS in relation to the patterns of the disease clinical course, nutrition habits, the level of anxiety and depression, as well as depending on the selected phenotypes.*

Patients and Methods: *4 subgroups were distinguished from the cohort of patients with IBS (n=263) under dynamic observation in the research center, in accordance with the disease phenotypes proposed by the authors — postinfectious IBS (n=45), IBS in overweight and obese individuals (n=49), comorbid IBS (n=75) and essential IBS (n=51). The control group included 40 healthy individuals matched by sex and age. For all patients with IBS, the severity and variant of the disease were assessed according to the predominant type of intestinal motility disorder (IBS with predominance of constipation, IBS with predominance of diarrhea or mixed IBS). All patients with IBS and the control group were surveyed using questionnaires: GSRS, WHO CINDI program questionnaire, «Information on Nutrition and Eating Behavior», Hospital Anxiety and Depression Scale HADS, VSI indicator of specific gastrointestinal anxiety. The content of cortisol in the morning and evening portions of saliva, serotonin in the blood serum, dopamine in the blood plasma, and zonulin in the feces were also assessed. In addition, the composition of the intestinal microbiota was studied by 16s sequencing of bacterial RNA in 40 patients with IBS (10 samples of each phenotype) and 10 healthy individuals. Samples for the study were randomly selected (using the envelope method).*

Results: *differences in the taxonomic composition of the gut microbiota profiles of patients with IBS versus healthy persons were revealed. It was found that they depended on the disease clinical course and phenotype. In the gut microbiota of patients with with predominance of diarrhea, the butyrate-producing bacterial level of Ruminococcaceae and Erysipelatoclostridiaceaefamilies, Methanobrevibacter genus, was reduced, however, the bacteria content of Escherichia / Shigella genus was increased. In the group of patients with predominance of constipation, bacteria of Methanobrevibacter and Alistipes genera were found in greater numbers, bacteria of Sutterella genus were represented in smaller numbers. In the group of patients with mixed IBS, bacteria of Ruminococcaceae and Clostridiales families were found in smaller numbers. In the gut microbiota samples of patients with severe disease course, bacteria of Ruminococcus torques group and Blautia genera were found in greater numbers, while bacteria of Ruminococcaceae and Bacteroides stercoris families were in smaller numbers. At the same time, the gut microbiota of patients with severe IBS was characterized by reduced butyrate synthesis. In patients with the post-infectious IBS phenotype, there was an elevated bacterial content of Bacteroides and Escherichia/Shigella genera of Enterobacteriaceae family, whereas bacteria of Erysipelatoclostridiaceae and Ruminococcaceae families were in reduced number. In patients with the IBS of overweight and obese phenotype, there was a reduced bacterial content of Bifidobacterium and Bacteroides genera, and elevated bacterial level of Alistipes and Methanobrevibacter genera. In patients with the comorbid IBS phenotype, the bacterial content of Ruminococcus torques group genus was elevated in the setting of a significant decrease in the bacteria of Lactobacillus, Erysipelatoclostridium, Methanobrevibacter genera and Ruminococcaceae family. The microbiota of patients with the essential IBS phenotype was comparable to that of healthy persons, there was only a tendency to reduction of the bacterial content of the Bifidobacterium genus.*

Conclusion: *the gut microbiota of patients with IBS was characterized by low metabolic activity, inability to resist the effects of environmental factors and was closely related to nutrition patterns, anxiety and depression. Gut microbiota modulation by modifying risk factors such as nutrition, high levels of anxiety and depression, depending on the IBS phenotype, will allow to personalize approaches to the patient management and increase the therapy efficacy.*

Keywords: *irritable bowel syndrome, gut microbiota, disease phenotypes, comorbid phenotype, post-infectious irritable bowel syndrome, probiotics.*

For citation: *Gaus O.V., Livzan M.A. Gut microbiota modulation as a leading factor in the pathogenesis of the IBS phenotypes. RMJ. 2023;5:12–19.*

Введение

Синдром раздраженного кишечника (СРК) встречается у 10–15% населения во всем мире, значимо влияет на качество жизни пациентов и влечет за собой значительные социально-экономические затраты для общества в целом [1]. Патофизиология СРК включает изменение процессов нейротрансмиссии и взаимодействия по оси «мозг — кишечник», дисфункцию иммунной системы с развитием воспаления низкой степени активности, повышение эпителиальной проницаемости, что в конечном итоге ведет к формированию висцеральной гиперчувствительности и нарушению моторной активности толстой кишки [2]. Многочисленные данные последних лет указывают на то, что модуляция кишечной микробиоты является одним из ключевых факторов патогенеза СРК [3–5]. В частности, имеются данные о шестикратном увеличении риска развития СРК после эпизода острой кишечной инфекции, об эффективности средств, влияющих на кишечную микробиоту (пре-, пробиотики, фекальная трансплантация), в лечении заболевания [6–8]. Кроме того, некоторые эксперты предполагают, что определенные изменения микробиоты кишечника могут быть предиктором развития заболевания и определять характер его течения, а также ответ на лечебные воздействия [9, 10].

