[https://doi.org/10.24026/1818-1384.3\(63\).2018.142668](https://doi.org/10.24026/1818-1384.3(63).2018.142668)

СООТНОШЕНИЕ ОСНОВНЫХ ФИЛОТИПОВ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

С.М. Ткач¹, А.А. Дорофеева²

¹Украинский научно-практический центр эндокринной хирургии, трансплантации эндокринных органов и тканей МЗ Украины

²ГУ «Институт геронтологии имени Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины»

ВВЕДЕНИЕ

Распространенность сахарного диабета (СД) 2 типа продолжает возрастать во всем мире угрожающими темпами. В частности, с 1980 по 2008 г. число людей с диагностированным СД (90% из которых больны СД 2 типа) увеличилось со 153 до 347 миллионов. Основным фактором, способствующим росту заболеваемости СД 2 типа, является стремительный рост распространенности ожирения, сопровождающийся изменением в привычках и характере питания. Так, количество людей, страдающих ожирением, за последние 40 лет (с 1975 по 2014 годы) выросло со 105 до 641 миллионов [2].

Исследования последних лет позволили установить, что важнейшим «соучастником» развития СД 2 типа является кишечная микробиота [4, 5, 12, 13, 17, 24, 25]. Кишечная микробиота (КМ) – это >10¹⁴ бактерий, которые постоянно обитают в кишечнике и содержат основную часть генетического материала, превышающую геном человека не менее чем в 100-150 раз [14]. КМ состоит из 2000-4000 различных видов, в основном, анаэробных бактерий, 80% из которых до настоящего времени не культивировано, а может быть определено только молекулярно-генетическими методами (секвенирование гена 16S рибосомальной РНК амплифицированных бактериальных нуклеиновых кислот, полученных из фекалий или биоптатов слизистой оболочки кишечника). Среди 10 основных бактериальных фило типов, обнаруженных в кишечнике, преобладают грамположительные Firmicutes (наиболее распространенный фило тип)

и грамотрицательные Bacteroidetes, на которые приходится более 90% всех бактерий, в меньшем количестве представлены Actinobacteria и Proteobacteria [3, 29].

Данные, полученные в экспериментальных и немногочисленных клинических исследованиях, в основном свидетельствуют о значительных различиях в содержании двух основных бактериальных типов при СД 2 типа с преобладанием количества Firmicutes и снижением уровня Bacteroidetes [12, 18, 19, 26, 27]. Однако в некоторых исследованиях получены противоречивые данные относительно связи указанных фило типов с наличием СД 2 типа. Кроме того, в литературе отсутствуют данные относительно изменения содержания основных фило типов КМ в зависимости от тяжести течения и компенсации СД.

Целью настоящего исследования было изучение содержания основных фило типов КМ у больных СД 2 типа при различной тяжести его течения и компенсации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 64 пациента с СД 2 типа (29 мужчин и 35 женщин) в возрасте от 30 до 72 лет (средний возраст 47,3±8,9 года), а также 30 здоровых добровольцев, составивших группу контроля. В зависимости от тяжести течения СД было выделено 3 группы пациентов. Первую группу (22 пациента) составили больные с легким течением СД, вторую группу (22 пациента) – больные с СД средней тяжести, третью группу (20 больных) – больные с тяжелым течением СД. Тяжесть

Ткач Сергей Михайлович, д. мед. н., профессор, отдел профилактики и лечения сахарного диабета; 01021, г. Киев, Кловский спуск, 13-А. E-mail: tkachsergio@yahoo.com. Дорофеева Анна Александровна, аспирант

Таблиця 1

Характеристика обстежених хворих

Базові характеристики	1 група, n=22	2 група, n=22	3 група, n=20	Контрольна група, n=30
Пол (муж/жен)	10/12	12/10	7/13	10/20
Вік (роки)	47±12	49±11	42±10	43±15
Тривалість СД, роки	3,4±0,9	6,8±2,5	10,1±3,9	-
HbA _{1c} , %	6,8±0,8	8,1±1,4	11,2±2,0	4,9±0,8
Наявність ангиопатій	1 (4,5%)	19 (86,4%)	20 (100%)	-
Куріння	10 (45,5%)	12 (54,5%)	6 (30%)	13 (43,3%)
Індекс маси тіла (ІМТ), кг/м ²	27,9±2,8	32,5±2,9	34,1±3,1	25,1±2,0

