Частота и особенности кишечного дисбиоза у больных ожирением и сахарным диабетом 2 типа

С. М. Ткач, Т. Ю. Юзвенко

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

В настоящее время установлено, что немаловажную роль в патогенезе ожирения и сахарного диабета (СД) 2 типа играют различные нарушения кишечной микробиоты (КМ), состоящей из 2000—4000 различных видов. Из них 80 % не культивировано и может быть определено только молекулярно-генетическими методами [2]. Среди 10 основных бактериальных филотипов, обнаруженных в кишечнике, преобладают грамположительные *Firmicutes* (наиболее распространенный филотип) и грамотрицательные *Bacteroidetes*, на которые приходится более 90 % бактерий, в меньшем количестве представлены *Actinobacteria* и *Proteobacteria* [1, 2, 17].

Установленные существенные различия состава КМ у здоровых индивидуумов, пациентов с ожирением и больных СД позволили предположить, что кишечный дисбиоз может способствовать развитию как ожирения, так и СД 2 типа и его последствий. Тем не менее вопрос относительно того, являются ли эти изменения КМ причиной или следствием ожирения и СД 2 типа, пока открыт. Также не понятно, являются эти изменения состава КМ первичными или вторичными по отношению к нарушениям гастроинтестинальной моторики и избыточному бактериальному росту (ИБР) в тонкой кишке, часто наблюдаемым при СД 2 типа [5, 9, 22].

Несмотря на данные о нарушении количественного и качественного состава КМ у больных ожирением и СД 2 типа, вопрос патогенетически обоснованной коррекции кишечного дисбиоза у данного контингента больных все еще открыт. Учитывая многогранные функциональные особенности КМ, нами проведено сравнительное изучение количественного и качественного состава КМ, частоты и особенностей кишечного дисбиоза и синдрома избыточного бактериального роста (СИБР) в тонкой кишке у больных ожирением и СД 2 типа различной степени тяжести.

Цель работы — изучение частоты и особенностей кишечного дисбиоза, а также синдрома избыточного бактериального роста у больных ожирением и сахарным диабетом 2 типа различной степени тяжести.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 97 пациентов, из них 33 с ожирением (ИМТ свыше 30), составивших 1 группу, и 64 пациента с СД 2 типа (29 мужчин и 35 женщин) в возрасте от 30 до 72 лет (средний возраст — 47,3 года $\pm$ 8,9 года), составивших 2 группу, а также 30 здоровых добровольцев (группа контроля). У 23 больных было ожирение 2 степени (ИМТ — 37,1 $\pm$ 2,3). В зависимости от тяжести течения СД выделено 3 подгруппы. Первую подгруппу 2А

Таблиця 1

Характеристика больных

Базовые характеристики	Ожирение (n = 33)	СД (n = 64)			Контрольная группа (n = 30)
		2А (n = 22)	2Б (n = 22)	2В (n = 20)	
Пол (муж/жен)	16/17	10/12	12/10	7/13	10/20
Возраст, годы	48,2 ± 8,8	47,1 ± 12,1	49,4 ± 11,3	42,3 ± 10,4	43,2 ± 15,2
Длительность заболевания, годы	6,7 ± 1,6	3,4 ± 0,9	6,8 ± 2,5	10,1 ± 3,9	—
HbA1c, %	5,5 ± 0,9	6,8 ± 0,8	8,1 ± 1,4	11,2 ± 2,0	4,9 ± 0,8
Наличие ангиопатии	1 (3 %)	1 (4,5 %)	19 (86,4 %)	20 (100 %)	—
Курение	16 (48,5 %)	10 (45,5 %)	12 (54,5 %)	6 (30 %)	13 (43,3 %)
Индекс массы тела (ИМТ)	37,1 ± 2,3	27,9 ± 2,8	32,5 ± 2,9	34,1 ± 3,1	25,1 ± 2,0

(22 пациента) составили больные с легким течением СД, вторую — 2Б (22 пациента) — больные с СД средней тяжести, третью — 2В (20 больных) — с тяжелым течением СД (табл. 1). Тяжесть течения СД устанавливали на основании клинико-лабораторных данных. Кроме того, в зависимости от уровня гликированного гемоглобина (HbA1c) выделяли группы с компенсацией, субкомпенсацией и декомпенсацией СД.

