

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА И МЕТАБОЛОМА КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С АУТОИММУННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЖЕЛУДОЧНО- КИШЕЧНОГО ТРАКТА

© 2018 г. Е. В. Демьянова*, С. И. Ситкин, Т. Я. Вахитов,
О. Н. Шалаева

*E-mail: demyanova@hpb-spb.com

ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов»
Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Количественный анализ некоторых групп бактерий показал, что содержание бутират-продуцирующих бактерий было снижено (по сравнению с таковым у здоровых) только у пациентов с язвенным колитом. Отсутствие *Bacteroides thetaiotaomicron* или его количество ниже порога обнаружения было значимо связано с наличием язвенного колита. Как при язвенном колите, так и при целиакии, наблюдаются значимые изменения сывороточных концентраций метаболитов, отражающие нарушения в соответствующих метаболических путях. По результатам ROC-анализа некоторые из этих метаболитов, а также отношение уровня арахидоновой кислоты к уровню эйкозодиеновой кислоты могут рассматриваться как потенциальные биомаркеры хронического воспаления в кишечнике.

Ключевые слова: язвенный колит, целиакия, метаболиты, биомаркеры, метаболомика, микробиота кишечника

DOI: 10.31857/S102872210002628-5

Авторы:

Демьянова Е. В., канд. фарм. наук, зам. начальника лаборатории прикладной микробиологии ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Ситкин С. И., к. м. н., в. н. с. лаборатории прикладной микробиологии ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Вахитов Т. Я., д. б. н., начальник лаборатории прикладной микробиологии ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Шалаева О. Н., с. н. с. лаборатории прикладной микробиологии ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия.

Введение. Нарушения микробиоценоза кишечника, в том числе изменение метаболической активности микробиоты, при язвенном колите и целиакии способствуют повышению проницаемости кишечного барьера, формированию аномального иммунного ответа, развитию и поддержанию хронического воспаления [1, 2]. Результаты относительно немногочисленных исследований, однако, не позволяют сделать однозначные выводы о первичном или вторичном характере этих нарушений, роли отдельных бактериальных групп (родов, видов) и значении конкретных микробных метаболитов в патогенезе и саногенезе рассматриваемых заболеваний. Работы в этом направлении, особенно

исследования, делающие акцент на изучение функциональной (метаболической) активности микробиоты и возможностей коррекции дисбиотических нарушений, могут послужить основой для разработки новых терапевтических подходов к ведению пациентов с язвенным колитом и целиакией.

Целесообразность исследования метаболома при воспалительных заболеваниях кишечника и целиакии подтверждена во многих исследованиях, позволивших выявить связанные с патогенезом ВЗК нарушения важнейших метаболических путей, митохондриальную дисфункцию и уменьшение продукции АТФ в колоноцитах, а также существенные изменения метаболической активности микробиоты толстой кишки [3, 4].

Цель исследования – определить особенности изменения количественного состава микробиоты толстой кишки при язвенном колите и целиакии, а также выявить потенциальные низкомолекулярные биомаркеры этих заболеваний.

Материалы и методы. В исследование было включено 125 пациентов: 40 пациентов с язвенным колитом, 43 пациента с целиакией и 42 практически здоровых добровольца. Для количественного определения микроорганиз-

мов ДНК, выделенную из образцов кала, подвергали полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени согласно общепринятым методикам с использованием групповых, родо- и видоспецифичных 16S рРНК-праймеров и зондов. Исследования метаболома сыворотки крови проводили методом ГХ-МС на приборе GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu). Выравнивание сравниваемых хроматограмм проводили с использованием программы MetAlign. Деконволюцию и аннотацию метаболитов проводили с помощью программы, совмещенной с прибором, а также AMDIS с использованием баз данных NIST, HMDB, GOLM, MassBank. Для анализа и интерпретации данных использовали методы PCA, PLS-DA, SVM и naive Bayes.

Результаты. Количественный анализ некоторых групп бактерий в фекалиях у пациентов и здоровых лиц показал, что общее количество бактериоидов между группами не различалось, но *Bacteroides thetaiotaomicron*, один из метаболически наиболее активных видов бактериоидов, существенно реже встречался у пациентов с язвенным колитом, чем у здоровых лиц. Также у пациентов с язвенным колитом и целиакией количество *Faecalibacterium prausnitzii*, одной из основных бутират-продуцирующих бактерий из клостридиального класса IV, было значительно меньше, чем у здоровых лиц. Общее количество бутират-продуцирующих бактерий, имеющих ген бутирил-КоА:ацетат-КоА-трансферазы, было снижено по сравнению со здоровыми добровольцами только у пациентов с язвенным колитом. У пациентов с целиакией уровень *Bifidobacterium spp.* был значительно снижен по сравнению с уровнями у здоровых добровольцев и у больных язвенным колитом.