течіння СД встановлювали на основі клініко-лабораторних даних. При легкій (I ступінь) формі захворювання глікемія натощак не перевищала 8 ммоль/л, суточна глюкозурия не перевищала 20 г/л; компенсація діабета досягалася однієї дієтою, а органічних ознак ангиопатій і нейропатій не було. При середній (II ступінь) тяжкості СД рівень глікемії натощак не перевищував 14 ммоль/л, суточна глюкозурия не перевищала 40 г/л, у хворих відмічалися судинні ураження в формі ретино- або нефропатії I-II стадій або ангиопатій I-III стадій іншої локалізації. При важкій (III ступінь) формі СД глікемія натощак перевищала 14 ммоль/л, суточна глюкозурия – більше 40-50 г/л, у хворих виявлялися комбіновані ангиопатії і нейропатії різної ступеня і локалізації. Крім того, в залежності від рівня глікованого гемоглобіна (HbA_{1c}), виділялися групи з компенсацією, субкомпенсацією і декомпенсацією СД.

Всі хворі дотримувалися уніфікованої дієтотерапії. При легкій ступені СД компенсація досягалася тільки дієтотерапією, при середньважкій і важкій формі СД хворі отримували антигіперглікемічні препарати. Згідно останніх клінічних рекомендацій Американської діабетическої асоціації [10], при рівні HbA_{1c} менше 9% хворим проводилася монотерапія метформіном, при рівні HbA_{1c}

9-10% пацієнти додатково перорально отримували другий сахароснижуючий препарат, при рівні HbA_{1c} вище 10% хворі отримували трікратну пероральну сахароснижуючу терапію або додатково інсулінотерапію.

Вивчення не включалися пацієнти з гострими інфекційними і хірургічними захворюваннями, злоякісними новоутвореннями, клінічно значимою серцевою, нирковою або печінковою недостатністю, важкими нервовими і психічними захворюваннями. Характеристика обстежених хворих представлена в таблиці 1.

У всіх хворих проводили визначення мікробного складу на рівні основного мікробного флоти типу шляхом ідентифікації загальної кількості бактеріальної ДНК, а ДНК Firmicutes, Bacteroidetes і Actinobacteria визначали за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в режимі реального часу (qRT-PCR), використовуючи ген-націлені праймери. Для цього зразки свіжих фекалій кожного пацієнта в період 10 хв після дефекації поміщалися в спеціальний контейнер, негайно заморожувалися і зберігалися при температурі мінус 20 °С в період 1 тижня до виділення ДНК за допомогою методу з фенол-хлороформом [28]. ДНК елюювали в 200 мкл буфера, а кількість і якість ДНК вимірювали за допомогою NanoDrop ND-8000 (ThermoScientific, США). Зразки з

Таблиця 2

**Содержание основных флотипов микроорганизмов у здоровых и больных СД 2 типа
различной степени тяжести, %**

Микробный флотип	Здоровые	Больные СД				p
		Все больные	Легкое течение	Средней тяжести	Тяжелое течение	
Firmicutes	35 (22-37)	46 (30-58)	34 (30-45)	50 (35-58)	54 (38-58)	0,010
Bacteroidetes	47 (35-54)	39 (23-45)	40 (32-44)	36 (27-45)	31 (23-36)	0,018
Отношение F/B	0,7 (0,6-0,7)	1,2 (0,7-2,2)	0,85 (0,7-1,0)	1,3 (0,7-2,0)	1,7 (1,1-2,2)	0,005
Actinobacteria	5 (3-7)	6 (4-11)	6 (4-8)	6 (3,5-8)	6 (4-11)	0,707

Примечание: представлены медианы и межквартильные интервалы.

концентрацией ДНК менее 20 нг или соотношением флуоресценции на длинах волн А 260/280 менее 1,8 для концентрации подвергали осаждению этанолом или дополнительно очищали в соответствии со стандартами качества.

Методом qPCR с использованием праймеров, ориентированных на ген 16S рПНК, специфический для Firmicutes, Actinobacteria и Bacteroidetes, а также универсальных праймеров, проведено количественное определение различных таксонов. Последовательности праймеров были следующими: 1) для Bacteroidetes: 798cfbF AAACCTCAAAGGAATTGACGG (прямой) и cfb967R GGTAAGGTTCTCGCGCTAT (обратный); 2) для Firmicutes: 928F-firm TGAAACTYAAGGAATTGACG (прямой) и 1040FirmR ACCATGCACCACCTGTC (обратный); 3) для Actinobacteria: Act920F3 TACGGCCGCAAGGCTA (прямой) и Act1200R TCRTCCCCACSTTCSTCCG (обратный); 4) для универсальных бактериальных 16S рПНК последовательностей: 926F AAACCTCAAAGGAATTGACGG (прямой) и 1062R CTCACRRACGAGCTGAC (обратный).

Реакцию ПЦР проводили в режиме реального времени термического циклера Rotor-Gene 6000 (QIAGEN, Германия). Условия реакции ПЦР: начальная стадия денатурации продолжительностью 5 мин при температуре 95°C, далее 30 циклов: при температуре 95°C в течение 15 сек, отжиг в течение 15 сек и при температуре 72°C в течение 30 сек, окончательная стадия при температуре 72°C в течение 5 мин.

Каждая реакция ПЦР содержала 0,05 единиц/мкл Taq полимеразы (Sigma Aldrich), 0,2 ммоль каждого дезоксинуклеозидтрифосфата (dNTP), 0,4 мкмоль каждого праймера, 1х буфер, около 10 нг ДНК и до 25 мкл воды [8]. Образцы амплифицировали всеми праймерами в трех последовательностях. Cts (универсальные и специфические) были пороговыми циклами, зарегистрированными термоциклером. Среднее значение Ct (цикл, при котором кривая амплификации пересекает порог флуоресцентной значимости), полученное от каждой пары, переводили в процент по соответствующей формуле.

Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения Statistica 11.0. Для анализа результатов исследования использовались методы вариационной статистики с расчетом частотных характеристик исследуемых показателей, средних величин (средней арифметической – $\bar{X}$) и оценки их вариабельности. Для оценки статистической значимости разницы между сравниваемыми группами использовались: критерий Пирсона χ^2 для сравнения частотных характеристик, t-критерий для сравнения частотных характеристик и средних величин, а также критерий Вилкоксона-Манна-Уитни. Поскольку переменные не соответствовали нормальному распределению, для дальнейшего анализа использовались непараметрические методы, такие как корреляция Спирмена и многовариантная логистическая регрессия.

Таблиця 3

Содержание основных филоотипов микроорганизмов в зависимости от компенсации СД 2 типа, %

Микробный филоотип	Здоровые	Больные СД			p
		Компенсация (HbA _{1c} <7,0)	Субкомпенсация (HbA _{1c} 7,1-7,5)	Декомпенсация (HbA _{1c} >7,5)	
Firmicutes	35 (22-37)	37 (31-44)	52 (36-59)	58 (40-63)	0,012
Bacteroidetes	47 (35-54)	42 (32-46)	37 (26-46)	30 (22-35)	0,024
Отношение F/B	0,7 (0,6-0,7)	0,9 (0,7-1,1)	1,4 (0,7-2,1)	1,9 (1,1-2,3)	0,005
Actinobacteria	5 (3-7)	6 (4-11)	6 (4-8)	6 (4-10)	0,707

Примечание: представлены медианы и межквартильные интервалы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что относительное содержание основных микробных филоотипов существенно отличалось у здоровых добровольцев по сравнению с больными СД, а также при разных степенях тяжести СД. Так, содержание Firmicutes у больных СД было достоверно выше, а содержание Bacteroidetes – достоверно меньше по сравнению со здоровыми лицами. По мере утяжеления течения СД содержание Firmicutes также достоверно увеличивалось, а содержание Bacteroidetes – снижалось, соответственно, возрастало и отношение F/B (таблица 2). Относительное количество Actinobacteria было небольшим (5-6%) и сопоставимым во всех группах пациентов.

Кроме того, аналогичные изменения были выявлены при анализе содержания основных микробных филоотипов в зависимости от состояния компенсации СД: у больных с субкомпенсацией и декомпенсацией СД содержание Firmicutes было достоверно выше, а содержание Bacteroidetes – достоверно ниже, чем у больных с компенсацией СД и здоровых лиц (таблица 3).

Полученные нами данные согласуются с результатами других исследований, в которых изучалась связь между изменениями состава и функций КМ и наличием СД 2 типа. Так, в двух масштабных метагеномных исследованиях, проведенных Karlsson F., et al. [15] и Qin J., et al. [23] независимо друг от друга, при проведении секвенирования было обнаружено снижение

содержания бутират-продуцирующих бактерий (Roseburia и Faecalibacterium prausnitzii) в КМ пациентов с СД 2 типа по сравнению со здоровыми людьми. Кроме того, было показано, что увеличение фекальной концентрации Lactobacillus gasseri и Streptococcus mutans, обитающих в проксимальных отделах кишечника, так же как и Escherichia coli, были предикторами развития инсулинорезистентности у женщин с ожирением в постменопаузе. При сравнении филоотипов КМ у лиц с диабетом и без диабета с помощью ПЦР в реальном времени было выявлено увеличение содержания Betaproteobacteria и снижение числа Firmicutes (Clostridia) [26], снижение Bifidobacterium и Bacteroides vulgatus [1], а также снижение содержания Akkermansia muciniphila, Faecalibacterium prausnitzii и Bacteroides у лиц с преддиабетом по сравнению с лицами с диабетом [21].

Недостатком проведенного нами исследования является то, что мы исследовали содержание только основных филоотипов КМ, не изучая содержание отдельных родов или видов кишечных бактерий, что мы планируем сделать в ближайшем будущем. Кроме того, мы специально не анализировали особенности изменений КМ в зависимости от проводимого лечения. Тем не менее, нами впервые в отечественной практике изучены состав КМ и соотношение ее основных филоотипов в зависимости от степени тяжести и компенсации СД 2 типа. Результаты исследования свидетельствуют о том, по мере утяжеления течения СД и ухудшения

его компенсации отмечается прогрессирующее снижение общего количества Bacteroidetes, а также повышение количества Firmicutes и отношения F/B.

Пока до конца не понятно, являются ли эти изменения состава КМ первичными или вторичными по отношению к нарушениям гастроинтестинальной моторики и избыточному бактериальному росту в тонкой кишке, часто наблюдаемым при СД 2 типа. Тем не менее, по мнению зарубежных исследователей, некоторые бактериальные штаммы могут использоваться в качестве маркеров ранней диагностики для улучшения идентификации тех пациентов, страдающих ожирением, которые склонны к развитию СД 2 типа. Последнее метагеномное исследование также привело к разработке математической модели для идентификации метагеномных маркеров метаболизма у пациентов с СД 2 типа и диабетоподобным метаболизмом [15]. В частности, снижение количества некоторых бутират-продуцирующих бактерий (например, *Roseburia*, *F. prausnitzii*) и повышение количества условно-патогенных бактерий (*Clostridium clostridioforme*, *E. coli*) могут быть потенциально характерным микробиомом при сниженной толерантности к углеводам и СД 2 типа [27]. Необходимы дополнительные проспективные эпидемиологические исследования в хорошо контролируемых популяциях для подтверждения доказательств особенностей КМ, которые могут выступать в качестве факторов риска ожирения и СД 2 типа, так же, как и исследования по модификации диеты с целью установления причинных связей.

Каким образом изменения КМ влияют на метаболизм и способствуют развитию и прогрессированию СД до конца еще не ясно. Ведущими специалистами в этой области обоснованно предполагается, что КМ может провоцировать хроническое низкоинтенсивное системное воспаление и воспаление жировой ткани, способствующие развитию инсулинорезистентности (ИР) и СД 2 типа. Эта гипотеза поддерживается выявлением липополисахаридов (ЛПС) грамнегативных бактерий в крови пациентов с метаболическим синдромом и СД 2 типа [6]. ЛПС, продуцируемые в кишечнике при лизисе грамнегативных бактерий, активируют провоспалительные цитокины, которые приводят к развитию ИР и СД 2 типа как у мышей, так и у людей. Когда «стерильных» мышей колонизировали

бактерией *E. coli*, это способствовало накоплению макрофагов и повышению регуляции провоспалительных цитокинов, что проявлялось развитием вялотекущего воспаления. Механизм, посредством которого ЛПС перемещаются в плазму крови, может быть как непрямым (за счет транспорта пищевых хиломикронов), так и прямым (за счет непосредственной «утечки» вследствие снижения барьерной функции кишечника). Таким образом, проведенные на сегодняшний день исследования позволили сделать вывод о том, что изменения состава КМ могут влиять на метаболизм хозяина посредством нарушения кишечного барьера и эндотоксемии [7, 22].