У всех больных на основании результатов бактериологического исследования кала оценивали количественный и качественный состав микробиоценоза толстой кишки по Эпштейн-Литвак Р. В. и Вильшанской Ф. Л. При этом определяли содержание основных представителей облигатной микрофлоры (бифидо- и лактобактерии, кишечные палочки с неизменными биологическими свойствами, фекальные стрептококки), а также изучали спектр условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) и различных видов грибов *Candida*. Диагностика дисбиоза кишечника проведена согласно Отраслевому стандарту «Дисбактериоз кишечника. Протокол ведения больных» (ОСТ 91500.11.0004-2003: утвержден приказом от 09.06.2003 МЗ № 231). При этом в фекалиях количественно определяли содержание бифидобактерий, лактобацилл, энтеробактерий и их гемолитических вариантов, «паракишечных» (лактозодефицитных) палочек, протей, энтерококка, золотистого стафилококка, синегнойной палочки, кандид. Согласно классификации выделяли 4 степени кишечного дисбиоза.

Микробный состав на уровне основных микробных филоотипов проводили путем идентификации общего количества бактериальной ДНК, а ДНК *Fir-*

micutes, *Bacteroidetes* и *Actinobacteria* определяли с помощью количественной ПЦР в режиме реального времени (qRT-PCR), используя ген-нацеленные праймеры [10].

Состояние микробиоты тонкой кишки определяли косвенно по наличию избыточного бактериального роста (ИБР) в тонкой кишке, диагностируемого при помощи H₂-лактолозного дыхательного теста (H₂-ЛДТ). Для этого образцы выдыхаемого воздуха собирали перед приемом 10 г лактулозы в 250 мл воды и после ее приема с интервалами в 15 мин в течение 2 ч. измеряли H₂ в выдыхаемом воздухе на газоанализаторе (Lactofan 2, FisherGmbH, Германия), результаты оценивали в частях на миллион (ppm). Положительными результатами считали уровень H₂ в выдыхаемом воздухе более 20 ppm при наличии двойного пика уровней водорода, ранее увеличение (в пределах 90 мин) более 20 ppm или устойчивый рост более чем на 12 ppm по сравнению с исходным уровнем водорода в течение первых 40—60 мин [5].

Для анализа результатов исследования использовали методы вариационной статистики с расчетом частотных характеристик исследуемых показателей, средних величин (средней арифметической и средней ошибки соответствующего показателя) и оценкой их вариабельности. Для оценки статистической значимости разницы между группами использовали корреляционный анализ с вычислением коэффициента линейной корреляции Пирсона (r). Статистическую обработку всех параметров проводили при помощи пакета статистических программ Statistica 7.0.

Таблиця 2

Частота и степень выраженности кишечного дисбиоза у больных

Степень дисбиоза	Ожирение (n = 33)	СД (n = 64)			Контрольная группа
		2А (n = 22)	2В (n = 22)	2С (n = 20)	
1-я (n = 35)	14 (50 %)	8 (44,4 %)	3 (13,6 %)*	—	12 (40 %)
2-я (n = 65)	10 (35,7 %)	8 (44,4 %)	12 (54,5 %)*	12 (60 %)*	—
3-я (n = 27)	4 (14,3 %)	2 (11,1 %)	7 (31,8 %)*	8 (40 %)*	—
Всего	28 (84,8 %)	18 (81,8 %)	22 (100 %)*	20 (100 %)*	12 (40 %)**

Примечание. * Между группами 2Б и 2В и группами 1 и 2А $p < 0,05$; ** между контрольной и другими группами $p < 0,05$.

Таблиця 3

Частота высевания и количество ($M \pm m$, Ig КУО/г) разных видов КМ у больных, %

Микроорганизмы	1-я группа (n = 33)		2-я группа (n = 64)		Контрольная группа (n = 30)	
	%	Ig КУО/г	%	Ig КУО/г	%	Ig КУО/г
<i>E. coli</i>	93,9	$5,7 \pm 0,3^*$	95,3	$5,7 \pm 0,2^*$	100	$8,0 \pm 0,6$
<i>E. coli</i> с измененными ферментативными свойствами	21,2	$6,1 \pm 0,4^*$	21,9	$6,0 \pm 0,4^*$	6,7	$4,5 \pm 0,4$
<i>E. coli</i> лактозо (-)	12,1	$7,1 \pm 0,3^*$	12,5	$7,2 \pm 0,3^*$	7,5	$3,0 \pm 0,4$
<i>E. coli</i> (гем+)	24,2	$6,8 \pm 0,2$	25,0	$7,0 \pm 0,2$	—	—
<i>Klebsiella spp.</i>	30,3	$6,9 \pm 0,7^*$	34,4	$7,2 \pm 0,6^*$	10	$4,0 \pm 0,2$
<i>Citrobacter spp.</i>	9,1	$7,0 \pm 0,3^*$	9,4	$7,2 \pm 0,2^*$	4	$3,0 \pm 0,2$
<i>Proteus spp.</i>	15,2	$6,7 \pm 0,3$	15,6	$6,8 \pm 0,4$	—	—
<i>Enterobacter spp.</i>	21,2	$6,5 \pm 0,4^*$	21,9	$6,7 \pm 0,3^*$	6,7	$3,0 \pm 0,2$
<i>S. aureus</i>	33,3	$5,2 \pm 0,3^*$	34,4	$5,03 \pm 0,2^*$	6,7	$3,0 \pm 0,4$
<i>S. epidermidis</i> (гем +)	33,3	$5,2 \pm 0,3^*$	32,8	$5,1 \pm 0,4^*$	3,3	$3,0 \pm 0,5$
<i>S. epidermidis</i> (гем -)	12,1	$3,1 \pm 0,5$	12,5	$3,0 \pm 0,5$	23,3	$3,3 \pm 0,3$
<i>S. saprophyticus</i>	9,1	$3,2 \pm 0,3$	10,9	$3,1 \pm 0,2$	26,7	$3,4 \pm 0,4$
<i>S. faecalis</i>	12,1	$4,5 \pm 0,3^*$	12,5	$4,8 \pm 0,3^*$	70	$6,1 \pm 0,3$
Грибы рода <i>Candida</i>	42,4	$5,9 \pm 0,4^*$	48,4	$6,01 \pm 0,4^*$	13,3	$3,1 \pm 0,2$
<i>Bifidobacterium spp.</i>	87,8	$6,8 \pm 0,5^*$	81,3	$6,2 \pm 0,4^*$	100	$10,2 \pm 0,3$
<i>Lactobacillus spp.</i>	75,8	$6,1 \pm 0,3^*$	71,9	$5,8 \pm 0,2^*$	100	$8,0 \pm 0,4$

Примечание. * Разница статистически достоверна относительно контрольной группы ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У большинства пациентов с ожирением и СД 2 типа зарегистрированы изменения качественного и количественного состава микрофлоры кишечника, которые зависели от ИМТ, а также степени тяжести ЦД (табл. 2).

Кишечный дисбиоз различной выраженности выявлен у 28 (84,8 %) больных ожирением и 60 больных СД (93,8 %), что достоверно превышало его частоту в контрольной группе (40 %). Тяжесть кишечного дисбиоза коррелировала с

наличием ожирения и тяжестью СД. Так, частота кишечного дисбиоза любой степени у пациентов с ожирением и легким течением СД достоверно не отличалась, хотя была достоверно выше, чем в контрольной группе. Кишечный дисбиоз 2-й и 3-й степени у больных со среднетяжелым и тяжелым течением СД фиксировали достоверно чаще, чем у больных с легким течением СД и ожирением без СД.

Качественный анализ КМ показал более высокую частоту высевания из фекалий больных

Таблиця 4

Содержание основных филоотипов микроорганизмов у здоровых, пациентов с ожирением и больных СД 2 типа различной степени тяжести, %

Микробный филоотип	Контроль	Больные ожирением	Больные СД			p
			Легкое течение	Средней тяжести	Тяжелое течение	
<i>Firmicutes</i>	35 (22—37)	46 (30—58)	34 (30—45)	50 (35—58)	54 (38—58)	0,010
<i>Bacteroidetes</i>	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
<i>Actinobacteria</i>	5 (3—7)	6 (4—11)	6 (4—8)	6 (3,5—8)	6 (4—11)	0,707

Примечание. Представлены медианы и межквартильные интервалы.

ожирением и СД 2 типа по сравнению с контрольной группой различных видов стафилококков с патогенными свойствами (*S. aureus* и *S. epidermidis* (гем+), а также *E. coli* (гем+), лактозонегативной *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* и *Enterobacter spp.*). Частота высева грибов *Candida* из кишечника 48,4—42,4 % (табл. 3).

Бактериологическое исследование испражнений кишечника здоровых людей свидетельствует о низкой частоте выявления условно-патогенных энтеробактерий и стафилококков. *Enterobacter spp.* высеивался у 2 (6,7 %) обследованных, *E. coli* с измененными ферментативными свойствами — у 2 (6,7 %), *Klebsiella spp.* — у 3 (10 %). *Proteus spp.* и *E. coli* (гем+) у здоровых людей не регистрировали. *S. aureus* высеивался у 2 (6,7 %), а *S. epidermidis* (гем+) — у 1 (3,3 %) обследованных. Количественный уровень обсемененности кишечника условно-патогенными энтеробактериями в контрольной группе составлял $Ig (3,0 \pm 0,2)$ КОЕ/г. Стафилококки с патогенными свойствами высеивали также в малом количестве — $(3,0 \pm 0,4)$ КОЕ/г. Грибы рода *Candida* контаминировали кишечник здоровых людей только в 4 случаях (13,3 %) в низкой концентрации $Ig (3,1 \pm 0,2)$ КОЕ/г и были представлены только грибами *Candida albicans*. Качественный анализ показателей биоценоза кишечника у здоровых людей свидетельствует о высокой частоте высева из испражнений нормальной микрофлоры. Так, *Lactobacillus spp.* и *Biphidobacterium* обнаружены у 100 % обследованных в значительных концентрациях (*Biphidobacterium spp.* — $Ig (10,2 \pm 0,3)$ КОЕ/г, *Lactobacillus spp.* — $Ig (8,0 \pm 0,4)$ КУО/г).

У большинства пациентов выявлено существенное уменьшение количества микрофлоры: *Biphidobacterium spp.* — у 29 (87,8 %), *Lactobacillus spp.* — у

25 (75,8 %), в то время как в контрольной группе они были у всех. Количественные показатели высева из испражнений *Lactobacillus spp.* составляли $Ig (6,1 \pm 0,3)$ КОЕ/г ($p < 0,05$), *Biphidobacterium spp.* — $Ig (6,8 \pm 0,5)$ КОЕ/г ($p < 0,05$). Данные показатели статистически достоверно отличались от полученных при обследовании группы контроля. Не достигала нормы и концентрация *S. faecalis* — $Ig (4,5 \pm 0,3)$ КОЕ/г ($p < 0,05$). Изучение количественного уровня условно-патогенной микрофлоры свидетельствует об активной контаминации кишечника, прежде всего различными видами *Enterobacter spp.* у данного контингента. Концентрация этих микроорганизмов существенно превышала показатели нормы и находилась на уровне $Ig (6,5 \pm 0,4)$ КОЕ/г ($p < 0,05$).

У больных СД 2 типа (2-я группа) также выявлено существенное снижение количественного уровня *Biphidobacterium spp.* (81,3 %) и *Lactobacillus spp.* (71,9 %), а также повышение количественных показателей поражения кишечника условно-патогенными грамположительными кокками: *S. aureus* — $Ig (5,03 \pm 0,2)$ КОЕ/г, *S. epidermidis* (гем+) — $Ig (5,1 \pm 0,4)$ КОЕ/г ($p < 0,05$). Концентрация грибов рода *Candida* превышала показатели здоровых людей и составляла $Ig (6,01 \pm 0,4)$ КОЕ/г ($p < 0,05$). Отрицательное значение имело повышение уровня высева эшерихий с измененными биологическими свойствами: (*E. coli* (гем+) — $Ig (7,0 \pm 0,2)$ КОЕ/г, *E. coli* лактозонегативные — $Ig (7,2 \pm 0,3)$ КОЕ/г ($p < 0,05$)).

Таким образом, выявлены значительные нарушения микробиоценоза кишечника в группах больных СД 2 типа и ожирением.

Также изучено содержание основных филоотипов КМ у больных ожирением и СД 2 типа при различной тяжести его течения. Для этого у всех больных определяли микробный состав на уровне основного микроб-

ного филоципа путем идентификации ДНК *Firmicutes*, *Bacteroidetes* и *Actinobacteria* при помощи количественной ПЦР в режиме реального времени, с использованием ген-нацеленные праймеры (табл. 4).

Установлено, что относительное содержание основных микробных филоципов существенно отличалось у здоровых добровольцев по сравнению с больными ожирением и СД, а также при разных степенях тяжести СД. Так, содержание *Firmicutes* у больных ожирением и СД было достоверно выше, а уровень *Bacteroidetes* достоверно меньше по сравнению с нормой. По мере утяжеления течения СД содержание *Firmicutes* также достоверно увеличивалось, а *Bacteroidetes* — снижалось, соответственно увеличивалось и соотношение F/B. Относительное количество *Actinobacteria* было небольшим (5—6 %) и сопоставимым во всех группах.

По результатам H₂-ЛДТ ИБР был зафиксирован у 10 (30,3 %) больных ожирением, 29 (45,3 %) СД и 2 (6,6 %) субъектов из группы контроля, при этом средние показатели концентрации H₂ у больных СД были достоверно выше, чем в группе контроля ($26,6 \pm 2,9$ и $13,5 \pm 1,2$; $p < 0,05$). СИБР достоверно чаще отмечался у больных с анамнезом СД более 10 лет, с декомпенсацией СД и диабетической автономной нейропатией.

Наши данные согласуются с результатами других исследований. В частности, Cani и соавт. показали, что снижение разнообразия грамположительных бутират-продуцирующих анаэробных бактерий ассоциируется с эндотоксемией, хроническим воспалением и развитием инсулинорезистентности у мышей [6, 7]. Karlsson F. и соавт. и Qin J. и соавт. независимо друг от друга обнаружили снижение разнообразия бутират-продуцирующих бактерий (*Roseburia* и *Faecalibacterium prausnitzii*) в КМ пациентов с СД 2 типа по сравнению со здоровыми [13, 15]. Кроме того, увеличение фекальной концентрации *Lactobacillus gasseri* и *Streptococcus mutans*, обитающих в проксимальных отделах кишечника, так же как и *Escherichiacoli*, были предикторами развития инсулинорезистентности у женщин с ожирением в постменопаузу [1]. При сравнении филоципов КМ у диабетиков и недиабетиков с помощью ПЦР в реальном времени выявлены увеличение количества *Betaproteobacteria* и снижение количества *Firmicutes* (*Clostridia*), *Bifidobacterium* и *Bacteroides vulgatus*, *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii* и *Bacteroides* у предиабетиков по сравнению с больными СД [3, 4, 11, 12, 14, 16, 20, 21].

Каким образом изменения КМ влияют на метаболизм и способствуют развитию и прогрессированию СД, до конца еще не ясно. Предполагают, что КМ может провоцировать хроническое низкоинтенсивное системное воспаление и воспаление жировой ткани, способствующие развитию инсулинорезистентности и СД 2 типа. Эта гипотеза подтверждается выявлением липополисахаридов грамотрицательных бактерий в крови пациентов с метаболическим синдромом и СД 2 типа [3, 4]. Липополисахариды, продуцируемые в кишечнике при лизисе грамотрицательных бактерий, активизируют провоспалительные цитокины, которые приводят к развитию инсулинорезистентности и СД 2 типа как у мышей, так и людей. Колонизация кишечника «стерильных» мышей бактерией *E. coli* способствовала накоплению макрофагов и повышению регуляции провоспалительных цитокинов, что проявлялось развитием вялотекущего воспаления. Механизм, путем которого липополисахариды перемещаются в плазму крови, может быть как непрямой (за счет транспорта пищевых хиломикронов), так и прямым (за счет непосредственной «утечки» вследствие снижения барьерной функции кишечника). Таким образом, изменения состава КМ могут влиять на метаболизм организма-хозяина посредством нарушения кишечного барьера и эндотоксемии [6—8, 18].

ВЫВОДЫ

Исследования последних лет показали, что состав кишечной микробиоты играет определенную роль в регуляции углеводного обмена, а кишечный дисбиоз может выступать как существенный фактор риска развития ожирения, инсулинорезистентности и сахарного диабета 2 типа. Можно сделать вывод о том, что определенные нарушения состава кишечной микробиоты, в частности снижение общего количества *Bacteroidetes*, повышение уровня *Firmicutes* и увеличение соотношения F/B, могут играть патогенетическую роль не только в развитии сахарного диабета 2 типа, но и способствовать ухудшению его течения и компенсации. У больных ожирением зафиксированы снижение уровней *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* (соответственно 87,8 и 75,8 % больных), а также активная контаминация кишечника различными видами *Enterobacter spp.* У больных сахарным диабетом 2 типа также существенно снижено количество *Bifidobacterium spp.* (81,3 % больных) и *Lactobacillus spp.* (71,9 %), а также повышены количественные показатели поражения кишечника условно-патогенными грамположительными кокками,

такими як *S. aureus* и *S. Epidermidis*, грибами рода *Candida* и эшерихиями с измененными биологическими свойствами, такими как *E. coli* (гем +) и лакто-зонегативные. У многих больных ожирением (30,3 %) и сахарным диабетом 2 типа (45,3 %) результаты Н₂-ЛДТ были положительными, что указывало на сопутствующий СИБР, который чаще отмечался при длительном течении сахарного диабета 2 типа, его суб- и декомпенсации, а также при диабетической автономной нейропатии. Таким образом, можно сделать вывод, что при ведении больных с ожирением и сахарным диабетом 2 типа необходимо изучать особенности кишечного дисбиоза и наличие СИБР, а также эффективность различных методов модификации кишечной микробиоты (применение пре- и пробиотиков, эубиотиков, трансплантация кишечной микробиоты).

Проведение данного исследования соответствует общим положениям Хельсинкской декларации и одобрено локальной этической комиссией Научно-практического центра эндокринной хирургии, трансплантации эндокринных органов и тканей МЗ Украины. Все больные, задействованные в исследовании, дали информированное согласие на его проведение.

Конфликт интересов отсутствует.

Участие авторов: набор клинического материала, написание статьи — С. М. Ткач; статистическая обработка материала, редактирование статьи — Т. Ю. Юзвенко

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. Arumugam M, Raes J, Pelletier E. et al. MetaHIT Consortium. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473:174-180.
3. Baothman OA, Zamzami M, Taher I. et al. The role of gut microbiota in the development of obesity and diabetes. *Lipids Health Dis*. 2016;15:108. doi: 10.1186/s12944-016-0278-4.
4. 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;152:1671-8.
5. Bures J, Cyrany J, Kohoutova D. et al. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J. Gastroenterol*. 2010;16: -2978-90.
6. Cani PD. et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007;56:1761-72.
7. Cani PD, Everard A, Duparc T. Gut microbiota, entero-endocrine functions and metabolism. *Current opinion in pharmacology*. 2013 Dec;13:935-40.
8. 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 1;3.
9. Cuoco L, Montalto M, Jorizzo RA, Santarelli L, Arancio F, Cammarota G, Gasbarrini G. Eradication of small intestinal bacterial overgrowth and oro-cecal transit in diabetics. *Hepatogastroenterology*. 2002;49:1582-6.
10. De Gregoris TB, Aldred N, Clare AS, Burgess JG. Improvement of phylum- and class-specific primers for real-time PCR quantification of bacterial taxa. *J. Microbiol. Meth*. 2011;86:351-6.
11. Everard A, Cani PD. Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best practice & research Clinical. gastroenterology*. 2013 Feb;27:73-83.
12. Hartstra A, Bouter K, Backhed F, Nieuwdorp M. Insights Into the Role of the Microbiome in Obesity and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2015;38:159-65.
13. Karlsson FH. et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013;498:99-103.
14. 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- 20.
15. Qin J. et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012; 490:55-60.
16. 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.
17. Musso G, Gambino R, Cassader M. Obesity, diabetes, and gut microbiota: the hygiene hypothesis expanded? *Diabetes Care*. 2010;33:2277-84.
18. 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.
19. Saad RJ, Chey WD. Breath testing for small intestinal bacterial overgrowth. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2014;12:1964-72.
20. Wu X, Ma C, Han L. Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II diabetes. *Curr Microbiol*. 2010;61:69-78.
21. Zhang X, Shen D, Fang Z. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One*. 2013;8:71-108.
22. Zietz B, Lock G, Straub RH, Braun B, Schölmerich J, Palitzsch KD. Small-bowel bacterial overgrowth

in diabetic subjects is associated with cardiovascular autonomic neuropathy. *DiabetesCare*. 2000;23:1200-1.

РЕЗЮМЕ

Частота и особенности кишечного дисбиоза у больных ожирением и сахарным диабетом 2 типа

С. М. Ткач, Т. Ю. Юзвенко

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

Актуальность темы. Установлена существенная разница в составе кишечной микробиоты (КМ) здоровых людей, пациентов с ожирением и больных сахарным диабетом (СД), что позволяет предположить, что кишечный дисбиоз может играть значительную роль в развитии как ожирения, так и СД 2 типа, его осложнений и последствий. Тем не менее вопрос о том, являются ли эти изменения КМ причиной или следствием ожирения и СД, пока еще остается открытым.

Цель работы — изучение частоты и особенностей кишечного дисбиоза, а также синдрома избыточного бактериального роста (СИБР) у больных ожирением и СД 2 типа различной степени тяжести.

Материалы и методы. Обследовано 97 пациентов, из них 33 больных ожирением (1-я группа), 64 пациента с СД 2 типа (2-я группа) в возрасте от 30 до 72 лет, а также 30 здоровых людей, составивших контрольную группу (3-я группа). У всех больных на основании данных бактериологического исследования кала оценивали количественный и качественный состав КМ толстой кишки по Эпштейн-Литвак Р. В. и Вильшанской Ф. Л. При этом в кале изучали количественное содержание бифидобактерий, лактобацилл, энтеробактерий, протей, стафилококка, кандид и т. п. и выделяли 4 степени кишечного дисбиоза. Микробный состав на уровне основных микробных флотипов изучали путем идентификации общего количества ДНК, а ДНК *Firmicutes*, *Bacteroidetes* и *Actinobacteria* — с помощью количественной ПНК в режиме реального времени. Состав КМ тонкой кишки определяли косвенно по наличию СИБР, диагностируемого с помощью H_2 -лактолозного дыхательного теста.

