

Результаты исследования показали, что стандартизованное значение ОАС представляет интерес в качестве информативного маркера ХП у пациентов зрелого возраста. Отсутствие подобного результата в группе пациентов пожилого возраста может быть связано с изменениями, ассоциированными со старением.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Periodontal care as a fundamental step for an active and healthy ageing / C. Cafiero, M. Matarasso, G. Marenzi [et al.] // The Scientific World Journal. – 2013. – Vol. 2013, №1. – P.127905.
2. Meta-Analysis of Assessment of Total Oxidative Stress and Total Antioxidant Capacity in Patients with Periodontitis / K. Mohideen, K. Chandrasekaran, H. Veeraraghavan [et al.] // Dis Markers. – 2023. – Vol. 2023. – P. 9949047.
3. Изменение химических параметров ротовой жидкости при возраст-ассоциированных стоматологических заболеваниях / М.А. Копенкин, Л.Г. Полушина, Е.А. Семенцова [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2024. – Т.23, №3. – с. 46– 58.
4. Periodontitis is an inflammatory disease of oxidative stress: We should treat it that way / F.S.C. Szczepanik, M.L. Grossi, M. Casati [et al.] // Periodontol 2000. – 2020. – Vol.84, №1. – P.45– 68.
5. Dhotre, P.S. Oxidative stress in periodontitis: a critical link to cardiovascular disease / P.S. Dhotre, A.N. Suryakar, R. B. Bhogade // Biomedical Research. – 2011. – Vol.22, №2. – P.180–184.
6. Salivary DNA, lipid, and protein oxidation in nonsmokers with periodontal disease / H. Su, M. Gornitsky, A.M. Velly [et al.] // Free Radical Biology and Medicine. – Vol.46, №7. – P.914–921.
7. Xu, F. Aging-related changes in quantity and quality of saliva: Where do we stand in our understanding? / F. Xu, L. Laguna, A. Sarkar // J. Texture Stud. – 2019. – Vol.50, №1. – P. 27– 35.

Сведения об авторах

М.А. Копенкин – аспирант

Е.А. Семерикова* – студент педиатрического факультета

В.В. Базарный – доктор медицинских наук, профессор

Information about the authors

M.A. Kopenkin – Postgraduate student

E.A. Semerikova* – Student

V.V. Bazarnyi – Doctor of Science (Medicine), Professor

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

katsmerikova@yandex.ru

УДК: 616– 095+616.899

МИКРОБИОТА ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ С ПСИХИЧЕСКИМ ДИЗОНТОГЕНЕЗОМ

Лихачев Иван Алексеевич¹, Ворошилина Екатерина Сергеевна^{1,2}, Есина Ольга Борисовна³, Зорников Данила Леонидович¹

¹Кафедра медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

²ООО «Медицинский центр “Гармония”»

³Кафедра психиатрии, психотерапии и наркологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Существует доказанная связь между кишечником и головным мозгом, известная как ось «кишечник– головной мозг». Кишечная микробиота играет важную роль в развитии многих нейropsychических расстройств.

Цель исследования – оценить микробиоту толстого кишечника у детей с психическим дизонтогенезом методом ПЦР в реальном времени. **Материал и методы.** В исследовании приняли участие 69 детей с психическим дизонтогенезом (ПДО) и 152 здоровых ребенка от 4 до 7 лет (Me=5,8). Исследование проводили молекулярно– генетическим методом. Статистическую обработку и визуализацию данных проводили с помощью R версии 4.4.1. **Результаты.** У детей с ПДО статистически значимо выше было абсолютное содержание *Staphylococcus spp*, *Prevotella spp*, *Parabacteroides spp.*, *Pseudomonas spp* и *Coriobacteria*, ниже содержание *Streptococcus spp*, *Lactococcus lactis* и *Lactobacillaceae*. Также отличалась доля некоторых групп микроорганизмов: у детей с ПДО снижена доля *Streptococcus spp*, *Lactococcus lactis*, *Lachnospiraceae* и доли «Взрослых» бифидобактерий (конкретно *B. catenatum*), значительное повышение *Prevotella spp*. **Выводы.** Микробиота толстого кишечника детей дошкольного возраста с проявлениями психического дизонтогенеза отличалась снижением количества и ряда представителей нормобиоты (*Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillaceae*, *Lactococcus lactis*) при повышенном содержании *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas spp*, *Parabacteroides spp* и *Coriobacteria*. Наиболее значимым отличием между группой детей с ПДО и здоровыми являлось содержание бактерий рода *Prevotella*, количество и доля которых в кишечнике детей с ПДО было выше в 100– 1000 раз по сравнению с группой сравнения.

