

Лагутина Светлана Николаевна

**КЛИНИКО – ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБИОТЫ
КИШЕЧНИКА У ПАЦИЕНТОВ С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ И
САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА**

Специальность 3.1.18. Внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России).

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор Пашкова Анна Александровна

Официальные оппоненты:

Лоранская Ирина Дмитриевна – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гастроэнтерологии, заведующий кафедрой

Авалуева Елена Борисовна – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо – Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и диетологии имени С.М. Рысса, профессор

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится 25 ноября 2024 г. в 12.00 на заседании диссертационного совета 21.2.006.01 ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России по адресу 394036 г. Воронеж, ул. Студенческая д. 10

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России и на сайте <http://vrngmu.ru//>

Автореферат разослан «_____» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Бавыкина Ирина Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Актуальность

В структуре гастроэнтерологической патологии частота встречаемости язвенного колита (ЯК) среди всех возрастно – половых групп составляет 505 случаев на 100000 населения [Бакулин И.Г. и соавт., 2021]. Этиология заболевания до сих пор остается неизвестной, что определяет актуальность в поиске новых диагностических маркеров и оптимизации лечебных мероприятий. Вероятность развития тяжелых форм ЯК ассоциирована с наличием коморбидных состояний – метаболических нарушений (сахарный диабет 2 типа) [Бабкин А.П. и соавт., 2019].

Язвенный колит характеризуется постоянным прогрессирующим течением с формированием резистентных к лечению форм, что ведет к стремительной инвалидизации лиц трудоспособного возраста [Андреев А.В. и соавт., 2022]. Основной пик заболеваемости (более 80%) приходится на пациентов возрастной категории от 20 до 50 лет, что отмечает социальную значимость патологии в структуре общей популяции [Белоусова Е.А. и соавт., 2018]. Постоянный рост числа заболевших во всех странах мира свидетельствует о наличии новых патогенетических аспектов в развитии ЯК, которые не учитываются в известных методах диагностики на ранних этапах развития заболевания [Халиф И.Л. и соавт., 2018].

Ежегодно регистрируется увеличение количества пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД 2 типа), что составляет 3159 случаев на 100000 населения [Дедов И.И. и соавт., 2023]. Наличие данной патологии у лиц с ЯК увеличивает риск развития тяжелых форм заболевания, возникновения повторных эпизодов обострения. Это приводит к снижению эффективности назначаемых линий терапии, требует применения селективных биологических средств, что влечет за собой высокие экономические затраты при лечении данных пациентов [Демидова Т.Ю. и соавт., 2021].

Изменение в составе микробиоты кишечника может являться одним из ведущих факторов в развитии ЯК и СД 2 типа. Известны особенности влияния кишечной микробиоты и ее метаболитов на выраженность воспалительного процесса у лиц с ЯК и обменными нарушениями [Гаус О.В. и соавт., 2018]. Представители бактерий могут участвовать в процессе глюконеогенеза с формированием инсулинорезистентности и приводить к развитию СД 2 типа.

Участие микроорганизмов в поддержании хронического воспаления в слизистой оболочке кишечника позволяет рассматривать СД 2 типа в качестве одного из прогрессирующих факторов в развитии симптомов ЯК [Tine Jess, Britt W. Jensen, Mikael Andersson, 2020].

Оценка уровня индекса биоразнообразия, численности родового состава микробиоты кишечника в результате 16S рРНК генетического секвенирования биоматериала (кала), может способствовать появлению новых диагностических алгоритмов ЯК на фоне СД 2 типа и оптимизации лечебных мероприятий.

Степень научной разработанности проблемы

Оценка роли кишечной микробиоты в диагностике и прогнозировании течения ЯК на фоне СД 2 типа является одним из перспективных направлений

в настоящее время. Выявлены причины, объясняющие наличие патологических изменений в слизистой оболочке кишечника при ЯК, одна из которых – особенности формирования кишечной микробиоты с развитием дисбиоза и преобладанием кластеров микроорганизмов, а также формирование биотипа.

Исследований, которые направлены на комплексное изучение особенностей клинической картины, выраженности воспаления в зависимости от наличия СД 2 типа, роли кишечной микробиоты как одного из ведущих факторов в развитии патологического процесса, в доступных литературных источниках не представлено.

Отсутствие доступной информации, противоречивость данных о тактике ведения пациентов с данной патологией, способствовали определению темы проводимого исследования.

Цель исследования:

Оценить диагностическую значимость биомаркеров кишечной микробиоты у пациентов с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа на амбулаторном этапе.

Задачи исследования:

1. Оценить клинико – функциональную характеристику, изменения родового состава в результате генетического секвенирования у пациентов с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа.

2. Определить роль кишечной микробиоты в развитии язвенного колита и сахарного диабета 2 типа.

3. Разработать модель прогнозирования тяжести вероятного обострения язвенного колита и сахарного диабета 2 типа в зависимости от динамики выраженности частоты диарейного синдрома с использованием количественного значения представителей кишечной микробиоты.

4. Оценить период достижения клинической ремиссии язвенного колита и сахарного диабета 2 типа в ходе дифференцированного подбора линий терапии, а также определить частоту развития повторных атак язвенного колита в течение 12 месяцев при динамическом наблюдении на амбулаторном этапе.

Научная новизна:

1. Впервые оценены и установлены закономерности изменения состава представителей кишечной микробиоты у пациентов с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа, что определяет новые патогенетические механизмы развития данной коморбидной патологии.

2. Выявлены изменения численности родо – видового биоразнообразия микробиоты кишечника, которые определяют роль микроорганизмов в развитии воспаления у пациентов с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа, потенциально ассоциированных со степенью тяжести язвенного колита, что способствует коррекции назначенной линии терапии.

3. Разработан способ прогнозирования тяжести вероятного обострения язвенного колита на фоне сахарного диабета 2 типа, основанный на определении динамики выраженности частоты диарейного синдрома с использованием количественного значения представителей кишечной

микробиоты, что способствует дифференцированному назначению ступеней терапии.

4. Проведена оценка достижения клинической ремиссии язвенного колита на фоне сахарного диабета 2 типа в ходе дифференцированного подбора терапии, а также проспективное наблюдение в отношении развития повторных атак язвенного колита в течение 12 месяцев на амбулаторном этапе.

Теоретическая и практическая значимость

Изучение особенностей индекса биоразнообразия, изменения родового состава микробиоты кишечника определяет новые патогенетические особенности развития воспалительного процесса и метаболических нарушений у пациентов с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа, которые могут способствовать диагностике данной патологии без использования инвазивных методов. С помощью логистической регрессии разработана модель прогнозирования тяжести вероятного обострения язвенного колита на фоне сахарного диабета 2 типа, основанная на определении динамики выраженности частоты диарейного синдрома с использованием количественного значения представителей кишечной микробиоты. Это способствует дифференцированному назначению ступеней терапии, уменьшает сроки достижения клинической ремиссии, снижает частоту развития повторных атак, осложненных форм язвенного колита в течение 12 месяцев.

Методология и методы исследования

Изучение роли биомаркеров кишечной микробиоты, ее основных метаболитов в развитии воспалительного процесса у пациентов с ЯК и СД 2 типа по данным отечественных и зарубежных источников литературы являлось методологической основой данного исследования.

Для решения поставленных задач разработан дизайн исследования, которое состояло из двух этапов. Первый этап – когортное ретроспективное исследование (анализ данных амбулаторных медицинских карт пациентов, состоящих на диспансерном учете в БУЗ ВО «Воронежская городская поликлиника №1», в период с 2020 по 2023 год, с целью определения клинико – антропометрических показателей, степени тяжести перенесенных атак ЯК, выраженности диарейного синдрома, результатов лабораторно – инструментальных методов исследования), второй этап – проспективное исследование (забор биоматериала (кал), проведение 16S рРНК генетического секвенирования микробиома кишечника после получения от пациентов письменного информированного добровольного согласия, разработка способа прогнозирования вероятности возникновения тяжелых форм ЯК на фоне СД 2 типа, основанного на определении динамики выраженности частоты диарейного синдрома с использованием количественного значения представителей кишечной микробиоты с изучением возникновения следующих атак в течение 12 месяцев, оценка продолжительности безрецидивного периода). Качество жизни оценивали с помощью опросника European Quality of Life Questionnaire (EQ – 5 d). Статистическая и математическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием программного обеспечения SPSS Statistica 12.6, Microsoft Excel 2017.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Изменение родо – видового биоразнообразия состава микробиоты кишечника у пациентов с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа определяет новые патогенетические механизмы развития данной патологии.