Результаты и обсуждение. У большинства больных ожирением и СД 2 типа зарегистрированы

изменения количественного и качественного состава КС, они зависели от индекса массы тела и степени тяжести СД. Так, кишечный дисбиоз различной степени был обнаружен у 84,8 % больных ожирением и 93,8 % больных СД, что достоверно превышало его частоту в контрольной группе (40 %). Тяжесть кишечного дисбиоза коррелировала с наличием ожирения и степенью тяжести СД. Так, кишечный дисбиоз 2 и 3 степени у больных СД средней тяжести и тяжелым фиксировали значительно чаще, чем у больных СД легкой степени и ожирением без СД. Относительное содержание основных микробных флотипов существенно отличалось у здоровых людей по сравнению с больными ожирением и СД, а также при разной степени тяжести СД. Так, содержание *Firmicutes* у больных ожирением и СД было достоверно выше, а содержание *Bacteroidetes* — достоверно ниже по сравнению с нормой. По мере увеличения степени тяжести СД количество *Firmicutes* также достоверно возрастало, а содержание *Bacteroidetes* — достоверно снижалось. СИБР был зафиксирован в 30,3 % больных ожирением, 45,3 % больных СД и 6,6 % здоровых лиц. СИБР достоверно чаще фиксировали при анамнезе СД более 10 лет, декомпенсации СД и наличии автономной диабетической нейропатии.

Выводы. Нарушения состава КМ, в частности увеличение содержания *Firmicutes* и уменьшение содержания *Bacteroidetes*, могут играть патогенетическую роль не только в развитии СД, но и способствовать ухудшению его компенсации и течения. У многих больных ожирением и СД имеет место кишечный дисбиоз и СИБР, что также может способствовать суб- и декомпенсации СД и развитию автономной диабетической нейропатии.

Ключевые слова: кишечная микробиота, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, ожирение, сахарный диабет 2 типа, синдром избыточного бактериального роста.

РЕЗЮМЕ

Частота та особливості кишкового дисбіозу у хворих на ожиріння та цукровий діабет 2 типу

С. М. Ткач, Т. Ю. Юзвенко

Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, Київ

Актуальність теми. Встановлена істотна різниця у складі кишкової мікробіоти (КМ) у здорових осіб,

пацієнтів з ожирінням та цукровим діабетом (ЦД), що дає змогу припустити, що кишковий дисбіоз може відігравати значну роль у розвитку як ожиріння, так і ЦД 2 типу, його ускладнень та наслідків. Однак питання щодо того, чи є ці зміни КМ причиною або наслідком ожиріння та ЦД, поки що залишається відкритим.

Мета роботи — вивчення частоти та особливостей кишкового дисбіозу, а також синдрому надлишкового бактеріального росту (СНБР) у хворих на ожиріння та ЦД 2 типу різного ступеня тяжкості.

Матеріали та методи. Обстежено 97 пацієнтів, з них 33 хворих на ожиріння (1-ша група), 64 пацієнти з ЦД 2 типу (2-га група) у віці від 30 до 72 років, а також 30 здорових людей, що склали контрольну групу (3-тя група). У всіх хворих на підставі бактеріологічного дослідження калу оцінювали кількісний та якісний склад КМ товстої кишки за Епштейн-Литвак Р. В. та Вільшанською Ф. Л. При цьому у калі вивчали кількісний вміст біфідобактерій, лактобацил, ентеробактерій, протей, стафілококу, кандид тощо та виділяли 4 ступені кишечного дисбіозу. Мікробний склад на рівні основних мікробних філотипів вивчали шляхом ідентифікації загальної кількості ДНК, а ДНК *Firmicutes*, *Bacteroidetes* та *Actinobacteria* — за допомогою кількісної РНК у режимі реального часу. Склад КМ тонкої кишки визначали опосередковано за наявності СНБР, який діагностували за допомогою H_2 -лактолозного дихального тесту.

Результати та обговорення. У більшості хворих на ожиріння та ЦД 2 типу зареєстровано зміни кількісного та якісного складу КМ, що залежали від індексу маси тіла та ступеня тяжкості ЦД. Так, кишечний дисбіоз різного ступеня був виявлений у 84,8 % хворих на ожиріння та 93,8 % хворих на ЦД, що достовірно перевищувало його частоту у контрольній групі (40 %). Тяжкість кишечного дисбіозу корелювала з наявністю ожиріння та ступенем тяжкості ЦД. Так, кишечний дисбіоз 2 та 3 ступеня у хворих на ЦД середньої тяжкості та тяжкий фіксували значно частіше, ніж у хворих на ЦД легкого ступеня та ожирінням без ЦД. Відносний вміст основних мікробних філотипів істотно відрізнявся у здорових людей порівняно з хворими на ожиріння та ЦД, а також при різному ступені тяжкості ЦД. Так, вміст *Firmicutes* у хворих на ожиріння та ЦД був достовірно вищим, а вміст *Bacteroidetes* — достовірно нижчим порівняно з нормою. По мірі збільшення ступеня тяжкості ЦД вміст *Firmicutes* також достовірно

збільшувався, а вміст *Bacteroidetes* достовірно знижувався. СНБР було зафіксовано у 30,3 % хворих на ожиріння, 45,3 % хворих на ЦД та 6,6 % здорових осіб. СНБР достовірно частіше фіксували при анамнезі ЦД більше 10 років, декомпенсації ЦД та наявності автономної діабетичної нейропатії.