На сегодняшний день известно, что кишечник человека населен огромным количеством микроорганизмов, совокупный геном которых по числу генов в 13 раз превышает таковой организма-хозяина [11]. Исследования в области молекулярной генетики показали, что в пищеварительном тракте человека обитает более 2000 видов бактерий, причем большинство из них относятся к четырем основным типам: *Bacteroidota, Firmicutes, Actinobacteriota* и *Proteobacteria* [12]. Кишечная микробиота — очень динамичная структура, претерпевающая изменения в течение всей жизни человека, ее первоначальный состав в значительной степени определяется способом родоразрешения (кесарево сечение или естественные роды) и методом вскармливания (грудное или искусственное) [13]. В дальнейшем микробное сообщество продолжает видоизменяться под воздействием факторов окружающей среды, включая регион проживания, прием лекарственных препаратов, стресс, диету и образ жизни [14–16].

Считается, что здоровый состав микробиоты кишечника является основной предпосылкой для правильного функционирования организма человека, а нарушение мутуалистических отношений между представителями микробиоты и хозяином ведет к развитию различных заболеваний и патологических состояний [17, 18]. Во многих работах продемонстрированы значительные сдвиги в микробном пейзаже у пациентов с СРК, однако результаты этих исследований довольно разнородны и противоречивы [19–21].

Цель исследования: оценить состав кишечной микробиоты у больных с СРК во взаимосвязи с особенностями клинического течения заболевания, пищевыми привычками, уровнем тревоги и депрессии, а также в зависимости от выделенных фенотипов.

Материал и методы

Под динамическим наблюдением в нашем центре находились 263 пациента (189 женщин, 74 мужчины) с диа-

гнозом СРК, установленным в соответствии с клиническими рекомендациями Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России [22]. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России (протокол № 2 от 01.12.2021). Средний возраст больных составил 29 [25; 35] лет. Форма СРК с преобладанием диареи (СРК-Д) диагностирована у 84 (31,9%) человек, СРК с преобладанием запора (СРК-З) — у 92 (34,8%), СРК со смешанным вариантом нарушения моторики (СРК-См) — у 71 (26,9%), неклассифицируемый вариант СРК (СРК-Н) — у 16 (6,4%). Легкое течение заболевания отмечалось у 110 (41,9%) пациентов, среднетяжелое — у 99 (37,6%), тяжелое — у 54 (20,5%).

Настоящее исследование является продолжением ранее опубликованной работы, где, согласно авторской концепции, на основе изучения совокупного влияния факторов генетики и эпигенетики предложено выделение фенотипов СРК [23]. Для определения характеристик каждого фенотипа из всей когорты пациентов были выделены подгруппы: подгруппа 1 — «постинфекционный СРК» (n=45) установлен при наличии связи появления первых симптомов заболевания с эпизодом острой кишечной инфекции, подгруппа 2 — фенотип «СРК у лиц с избыточной массой тела и ожирением» (n=49) — при наличии индекса массы тела 25 и более кг/м^2; подгруппа 3 — «коморбидный СРК» (n=75) — при наличии перекреста СРК с другими функциональными расстройствами пищеварительного тракта; подгруппа 4 — «эссенциальный СРК» (n=51) — при отсутствии характерных признаков других фенотипов. В группу контроля вошли 40 здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с пациентами с СРК.

Для достижения поставленной цели настоящего исследования методом рандомизации (методом конвертов) среди пациентов с различными фенотипами отобрано 40 образцов кишечной микробиоты (по 10 образцов каждого) и 10 образцов кишечной микробиоты здоровых лиц (группа контроля). Секвенирование биобанка образцов микробиоты кишечника участников нашего исследования проводилось на базе ООО «Кномикс» (г. Москва).

Кроме того, у 220 пациентов с различными фенотипами СРК и 40 человек группы контроля проводилась оценка распространенности и выраженности гастроинтестинальных симптомов по опроснику GSRS и цифровой версии визуально-аналоговой шкалы; структура рациона, пищевые предпочтения и доступность различных продуктов оценивались согласно опросникам WHO CINDI program questionnaire [24] и «Информация о питании и пищевом поведении» [25]; выраженность тревоги и депрессии — по госпитальной шкале тревоги и депрессии HADS [26]; уровень специфической тревоги в отношении гастроинтестинальных симптомов — по индексу висцеральной гиперчувствительности VSI [27].

Дополнительно у всех пациентов с СРК и лиц группы контроля на базе ЦНИЛ ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России проводилось определение уровня гормона стресса кортизола в утренней и вечерней порциях слюны (диагностический набор фирмы Diagnostics Biochem Canada Inc., Канада), нейротрансмиттеров серотонина в сыворотке крови и дофамина в плазме крови (диагностические наборы фирмы IBL, Германия), маркера эпителиальной проницаемости зонулина в кале (диагностический набор фирмы Immundiagnostik, Германия) методом иммуноферментного анализа.

Статистический анализ полученных данных проведен с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel и Statistica v.10.0 (русифицированная версия). В связи с наличием распределения, отличного от нормального, для всех количественных признаков проводили подсчет медианы (Me), 25-го (P25) и 75-го (P75) процентилей. Для сравнения независимых групп использовали критерий Манна — Уитни (U) и критерий Краскелла — Уоллиса (H). Для анализа качественных данных и анализа частот использовали критерий сопряженности χ^2 Пирсона. Степень взаимосвязи между двумя переменными устанавливали методом корреляционного анализа Спирмена с оценкой коэффициента ранговой корреляции (r_s). Результаты считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Анализ данных биобанка кишечной микробиоты проведен с помощью платформы «Кномикс-Биота» (https://biota.knomics.ru/). Таксономия определялась с помощью наивного байесовского классификатора QIIME2, обученного на базе SILVA v138 (https://www.arb-silva.de/documentation/release-138/). Метаболический потенциал микробного сообщества оценивали с использованием программы PICRUSt, представленность метаболических путей и модулей — по базам KEGG и MetaCyc.