2. У пациентов с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа наблюдается статистически значимое повышение численности *Methanobrevibacter spp.*, *Roseburia spp.*, *Faecalibacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Anaerostipes spp.* наряду с уровнем СОЭ, лейкоцитов, СРБ, ассоциированное с активацией воспалительного процесса, а также увеличение уровня *Blautia spp.*, *Akkermansia spp.*, *Dorea spp.*, *Prevotella spp.*, *Alistipes spp.*, *Collinsella spp.*, *Agathobacter spp.* наряду с глюкозой и HbA1C, общим холестерином, влияющих на прогрессирующее течение сахарного диабета 2 типа.

3. Разработанная на основе метода бинарной логистической регрессии модель, основанная на определении динамики выраженности частоты диарейного синдрома с использованием количественного значения представителей кишечной микробиоты, позволяет прогнозировать тяжесть вероятного обострения язвенного колита на фоне сахарного диабета 2 типа на амбулаторном этапе, что способствует дифференцированному подбору ступеней терапии.

4. Установлено, что дифференцированный подбор линий терапии, основанный на анализе родового биоразнообразия кишечной микробиоты, способствует наступлению клинической ремиссии в течение 3 – х месяцев, а также снижению развития повторных атак язвенного колита в течение последующих 12 месяцев в результате изучения данных проведенного диспансерного наблюдения на амбулаторном этапе.

Личный вклад автора

Вклад автора проводимого исследования состоял в определении цели и задач, изучении источников литературы по выбранной теме, наборе групп пациентов, анализе данных амбулаторных карт, результатов лабораторных и инструментальных методов исследования, сборе биоматериала для проведения 16S рРНК генетического секвенирования. Им лично осуществлялось заполнение документации, изучение сведений проводимых осмотров пациентов в рамках диспансерного наблюдения, интерпретация полученных результатов, статистическая обработка данных, а также формулирование выводов и практических рекомендаций.

Степень достоверности результатов

Положения, выводы и практические рекомендации соответствуют всем поставленным задачам проведенного исследования. Степень достоверности определяется дизайном исследования и подтверждается достаточным первичным материалом, последовательностью проведенной статистической обработки данных.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используются в лечебно – диагностическом процессе БУЗ ВО «Воронежская городская клиническая поликлиника № 1», в

учебном процессе на кафедре поликлинической терапии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Минздрава России, что подтверждено актами внедрения.

Апробация работы

Основные положения, материалы, результаты исследования были представлены на расширенных кафедральных совещаниях кафедры поликлинической терапии ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Всероссийской научно – практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Young people and science: results and perspectives» (Саратов, 2022 г.), XXVI Международной медико – биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» (Санкт – Петербург, 2023 г.), I Международной научно – практической конференции «Современная медицина: взгляд молодого врача» (Курск, 2023 г.), VII конференции «Клинические и теоретические аспекты современной медицины 2022» (Москва, 2022 г.), IX Международном молодёжном научном медицинском форуме «Белые цветы» (Казань, 2022 г.), Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы внутренних болезней» (Ставрополь, 2022 г.), IX Международном молодежном медицинском конгрессе «Санкт – Петербургские научные чтения» (Санкт – Петербург, 2022 г.), I Межрегиональной междисциплинарной научно – практической конференции «Volgamedcase» (г. Нижний Новгород, 2022 г.), V Межвузовской научно – практической конференции студентов, ординаторов и молодых ученых «Внутренние болезни на догоспитальном этапе: лимфаденопатия в практике врача поликлиники. Трудный пациент» (г. Москва, 2023), XIX Региональной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Инновационные технологии диагностики и профилактики заболеваний, стандарты лечения, медицинское оборудование и материалы на службе здоровья нации» (г. Воронеж, 2022 г.), Научно – практической конференции «Мультидисциплинарный альянс для успешного решения современных проблем терапии» (г. Воронеж, 2022 г.), 18 Национальном конгрессе терапевтов (г. Москва, 2023 г.), X Республиканской научно – практической конференции с международным участием «Современные достижения молодых ученых в медицине – 2023» (г. Гродно, республика Беларусь, 2023 г.), VIII Всероссийской научной конференции «Клинические и теоретические аспекты современной медицины» (г. Москва, 2023 г.), Международном медицинском форуме «Вузовская наука. Инновации» (8 – 9 февраля 2023 года, г. Москва).

Публикации

По заявленной теме диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе: 5 – в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ для публикации основных научных результатов; 1 свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2024620003, 1 патент на изобретение № 2821023 С1 от 17.06.2024 г.

Объем и структура диссертационной работы

Объем диссертационной работы составляет 139 страниц машинописного текста, в том числе 57 рисунков и 14 таблиц. Работа содержит введение, обзор литературы, главы – материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы. Библиографический список содержит 156 источников, в том числе 76 отечественных и 80 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Общая характеристика больных

В исследовании приняли участие 162 человека. Основную группу (пациенты с ЯК и СД 2 типа) составили 80 пациентов, среди которых было 45 женщин и 35 мужчин, средний возраст – $50,3 \pm 10,7$ лет. Лабораторией ООО «Сербалаб» из банка образцов микробиоты предоставлены клиничко – антропометрические показатели, сведения о родо – видовой принадлежности бактерий для группы сравнения (пациенты с ЯК (40 человек)), группы контроля (соматически здоровых лиц (42 человека)), средний возраст которых составил $48,5 \pm 7,5$ и $49,8 \pm 6,9$ лет соответственно. Пациенты сопоставимы по возрастно – половым характеристикам с основной исследуемой группой. Статистически значимых различий признаков между исследуемыми группами получено не было ($p > 0,05$). У лиц с ЯК без СД 2 типа отмечалась преимущественно легкая, средняя степени тяжести развития симптомов.

| Критерии включения | Критерии исключения |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> Ранее установленный диагноз ЯК и СД 2 типа, верифицированный по результатам лабораторно – инструментальных методов исследований по данным медицинских амбулаторных карт; | <ul style="list-style-type: none"> ЯК и СД 2 типа в стадии декомпенсации; Острые респираторные и кишечные инфекции; |
| <ul style="list-style-type: none"> Возраст менее 65 лет; | <ul style="list-style-type: none"> Возраст более 65 лет; |
| <ul style="list-style-type: none"> Наличие информированного добровольного согласия. | <ul style="list-style-type: none"> Хронические заболевания в стадии обострения. |

Забор биоматериала (кал) производился в период ремиссии симптомов ЯК.

На основании результатов индекса Мейо, индекса эндоскопической активности Schroeder, данных лабораторно – инструментальных методов оценена степень тяжести ЯК в момент последней атаки [Абдулганиева Д.И. и соавт., 2021]. Результаты исследований пациентов были взяты из амбулаторных карт.

При анализе литературных данных выявлены наиболее часто встречающиеся бактерии, участвующие в развитии ЯК, СД 2 типа. Роль в патогенезе может отражать изменение значений *Bacteroides spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, бутират – производителей (*Roseburia spp.*, *Faecalibacterium spp.*), патогенных и условно – патогенных бактерий (*Escherichia spp.*, *Klebsiella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Clostridium spp.*, *Streptococcus spp.*), микроорганизмов, участвующих в

углеводном обмене (*Blautia spp.*, *Dorea spp.*, *Akkermansia spp.*, *Holdemanella spp.*, *Catenibacterium spp.*), сульфатредуцентов и метанпродуцентов (*Bilophila spp.*, *Desulfovibrio spp.*, *Methanobrevibacter spp.*), [Купаева В.А. и соавт., 2020; Сеницын В.С. и соавт., 2021; Севастьянова М.Н. и соавт., 2021].

Пациенты с подтвержденным диагнозом ЯК и СД 2 типа в соответствии клиническим рекомендациям [Дедов И.И. и соавт., 2020; Абдулганиева Д.И. и соавт., 2021] были разделены на 3 группы в зависимости от степени тяжести последней атаки ЯК: 1 группа – пациенты с ЯК легкой степени тяжести, 2 группа – пациенты с ЯК средней степени тяжести, 3 группа – пациенты с ЯК тяжелой степени тяжести (рисунок 1).

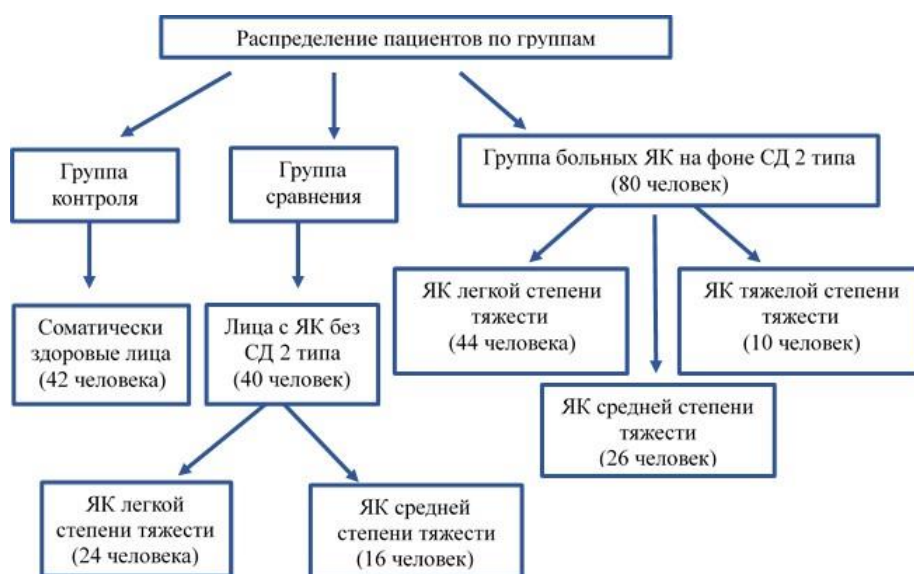


Рисунок 1 – Распределение исследуемых пациентов по группам

Методы обследования пациентов

Использованы рутинные методы обследования пациентов, оценка результатов лабораторных и инструментальных исследований в момент последней атаки ЯК, в период клинической ремиссии по данным амбулаторных карт. В рамках диспансерного наблюдения произведена оценка эффективности лекарственных назначений, изучены повторные результаты лабораторных методов исследования. Для определения родо – видового биоразнообразия кишечной микробиоты использовался метод 16S rПНК секвенирования. Техническое оснащение: аппарат Ion Personal Genome Machine (PGM) System (Калифорния, США) на базе ООО «Сербалаб» (г. Санкт – Петербург: лицензия на осуществление медицинской деятельности, в том числе проведение генетических исследований № ЛО-78-01-007244 от 17 октября 2016 года).

Математическая и статистическая обработка данных

Обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения SPSS Statistica 12.6, Microsoft Excel 2017.

Для проведения статистического анализа данные по исследуемой группе сформированы в единую базу данных, которая содержала показатели в виде абсолютных значений, соответствовала критериям достоверности.

Для расчета индекса биоразнообразия Шеннона на вход пакета «vegan» языка программирования R была подана матрица, содержащая общее

количество вариантов последовательности ампликонов (ASV) на родовом уровне для каждого образца. Для проведения сравнения индексов биоразнообразия использовался U – тест Манна – Уитни (для парных сравнений). Для выявления таксонов для каждой группы проведен частичный дискриминантный анализ по методу наименьших квадратов (sPLS – DA) с помощью программы «multiomix» (пакет программ mixOmics) на языке программирования R с целью выявления параметров, максимально увеличивающих различия между сравниваемыми группами [Love, C. J., Gubert, C., 2022]. Визуализацию данных осуществляли с помощью пакета ggplot2 в среде R [Wickham H., 2010]. Сравнение между представителями родового состава кишечной микробиоты проводили с помощью теста Вилкоксона с поправкой Хольма – Бонферони.

Количественные данные исследуемых биомаркеров кишечной микробиоты, результатов лабораторных показателей представлены в качестве медианы (Me), межквартильного размаха (значения нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3)). При сравнении данных в трех исследуемых группах был использован критерий Краскела – Уоллиса с поправкой Бонферони.

Данные методы статистики с использованием математических критериев проводят проверку о наличии/отсутствии различий между исследуемыми показателями. Величина p определяет статистическую значимость различий, диапазон значений которой от 0 до 1 (0 – абсолютные различия признака, 1 – отсутствие различий). При определении зависимости между изучаемыми признаками проведен корреляционный анализ с расчётом коэффициента корреляции Спирмена. Интерпретация силы корреляционной связи проводилась с использованием шкалы Чеддока (сильная связь – коэффициент корреляции $(r) \geq 0,7$, средняя – от 0,5 до 0,7, слабая – от 0,5 до 0,3, очень слабая – от 0,3 до 0). Межгрупповые различия всех исследуемых показателей были достоверно значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

1. Клиническая характеристика пациентов с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа в зависимости от степени тяжести

При анализе симптомов, влияющих на степень тяжести развития последней атаки ЯК, выявлено наличие диарейного синдрома у 100% (n = 80) пациентов, анемического синдрома в 48,8% (n = 39) случаев. Выраженность диарейного синдрома в момент последней атаки у 63,8% (n = 51) составила 3 – 5 раз/сутки, у 27,5% (n = 22) – 6 – 9 раз/сутки, у 8,7% (n = 7) – 10 и более раз/сутки. Наличие внекишечных проявлений отмечали 65% пациентов (n = 52).

При оценке эндоскопической активности с использованием индекса Schroeder выявлено, что у 67,5% (n = 54) отмечалась минимальная активность, у 25% (n = 20) – умеренная активность, у 7,5% (n = 6) – выраженная активность. Установлено, что у 55% (n = 44) отмечались признаки проктита, у 35% (n = 28) – левостороннего колита, у 10% (n = 8) – тотального колита.

При анализе данных предыдущих протоколов лечения выявлено, что у 55% пациентов (n = 44) преобладала 1 – я линия назначений (месалазин в дозе 2 – 4 г/сутки в клизмах при левостороннем/тотальном колите, 1 г/сутки – при

проктите, при неэффективности – добавление ректальной пены будесонида (2 мг/сутки)), у 35% (n = 28) – 2 – я линия назначений (месалазин в дозе 4 г/сутки в комбинации с месалазином в клизмах (2 – 4 г/сутки), ректальные формы глюкокортикостероидов (9 мг/сутки), азатиоприн (2 мг/кг/сутки)), у 10% (n = 8) – 3 – я линия назначений (месалазин в дозе 4 – 5 г/сутки в комбинации с месалазином в клизмах (2 – 4 г/сутки), ректальные формы глюкокортикостероидов (1 мг/кг/сутки), азатиоприн (2 мг/кг/сутки), инфликсимаб (5 мг/кг/сутки)/ведолизумаб (300 мг внутривенно однократно)). При анализе данных предыдущих атак ЯК выявлено, что у 32,5% (n = 26) пациентов достигалась клиническая ремиссия в течение 3 – х месяцев, у 67,5% (n = 54) в течение этого периода отмечалось развитие диарейного и/или анемического синдромов.

При оценке качества жизни пациентов с использованием опросника EQ – 5d выявлено, что помощь в самообслуживании требовалась в 2,5% случаев (n = 2), снижение повседневной физической активности в 17,5% (n = 14), болевой синдром в 45% (n = 36), тревожно – депрессивные состояния в 80% (n = 64).

2. Результаты оценки индекса Шеннона и бета (β) – разнообразия

По результатам проведенного сравнения бета (β) – разнообразия выявлена статистическая значимость в различии бета (β) – разнообразия между группой соматически здоровых пациентов и лиц с ЯК и СД 2 типа (проведено тестирование с пермутационным многомерным дисперсионным анализом) с использованием расстояния Брея – Кертиса, F – статистика = 1,9336, p – value = 0,033), а также между пациентами с ЯК и ЯК на фоне СД 2 типа (F – статистика = 4,6404, p – value = 0,001), (рисунок 2).

По результатам проведенного сравнения индекса биоразнообразия не выявлено статистической значимости у пациентов с ЯК и СД 2 типа в зависимости от степени тяжести (F – статистика = 0,3716, p – value = 0,982).

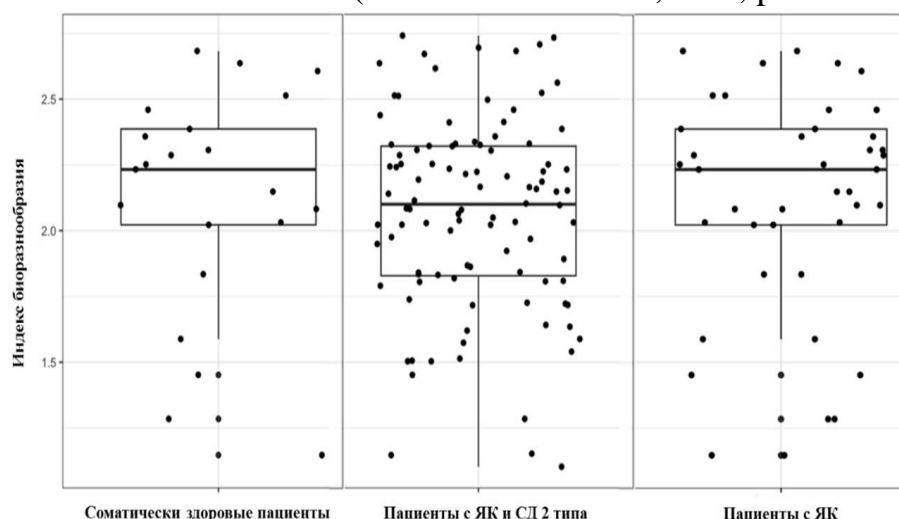


Рисунок 2 – Результаты оценки индекса биоразнообразия у исследуемых групп

По оси X отражены исследуемые группы лиц, по оси Y – уровень значения индекса биоразнообразия.