Из 93 идентифицированных соединений, общих для всех пациентов, 28 метаболитов имели микробное происхождение. У пациентов с язвенным колитом концентрации молочной, 2-гидроксимасляной, 3-гидроксиизомасляной, 2-гидроксиизовалериановой, 3-гидроксикоричной, янтарной, бензойной и парагидроксибензилуксусной кислот в сыворотке крови были значительно повышены по сравнению с таковыми у здоровых. В свою очередь, уровни капроновой, линолевой и эйкозодиеновой кислот при язвенном колите были значительно ниже уровней в группе здоровых. Концентрации 2-гидроксимасляной и 2-гидроксиизовалериановой кислот у больных язвенным колитом были также значительно повышены по сравнению с таковыми

у пациентов с целиакией. Концентрации капроновой, линолевой и гликолевой кислот при язвенном колите были значительно ниже концентраций в группе больных с целиакией. У пациентов с целиакией концентрации стеариновой, 2-гидроксиизовалериановой, янтарной, фумаровой и бензойной кислот были значительно повышены по сравнению со здоровыми добровольцами, а уровень арахидоновой кислоты был значительно повышен только по сравнению с больными язвенным колитом. Липогенный индекс (C16:0/C18:2n-6) был значительно повышен у пациентов с язвенным колитом по сравнению с индексом у здоровых добровольцев и у больных целиакией. Индекс активности элонгазы ELOVL6 (C18:0/C16:0) и отношение уровня стеариновой кислоты к уровню линолевой кислоты (C18:0/C18:2n-6) у пациентов с язвенным колитом были значительно повышены по сравнению с данными параметрами у здоровых. Отношение уровня арахидоновой кислоты к уровню эйкозодиеновой кислоты (C20:4n-6/C20:2n-6) было повышено в обеих группах больных. На фоне дополнительного применения масляной кислоты в комбинации с инулином отмечалось значимое понижение сывороточных концентраций провоспалительных метаболитов микробного происхождения — янтарной кислоты (как у больных язвенным колитом, так и у пациентов с целиакией) и 2-гидроксиизовалериановой кислоты (у больных целиакией). Кроме того, у пациентов с язвенным колитом значительно повышался уровень линолевой и эйкозодиеновой кислот. Использование методов PLS-DA, SVM и naive Bayes позволило разделить пациентов с язвенным колитом, а также пациентов с целиакией и здоровых добровольцев с высокой чувствительностью и специфичностью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Marasco G., Di Biase A. R., Schiumerini R., Eusebi L. H., Iughetti L., Ravaioli F., Scaioli E., Colecchia A., Festi D. Gut Microbiota and Celiac Disease // *Dig Dis Sci.* 2016 Jun; 61 (6):1461–72. doi: 10.1007/s10620–015–4020–2.
2. DuPont A. W., DuPont H. L. The intestinal microbiota and chronic disorders of the gut // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2011 Aug 16;8 (9):523–31. doi: 10.1038/nrgastro.2011.133.
3. Nicholson J. K., Holmes E., Kinross J., Burcelin R., Gibson G., Jia W., Pettersson S. Host-gut microbiota metabolic interactions // *Science.* 2012 Jun 8;336(6086):1262–7. doi:10.1126/science.1223813.
4. Ситкин С. И., Вахитов Т. Я., Ткаченко Е. И., Лазебник Л. Б., Орешко Л. С., Жигалова Т. Н., Рад-

ченко В. Г., Авалуева Е. Б., Селиверстов П. В., Утсаль В. А., Комличенко Э. В. Нарушения микробного и эндогенного метаболизма при язвенном колите и целиакии: метаболомный подход к выявлению потенциальных биомаркеров хронического воспаления в кишечнике, связанного с дисбиозом // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2017.— № 7 (143).— С. 4–50. [Sitkin S. I., Vakh-

itov T. Ya., Tkachenko E. I., Lazebnik L. B., Oreshko L. S., Zhigalova T. N., Radchenko V. G., Avalueva E. B., Seliverstov P. V., Utsal' V. A., Komlichenko E. V. Microbial and endogenous metabolism disturbances at ulcerative colitis and celiac disease: metabolomic approach to identify potential biomarkers of intestine chronic inflammation associated with dysbiosis // Eksperimentalnaya i Klinicheskaya Gastroenterologia 2017, Issue 7 (143), 4–50].

GUT MICROBIOTA AND BLOOD METABOLOME IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE DISEASES OF GASTROINTESTINAL TRACT

© 2018 E. V. Demyanova*, S. I. Sitkin, T. Ya. Vakhitov, O. N. Shalaeva

*E-mail: demyanova@hpb-spb.com

State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia

Quantitative analysis (real-time PCR) of some groups of bacteria in feces was performed. The number of butyrate-producing bacteria was reduced (in comparison with that in healthy individuals) only in patients with ulcerative colitis. The absence of *Bacteroides thetaiotaomicron* or its number below the detection threshold was significantly associated with ulcerative colitis. In both, ulcerative colitis and celiac disease, significant changes in serum concentrations of metabolites were observed reflecting disorders in the relevant metabolic pathways. According to data of ROC analysis, some of these metabolites, as well as the arachidonic acid/eicosadienoic acid levels ratio may be considered as potential biomarkers of chronic inflammation in the intestine.

Key words: ulcerative colitis, celiac disease, metabolites, biomarkers, metabolomics, gut microbiota

Authors:

Demyanova E. V., Ph.D., Deputy Head of Laboratory of Applied Microbiology State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia; E-mail: demyanova@hpb-spb.com;

Sitkin S. I., Ph.D., Leading Researcher, Laboratory of Applied Microbiology State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia;

Vakhitov T. Ya., Dr Sci, Head of Laboratory of Applied Microbiology State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia;

Shalaeva O. N., Senior Researcher, Laboratory of Applied Microbiology State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia.