Ожирение и метаболизм. 2016;13(1):16-19
DOI: 10.14341/OMET2016116-19

Функциональная активность микробиоты кишечника при метаболическом синдроме

Курмангулов А.А.*, Дороднева Е.Ф., Исакова Д.Н.

ГБОУ ВПО "Тюменский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Тюмень
(ректор – член-корр. РАН И.В. Медведева)

Актуальность. Метаболический синдром (МС) является мультифакторным заболеванием с включением в патогенез многих систем и органов, в том числе и пищеварительной системы. Накопленные данные о существенной роли микроорганизмов во многих метаболических процессах в организме человека позволяют предположить участие микробиоты в развитии патологических состояний, в том числе и при МС.
Цель исследования. Изучить качественные и количественные характеристики функциональной активности микробиоты кишечника у лиц с МС.
Материалы и методы. В исследовании принимали участие 85 человек с МС, разделенных на 4 группы в зависимости от значений ИМТ. Определение короткоцепочечных жирных кислот(КЖК) в кале проводилось с помощью газожидкостного хроматографического исследования.
Результаты. Хроматографическое исследование кала позволило выявить изменения как качественных, так и количественных характеристик функциональной активности микробиоты кишечника у людей с МС. Степень выраженности нарушений микробиоты коррелирует с показателем ИМТ. Во всех группах с избытком массы тела отмечено снижение общей метаболической активности облигатных микроорганизмов. При ожирении 2-й степени повышается активность аэробных популяций микроорганизмов, преимущественно факультативных и остаточных штаммов. МС с ожирением 3-й степени сопровождается наиболее существенными изменениями в копрологическом профиле КЖК с активизацией протеолитических микроорганизмов.
Выводы. Полученные данные позволяют предположить наличие патогенетических детерминант между ожирением при МС и микробиотой кишечника. В связи с этим необходим дальнейший поиск причинно-следственных связей возникновения и прогрессирования метаболических нарушений с участием микробиоты кишечника при МС.
Ключевые слова: метаболический синдром, ожирение, микробиота, запор, короткоцепочечные жирные кислоты.

Functional activity of intestinal microbiota with metabolic syndrome

Kurmangulov A.A.*, Dorodneva E.F., Isakova D.N.
Tyumen State Medical University; 54 Odesskaya St., Tyumen, Russia, 625023

Actuality: The metabolic syndrome (MS) is a multifactorial disease involved in the pathogenesis of many systems and organs, including the digestive system. Accumulating evidence signify the role of microorganisms in many metabolic processes and suggest human microbiota involvement in the development of different pathologic conditions, including the MS.
The aim: To evaluate the qualitative and quantitative characteristics of the functional activity of intestinal microbiota in individuals with MS.
Materials and methods: The study involved 85 subjects with MS divided into 4 groups according to BMI. Determination of the short chain fatty acids in the feces was carried out by gas-liquid chromatographic studies.
Results: Chromatographic examination of feces revealed changes in both qualitative and quantitative characteristics of the functional activity of the intestinal microbiota in people with MS. The severity of disturbances in microbiota correlated with BMI. In all groups with excess body weight the overall metabolic activity of microorganisms was decreased. In grade 2 obesity there was an increases in the activity of aerobic microorganisms populations, mostly of optional and residual strains. The grade 3 obesity is accompanied by the most significant changes in coprologic profile with the activation of proteolytic microorganisms.
Conclusions: These data suggest the presence of pathogenic correlations between obesity, MS, and intestinal microbiota. In this regard, it is necessary to search for causal relationships oin onset and progression of metabolic disorders involving the bowel microbiota in MS..
Keywords: metabolic syndrome, obesity, microbiota, constipation, short chain fatty acids.