Границы прямоугольников – 25, 75 перцентили (Q1 и Q3), горизонтальная ось внутри которых отражает значение медианы (Me = 2,25 бит/экз.; Me = 2,1

бит/экз.; $Me = 2,23$ бит/экз. соответственно). От них в стороны отходят графические обозначения – минимальные и максимальные значения.

При иерархической кластеризации в исследованных образцах наиболее часто встречались типы, к компонентам которых относилось более 50% детектированных прочтений (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты оценки преобладающих типов бактерий у пациентов, включенных в исследование

| Тип бактерий | Соматически здоровые пациенты (n = 42), Me [Q1; Q3], % | Пациенты с ЯК (n = 40), Me [Q1; Q3], % | Пациенты с ЯК и СД 2 типа (n = 80), Me [Q1; Q3], % |
|---------------------------|--|--|--|
| <i>Firmicutes</i> | 43 [38,5;49,5] | 64,7 [59,3;71,2] | 72,5 [67,5;78,3] |
| <i>Bacteroidota</i> | 21 [16,5;27,5] | 19 [15,5;22,5] | 10,7 [6,5;15,2] |
| <i>Actinobacteroidota</i> | 9,5 [4,8;12,3] | 14,7 [11,2;18,1] | 9,8 [6,4;12,1] |
| <i>Fusobacteriota</i> | 11,6 [8,4;15,4] | 4,3 [2,4;7,8] | 1,4 [0,5;2,7] |
| <i>Proteobacteria</i> | 8,1 [6,2;12,1] | 10,9 [8,2;12,6] | 7,8 [7,2;8,1] |
| <i>Verrucomicrobiota</i> | 2 [1,2;2,5] | 3,8 [3,2;4,8] | 5,4 [4,5;6,2] |

Примечание: количественные данные указаны в виде медианы и межквартильного размаха. При сравнении исследуемых показателей в данных группах медианы признака статистически значимо различались ($p < 0,001$).

При оценке таксонов на уровне родов выявлено повышение представителей микробиоты кишечника, участвующих в углеводном обмене для пациентов с ЯК и СД 2 типа относительно соматически здоровых лиц и лиц с ЯК. Определено значимое повышение представителей микробиоты кишечника, участвующих в воспалительном процессе у лиц с ЯК по сравнению с соматически здоровыми пациентами (рисунок 3).

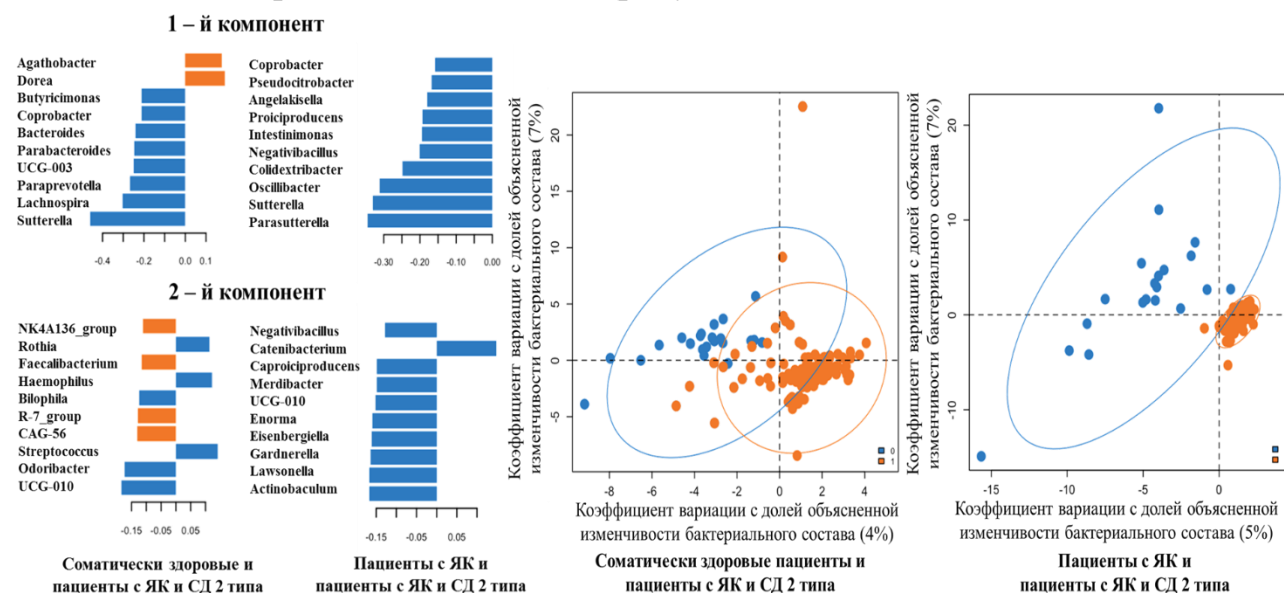


Рисунок 3 – Результаты оценки преобладающих таксонов кишечной микробиоты на уровне родов в исследуемых группах

По оси X коэффициент вариации с долей объясненной изменчивости бактериального состава (4, 5% соответственно), по оси Y – коэффициент вариации с долей объясненной изменчивости бактериального состава (7%).

Цвет в столбцах слева определяет принадлежность к группе бактерий («0» - соматически здоровые лица; «1» - пациенты с ЯК и СД 2 типа; «0» - пациенты с ЯК; «1» - пациенты с ЯК и СД 2 типа); положительные значения определяют увеличение численности рода бактерий; отрицательные значения – снижение уровня рода бактерий.

При оценке преобладающих таксонов выявлено увеличение численности бактерий при ЯК и СД 2 типа, участвующих в углеводном обмене (*Dorea spp.*, *Agathobacter spp.*), что отражает участие микробиоты кишечника в патогенезе воспаления и вероятного развития СД 2 типа ($p < 0,05$). При оценке таксонов, преобладание которых наиболее характерно для пациентов с ЯК и СД 2 типа в зависимости от степени тяжести на уровне родов, выявлено повышение представителей микробиоты кишечника, участвующих в воспалительном процессе, а также бактерий, влияющих на углеводный обмен. Данное повышение ассоциировано со степенью тяжести ЯК в исследуемых группах (рисунок 4).

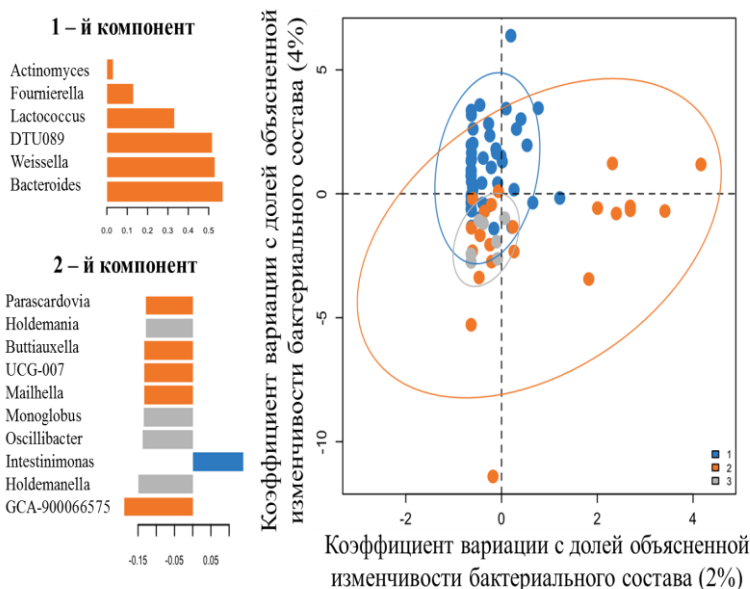


Рисунок 4 – Результаты оценки преобладающих таксонов кишечной микробиоты на уровне родов у пациентов с ЯК и СД 2 типа в зависимости от степени

исследуемых бактерий у пациентов данной группы.