В развитии ожирения и ИР важную роль играют не только нарушение состава КМ, но и продукты кишечных бактерий. Так, бутират, ацетат и пропионат – короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), ферментируемые кишечными бактериями из пищевых волокон, играют важную роль в энергетическом метаболизме [20]. Эти КЦЖК всасываются в кишечнике, где бутират, в частности, обеспечивает энергией эпителиальные клетки кишечника, а другие КЦЖК поступают в порталый венозный кровоток, влияют на печеночный липогенез и глюконеогенез, а также выступают в качестве субстрата для синтеза холестерина [9]. Также предполагается, что бутират играет роль в недавно открытой способности кишечника самостоятельно продуцировать глюкозу. Глюкоза, образованная путем кишечного глюконеогенеза, обнаруживается в порталом кровотоке и через периферическую нервную систему посылает сигнал в головной мозг, таким образом, положительно влияя на общий метаболизм глюкозы и прием пищи [9, 16]. Эти исследования стали причиной увеличения интереса к изучению связи между СД 2 типа и снижением продукции бутирата, в виду того, что диеты, обогащенные бутиратом, как было показано ранее, способствовали предотвращению и обратному развитию ИР у мышей с ожирением на фоне высококалорийной диеты и увеличения энергозатрат [20]. Результаты, полученные в исследованиях ожирения на животных моделях и у человека, позволили предположить, что сокращение продукции бутирата кишечной микробиотой участвует в развитии резистентности к инсулину.

ВЫВОДЫ

Изучение особенностей КМ при ожирении и СД 2 типа привело к показательному росту научных исследований в этой области. Множество экспериментальных и клинических исследований раскрыли принципиально новые патогенетические механизмы развития ожирения и СД 2 типа, связанные с КМ. Становится все более очевидным, что состав КМ играет определенную роль в регуляции углеводного обмена. Полученные нами результаты позволяют сделать предварительный вывод о том, что определенные нарушения состава КМ, в частности, снижение общего количества Bacteroidetes, повышение количества Firmicutes и отношения F/B, могут играть патогенетическую роль не только в развитии СД 2 типа, но и способствовать ухудшению его течения и компенсации. Для того, чтобы подтвердить причинно-следственную связь между определенным нарушением состава КМ и развитием СД 2 типа, необходимы дальнейшие исследования.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при подготовке и написании статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Amar J, Serino M, Lange C. Involvement of tissue bacteria in the onset of diabetes in humans: evidence for a concept. *Diabetologia*. 2011; 54:3055–61.
2. Apovian CM. The obesity epidemic – understanding the disease and the treatment. *N Engl J Med*. 2016 Jan 14; 374(2):177–9.
3. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. MetaHIT Consortium. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 473:174–180.
4. Baothman OA, Zamzami MA, Taher I, Abubaker J, Abu-Farha M. The role of Gut Microbiota in the development of obesity and Diabetes. *Lipids Health Dis*. 2016 Jun 18; 15:108.
5. Bouter K, van Raalte D, Groen A, Nieuwdorp M. Role of the Gut Microbiome in the Pathogenesis of Obesity and Obesity-Related Metabolic Dysfunction. *Gastroenterology*. 2017; 152:1671–1678.
6. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007; 56:1761–1772.
7. Cani PD, Osto M, Geurts L, Everard A. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut Microbes*. 2012 Jul-Aug; 3(4):279–88. Epub 2012 May 14.
8. Bacchetti De Gregoris T, Aldred N, Clare AS, Burgess JG. Improvement of phylum- and class-specific primers for real-time PCR quantification of bacterial taxa. *J Microbiol Methods*. 2011 Sep; 86(3):351–6.
9. De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*. 2014; 156:84–96.
10. Diabetes Advocacy: Standards of Medical Care in Diabetes – 2018. *Diabetes Care*. 2018; 41(Suppl. 1): 159 p. (doi.org/10.2337/dc18-S015)
11. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005 Jun 10; 308(5728):1635–8. Epub 2005 Apr 14.
12. Everard A, Cani PD. Diabetes, obesity and gut microbiota. Best practice & research. *Clinical gastroenterology*. 2013 Feb; 27:73–83.
13. Hartstra A, Bouter K, Backhed F, Nieuwdorp M. Insights Into the Role of the Microbiome in Obesity and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2015; 38:159–165.
14. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, et al. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015; 21:8787–8803.
15. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013; 498:99–103.
16. Kootte RS, Vrieze A, Holleman F, et al. The therapeutic potential of manipulating gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2012; 14:112–120.
17. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One*. 2010; 5:e9085.
18. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013; 500:541–6.
19. Musso G, Gambino R, Cassader M. Obesity, diabetes, and gut microbiota: the hygiene hypothesis expanded? *Diabetes Care*. 2010; 33:2277–84.
20. Nieuwdorp M, Gijljamse PW, Pai N, Kaplan LM. Role of the Microbiome in Energy Regulation and Metabolism. *Gastroenterology*. 2014; 146(6):1525–1533.
21. Plovier H, Everard A, Druart C, et al. A purified membrane protein from Akkermansia muciniphila or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat Med*. 2017; 23:107–