Для изучения различий в общей композиционной структуре и метаболическом потенциале образцов кишечной микробиоты использовали многомерный дисперсионный анализ (PERMANOVA), метрику альфа-разнообразия оценивали с помощью индекса Шеннона. Множественную корректировку тестирования выполняли с использованием процедуры Бенджамини — Хохберга.

Результаты и обсуждение

Сравнительная характеристика клинических параметров, пищевые предпочтения, выраженность тревоги и депрессии, специфической гастроинтестинальной тревоги, исследуемых лабораторных показателей среди пациентов с СРК в зависимости от выделенных фенотипов и у здоровых лиц представлена в таблице.

Поскольку выборка образцов кишечной микробиоты проводилась рандомно, для последующего анализа ассоциативных взаимодействий изменений состава микробиоты с изучаемыми факторами (диета, выраженность тревоги и депрессии, секреция гормона стресса кортизола, нейромедиаторов серотонина и дофамина, уровень маркера повышенной эпителиальной проницаемости зонулина в кале) использовались данные описанной когорты.

В группе пациентов с СРК микробиота кишечника при изучении методом 16s-секвенирования бактериальной РНК оказалась представлена большим количеством видов бактерий (рис. 1). Статистически значимые различия выявлены по показателю альфа-разнообразия ($p=0,039$).

О повышении альфа-разнообразия кишечной микробиоты при СРК по сравнению с лицами группы контроля ранее уже сообщалось в исследованиях [28–30], но также были противоположные данные, где показано снижение показателя [31–33] или отсутствие различий [19, 34, 35].

Несмотря на то, что статистически значимых различий состава кишечной микробиоты пациентов с СРК и здоровых лиц обнаружено не было, идентифицированы отдельные микробные таксоны, относительное обилие которых значительно различается между двумя группами. Так, среди пациентов с СРК повышено количество бактерий *Firmicutes, Actinobacteriota* и *Proteobacteria* при снижении количества *Bacteroidota, Desulfobacterota*.

Таблица. Сравнительная характеристика клинических параметров, пищевых предпочтений, выраженности тревоги и депрессии, специфической гастроинтестинальной тревоги, исследуемых лабораторных показателей у пациентов с СРК и лиц группы контроля

Показатель	Пациенты с СРК				Группа контроля (n=40)
	подгруппа 1 (n=45)	*подгруппа 2 (n=49)*	*подгруппа 3 (n=75)*	*подгруппа 4 (n=51)*	
Подтип заболевания*, абс. (%) СРК-Д СРК-З СРК-См	 28 (62,2) 7 (15,6) 10 (22,2)	 8 (16,3) 29 (59,2) 12 (24,5)	 29 (38,7) 16 (21,3) 30 (40,0)	 10 (19,6) 25 (49,0) 16 (31,4)	 – – -
Число больных со степенью тяжести заболевания*, абс. (%) легкое течение среднетяжелое течение тяжелое течение	 14 (31,1) 21 (46,7) 10 (22,2)	 22 (44,9) 19 (38,8) 8 (16,3)	 10 (13,3) 40 (53,4) 25 (33,3)	 35 (68,6) 12 (23,5) 4 (7,8)	 - - -
Выраженность симптомов заболевания по опроснику GSRS, баллы абдоминальная боль* диарея* запор*	 2,47 [2,0; 3,0] 3,2 [2,0; 4,3] 1,0 [1,0; 3,0]	 3,0 [2,0; 4,0] 1,0 [1,0; 2,3] 3,5 [2,7; 4,3]	 4,0 [3,5; 4,5] 3,7 [2,3; 5,0] 2,8 [1,0; 4,3]	 2,3 [1,3; 3,5] 1,0 [1,0; 2,7] 2,7 [2,0; 3,0]	 1,0 [1,0; 1,0] 1,0 [1,0; 1,0] 1,0 [1,0; 1,0]
Выраженность метеоризма и вздутия живота по ВАШ*, баллы	2,5 [2,0; 3,0]	5,5 [3,5; 6,0]	4,0 [3,0; 4,5]	1,5 [1,0; 2,0]	0 [0; 1,0]
Число больных с частотой приемов пищи в течение дня*, абс. (%) 1 раз 2 раза 3 раза 4 раза 5 раз и более	 2 (4,4) 28 (62,2) 14 (31,2) 1 (2,2) -	 - 11 (22,4) 22 (44,9) 12 (24,5) 4 (8,2)	 13 (17,3) 37 (49,4) 25 (33,3) - -	 - 7 (13,7) 34 (66,7) 9 (17,6) 1 (2,0)	 - 4 (10,0) 20 (50,0) 10 (25,0) 6 (15,0)
Число больных с наличием частых эпизодов переедания, в том числе в вечерние часы*, абс. (%)	7 (15,6)	35 (71,4)	20 (26,7)	19 (37,3)	–
Число больных с невозможностью приема пищи в одно и то же время*, абс. (%)	24 (53,3)	34 (69,4)	57 (76,0)	9 (17,6)	6 (15,0)
Число больных с ограничением времени на прием пищи*, абс. (%)	21 (46,7)	26 (53,1)	48 (64,0)	16 (31,4)	2 (5,0)
Число больных с пристрастием к жирной пище*, абс. (%)	1 (2,2)	17 (34,7)	3 (4,0)	4 (7,8)	–
Число больных с пристрастием к острой пище*, абс (%)	10 (22,2)	6 (12,2)	42 (56,0)	5 (9,8)	4 (10,0)
Число больных с пристрастием к соленой пище*, абс. (%)	24 (53,3)	8 (16,3)	43 (57,3)	3 (5,9)	2 (5,0)
Число больных с пристрастием к сладкой пище*, абс. (%)	5 (11,1)	40 (81,6)	12 (16,0)	13 (25,5)	9 (22,5)
Число больных с пристрастием к мучной пище и кондитерским изделиям*, абс. (%)	3 (6,7)	25 (51,0)	8 (10,7)	8 (15,7)	2 (5,0)
Число больных с привычкой всегда досаливать приготовленную пищу (не пробуя)*, абс. (%)	6 (13,3)	2 (4,1)	12 (16,0)	1 (2,0)	–
Число больных с полным отказом от употребления молока и молочных продуктов*, абс. (%)	35 (77,8%)	1 (2,0%)	26 (34,7%)	4 (7,8%)	1 (2,5)
Число больных, добавляющих или нет сахар в напитки в течение дня*, абс. (%) без сахара 1–2 чайные ложки 3 и более чайных ложек	 37 (82,2) 8 (17,8) –	 8 (16,3) 30 (61,3) 11 (22,4)	 58 (77,3) 17 (22,7) –	 24 (47,1) 27 (52,9) –	 28 (70,0) 12 (30,0) –