3. Исследование биомаркеров кишечной микробиоты у пациентов с ЯК и СД 2 типа

При оценке биомаркеров кишечной микробиоты, потенциально влияющих на тяжесть течения ЯК, статистически значимые различия между исследуемыми группами получены при определении уровня *Escherichia spp.* ($p = 0,02$): установлена медиана параметра $Me = 0,58\%$ [IQR 0,09; 1,69], что превышает референсные значения (0,02 – 0,47%) у пациентов с ЯК и СД 2 типа, *Enterobacter spp.* ($p = 0,01$), *Coprobacter spp.* ($p = 0,05$), *Streptococcus spp.* ($p = 0,05$): у пациентов с ЯК установлена медиана параметра $Me = 0,6\%$ [IQR 0,17; 1,2], у пациентов с ЯК и СД 2 типа $Me = 0,9\%$ [IQR 0,2; 2,6] при референсном значении

По оси X – коэффициент вариации с долей объясненной изменчивости бактериального состава (2%), по оси Y – коэффициент вариации с долей объясненной изменчивости бактериального состава (4%). Цвет в столбцах слева – отношение к группе бактерий: «1» - пациенты с ЯК легкой степени тяжести и СД 2 типа; «2» - пациенты с ЯК средней степени тяжести и СД 2 типа; «3» - пациенты с ЯК тяжелой степени тяжести и СД 2 типа). Значения выше оси определяют увеличение рода; ниже – снижение рода

(0,08 – 0,55%), *Bacteroides spp.* ($p = 0,0043$): у пациентов с ЯК и СД 2 типа установлена медиана параметра $Me = 5,45 \%$ [IQR 1,42; 14,43], что ниже нормальных значений (8,18 – 24,29%), *Bifidobacterium spp.* ($p = 0,0012$): у пациентов с ЯК и СД 2 типа установлена медиана параметра $Me = 4,61 \%$ [IQR 2,25; 10,16], что превышает верхнюю границу референсных значений (0,12 – 2,58%).

При оценке биомаркеров кишечной микробиоты, потенциально влияющих на углеводный и липидный обмены, статистически значимые различия получены при определении уровня *Akkermansia spp.* ($p = 3.8e-06$), *Collinsella spp.* ($p = 0,008$): у пациентов с ЯК и СД 2 типа медиана параметра $Me = 3,2 \%$ [IQR 1,2; 5,41], при референсном значении (0,05 – 0,5%), *Blautia spp.* ($p = 3.2e-05$), *Dorea spp.* ($p = 1.6e-05$): у пациентов с ЯК и СД 2 типа установлена медиана параметра $Me = 1,75 \%$ [IQR 0,92; 3,57], что значительно превышает пределы референсных значений (0,1 – 0,4%), *Agathobacter spp.* ($p = 8.8e-05$): у пациентов с ЯК и СД 2 типа установлена медиана параметра $Me = 3,6 \%$ [IQR 2,38; 7,6], что превышает верхнюю границу референсных значений (0,25 – 2,14%), *Lachnospira spp.* ($p = 0,0018$).

При оценке биомаркеров кишечной микробиоты, потенциально влияющих на развитие воспаления, статистически значимые различия между исследуемыми группами получены при определении уровня *Bilophila spp.* ($p = 0,00035$), *Methanobrevibacter spp.* ($p = 0,028$), у пациентов с ЯК и СД 2 типа установлена медиана параметра $Me = 0,02 \%$ [IQR 0; 2,22], что превышает верхнюю границу референсных значений (0,0001 – 0,005%).

4. Результаты проведенного корреляционного анализа основных характеристик пациентов с ЯК и СД 2 типа, включенных в исследование

В результате проведенного корреляционного анализа изучаемых биомаркеров кишечной микробиоты у пациентов с ЯК и СД 2 типа получены результаты (таблицы 2,3,4).

Таблица 2 – Результаты корреляционного анализа значений биомаркеров кишечной микробиоты и лабораторных показателей у пациентов с ЯК легкой степени тяжести и СД 2 типа

| Род бактерий | | СОЭ, мм/ч | Лейкоциты, 10^9 г/л | СРБ, мг/л |
|-------------------------------|-------------------|------------------|-----------------------|---------------------------|
| <i>Methanobrevibacter</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,005 | 0,744* | 0,112 |
| | p-value | 0,968 | 0,029* | 0,321 |
| <i>Akkermansia</i> , % | Коэфф. корреляции | -0,219 | -0,109 | 0,739* |
| | p-value | 0,153 | 0,482 | 0,024* |
| Род бактерий | | Глюкоза, ммоль/л | НbA1C, % | Общий холестерин, ммоль/л |
| <i>Dorea</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,788* | 0,029 | -0,026 |
| | p-value | 0,051* | 0,849 | 0,866 |

Примечание: * - наличие сильной корреляционной связи между исследуемыми признаками;

** - наличие умеренной корреляционной связи между исследуемыми признаками ($p < 0,05$).

При проведении корреляционного анализа у пациентов с ЯК легкой степени тяжести и СД 2 типа установлены значимые прямые высокие корреляционные связи между численностью *Methanobrevibacter spp.* и уровнем лейкоцитов ($r = 0,744$; $p = 0,029$), *Akkermansia spp.* и значением СРБ ($r = 0,739$; $p = 0,024$), *Dorea spp.* и уровнем глюкозы ($r = 0,788$; $p = 0,051$).

Таблица 3 – Результаты корреляционного анализа значений биомаркеров кишечной микробиоты и лабораторных показателей у пациентов с ЯК средней степени тяжести и СД 2 типа

| Род бактерий | | СОЭ, мм/ч | Лейкоциты, 10^9 г/л | СРБ, мг/л |
|---------------------------------|-------------------|------------------|-----------------------|---------------------------|
| <i>Methanobrevibacter</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,007 | 0,746* | 0,138 |
| | p-value | 0,894 | 0,023* | 0,426 |
| <i>Roseburia</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,739* | 0,234 | 0,789* |
| | p-value | 0,025* | 0,249 | 0,011* |
| <i>Akkermansia</i> , % | Коэфф. Корреляции | 0,111 | 0,036 | 0,364** |
| | p-value | 0,589 | 0,861 | 0,067** |
| <i>Phascolactobacterium</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,012 | 0,069 | 0,349** |
| | p-value | 0,954 | 0,736 | 0,079** |
| Род бактерий | | Глюкоза, ммоль/л | НbA1C, % | Общий холестерин, ммоль/л |
| <i>Dorea</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,095 | -0,063 | 0,744* |
| | p-value | 0,645 | 0,76 | 0,024* |
| <i>Alistipes</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,222 | 0,342** | 0,228 |
| | p-value | 0,275 | 0,087** | 0,263 |
| <i>Lachnospira</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,376** | 0,221 | 0,231 |
| | p-value | 0,059** | 0,279 | 0,257 |
| <i>Agathobacter</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,790* | -0,308 | 0,138 |
| | p-value | 0,011* | 0,125 | 0,501 |

Примечание: * - наличие сильной корреляционной связи между исследуемыми признаками ($p < 0,05$); ** - наличие умеренной корреляционной связи между исследуемыми признаками.

У пациентов с ЯК средней степени тяжести и СД 2 типа установлены значимые прямые высокие корреляционные связи между численностью *Methanobrevibacter spp.* и уровнем лейкоцитов ($r = 0,746$; $p = 0,023$), *Roseburia spp.* и значением СОЭ ($r = 0,739$; $p = 0,025$), *Roseburia spp.* и значением СРБ ($r = 0,789$; $p = 0,011$), *Dorea spp.* и значением общего холестерина ($r = 0,744$; $p = 0,024$), *Agathobacter spp.* и уровнем глюкозы ($r = 0,790$; $p = 0,011$). Определены

прямые умеренные корреляционные связи между уровнем *Akkermansia spp.* и значением СРБ ($r = 0,364$; $p = 0,067$), *Phascolactobacterium spp.* и уровнем СРБ ($r = 0,349$; $p = 0,079$), *Alistipes spp.* и уровнем HbA1C ($r = 0,342$; $p = 0,087$), *Lachnospira spp.* и уровнем глюкозы ($r = 0,376$; $p = 0,059$).