- 113.
22. Pussinen PJ, Havulinna AS, Lehto M, Sundvall J, Salomaa V. Endotoxemia is associated with an increased risk of incident diabetes. *Diabetes Care*. 2011; 34:392–7.
23. Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012; 490:55–60.
24. Sanz Y, Olivares M, Moya-Perez A, Agostoni C. Understanding the role of gut microbiome in metabolic disease risk. *Pediatric Research*. 2015; 77(1-2): 236–244
25. Tilg H, Kaser A. Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction. *J Clin Invest* 2011; 121:2126–2132
26. Wu X, Ma C, Han L. Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II diabetes. *Curr Microbiol*. 2010; 61:69–78.
27. Zhang X, Shen D, Fang Z. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One*. 2013; 8:e71108.39.
28. Zhang BW, Li M, Ma LC, Wei FW. A widely applicable protocol for DNA isolation from fecal samples. *Biochem Genet*. 2006 Dec; 44(11-12):503–12.
29. Zhu B, Wang X, Li L. Human gut microbiome: the second genome of human body. *Protein Cell*. 2010; 1:718–725.

РЕЗЮМЕ

Соотношение основных филоотипов кишечной микробиоты у больных сахарным диабетом 2 типа

С.М. Ткач, А.А. Дорофеева

Данные, полученные в экспериментальных и немногочисленных клинических исследованиях, свидетельствуют о значительных различиях в содержании двух основных бактериальных типов (Firmicutes и Bacteroidetes) при сахарном диабете (СД) 2 типа, хотя результаты разных исследований нередко носят противоречивый характер. Кроме того, в литературе отсутствуют данные относительно изменения содержания основных филоотипов кишечной микробиоты в зависимости от тяжести течения и компенсации диабета.

Цель исследования – изучить содержание основных филоотипов кишечной микробиоты у больных СД 2 типа при различной тяжести его течения и компенсации.

Материал и методы. Обследовано 64 пациента с СД 2 типа (29 мужчин и 35 женщин) в возрасте от

30 до 72 лет (средний возраст $47,3 \pm 8,9$ года), а также 30 здоровых добровольцев, составивших группу контроля. Проводились клинические, лабораторные и молекулярно-генетические исследования (определение ДНК Firmicutes, Bacteroidetes и Actinobacteria методом количественной ПЦР в режиме реального времени с использованием ген-нацеленных праймеров).

Результаты. Установлено, что содержание Firmicutes у больных СД 2 типа было достоверно выше, а содержание Bacteroidetes – достоверно меньше по сравнению со здоровыми лицами. По мере утяжеления течения и ухудшения компенсации СД 2 типа содержание Firmicutes также достоверно увеличивалось, а содержание Bacteroidetes – снижалось, соответственно, возрастало и отношение F/B.