Окончание таблицы

Показатель	Пациенты с СРК				Группа контроля (n=40)
	подгруппа 1 (n=45)	*подгруппа 2 (n=49)*	*подгруппа 3 (n=75)*	*подгруппа 4 (n=51)*	
Среднее количество потребляемых овощей**, г/сут	120,3 [100,0; 150,0]	50,0 [42,9; 70,0]	100,0 [80,0; 114,3]	150,0 [100,0; 150,0]	200,0 [200,0; 250,0]
Среднее количество потребляемых фруктов**, г/сут	60,71 [50,0; 100,0]	130,0 [100,0; 155,0]	46,45 [28,57; 70,0]	100,0 [70,0; 140,0]	300,0 [250,0; 350,0]
Число больных с распространенностью тревоги по подшкале HADS-A*, абс. (%)					
клинически выраженная	15 (33,3)	6 (12,2)	35 (46,7)	2 (3,9)	–
субклиническая	18 (40,0)	17 (34,7)	37 (49,3)	17 (33,4)	4 (10,0)
отсутствие	12 (26,7)	26 (53,1)	3 (4,0)	32 (62,7)	36 (90,0)
Число больных с распространенностью депрессии по подшкале HADS-D*, абс. (%)					
клинически выраженная	6 (13,3)	17 (34,6)	16 (21,3)	1 (2,0)	–
субклиническая	8 (17,8)	16 (32,7)	27 (36,0)	13 (25,5)	2 (5,0)
отсутствие	31 (68,9)	16 (32,7)	32 (42,7)	37 (72,5)	38 (95,0)
Показатель специфической гастроинтестинальной тревоги по опроснику VSI**, баллы	48 [36; 60,5]	47,5 [40; 57]	53 [45; 64]	37 [27,5; 44]	3 [0; 8]
Содержание гормонов и нейромедиаторов, нг/мл					
кортизол в слюне (утро)**	40,22 [36,49; 62,8]	35,86 [29,86; 48,03]	55,13 [31,54; 75,46]	28,67 [22,44; 36,74]	19,0 [16,5; 21,7]
кортизол в слюне (вечер) **	18,92 [16,22; 28,64]	16,89 [13,54; 20,98]	21,81 [17,83; 28,75]	15,26 [10,89; 19,85]	9,7 [8,5; 10,5]
дофамин в плазме крови**	36,65 [24,1; 49,45]	22,11 [14,29; 39,82]	26,53 [19,09; 32,84]	39,16 [28,44; 43,52]	58,2 [48,15; 66,62]
серотонин в сыворотке крови**	219,5 [183,5; 279,9]	144,5 [128,7; 288,7]	226,7 [169,7; 288,7]	152,6 [121,9; 189,2]	148,8 [135,9; 159,9]
Содержание зонулина в кале**, нг/мл	165,0 [113,9; 235,5]	132,0 [115,1; 170,05]	207,8 [125,0; 273,2]	109,85 [100,0; 120,4]	72,3 [63,7; 78,45]

Примечание. *Статистически значимые (p<0,05) различия между группами: * — при использовании критерия χ^2, ** — при использовании критерия Н.*

Относительная представленность бактерий на уровне типа в образцах кишечной микробиоты пациентов с СРК (n=40) и здоровых лиц (n=10) представлена на рисунках 1, 2.