**Автор для переписки/Correspondence author – diaamond@narod.ru*
DOI: 10.14341/OMET2016116-19

DOI: 10.14341/OMET2016116-19

Метаболический синдром (МС) является мультифакторным заболеванием с включением в патогенез многих систем и органов, в том числе и пищеварительной системы [1]. Ведется активный поиск общих патогенетических детерминант между МС и заболеваниями пищеварительной системы – неалкогольной жировой болезнью печени, панкреатитом, опухолями колоректального отдела кишечника, гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, функциональной диспепсией [2]. Немаловажную роль в сложном многоуровневом процессе пищеварения играют микроорганизмы в кишечнике. В настоящее время происходит смена микробиологической парадигмы – одноклеточные микроорганизмы стали рассматриваться не как отдельные клетки, а как целостные микробные ассоциации, выполняющие в организме человека функции отдельного органа – микробиоты [3]. При условии нормального физиологического состояния взаимоотношения «организм человека— микробиота кишечника» имеют симбиотический характер и представляют единую макроэкологическую систему организма, которая сформировалась в процессе филогенетического развития самого человека и его микробиоты, и включает разнообразные по количественному и качественному составу ассоциации микроорганизмов. Накопленные данные о существенной роли микроорганизмов во многих метаболических процессах в организме человека позволяют предположить участие микробиоты в развитии патологических состояний, в том числе и при МС. Однако существующие методы исследования микроорганизмов кишечника посредством культурального микробиологического исследования кала показали свою низкую диагностическую ценность [4]. Изучение стойких метаболитов микроорганизмов, среди которых короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК) занимают особую роль, дает новые возможности количественной и качественной оценки микробиоты кишечника [5]. Метаболиты микроорганизмов могут являться эффекторами, кофакторами и сигнальными молекулами, регулирующими скорость и выраженность протекания метаболических реакций как в норме, так и при патологических процессах [6, 7].

Цель исследования

Изучить качественные и количественные характеристики функциональной активности микробиоты кишечника у лиц с МС.

Материалы и методы

В исследовании принимали участие 85 человек с МС в возрасте от 27 до 49 лет, среднее значение которого составило 40,4±4,65 лет. В качестве критериев включения использовались критерии МС, принятые IDF (2009) и ВНОК (2009): центральный (абдоминальный) тип ожирения – окружность талии (ОТ) более 80 см у женщин и более 94 см у мужчин, артериальная гипертония (АД≥130/85 мм рт. ст.); повышение уровня триглицеридов (≥1,7 ммоль/л); снижение уровня ХС ЛПВП (3,0 ммоль/л; гипергликемия натощак (глюкоза в плазме крови натощак ≥6,1 ммоль/л) [2]. По гендерному признаку отмечено преобладание лиц женского пола как в группе с МС – 80,9% (68/85), так и в контрольной группе – 80% (16/20). Доля лиц мужского пола составила 19,1% (17/85) и 20% (4/20) соответственно. Средний возраст обследованных в группе мужчин составил 39,5±4,77 лет и в группе женщин – 40,8±4,35 лет, различия между группами статистически не значимы (p=0,22). В соответствии с задачами и протоколом исследования все наблюдаемые пациенты с МС были разделены на четыре группы: 1-я группа – 12 пациентов имели избыток массы тела (ИМТ составил 28,3±1,22 кг/м^2); 2-я группа – 20 пациентов, имеющих ожирение I степени (ИМТ 32,2±1,05 кг/м^2); 3-я группа – 21 пациент с ожирением II степени (ИМТ 37,3±1,34 кг/м^2); 4-я группа – 20 пациентов с резко выраженным ожирением IV степени (ИМТ 43,7±2,05 кг/м^2). Группа контроля составила 20 человек с нормальной массой тела (ИМТ 22,9±1,34 кг/м^2) без МС, относящихся к I и II диспансерной группе, сопоставимых по полу и возрасту с основными группами исследования.

В основу определения КЖК в кале положена методика газожидкостного хроматографического анализа для изучения КЖК в различных биосубстратах, разработанная М.Д. Ардатской и соавт. [8]. Определялись общая концентрация кислот C_2–C_6, а также относительного содержания C_2–C_4 (уксусной, пропионовой, масляной) кислот (то есть долевого участия кислоты в общем пуле кислот с длиной цепи атомов углерода C_2–C_4: pCn = Cn/C_2+C_3+C_4). Для количественной оценки изменения окислительно-восстановительного баланса в полости кишечника рассчитывался анаэробный индекс (АИ) – отношение суммы концентраций (С) восстановленных кислот к менее восстановленным: $C_{\text{пропионовая}}$+ $C_{\text{масляная}}$/$C_{\text{уксусная}}$.