Ключевые слова: психический дизонтогенез, ПЦР в реальном времени, Энтерофлор Дети.

LARGE INTESTINAL MICROBIOTA IN CHILDREN WITH MENTAL DYSONTOGENESIS

Likhachev Ivan Alekseevich¹, Voroshilina Ekaterina Sergeevna^{1,2}, Esina Olga Borisovna¹, Zornikov Danila Leonidovich¹

¹The Department of Medical Microbiology and Laboratory Diagnostics of the Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

²LLC «Harmony» Medical Center,

³ Department of Psychiatry, Psychotherapy and Narcology

Ural State Medical University

Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. There is a proven link between the gut and the brain, known as the gut – brain axis). The gut microbiota plays an important role in the development of many neuropsychiatric disorders. **The aim of the study** was to evaluate the large intestinal microbiota in children with psychiatric dysontogenesis by real – time PCR. **Material and methods.** Sixty – nine children with psychiatric dysontogenesis (PDO) and 152 healthy children from 4 to 7 years old (Me=5.8) participated in the study. The study was carried out by molecular genetic method. Statistical processing and data visualization were performed using R version 4.4.1. **Results.** The absolute content of *Staphylococcus spp.*, *Prevotella spp.*, *Parabacteroides spp.*, *Pseudomonas spp.* and *Coriobacteria* was statistically significantly higher in children with PDO, while the content of *Streptococcus spp.*, *Lactococcus lactis* and *Lactobacillaceae* was lower. The proportion of some groups of microorganisms also differed: in children with PDO the proportion of *Streptococcus spp.*, *Lactococcus lactis*, *Lachnospiraceae* and the proportion of “Adult” Bifidobacteria (specifically *B. catenatum*) was reduced, significant increase of *Prevotella spp.* **Conclusions.** The microbiota of the large intestine of preschool children with manifestations of mental dysontogenesis was characterized by a decrease in the number and a number of representatives of normobiota (*Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillaceae*, *Lactococcus lactis*) with an increased content of *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Parabacteroides spp.* and *Coriobacteria*. The most significant difference between the group of children with PDO and healthy children was the content of bacteria of *Prevotella* genus, the number and proportion of which in the intestines of children with PDO was 100 – 1000 times higher compared to the comparison group.

Keywords: psychiatric dysontogenesis, real – time PCR, Enteroflor Kiddy.

ВВЕДЕНИЕ

Существует доказанная связь между кишечником и головным мозгом, известная как ось «кишечник – головной мозг». Исследования показали, что некоторые представители нормальной микробиоты способны вырабатывать штамм – специфические нейротрансмиттеры и нейромодуляторы, такие как: ГАМК, серотонин, катехоламины и ацетилхолин [1].

Связь между кишечником и центральной нервной системой (ЦНС) может осуществляться различными путями, один из которых – синтез короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК). КЦЖК могут воздействовать на ЦНС, участвуя в ключевых неврологических и поведенческих процессах, а также в критических фазах психоневрологических расстройств [2].

На сегодняшний день накоплено достаточно данных, подтверждающих влияние микробиоты на развитие психических расстройств у детей. Более того, выявлены специфические особенности состава кишечной микробиоты у детей с такими диагнозами. Так, существуют данные о микробном составе у детей с расстройством аутистического спектра (РАС) [1, 2, 3] и синдромом дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) [1].