Выводы. Определенные нарушения состава кишечной микробиоты, в частности, снижение общего количества Bacteroidetes, повышение количества Firmicutes и отношения F/B, могут играть патогенетическую роль не только в развитии СД 2 типа, но и способствовать ухудшению его течения и компенсации.

Ключевые слова: кишечная микробиота, сахарный диабет, Firmicutes, Bacteroidetes.

РЕЗЮМЕ

Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на цукровий діабет 2 типу

С.М. Ткач, Г.А. Дорофєєва

Дані, отримані у експериментальних та нечисленних клінічних дослідженнях, свідчать про значну різницю у вмісті двох основних бактеріальних типів (Firmicutes та Bacteroidetes) при цукровому діабеті 2 типу, хоча результати різних досліджень нерідко мають суперечливий характер. Окрім того, в літературі немає даних щодо змін вмісту основних філотипів кишкової мікробіоти в залежності від тяжкості перебігу та компенсації діабету.

Мета дослідження – вивчити вміст основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу при різній тяжкості його перебігу та в залежності від стану компенсації.

Матеріал та методи. Обстежено 64 хворих на ЦД 2 типу (29 чоловіків та 35 жінок) віком від 30 до 72 років (середній вік $47,3 \pm 8,9$ року), а також 30 здорових добровольців, які склали групу контролю. Проводились клінічні, лабораторні та молекулярно-генетичні дослідження (визначення ДНК Firmicutes,

Bacteroidetes та Actinobacteria методом кількісної ПЦР у режимі реального часу з застосуванням ген-націлених праймерів).

Результати. Встановлено, що вміст Firmicutes у хворих на ЦД 2 типу був достовірно вищим, а вміст Bacteroidetes – достовірно меншим порівняно зі здоровими особами. У міру підвищення тяжкості ЦД та погіршення його компенсації вміст Firmicutes також достовірно збільшувався, а вміст Bacteroidetes – знижувався, відповідно, підвищувалось і співвідношення F/B.

Висновки. Деякі порушення складу кишкової мікробіоти, зокрема, зниження загальної кількості Bacteroidetes, підвищення кількості Firmicutes та співвідношення F/B, можуть відігравати патогенетичну роль не лише у розвитку ЦД 2 типу, але й сприяти погіршенню його перебігу та компенсації.

Ключові слова: кишкова мікробіота, цукровий діабет, Firmicutes, Bacteroidetes.

The ratio of the main types of intestinal microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus

Tkach S, Dorofeeva A

The data obtained in experimental and few clinical studies indicate significant differences in the contents of the two main bacterial types (Firmicutes and Bacteroidetes) in type 2 diabetes mellitus (DM), although the results of different studies are often contradictory. In addition, there are no data in the

literature on the changes in the content of the main types of intestinal microbiota depending on the severity of the course and compensation of diabetes.

The aim – to study the content of the main phylotypes of the intestinal microbiota in patients with type 2 DM depending on diabetes severity and compensation.

Material and methods. 64 patients with type 2 DM (29 men and 35 women) aged 30 to 72 years (mean age 47.3 ± 8.9 years) and 30 healthy volunteers who made up the control group were examined. Clinical, laboratory and molecular genetic studies (DNA determination of Firmicutes, Bacteroidetes and Actinobacteria using quantitative real-time PCR and gene-targeted primers) were performed.

Results. It was found that the content of Firmicutes in patients with type 2 DM was significantly higher, and the content of Bacteroidetes was significantly less than in healthy individuals. As the severity of DM increased and the compensation for type 2 DM impaired, the contents of Firmicutes also increased significantly, and the content of Bacteroidetes decreased, respectively, and the F / B ratio also increased.

Conclusion. Certain disorders in the composition of the intestinal microbiota, in particular, decrease in the total number of Bacteroidetes, increase in the number of Firmicutes and F / B ratios, can play a pathogenetic role not only in the development of type 2 DM, but also contribute to its severity and compensation.

Key words: intestinal microbiota, diabetes mellitus, Firmicutes, Bacteroidetes.

Дата надходження до редакції 16.07.2018 р.