Вместе с тем статистически значимые различия были получены при подсчете показателей соотношения *Firmicutes : Bacteroidota,* который среди пациентов с СРК составил 2,35, тогда как в группе здоровых лиц — 1,33 (p=0,041). Об увеличении соотношения *Firmicutes : Bacteroidota* сообщалось во многих проведенных ранее исследованиях [28, 29, 36, 37].

В образцах кишечной микробиоты пациентов с СРК по сравнению с образцами группы контроля обнаружены различия на уровне семейств в виде увеличения представленности *Ruminococcaceae, Lachnospiraceae, Veillonellaceae* на фоне снижения количества *Bifidobacteriaceae, Bacteroidaceae, Prevotellaceae*, а также родов — относительное снижение количества *Bacteroides, Faecalibacterium, Bifidobacterium* при повышении числа устойчивых к желчи бактерий *Alistipes* и *Blautia.*

Примечательно, что в проведенном нами исследовании статистически значимые различия как по составу, так и по метаболическому потенциалу кишечной микробиоты у здоровых лиц и пациентов с СРК были получены после разделения последних на группы в зависимости от подтипа, степени тяжести и предложенных фенотипов заболевания.

Так, в кишечной микробиоте пациентов с СРК-Д снижена представленность бутиратпродуцирующих бактерий семейств *Ruminococcaceae* (p=0,038) и *Erysipelatoclostridiaceae* (p=0,008), относящихся к типу

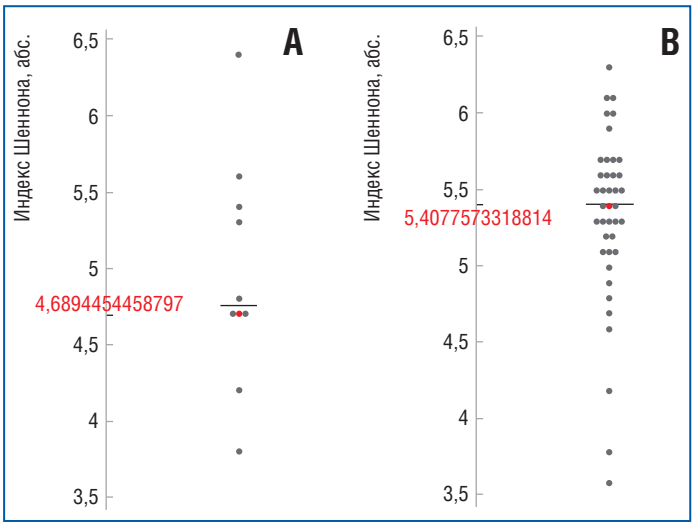

Рис. 1. График, построенный с помощью системы «Кномикс-биота», отражающий различия альфа-разнообразия микробиоты у пациентов с СРК (B) (n=40) и у здоровых лиц (A) (n=10)

Firmicutes, а также бактерий рода *Methanobrevibacter* типа *Euryarchaeota* (p=0,004). При этом отмечено повышение содержания бактерий семейства *Enterobacteriaceae* рода *Escherichia / Shigella* типа *Proteobacteria* (p=0,019). Метаболическая активность кишечной микробиоты в отношении синтеза масляной кислоты путем метаболизма глутарата оказалась значимо ниже по сравнению с лицами группы