Были обнаружены уникальные бактериальные виды, ассоциированные с различными психоневрологическими расстройствами. Например, *Bacteroides uniformis* и *Bacteroides vulgatus* выявлены у детей с РАС, СДВГ и умственной отсталостью, *Veillonella parvula* – при РАС и СДВГ, *Escherichia – Shigella* – при РАС, СДВГ и умственной отсталости, а *Enterobacter* связан с РАС и умственной отсталостью.

Большая часть исследований, посвященных связи микробиоты кишечника с нарушениями психического онтогенеза человека, была проведена с использованием секвенирования нового поколения (Next Generation Sequencing (NGS)), что затрудняет использование их результатов в клинической практике. В Российской Федерации для оценки

микробиоты толстого кишечника у детей зарегистрирован и успешно используется тест Энтерофлор Дети, основанный на ПЦР в реальном времени (ПЦР–РВ).

Цель исследования – оценить микробиоту толстого кишечника у детей с психическим дизонтогенезом методом ПЦР в реальном времени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 69 детей с психическим дизонтогенезом (ПДО) и 152 здоровых ребенка от 4 до 7 лет ($M=5,8$).

Все участники исследования прошли психиатрическое обследование. Диагноз нейротических детей выставлялся врачом–психиатром.

Исследование было одобрено ЛЭК (выписка из протокола № 6 от 18 октября 2024 г). Участие в исследовании было добровольным. Родители участников исследования подписали информированное добровольное согласие на проведение исследования.

Критерии включения в исследование:

1. Возраст от 4 до 7 лет.
2. Отсутствие признаков острой кишечной инфекции на момент обследования.
3. Отсутствие обострения заболеваний желудочно–кишечного тракта на момент обследования.

Образцы кала собирали в стерильный контейнер и хранили до исследования в суспензии с 10% глицерином при -70°C .

Для предварительной обработки образцов стула использовали набор «ПРОБА–Л» («ДНК–Технология», Россия). Выделение ДНК производили с помощью набора «ПРОБА–НК» («ДНК–Технология», Россия) согласно инструкции производителя.

ПЦР–РВ проводили с помощью набора «ЭНТЕРОФЛОР Дети» («ДНК–Технология», Россия) согласно инструкции производителя. Определяли 46 параметров: общую бактериальную массу (ОБМ), 40 групп представителей нормальной и условно–патогенной микробиоты, расчетные количества «детских» и «взрослых» бифидобактерий, а также 2 маркера патогенности (гены энтеротоксинов *Clostridioides difficile* cdtA и cdtB, ген адгезина *Streptococcus agalactiae* srr2) и маркер резистентности к антибиотикам (mecA). По каждому показателю определяли абсолютное количество, выраженное в геном–эквивалентах на 1 грамм фекалий (ГЭ/г).

Статистическую обработку и визуализацию данных проводили с помощью R версии 4.4.1. В качестве меры центральной тенденции при описании переменных указывали медиану со значениями 1–го и 3–го квартилей. Статистическую значимость различий между частотными показателями оценивали двусторонним точным тестом Фишера, между количественными показателями – тестом Манна–Уитни. Все различия считались статистически значимыми при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Всего в группу здоровых детей вошли 152 ребенка, из которых были 71 девочка (46,7%) и 81 мальчик (53,3%). В группу детей с ПДО вошли 69 детей, в том числе 14 девочек (20,3%) и 55 мальчиков (79,7%) (Таблица 1). По возрасту группы детей не различались.

Таблица 1.

Половой состав здоровых детей и детей с психоневрологическими отклонениями

Пол	ПДО	здоровые	P
Девочки	14 (20,3%)	71 (46,7%)	<0,001
Мальчики	55 (79,7%)	81 (53,3%)	

В первую очередь оценили частоту выявления отдельных групп и видов микроорганизмов у здоровых детей и детей с ПДО (Рис. 1).