Висновки. Порушення складу КМ, зокрема збільшення вмісту *Firmicutes* та зменшення вмісту *Bacteroidetes*, можуть відігравати патогенетичну роль не тільки у розвитку ЦД, а й сприяти погіршенню його компенсації та перебігу. У багатьох хворих на ожиріння та ЦД має місце кишковий дисбіоз та СНБР, що також може сприяти суб- та декомпенсації ЦД та розвитку автономної діабетичної нейропатії.

Ключові слова: кишкова мікробіота, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, ожиріння, цукровий діабет 2 типу, синдром надлишкового бактеріального росту.

SUMMARY

Frequency and features of gut dysbiosis in patients with obesity and diabetes mellitus type 2 S. M. Tkach, T. Yu. Yuzvenko

Ukrainian Scientific and Practical Center of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health Care of Ukraine, Kyiv

Background. A large difference in the composition of gut microbiota (GM) in healthy people, obese patients and patients with diabetes mellitus (DM) suggests gut dysbiosis can have a significant role in the development of both obesity and type 2 diabetes and its complications and consequences. Nevertheless, the question of whether these changes in GM cause or result of obesity and diabetes is still open.

The aim study was to examine the prevalence and characteristics of gut dysbiosis, as well as small intestinal bacterial overgrowth syndrome (SIBO) in patients with obesity and type 2 diabetes of varying degrees of severity.

Material and methods. 97 patients were examined, of which 33 with obesity (1 group), 64 patients with type 2 diabetes (group 2) aged 30—72 years, and 30 healthy controls (group 3). In all patients, based on the bacteriological examination of the feces, the quantitative and qualitative composition of colon microbiota was evaluated by Epstein-Litwak R. V. and Vilshansky O. F. method. At the same time, in the feces, the quantitative content of Bifidobacteria, Lactobacilli, Enterobacteria, Proteus, Staphylococci, Candida, etc.

were studied, with stratification of dysbiosis on 4 degrees of severity. The microbial composition at the level of the main microbial phylotypes was studied by identifying the total amount of DNAs, with DNAs of *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, and *Actinobacteria* were quantified based on RNA in real-time PCR. The composition of the small intestine microbiota was determined indirectly by the presence of SIBO, diagnosed with the H₂-lactulose breath test.

Results and discussion. In majority of patients with obesity and type 2 diabetes, changes in quantitative and qualitative composition of GM were noted, depending on body mass index and severity of diabetes. Thus, gut dysbiosis of varying degrees was found in 84.8 % of obese patients and 93.8 % of patients with diabetes, which is believed to exceed its frequency in the control group (40 %). The severity of gut dysbiosis correlated with the presence of obesity and the severity of diabetes. Thus, gut dysbiosis of the 2nd and 3rd degree in patients with moderate-to-severe diabetes was present more often than in patients with mild diabetes or obesity without diabetes. Relative content of the main microbial phylotypes significantly differs in healthy people compared with obese and diabetes

patients, as well as at varying degrees of severity of diabetes. Thus, *Firmicutes* content in obese and diabetic patients was significantly higher, and the *Bacteroidetes* content was significantly lower than normal. As the severity of diabetes increased, *Firmicutes* content also increased significantly, while the content of *Bacteroidetes* significantly declined. SIBO was detected in 30.3% of obese patients, 45.3% of patients with diabetes and 6.6% of healthy individuals. SIBO were more likely to be detected with a history of diabetes for more than 10 years, decompensation of diabetes and the presence of autonomous diabetic neuropathy.

Conclusions. Abnormalities of GM, in particular, increase of *Firmicutes* and decline of *Bacteroidetes* content, can have pathogenic role in the development of diabetes, and also contribute to worsening of its compensation and natural course. In many patients with obesity and DM, there is gut dysbiosis and SIBO which may also contribute to the sub- and decompensation of diabetes and the development of autonomic diabetic neuropathy.

Key words: gut microbiota, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, obesity, type 2 diabetes mellitus, bacterial overgrowth syndrome.

Дата надходження до редакції 09.04.2019 р.