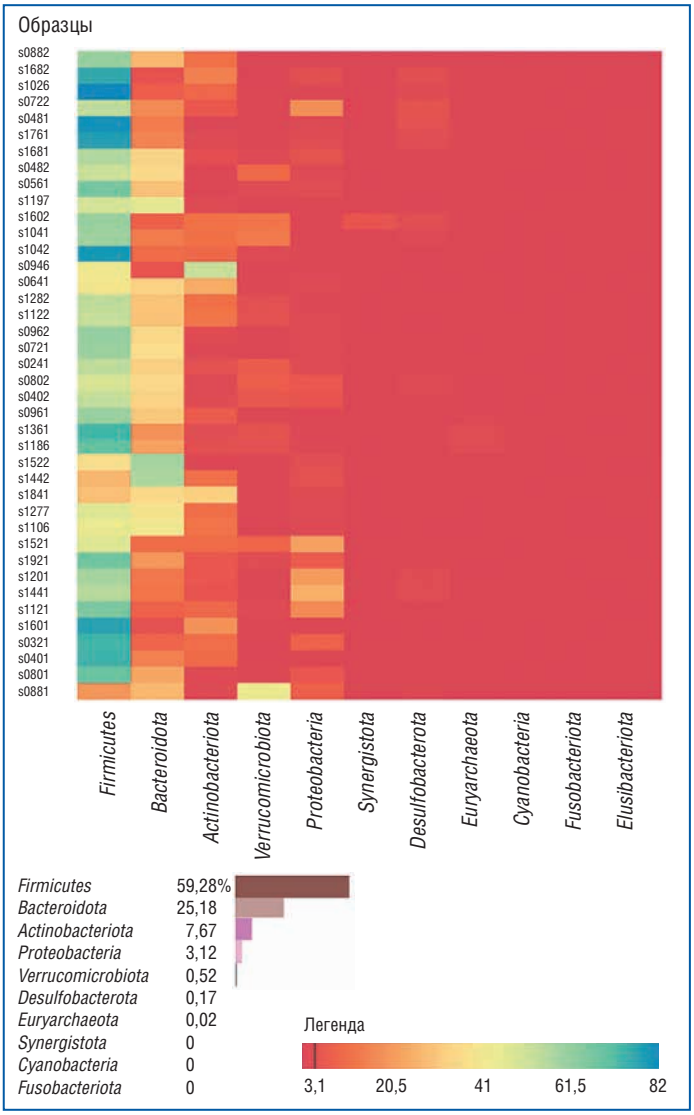

Рис. 2. Тепловая карта образцов микробиоты пациентов с СРК на уровне типа кишечных бактерий. Здесь и на рисунке 3 цвет кодирует относительную представленность таксонов бактерий в % (столбцы) в образцах (строки)

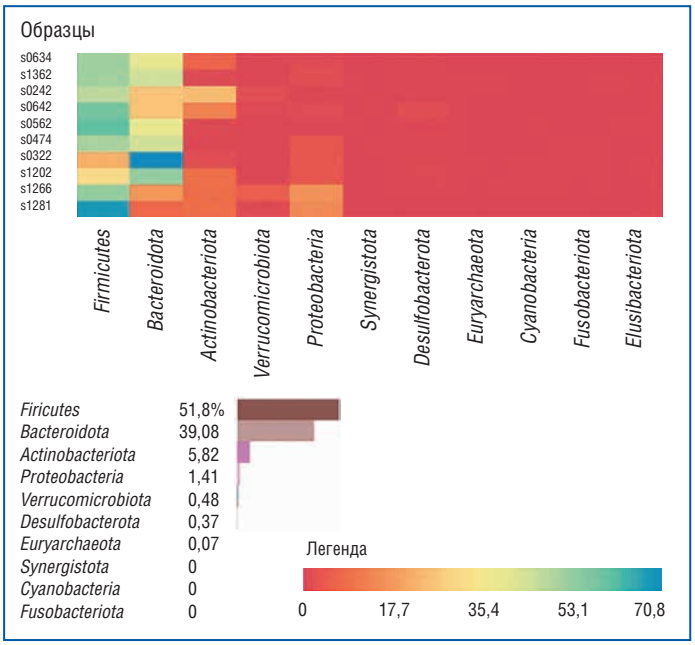

Рис. 3. Тепловая карта образцов микробиоты здоровых лиц на уровне типа кишечных бактерий

контроля и пациентами с СРК с другими типами нарушения кишечной моторики (p=0,004).

В группе пациентов с СРК-З в большем количестве встречались бактерии рода *Methanobrevibacter* (p=0,006) и рода *Alistipes* типа *Bacteroidota* (p=0,029), в меньшем количестве были представлены бактерии рода *Sutterella* типа *Proteobacteria* (p=0,033).

В группе пациентов с СРК-См в меньшем количестве обнаруживались бактерии семейства *Ruminococcaceae* типа *Firmicutes* (p=0,008) и порядка *Clostridiales* типа *Firmicutes* (p=0,024).

В группе пациентов с СРК с тяжелым течением заболевания кишечная микробиота оказалась представлена большим количеством видов, характеризовалась низкой метаболической активностью и неспособностью адаптироваться к воздействию факторов окружающей среды. Кроме того, в образцах кишечной микробиоты пациентов с тяжелым течением заболевания в большем количестве по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с легким течением заболевания встречались бактерии родов *Ruminococcus torques group* (p=0,011) и *Blautia* (p=0,021), в меньшем количестве — бутиратпродуцирующие бактерии семейства *Ruminococcaceae* (p=0,042) и вида *Bacteroides stercoris* типа *Bacteroidota* (p=0,026). Вместе с тем кишечная микробиота пациентов с тяжелым течением СРК также характеризовалась низким синтезом бутирата (p=0,003).

Полученные нами данные согласуются с имеющимися в литературе. Так, в работе M. Pozuelo et al. [38] у пациентов с СРК-Д обнаружено снижение количества бактерий семейств *Ruminococcaceae*, *Clostridiales, Erysipelotrichaceae, Methanobacteriaceae;* о снижении числа *Methanobacteriaceae* в кишечной микробиоте пациентов с СРК-Д сообщали C. Carco et al. [39] и T. Ringel-Kulka et al. [40]. В систематическом обзоре 24 клинических исследований показано, что уменьшение числа строгих анаэробов, воспаление низкой степени активности и усиление кишечной моторики при СРК-Д приводит к размножению неприхотливых бактерий семейства *Enterobacteriaceae* [41].

В недавнем исследовании обнаружено, что у субъектов с СРК-З более высокая выработка метана в выдыхаемом воздухе прямо пропорциональна более высокому относительному содержанию метаногенов в составе кишечной микробиоты, прежде всего за счет бактерий рода *Methanobrevibacter* [42]. Хорошо известно, что метан замедляет перистальтику толстой кишки и, как следствие, способствует развитию запоров [18].

Снижение численности *Sutterella wadsworthensis* наряду с *Oxalobacter formigenes* и *Bacteroides pectinophilus* у пациентов с СРК показано в работе I. Masoodi et al. [43]. В нескольких работах обнаружено снижение количества бактерий рода *Alistipes* у пациентов с СРК-Д и СРК-См [31, 44, 45], в другой — значительное увеличение у детей с СРК-З [46].