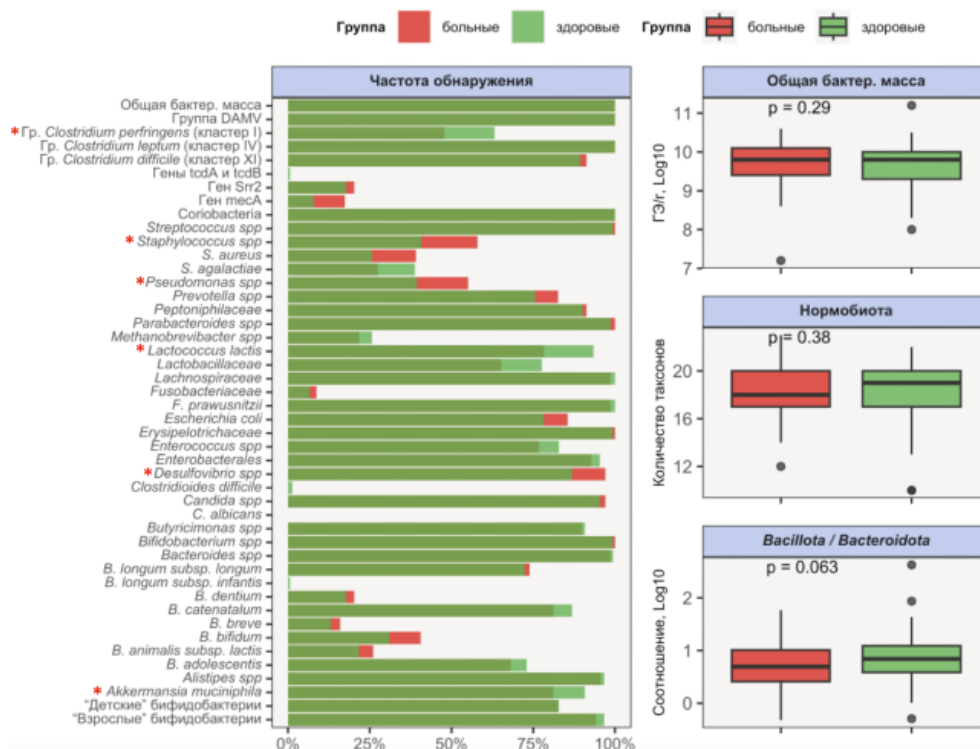


Рис. 1. Частота обнаружения, показатели ОБМ, разнообразие нормобиоты и соотношение *Bacillota*/*Bacteroidota* в группах больных и здоровых детей

Анализ полученных данных показал, что статистически значимые различия в частоте обнаружения групп микроорганизмов между детьми с ПДО и здоровыми наблюдали для следующих микроорганизмов из филума *Bacillota*: *Staphylococcus* spp [40 (58%) у ПДО vs 62 (40,8%) у здоровых, $p < 0,05$], *Lactococcus lactis* [54 (78,3%) у ПДО vs 142 (93,4%) у здоровых, $p < 0,05$], гр. *Clostridium perfringens* (кластер I) [33 (47,8%) у ПДО vs 96 (63,2%) у здоровых, $p < 0,05$]. Из филума *Pseudomonadota*: *Pseudomonas* spp [38 (55,1%) у ПДО vs 60 (39,5%) у здоровых, $p < 0,05$]. Из филума *Thermodesulfobacteriota*: *Desulfovibrio* spp [67 (97,1%) у ПДО vs 132 (86,8%) у здоровых, $p < 0,05$]. Из филума *Verrucomicrobiota*: *Akkermansia muciniphila* [56 (81,2%) у ПДО vs 138 (90,8%) у здоровых, $p < 0,05$].

Следует отметить, что частота выделения тех или иных микроорганизмов не отражает полностью структуру микробиоты кишечника у детей, поэтому далее оценили абсолютные и относительные показатели для каждой определяемой группы/вида микроорганизмов (Рис. 2).