Анализ материалов исследования проводился с помощью программы STATISTICA (версия 6.0) для MS Windows. В зависимости от вида распределения (параметрического или непараметрического) переменные представлены в виде M±SD (среднее ± стандартное отклонение среднего) или в виде Me (медианы и интерквартильного размаха (25 и 75 пер-

Таблица 1

Характеристика жалоб пациентов с МС в зависимости от ИМТ, n (%)

Показатель	Контроль (n=20)	1-я группа (n=12)	2-я группа (n=20)	3-я группа (n=32)	4-я группа (n=21)
Диарея	2 (10)	2 (17)	1(5)	2 (6)	1 (5)
Запоры	1 (5)	1 (8)	3 (15)	6 (19)	9 (43)**
Чередование запора и поноса	1 (5)	1 (8)	1 (5)	1 (3)	4 (19)
Боль в животе	2 (10)	1 (8)	2 (10)	4 (13)	5 (24)
Дискомфорт в животе	4 (20)	3 (25)	6 (30)	12 (38)	13 (62)*
Метеоризм и флатуленция	2 (10)	3 (25)	6 (30)	10 (31)	10-(48)*

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с контрольной группой, ** – p<0,01 по сравнению с контрольной группой, непарный двусторонний критерий Фишера.

Ожирение и метаболизм. 2016;13(1):16-19
DOI: 10.14341/OMET2016116-19

Таблица 2

Содержание и профиль КЖК у людей с МС и группой контроля

Показатель	Контроль (n=20)	1-я группа (n=12)	2-я группа (n=20)	3-я группа (n=32)	4-я группа (n=21)
Общее содержание ∑ (C_2+...C_6), мг/г	8,77±1,83	8,46±1,64	7,31±1,59**	4,91 ± 2,24 ***	3,51±1,66***
C_2 (уксусная), ЕД	0,633±0,019	0,627±0,041	0,638±0,026	0,669±0,048*	0,704±0,040***
C_3 (пропионовая), ЕД	0,188±0,014	0,183±0,010	0,187±0,017	0,175±0,023*	0,157±0,010***
C_4 (масляная), ЕД	0,179±0,019	0,191±0,036	0,175±0,023	0,156±0,034*	0,139±0,044***
ИзоСп ∑(изоC_4+изоC_5+изоC_6), ЕД	0,056±0,015	0,062±0,012	0,059±0,017	0,065±0,021	0,071 ± 0,021*
ИзоСп/Сп, ЕД	0,425±0,121	0,419±0,107	0,439±0,131	0,429±0,112	0,425±0,119
Анаэробный индекс (C_2–C_4), ЕД	(-) 0,581±0,05	(-) 0,603±0,12	(-) 0,571±0,06	(-) 0,502±0,11*	(-) 0,426±0,10***

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с контрольной группой, ** – p<0,01 по сравнению с контрольной группой, *** – p<0,001 по сравнению с контрольной группой, непарный двухвыборочный U-критерий Mann-Whitney.

сентиль). Сравнение двух и более независимых групп проводилось с использованием непараметрического U-критерия Mann-Whitney при ненормальном распределении. Анализ взаимосвязи двух признаков устанавливался с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Сравнение частот качественных признаков в группах проводилось при помощи точного критерия Фишера. Для всех проведенных анализов различия считались статистически значимыми при двустороннем уровне значимости p<0,05.

Результаты исследования

Сравнительный анализ субъективных проявлений заболеваний ЖКТ в зависимости от группы исследования (табл. 1) показал, что при увеличении значения ИМТ наблюдается отчетливая тенденция к росту количества пациентов, имеющих жалобы на запор, метеоризм, флатуленцию и дискомфорт в животе (p<0,01). Различия в группах по жалобам на диарею, чередование запора и диареи, а также боль в животе оказались статистически не значимы (p>0,05). При использовании двустороннего точного критерия Фишера удалось установить статистически значимое увеличение частоты жалоб у 4-й группы на метеоризм и флатуленцию (48%), дискомфорт в животе (62%), чередование запора и диареи (19%) по сравнению с контрольной группой (p<0,05). При МС и ожирении 3-й степени частота жалоб на запор (43%) статистически значимо (p<0,05) различается не только с контрольной группой (5%), но и с группами пациентов, имеющих ожирение 1-й и 2-й степени (10 и 19% соответственно).

Анализ хроматографического исследования кала представлен в таблице 2.

Абсолютное суммарное содержание КЖК (C_2–C_6) снижено в группах с ожирением 1-й, 2-й и 3-й степеней (p<0,01), в группе с ИМТ 25–30 кг/м^2 снижение количества КЖК оказалось статистически не значимо (p=0,705). Статистически значимые различия по суммарному уровню КЖК были обнаружены и между 2-й и 3-й, 3-й и 4-й группами (p<0,01). Уровень абсолютного содержания всех КЖК имел обратную умеренную корреляцию со значением ИМТ (r=-0,6968; p=0,0000), при этом распределение значений можно описать по экспоненциальной функции (рис. 1). Учитывая, что основными продуцентами КЖК в кишечнике являются облигатные фирмикутные анаэробы, можно предположить, что при МС с увеличением ИМТ отмечается снижение метаболической активности молочнокислых микроорганизмов, главным образом – бифидо- и лактобактерий. При этом наиболее низкие значения содержания КЖК определяются в группе с ожирением 3-й степени.