Данные, касающиеся связи изменения состава кишечной микробиоты при различных степенях тяжести СРК, немногочисленны. Ассоциация между тяжестью кишечных симптомов СРК и повышенным количеством *Ruminococcus torques* отмечена в работах E. Malinen et al. [47] и J. Yang et al. [48]. Показано, что бактерии рода *Ruminococcus torques*

group могут индуцировать секрецию провоспалительного белка флагеллина, который способен запускать гуморальный ответ через толл-подобные рецепторы распознавания образов [49]. Кроме того, *Ruminococcus torques* может расщеплять муцин слизистой оболочки кишечника, нарушая целостность эпителиального барьера [50].

Известно, что комменсальные бактерии *Bacteroides stercoris,* снижение представительности которых обнаружено нами у пациентов с тяжелым течением СРК, обладают иммуномодулирующими свойствами, синтезируя конъюгированную линолевую кислоту [51–53].

При анализе ассоциаций между таксономическими изменениями кишечной микробиоты и клиническими проявлениями СРК в нашем исследовании выявлены: прямая корреляционная связь между увеличением количества бактерий рода *Methanobrevibacter* и выраженностью запора (r_s=0,583, p=0,003), обратная корреляционная связь между снижением численности бутиратпродуцирующих бактерий семейств *Ruminococcaceae* и *Erysipelatoclostridiaceae* и выраженностью абдоминальной боли (r_s=-0,429, p=0,026; r_s=-0,391, p=0,041 соответственно), а также прямая корреляционная связь между увеличением количества бактерий рода *Ruminococcus torques group* и такими симптомами СРК, как абдоминальная боль и диарея (r_s=0,515, p<0,001; r_s=0,488, p=0,017 соответственно). Закономерно, что снижение метаболической активности кишечной микробиоты по пути синтеза бутирата также коррелировало с интенсивностью абдоминальной боли (r_s=-0,607, p=0,001).

В опубликованных ранее работах описаны положительная связь кишечных симптомов СРК с количеством *Gammaproteobacteria* и отрицательные связи с количеством *Bifidobacterium spp.* (для абдоминальной боли), *Faecalibacterium spp., Eubacterium rectale* и бутиратпродуцирующих *Ruminococcus* (для абдоминальной боли, метеоризма) [44]. Кроме того, в исследовании G. Kim et al. [54] увеличение числа *Methanobrevibacter* у пациентов с СРК-З было связано с более высокими баллами при оценке выраженности запора. В работе J. Yang et al. [48] количество бактерий *Ruminococcus torques group* коррелировало с количеством энтерохромаффинных клеток в биоптатах слизистой оболочки толстой кишки, степенью тяжести СРК, выраженностью и частотой абдоминальной боли, а также частотой дефекации.

Известно, что состав кишечной микробиоты во многом зависит от диеты человека. В нашем исследовании для пациентов с СРК, у которых отмечалось повышение соотношения *Firmicutes : Bacteroidota*, характерными пищевыми предпочтениями оказались тяга к сладкой (χ^2=18,23, p=0,004) и мучной (χ^2=15,47, p=0,029) пище, кондитерским изделиям (χ^2=20,56, p=0,002). Кроме того, эти пациенты статистически значимо больше потребляли добавленного сахара (χ^2=33,52, p<0,001). В литературе описано, что диета с высоким содержанием сахара, так же как и диета с высоким содержанием жиров, приводит к снижению количества бактерий типа *Bacteroidota* и увеличению — бактерий типа *Firmicutes* [55]. Подобные изменения в составе кишечной микробиоты связывают с развитием избыточной массы тела и ожирения, поскольку относительное повышение сахаролитических бактерий типа *Firmicutes* связано с увеличением производства короткоцепочечных жирных кислот и повышенным усвоением энергии, вырабатывающейся в результате ферментации углеводсодержащих компонентов пищи [56].

Тяга к жирной пище ассоциировалась с повышением количества бактерий рода *Alistipes* (χ^2=11,45, p=0,025), что обнаружено и в ряде других работ, демонстрирующих увеличение количества толерантных к желчи *Alistipes, Bilophila, Ruminococcus gnavus*, обладающих провоспалительным потенциалом, у лиц, придерживающихся диеты с высоким содержанием насыщенных жиров [14, 57–59].

У пациентов с СРК и низким потреблением свежих овощей и фруктов в составе кишечной микробиоты выявлялось снижение представительности бутиратпродуцирующих бактерий семейств *Ruminococcaceae* и *Erysipelatoclostridiaceae* (χ^2=26,03, p<0,001; χ^2=20,74, p=0,002 соответственно), бактерий рода *Bifidobacterium* (χ^2=29,55, p<0,001), а также отмечалась низкая метаболическая активность кишечной микробиоты по пути синтеза бутирата (χ^2=35,59, p<0,001). Хорошо известно, что пищевые волокна метаболизируются бактериями толстой кишки с образованием короткоцепочечных жирных кислот, прежде всего масляной [55].