Среди представителей филума *Bacillota* у детей с ПДО статистически значимо выше было содержание *Staphylococcus* spp [$10^{6,7}$ ($10^{6,3}$ – $10^{7,1}$) у ПДО vs 0 (0 – $10^{4,1}$) у здоровых, $p = 0,027$], ниже содержание *Streptococcus* spp [$10^{6,7}$ ($10^{6,3}$ – $10^{7,1}$) у ПДО vs $10^{6,9}$ ($10^{6,5}$ – $10^{7,3}$) у здоровых, $p = 0,033$], *Lactococcus lactis* [$10^{5,3}$ ($10^{4,2}$ – $10^{5,9}$) у ПДО vs $10^{5,8}$ (10^5 – $10^{6,4}$) у здоровых, $p = 0,005$] и *Lactobacillaceae* [$10^{4,4}$ (0 – $10^{4,9}$) у ПДО vs $10^{4,7}$ ($10^{4,2}$ – $10^{5,2}$) у здоровых, $p = 0,023$].

Филум *Bacteroidota* отличался повышенным содержанием следующих групп бактерий у детей с ПДО: *Prevotella* spp [$10^{7,8}$ ($10^{4,3}$ – $10^{8,9}$) у ПДО vs $10^{5,1}$ (10^4 – $10^{7,9}$) у здоровых, $p = 0,002$] и *Parabacteroides* spp [$10^{7,5}$ ($10^{7,2}$ – $10^{7,8}$) у ПДО vs $10^{7,3}$ ($10^{6,9}$ – $10^{7,7}$) у здоровых, $p = 0,02$].

Из числа представителей филума *Actinomycetota* статистически значимые различия были установлены для *Coriobacteria* [$10^{7,4}$ (10^7 – $10^{7,8}$) у ПДО vs $10^{7,2}$ ($10^{6,8}$ – $10^{7,5}$) у здоровых, $p = 0,005$].

Кроме того, у детей с ПДО установлено более высокое содержание представителей филума *Pseudomonadota*, а именно *Pseudomonas* spp [$10^{4,1}$ (0 – $10^{4,5}$) у ПДО vs 0 (0 – $10^{4,3}$) у здоровых, $p = 0,029$].

Также отличалась доля некоторых групп микроорганизмов в составе кишечной микробиоты у детей с ПДО и здоровых. Для филума *Bacillota* были установлены следующие особенности: у детей с ПДО снижена доля *Streptococcus* spp [0,1 (0 – $0,3$) у ПДО vs 0,2 ($0,1$ – $0,6$) у здоровых, $p < 0,001$], *Lactococcus lactis* [0 (0 – 0) у ПДО vs 0 (0 – $0,1$) у здоровых, $p < 0,001$]

и *Lachnospiraceae* [9,5 (7,2– 13,4) у ПДО vs 12,9 (9,6– 19,4) у здоровых, $p < 0,001$]. У детей с ПДО отмечено значительное повышение доли одного представителя филума *Bacteroidota* – *Prevotella spp* [2,5 (0– 12,2) у ПДО vs 0 (0– 3,5) у здоровых, $p = 0,008$].

Из числа определяемых представителей филума *Actinomycetota* отличия были установлены для доли «Взрослых» бифидобактерий [0,1 (0,1– 0,5) у ПДО vs 0,3 (0,1– 0,7) у здоровых, $p = 0,049$] и конкретно доли *B. catenatum* [0 (0– 0,2) у ПДО vs 0,1 (0– 0,5) у здоровых, $p = 0,006$].