Таблица 4 – Результаты корреляционного анализа значений биомаркеров кишечной микробиоты и лабораторных показателей у пациентов с ЯК тяжелой степени тяжести и СД 2 типа

| Род бактерий | | СОЭ, мм/ч | Лейкоциты, 10^9 г/л | СРБ, мг/л |
|-------------------------------|-------------------|------------------|-----------------------|----------------|
| <i>Methanobrevibacter</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,012 | 0,714* | 0,067 |
| | p-value | 0,764 | 0,038* | 0,143 |
| <i>Roseburia</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,512** | 0,049 | 0,607** |
| | p-value | 0,131** | 0,893 | 0,062** |
| <i>Faecalibacterium</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,092 | 0,334** | -0,097 |
| | p-value | 0,802 | 0,345** | 0,789 |
| <i>Bifidobacterium</i> , % | Коэфф. корреляции | -0,207 | 0,359** | -0,103 |
| | p-value | 0,566 | 0,309** | 0,766 |
| <i>Agathobacter</i> , % | Коэфф. корреляции | -0,359 | 0,756* | 0,377** |
| | p-value | 0,307 | 0,039* | 0,283** |
| <i>Akkermansia</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,701* | 0,744* | 0,085 |
| | p-value | 0,023* | 0,044* | 0,815 |
| <i>Anaerostipes</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,359** | 0,358** | -0,016 |
| | p-value | 0,309** | 0,311** | 0,966 |
| Род бактерий | | Глюкоза, ммоль/л | HbA1C, % | ОХС, ммоль/л |
| <i>Blautia</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,189 | -0,156 | 0,384** |
| | p-value | 0,601 | 0,666 | 0,273** |
| <i>Dorea</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,366** | -0,131 | 0,301 |
| | p-value | 0,299** | 0,718 | 0,382 |
| <i>Akkermansia</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,908* | 0,062 | 0,567** |
| | p-value | 0,002* | 0,864 | 0,087** |
| <i>Prevotella</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,401** | 0,310 | 0,253 |
| | p-value | 0,251** | 0,383 | 0,481 |

Продолжение таблицы 4

| Род бактерий | | Глюкоза, ммоль/л | НbA1C, % | ОХС, ммоль/л |
|-------------------------|----------------------|---------------------|----------------|----------------|
| <i>Alistipes</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,402** | 0,194 | 0,030 |
| | p-value | 0,249** | 0,591 | 0,933 |
| <i>Collinsella</i> , % | Коэфф. Корреляции | 0,402** | -0,294 | -0,244 |
| | p-value | 0,249** | 0,41 | 0,497 |
| <i>Lachnospira</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,845* | -0,092 | -0,213 |
| | p-value | 0,002* | 0,801 | 0,554 |
| <i>Agathobacter</i> , % | Коэфф. корреляции | 0,402** | 0,6** | 0,387** |
| | p-value | 0,249** | 0,067** | 0,555** |

Примечание: * - наличие сильной корреляционной связи между исследуемыми признаками ($p < 0,05$); ** - наличие умеренной корреляционной связи между исследуемыми признаками.

У пациентов с ЯК тяжелой степени тяжести и СД 2 типа установлены значимые прямые высокие корреляционные связи между численностью *Methanobrevibacter spp.* и уровнем лейкоцитов ($r = 0,714$; $p = 0,038$), *Agathobacter spp.* и уровнем лейкоцитов ($r = 0,756$; $p = 0,039$), *Akkermansia spp.* и уровнем СОЭ ($r = 0,701$; $p = 0,002$), *Akkermansia spp.* и значением лейкоцитов ($r = 0,744$; $p = 0,044$), *Akkermansia spp.* и уровнем глюкозы ($r = 0,908$; $p = 0,002$), *Lachnospira spp.* и уровнем глюкозы ($r = 0,845$; $p = 0,002$). Определены прямые умеренные корреляционные связи между уровнем *Roseburia spp.* и значением СОЭ ($r = 0,512$; $p = 0,131$), *Roseburia spp.* и уровнем СРБ ($r = 0,607$; $p = 0,062$), *Faecalibacterium spp.* и уровнем лейкоцитов ($r = 0,334$; $p = 0,34$), *Bifidobacterium spp.* и уровнем лейкоцитов ($r = 0,359$; $p = 0,31$), *Agathobacter spp.* и значением СРБ ($r = 0,377$; $p = 0,283$), *Anaerostipes spp.* и уровнем СОЭ ($r = 0,359$; $p = 0,31$), *Anaerostipes spp.* и уровнем лейкоцитов ($r = 0,358$; $p = 0,311$), *Blautia spp.* и значением общего холестерина ($r = 0,384$; $p = 0,273$), *Dorea spp.* и уровнем глюкозы ($r = 0,366$; $p = 0,299$), *Akkermansia spp.* и значением общего холестерина ($r = 0,567$; $p = 0,08$), *Prevotella spp.* и уровнем глюкозы ($r = 0,401$; $p = 0,251$), *Alistipes spp.* и уровнем глюкозы ($r = 0,402$; $p = 0,249$), *Collinsella spp.* и уровнем глюкозы ($r = 0,402$; $p = 0,249$), *Agathobacter spp.* и уровнем глюкозы ($r = 0,402$; $p = 0,249$), *Agathobacter spp.* и уровнем НbA1C ($r = 0,6$; $p = 0,067$), *Agathobacter spp.* и уровнем общего холестерина ($r = 0,387$; $p = 0,55$).

Определено изменение численности микроорганизмов в зависимости от степени активности ЯК, что может быть ассоциировано со взаимодействием представителей микробиоты кишечника и ее метаболитов. Установлены высокие корреляционные связи между численностью *Roseburia spp.*, *Faecalibacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Anaerostipes spp.* и уровнем лейкоцитов, СОЭ, что подтверждает участие микробиоты в воспалении, а также количеством бактерий рода *Blautia spp.*, *Akkermansia spp.*, *Dorea spp.*, *Prevotella spp.*, *Alistipes spp.*, *Collinsella spp.*, *Agathobacter spp.* и уровнем показателей

глюкозы, HbA1C, общего холестерина, что демонстрирует роль в развитии углеводных нарушений и может способствовать прогрессированию симптомов ЯК у некоторых пациентов, отсутствию достижения целевых показателей гликемического профиля, несмотря на регулярный прием сахароснижающих средств.

5. Разработка способа дифференцированного подбора медикаментозной терапии пациентам с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа на основании уровня маркеров кишечной микробиоты

При анализе анамнестических сведений и данных предыдущих протоколов лечения выявлено, что у 55% пациентов (n = 44) преобладала 1 – я линия назначений, у 35% (n = 28) – 2 – я линия назначений, у 10% (n = 8) – 3 – я линия назначений.

Выявлено, что у 32,5% (n = 26) пациентов достигалась полная клиническая ремиссия симптомов в течение 3 – х месяцев, у остальных пациентов (67,5%, n = 54) в течение этого периода отмечалось развитие диарейного и/или анемического синдромов, что диктует необходимость формирования модели прогнозирования тяжести вероятного обострения ЯК.

В качестве критерия оценки степени тяжести состояния выбран диарейный синдром – частота стула в сутки, так как он является наиболее распространенной жалобой пациентов с ЯК. Это связано с повреждением колоноцитов, хроническим воспалением в слизистой оболочке кишечника.

В нашем наблюдении рассчитана динамика выраженности диарейного синдрома как разность между частотой его проявления при первичном обращении и контрольном обследовании через три месяца. При динамическом наблюдении установлено, что у 30% пациентов диарейный синдром полностью устранен, у 15% - частота диарейного синдрома осталась неизменной при последующих атаках, 55% пациентов отмечали сокращение числа актов дефекации (менее 5 раз в сутки).

С помощью многофакторного линейного регрессионного анализа, где в качестве прогнозируемой переменной выбрана динамика выраженности частоты диарейного синдрома (ДС) в сутки, а в качестве влияющих переменных количество (%) представителей родов кишечной микробиоты – *Bifidobacterium* (flora01), *Lactobacillus* (flora02), *Bacteroides* (flora03), *Faecalibacterium* (flora04), *Prevotella* (flora05), *Akkermansia* (flora06), *Alistipes* (flora07), *Blautia* (flora08), *Dorea* (flora09), *Holdemanella* (flora10), *Bilophila* (flora11), *Desulfovibrio* (flora12), *Methanobrevibacter* (flora13), *Fusobacterium* (flora14), *Klebsiella* (flora15), *Escherichia/Shigella* (flora16), *Clostridium spp.* (flora17), *Enterobacter* (flora18), *Campylobacter* (flora19), получена модель прогнозирования (Прогноз_{дс}) у пациентов с ЯК и СД 2 типа:

$$\text{Прогноз}_{\text{дс}} = 0,913302 - 0,0899809*\text{flora01} + 0,259713*\text{flora02} - 0,0438551*\text{flora03} + 0,0123236*\text{flora04} - 0,0191249*\text{flora05} + 0,0114001*\text{flora06} - 0,0436805*\text{flora07} - 0,043372*\text{flora08} - 0,0198427*\text{flora09} + 0,0649992*\text{flora10} - 0,100946*\text{flora11} + 0,0228601*\text{flora12} + 0,0492575*\text{flora13} + 0,0475862*\text{flora14} + 0,00735081*\text{flora15} + 0,00217862*\text{flora16} - 0,0958446*\text{flora17} - 0,0956254*\text{flora18} - 0,0143892*\text{flora19},$$

где flora 01 – flora 18 – количество определяемых

представителей кишечной микробиоты в (%).