Анализ профиля кислот показал статистически значимое снижение относительного содержания пропионовой кислоты в 3-й (0,669±0,048) и 4-й (0,157±0,010) группах относительно контрольной группы (p<0,05). Относительная концентрация масляной кислоты в 3-й (0,156±0,034) и 4-й (0,139±0,044) группах статистически значимо отличалась от контрольной группы (p<0,05). При этом во всех группах с ожирением (2-я, 3-я, 4-я группы) относительная доля пропионовой кислоты была выше масляной, что соответствует пропорции содержания кислот в контрольной группе. Полученные результаты могут свидетельствовать о снижении активности анаэробных микроорганизмов как отдела *Graciliates* (бактероиды, эубактерии, фузобактерии), так и отдела *Furmicutes* (клостридии, пропионобактерии) в группах с МС и ожирением высокой степени.

На фоне снижения общего содержания КЖК в кале относительная доля уксусной кислоты увеличивается в 3-й (0,669±0,048) и 4-й (0,704±0,040) группах по сравнению с контрольной группой (p<0,05). Как и в случае с пропионовой и масляной кислотами, статистически значимая разница в пропорциональном распределении уксусной кислоты была выявлена между 3-й и 4-й группами (p<0,05). В данных условиях увеличивается активность факультативных и остаточных (транзиторных) аэробных микроорганизмов (энтерококков, стрепто- и стафилококков).

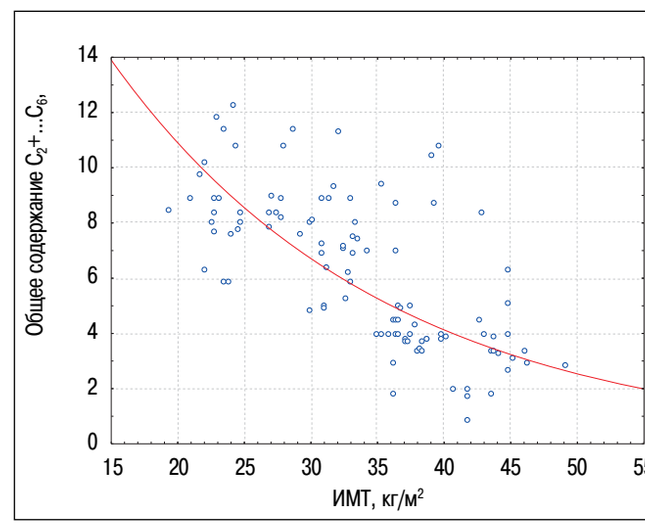

Рис. 1. Распределение значений суммарной абсолютной концентрации КЖК (мг/г) в зависимости от ИМТ (кг/м^2)

DOI: 10.14341/OMET2016116-19

Окислительно-восстановительный потенциал внутрипросветной среды в 3-й и 4-й группах был смещен в сторону слабоотрицательных значений АИ (-0,502±0,11 и -0,426±0,10 соответственно). Полученные значения свидетельствуют о дисбалансе анаэробных/аэробных популяций микроорганизмов. Отмечено статистически значимое повышение относительного содержания изокислот (изоC_4+изоC_5+изоC_6) в 4-й группе по сравнению с группой контроля ($p<0,05$). Это может быть связано с активацией протеолитической активности микроорганизмов за счет повышенного времени транзита, приводящего к длительной экспозиции кишечного содержимого с микробиотой. В данном случае, вероятнее всего, это аэробные популяции микроорганизмов, обладающие протеолитической активностью (*E. coli*, стрепто- и стафилококки).