Закономерно, что уменьшение численности бактерий семейств *Ruminococcaceae* и *Erysipelatoclostridiaceae,* а также низкая доступность бутирата среди пациентов с СРК в нашем исследовании были взаимосвязаны с уровнем фекального зонулина, являющегося косвенным маркером повышенной эпителиальной проницаемости (r_s=-0,404, p=0,021; r_s=-0,399, p=0,034; r_s=-0,516, p=0,006 соответственно). Повышенный уровень зонулина также ассоциировался с увеличением численности *Ruminococcus torques group* (r_s=0,485, p=0,019).

В последние годы появляется все больше данных о том, что модуляция кишечной микробиты может изменять биосинтез, высвобождение и обратный захват нейротрансмиттеров [60–62], участвующих в реализации патогенетических механизмов при СРК. В нашем исследовании повышенное содержание бактерий родов *Escherichia / Shigella* и *Ruminococcus torques group* коррелировало с высоким уровнем серотонина в сыворотке крови (r_s=0,478, p=0,008; r_s=0,612, p<0,001 соответственно).

Кроме того, в проведенном нами исследовании обнаружены ассоциации между сокращением численности бактерий рода *Bifidobacterium* и высокими баллами выраженности депрессии по шкале HADS и показателем индекса VSI (r_s=-0,364, p=0,038; r_s=-0,401, p=0,022 соответственно). Ранее показано, что депрессивное поведение можно облегчить с помощью пробиотиков, содержащих штаммы *Bifidobacterium,* за счет влияния на синтез дофамина и серотонина [63, 64].

При анализе состава кишечной микробиоты в зависимости от предложенных фенотипов установлено, что у пациентов подгруппы 1 повышено содержание бактерий родов *Bacteroides* (p=0,047) и *Escherichia / Shigella* семейства *Enterobacteriaceae* (p=0,021), однако снижена представленность бутиратпродуцирующих бактерий семейств *Erysipelatoclostridiaceae* (p=0,003) и *Ruminococcaceae* (p=0,038). При этом повышенное содержание бактерий родов *Escherichia / Shigella* коррелировало с высоким уровнем серотонина в сыворотке крови и зонулина в кале (r_s=0,502, p=0,005; r_s=0,627, p<0,001 соответственно).

У пациентов подгруппы 2 выявлено снижение количества бактерий родов *Bifidobacterium* (p=0,019) и *Bacteroides* (p=0,034) и повышение — бактерий родов *Alistipes* (p=0,004) и *Methanobrevibacter* (p=0,001). При этом сни-

жение числа бактерий рода *Bifidobacterium* коррелировало с выраженностью абдоминальной боли (r_s=-0,443, p=0,007), с баллами выраженности депрессии по шкале HADS (r_s=-0,579, p=0,002) и низким уровнем дофамина (r_s=0,633, p<0,001), а увеличение численности бактерий рода *Alistipes* — с повышенным уровнем зонулина в кале (r_s=0,436, p=0,004).

У пациентов подгруппы 3 повышено содержание количества бактерий рода *Ruminococcus torques group* (p=0,021) на фоне значимого снижения числа бутиратпродуцирующих бактерий родов *Lactobacillus* (p=0,038), *Erysipelatoclostridium* (p=0,006) и семейства *Ruminococcaceae* (p=0,016). Кроме того, в составе кишечной микробиоты пациентов подгруппы 3 отмечено снижение количества бактерий рода *Methanobrevibacter* (p=0,010). При этом кишечная микробиота пациентов данной подгруппы характеризовалась низким синтезом бутирата (p=0,002). Повышение численности бактерий рода *Ruminococcus torques group* в подгруппе 3 коррелировало с выраженностью абдоминальной боли (r_s=0,413, p=0,005), диареи (r_s=0,369, p=0,025), тяжестью заболевания (r_s=0,572, p=0,001), уровнем серотонина в сыворотке крови (r_s=0,461, p=0,004) и зонулина в кале (r_s=0,519, p=0,003). Вместе с тем снижение представленности бактерий рода *Lactobacillus* коррелировало с высокими баллами тревоги по шкале HADS (r_s=-0,384, p=0,031), повышенным содержанием кортизола в утренней порции слюны (r_s=-0,401, p=0,018), а также ассоциировалось с тягой к соленой пище (χ^2=13,68, p=0,021).

Микробиота пациентов подгруппы 4 оказалась сопоставимой с таковой у лиц группы контроля, отмечена лишь тенденция к снижению численности бактерий рода *Bifidobacterium*.

Заключение

Кишечная микробиота пациентов с СРК по сравнению со здоровыми лицами представлена большим количеством видов бактерий, характеризуется низкой метаболической активностью и неспособностью адаптироваться к воздействию факторов окружающей среды, находится в тесной взаимосвязи с особенностями питания, уровнем тревоги и депрессии, а также отличается от микробиоты здоровых лиц по таксономическому составу в зависимости от варианта клинического течения и фенотипа заболевания.

Таким образом, полученные в нашем исследовании данные подтверждают факт того, что изменение состава кишечной микробиоты является важным звеном патогенеза СРК и что модуляция кишечной микробиоты посредством коррекции модифицируемых факторов риска (прежде всего диеты, высокого уровня тревоги и депрессии) и в зависимости от фенотипа заболевания может стать мишенью «таргетной» терапии пробиотическими штаммами.

Список литературы Вы можете найти на сайте http://www.rmj.ru