Получены следующие результаты: пациенты, у которых диарейный синдром устранен полностью, величина Прогноз_{дс} менее 0,3 условных единиц (соответствует 1-й линии назначений в лечении). У пациентов с неясно выраженной динамикой устранения диарейного синдрома, то есть при сокращении числа актов дефекации до 3 – 5 в сутки, величина Прогноз_{дс} находилась в диапазоне от 0,3 до 0,5 условных единиц (соответствует 2-й линии назначений в лечении). У пациентов с нулевой или отрицательной динамикой числа дефекаций в сутки Прогноз_{дс} составил более 0,5 условных единиц (соответствует 3-й линии назначений в лечении).

На основании данных амбулаторных карт подтверждено, что у пациентов с полным устранением диарейного синдрома улучшение самочувствия наступило на фоне лечения в соответствии со схемой первой линии терапии. Пациентам с несущественным сокращением выраженности диарейного синдрома потребовался переход от первой ко второй линии назначений. Пациенты с нулевой или отрицательной динамикой диарейного синдрома трудно поддавались лечению, что потребовало перехода к третьей линии терапии.

Сделан вывод о возможности дифференцированного подбора линии назначений. Вывод проверен на основе оценки динамики устранения диарейного синдрома в группе исследуемых лиц при последующих атаках ЯК по данным амбулаторных карт с использованием формулы прогноза. Диагностическая чувствительность разработанной модели составила 90%, диагностическая специфичность – 70,3%, диагностическая эффективность – 78%.

При анализе повторных протоколов назначений выявлено, что среди пациентов коэффициент прогноза менее 0,3 условных единиц определялся у 40% пациентов (n = 32), от 0,3 до 0,5 условных единиц – у 45% пациентов (n = 36), более 0,5 условных единиц – у 15% (n = 12). При повторном назначении линий терапии, в соответствии с коэффициентом прогноза и соответствующей схемой назначений, достижение клинической ремиссии в течение 12 месяцев выявлено в 78,1% случаев (n = 25) при Прогноз_{дс} < 0,3, в 66,7% случаев (n = 24) при 0,3 < Прогноз_{дс} < 0,5, в 50% случаев (n = 6) при Прогноз_{дс} > 0,5. В результате анализа частоты диарейного синдрома при возникновении последующих атак ЯК определено, что у 88,75% (n = 71) его выраженность составила 3 – 5 раз/сутки, у 11,25% (n = 9) – 6 – 9 раз/сутки, что достоверно ниже по сравнению с исходными данными.

При анализе лабораторных показателей в исследуемой выборке медианы СРБ, СОЭ, лейкоцитов, гемоглобина, HbA1C в отдельных группах достигали референсных значений, в остальных случаях отмечалась нормализация показателей по сравнению с исходным уровнем (таблица 5).

Среди пациентов, принимающих сахароснижающие средства группы ИДПП – 4 в моно-/комбинированной терапии, достижение целевых значений гликемического профиля отмечалось чаще в 2,5 раза, что позволяет предположить положительное влияние на «метаболический» кластер комбинированной терапии СД 2 типа (бигуаниды и ИДПП – 4) у лиц с ЯК.

При оценке частоты диарейного синдрома при возникновении

последующих атак ЯК выявлено, что у 88,75% (n = 71) его выраженность составила 3 – 5 раз/сутки, у 11,25% (n = 9) – 6 – 9 раз/сутки. В результате анализа данных амбулаторных карт пациентов, достижение клинической ремиссии и отсутствие повторных атак в течение 12 месяцев было выявлено в 77,5% случаев, что превышает исходные показатели в 2 и более раз.

Таблица 5 – Результаты лабораторных методов исследования в зависимости от назначения дифференцированной терапии

| Показатель | Результаты до определения коэффициента прогноза (в ходе динамического наблюдения в период клинической ремиссии); Me [Q1; Q3] | | | Результаты после определения коэффициента прогноза с использованием дифференцированного подхода (в ходе динамического наблюдения в период клинической ремиссии); Me [Q1; Q3] | | | Референсные значения | | |
|---------------------------------|---|-------|-------|---|----|-------|----------------------|-------|-----------------------|
| | | I | II | III | | I | | II | III |
| Гемоглобин, г/л | Me | 119,0 | 108,0 | 95,0 | Me | 122,0 | 120,0 | 109,0 | 120 – 160 |
| | Q1 | 109,5 | 97,3 | 95,5 | Q1 | 119,5 | 110,5 | 105,5 | |
| | Q3 | 126,5 | 116,8 | 97,5 | Q3 | 130,5 | 125,5 | 121,5 | |
| Лейкоциты, *10 ⁹ г/л | Me | 7,8 | 7,9 | 15,5 | Me | 6,6 | 7,4 | 12,0 | 4 – 9*10 ⁹ |
| | Q1 | 5,4 | 5,9 | 12,9 | Q1 | 5,7 | 6,1 | 10,5 | |
| | Q3 | 9,6 | 11,8 | 16,1 | Q3 | 8,5 | 8,2 | 13,5 | |
| СОЭ, мм/ч | Me | 21,0 | 30,5 | 39,5 | Me | 17,5 | 25,0 | 29,5 | 0 – 15 |
| | Q1 | 18,5 | 28,5 | 38,5 | Q1 | 15,5 | 20,3 | 28,5 | |
| | Q3 | 25,5 | 33,5 | 42,5 | Q3 | 20,5 | 28,2 | 31,5 | |
| СРБ, мг/л | Me | 7,8 | 16,0 | 29,4 | Me | 5,5 | 11,0 | 21,0 | 0 – 5 |
| | Q1 | 5,3 | 14,3 | 27,3 | Q1 | 5,5 | 9,5 | 18,5 | |
| | Q3 | 9,3 | 20,5 | 35,3 | Q3 | 7,5 | 12,8 | 25,8 | |
| HbA1C, % | Me | 6,3 | 6,1 | 6,1 | Me | 6,5 | 6,1 | 6,4 | <6,0 |
| | Q1 | 6,1 | 5,8 | 5,9 | Q1 | 6,0 | 6,0 | 6,1 | |
| | Q3 | 7,8 | 6,6 | 6,6 | Q3 | 7,5 | 6,5 | 6,5 | |

Примечание: количественные данные указаны в виде медианы и межквартильного размаха. I – легкая степень тяжести, II – средняя степень тяжести, III – тяжелая степень тяжести. При сравнении исследуемых показателей в данных группах медианы признака статистически значимо различались (p<0,05).

ВЫВОДЫ

1. Клинико – функциональные характеристики, а также изменения родового состава, бета (β) биоразнообразия в результате генетического секвенирования у пациентов с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа статистически значимо отличаются по сравнению с соматически здоровыми

пациентами и пациентами с язвенным колитом без сахарного диабета 2 типа ($p < 0,05$).

2. Представители бактерий, влияющие на степень тяжести язвенного колита (*Roseburia spp.*, *Faecalibacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Anaerostipes spp.*, *Phascolactobacterium spp.*), развитие нарушений углеводного обмена (*Blautia spp.*, *Akkermansia spp.*, *Dorea spp.*, *Prevotella spp.*, *Alistipes spp.*, *Collinsella spp.*, *Agathobacter spp.*, *Lachnospira spp.*), ассоциированные с воспалением в слизистой оболочке кишечника (*Bilophila spp.*, *Methanobrevibacter spp.*), ($p < 0,05$), демонстрируют роль кишечной микробиоты в патогенезе язвенного колита на фоне сахарного диабета 2 типа как вспомогательного инструмента диагностики без инвазивного вмешательства в период ремиссии на амбулаторном этапе.

3. Разработанная модель прогнозирования тяжести вероятного обострения язвенного колита на фоне сахарного диабета 2 типа, в основе которой лежит определение динамики выраженности частоты диарейного синдрома с использованием количественного значения представителей кишечной микробиоты, определяет дифференцированный подбор ступеней терапии, позволяющих достичь клинической ремиссии (в 68,8% случаев).