Заключение

Хроматографическое исследование кала позволило выявить изменения как качественных, так и количественных характеристик функциональной активности микробиоты кишечника у людей с МС. Степень выраженности нарушений микробиоты коррелирует с показателем ИМТ. Во всех группах с избытком массы тела отмечено снижение общей метаболической активности облигатных микроорганизмов. При ожирении 2-й степени повышается активность аэробных популяций микроорганизмов, преимущественно факультативных и остаточных штаммов. МС с ожирением 3-й степени сопровождается наиболее существенными изменениями в копрологическом профиле КЖК с активизацией протеолитических микроорганизмов. Полученные данные позволяют предположить наличие патогенетических детерминант между ожирением при МС и микробиотой кишечника. В связи с этим необходим дальнейший поиск причинно-следственных связей возникновения и прогрессирования метаболических нарушений с участием микробиоты кишечника при МС.

Дополнительная информация

Информация о конфликте интересов. Авторы работы сообщают, что потенциальных и явных конфликтов интересов (финансовые отношения, служба или работа в учреждениях, имеющих финансовый или политический интерес к публикуемым материалам, должностные обязанности и др.), связанных с рукописью, не существует.

Литература

1. Захарова И. Н., Звенигородская Л. А., Яблочкова С.В. Метаболический синдром и неалкогольная жировая болезнь печени у детей //Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2011. – №. 11. [Zakharova IN, Zvenigorodskaya LA, Yablochkova SV. Metabolicheskiy sindrom i nealkogol'naya zhirovaya distrofiya pecheni u detey. Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya. 2011; (11): 44-48.(In Russ.)]
2. Talley NJ, Vakil N. Guidelines for the Management of Dyspepsia. The American Journal of Gastroenterology. 2005;100(10):2324-37. doi:10.1111/j.1572-0241.2005.00225.x.
3. Парфенов А.И., Чернин В.В., Бондаренко В.М., и др. Симбионтное пищеварение в свете теории А.М. Уголева о пищеварительно-транспортном конвейере. // Русский медицинский журнал. – 2014; – Т. 22. – № 15. – С. 1088-1092. [Parfenov AI, Chernin VV, Bondarenko VM, et al. Simbiontnoe pishchevarenie v svete teorii A.M. Ugoleva o pishchevaritel'no-transportnom konveyere. Russkiy meditsinskiy zhurnal. 2014; 22(15): 1088-1092. (In Russ.)]
4. Барсук А.Л., Сумина А.В., Кузин В.Б., и др. Практическое обоснование низкой диагностической ценности микробиологического исследования кала на дисбактериоз //Вопросы диагностики в педиатрии. – 2009. – № 2. – С. 7-11. [Barsuk AL, Sumina AV, Kuzin VB, et al. Prakticheskoe obosnovanie nizkoy diagnosticheskoy tsennosti mikrobiologicheskogo issledovaniya kala na disbakterioz. Voprosy diagnostiki v pediatrii. 2009; (2): 7-11.(In Russ.)]
5. Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы // М.: Гэотар-Медиа. – 2007. – Т. 304 [. Bondarenko VM, Matsulevich TV. Disbakterioz kishechnika kak kliniko-laboratornyy sindrom: sovremennoe sostoyanie problemy. Moscow: GEOTAR-Media, 2007. 304 p. (In Russ.).]
6. Shenderov BA. Probiotics and functional foods. Food Engineering,[Eds UNESCO-EOLSS Joint Committee], in Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS) Oxford, UK: Developed under the Auspices of the UNESCO, EOLSS Publishers. 2011.
7. Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. Physiological reviews. 2001;81(3):1031-64.
8. Патент на изобретение РФ № 2145511 Иконников Н.С., Ардатская М.Д., Бабин В.Н. и др. «Способ разделения смеси жирных кислот фракции С2–С7 методом газожидкостной хроматографии» от 09.04.1999. [Patent RUS № 2145511. Ikonnikov NS, Ardatskaya MD, Babin VN, et al. «Sposob razdeleniya smesi zhirnykh kislot fraktsii S2–S7 metodom gazozhidkostnoy khromatografii» (In Russ).] Доступно по: http://www1.fips.ru/fips_servl/fips_servlet?DB=RUPAT&rn=8868&DocNumber=2145511&TypeFile=html. Ссылка активна на 03/03/2016.

Курмангулов Альберт Ахметович	аспирант ГБОУ ВПО «Тюменский государственный медицинский унриверситет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Тюмень E-mail: diaamond@narod.ru
Дороднева Елена Феликсовна	д.н.м., профессор ГБОУ ВПО «Тюменский государственный медицинский унриверситет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Тюмень E-mail: eldorodneva@mail.ru
Исакова Дилара Наилевна	к.м.н., ассистент ГБОУ ВПО «Тюменский государственный медицинский унриверситет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Тюмень dilara-isakova@yandex.ru