4. Проспективное наблюдение на амбулаторном этапе в отношении развития атак язвенного колита на фоне сахарного диабета 2 типа после дифференцированного подбора терапии выявило наступление полной клинической ремиссии в течение 3 – х месяцев, а также снижение развития повторных атак язвенного колита в течение последующих 12 месяцев с нормализацией лабораторных показателей (77,5% случаев).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Уточнено, что определение численности родо – видового состава микробиоты кишечника у пациентов с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа вне зависимости от времени возникновения симптомов, степени тяжести, с целью оценки риска прогнозирования тяжести вероятного обострения язвенного колита, коррекции назначенного лечения на амбулаторном этапе, является основой для проведения 16S рРНК генетического секвенирования.

2. В клинической практике целесообразно определять представителей микробиоты кишечника для своевременной верификации диагноза язвенного колита, раннего начала медикаментозной терапии, что позволяет уменьшить развитие осложненных форм, а также способствует снижению уровня затрат на лечение данных групп пациентов.

3. Для достижения сроков ремиссии язвенного колита следует использовать предложенную модель прогнозирования тяжести вероятного обострения с определением биомаркеров кишечной микробиоты. Расчет коэффициента вероятности наступления атаки язвенного колита способствует деэскалации терапии, увеличению сроков нахождения на стартовой ступени назначений без использования дорогостоящих препаратов (моноклональных антител).

4. Для своевременной коррекции лекарственной терапии необходимо

повторное изучение генетического биоразнообразия микробиоты кишечника с использованием 16S рРНК секвенирования, что может свидетельствовать о динамике изменений в ходе полученного лечения.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшая перспектива исследования – систематическое исследование биомаркеров кишечной микробиоты с последующим динамическим наблюдением пациентов на амбулаторном этапе в сочетании со сбором данных, частотой возникновения обострений, тактикой медикаментозной коррекции, что позволит наиболее точно определять алгоритм ведения пациентов с язвенным колитом и сахарным диабетом 2 типа.

Кроме того, в будущих работах необходимо проанализировать возможности использования 18S рРНК секвенирования, исследовать вирусную нагрузку (в том числе, COVID – 19) как одного из важных маркеров, влияющего на развитие аутоагрессии в слизистой оболочке кишечника, оценить влияние метаболитов микробиоты на уровне не только родового, но и видового составов. Помимо этого, необходимо изучение контроля показателей гликемического профиля и дальнейший поиск маркеров, определяющих вероятную резистентность к группам сахароснижающих средств.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лагутина, С. Н. Разработка технологии неинвазивной диагностики воспалительных заболеваний кишечника на фоне метаболических изменений с помощью выявления биомаркеров исследования кишечной микробиоты / С. Н. Лагутина // Инновационные технологии диагностики и профилактики заболеваний, стандарты лечения, медицинское оборудование и материалы на службе здоровья нации: сборник тезисов региональной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Воронеж, 20 октября 2022 года. – Воронеж : Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, 2022. – С. 7-9.

2. Лагутина, С. Н. Клинико-диагностическое значение кишечной микробиоты у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / С. Н. Лагутина, П. А. Чижков // Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины-2023 : сборник тезисов LXXXIV научно-практической конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 01-27 апреля 2023 года. – Санкт-Петербург : Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, 2023. – С. 418.

3. Лагутина, С. Н. Особенности кишечной микробиоты у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника / С. Н. Лагутина, П. А. Чижиков // Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье : материалы XXVI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей, Санкт-Петербург, 22 апреля 2023 года. Том XXVI / под редакцией А. М. Сараны. – Санкт-Петербург : Сциентиа, 2023. – С. 141-142.

4. Лагутина, С. Н. Оценка роли кишечной микробиоты у пациентов с осложненными формами воспалительных заболеваний кишечника / С. Н. Лагутина, А. А. Зуйкова, И. С. Добрынина // X международный молодёжный

научный медицинский форум «Белые цветы», посвященный 150-летию С.С. Зимницкого : сборник тезисов, Казань, 12-14 апреля 2023 года. – Казань : Казанский государственный медицинский университет, 2023. – С. 1144-1145.

5. Изучение микробиоты кишечника: новые подходы в диагностике воспалительных заболеваний кишечника / С. Н. Лагутина, А. А. Зуйкова, И. С. Добрынина, Е. Ю. Есина, В. И. Шевцова. – DOI 10.18565/therapy.2023.3suppl.249-250 // Терапия. – 2023. – Том 9, № S3 (65). – С. 249-250.

6. Лагутина, С. Н. Особенности биоразнообразия кишечной микробиоты у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и метаболическими нарушениями (обзор литературы) / С. Н. Лагутина, А. А. Зуйкова. – DOI 10.29001/2073-8552-2023-38-2-57-63 // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. – 2023. – Том 38, № 2. – С. 57-63.

7. Особенности разнообразия кишечной микробиоты у пациентов пожилого возраста с метаболическими нарушениями (обзор литературы) / П. А. Чижков, С. Н. Лагутина, Ю. А. Котова, В. Н. Попов, М. Ю. Сыромятников, А. А. Зуйкова. – DOI 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-7 // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2023. – Том 9, № 3. – С. 366-382.

8. Оценка роли кишечной микробиоты у пациентов с метаболическими нарушениями / С. Н. Лагутина, П. А. Чижков, О. С. Скуратова, А. А. Зуйкова // Современные достижения молодых ученых в медицине : сборник материалов X Республиканской научно-практической конференции с международным участием, Гродно, Беларусь, 30 ноября 2023 года. – Гродно : Гродненский государственный медицинский университет, 2023. – С. 265-268.

9. Лагутина, С. Н. Особенности персонализированного подхода в диагностике воспалительных заболеваний кишечника у пациентов на фоне метаболических нарушений с помощью исследования биоразнообразия кишечной микробиоты / С. Н. Лагутина, А. А. Зуйкова, П. А. Чижков // III научно – образовательный форум : сборник проектов конкурса «Всероссийская научная школа «Медицина молодая»», Москва, 7 декабря 2023 года. – Москва : Международный фонд развития биомедицинских технологий им. В.П. Филатова, 2023. – С. 244-247.

10. Оценка роли микробиоты кишечника в развитии сахарного диабета 2 типа у пациентов с язвенным колитом / С. Н. Лагутина, А. А. Пашкова, В. В. Дудурич, Л. Г. Данилов, Е. Д. Ермаченко // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2023. – № 94. – С. 83-87.

11. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2024620003 Российская Федерация. Микробиота кишечника при язвенном колите и сахарном диабете 2 типа : № 2023624887 : заявл. 15.12.2023 : опубл. 09.01.2024 / Лагутина С. Н., Пашкова А. А. – 1 с.

12. Лагутина, С. Н. Изучение микробиоты кишечника как перспективный метод в диагностике язвенного колита на фоне сахарного диабета 2 типа / С. Н. Лагутина, А. А. Пашкова // Актуальные вопросы внутренней медицины : сборник трудов Международной научно-практической конференции, Воронеж, 03 марта

2024 года. – Воронеж : Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, 2024. – С. 50-51.

13. Новые возможные механизмы развития язвенного колита на фоне сахарного диабета 2 типа: роль микробиоты кишечника / С. Н. Лагутина, А. А. Пашкова, В. В. Дудурич, Л. Г. Данилов, Е. Д. Ермаченко // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2024. – Том 23, № 1. – С. 28-31.

14. Лагутина, С. Н. Клинико-диагностические особенности кишечной микробиоты в развитии язвенного колита на фоне сахарного диабета 2 типа / С. Н. Лагутина // Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье : материалы XXVII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей, Санкт-Петербург, 20 апреля 2024 года. Том XXVII / под редакцией А. М. Сараны. – Санкт-Петербург : Сциентиа, 2024. – С. 137-138.

15. Диагностическое значение микробиоты кишечника как одного из ведущих факторов в развитии язвенного колита на фоне сахарного диабета 2-го типа / С. Н. Лагутина, А. А. Пашкова, В. В. Дудурич, Л. Г. Данилов, Е. Д. Ермаченко. – DOI 10.18565/therapy.2024.3.7-18 // Терапия. – 2024. – Том 10, № 3. – С. 7-18.

16. Патент № 2821023 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/48. Способ дифференцированного подбора терапии пациентам с язвенным колитом на фоне сахарного диабета 2 типа : № 2024105414 : заявл. 01.03.2024 : опубл. 17.06.2024 / С. Н. Лагутина, А. А. Пашкова ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВЗК – воспалительные заболевания кишечника

ЯК – язвенный колит

СД – сахарный диабет

ОХС – общий холестерин

СРБ – С – реактивный белок

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ДС – диарейный синдром