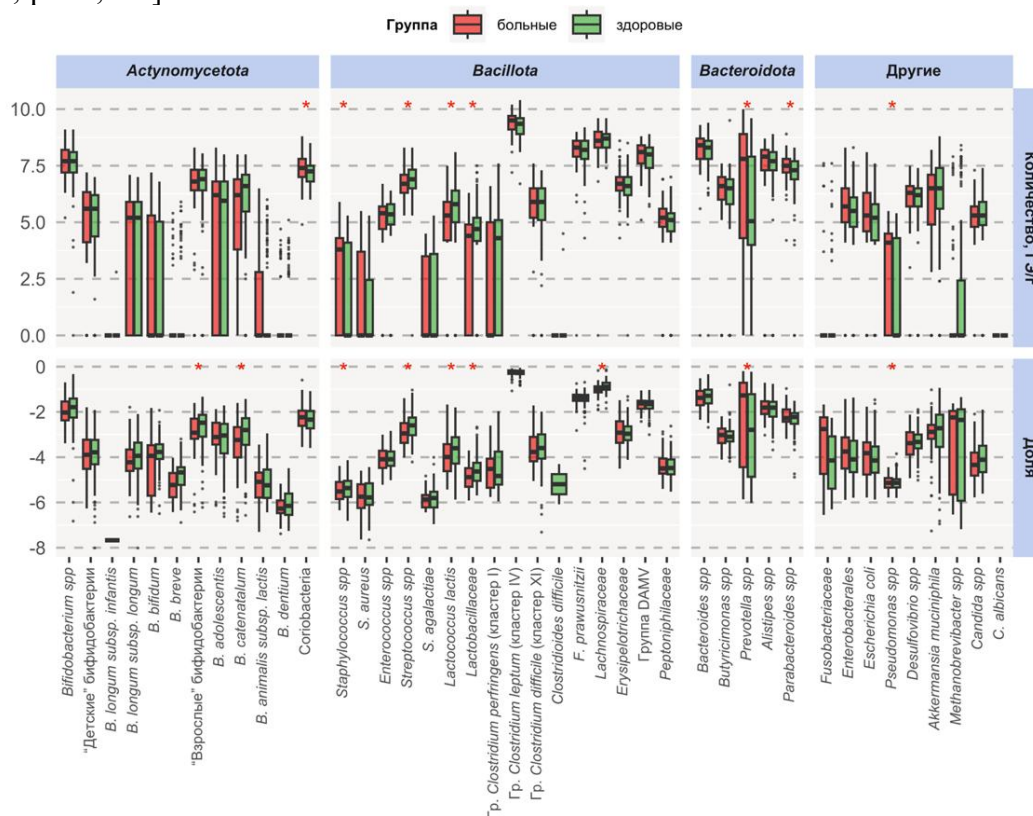


Рис. 2. Абсолютные и относительные количества групп микроорганизмов у больных и здоровых детей

ОБСУЖДЕНИЕ

В группе детей с ПДО соотношение мальчиков и девочек было 4:1 (79,7% мальчиков против 20,3% девочек), что согласуется с данными литературы относительно частоты РАС и других нарушений психического онтогенеза у детей [4]. В группе здоровых детей столь выраженной диспропорции не отмечали.

К особенностям микробиоты кишечника детей с психическим дизонтогенезом (ПДО) относят частоту встречаемости *Desulfovibrio spp* и *Akkermansia muciniphila*: *Desulfovibrio spp* выявляют чаще, а *Akkermansia muciniphila* реже у детей с ПДО [5]. Аналогичные данные были получены в нашем исследовании.

Данные о роли *Clostridium spp.* в формировании микробиоты кишечника у детей с ПДО и РАС противоречивы. Anaclerio F и соавт. указывают на высокое содержание *Clostridium* у детей с РАС [6]. В нашем исследовании *Clostridium perfringens* (кластер I) выявляли у здоровых детей чаще, чем у детей с ПДО.

Снижение количества бифидобактерий подтверждается многочисленными исследованиями [2, 3, 5]. Эти представители нормобиоты обладают противовоспалительным действием, участвуют в выработке ГАМК [1]. В нашем исследовании также установлено снижение доли *Bifidobacterium spp.* и в частности *B. catenatum* у детей с ПДО.

Численность *Staphylococcus spp.* в нашем исследовании была ниже у здоровых детей по сравнению с детьми, имеющими психические нарушения, в литературе описана противоположная тенденция [1].

Данные о численности *Prevotella spp* также противоречивы. Ранее была показана более низкая численность у детей с РАС [3], однако другие исследования показали более высокие

уровни *Prevotella spp.* у детей с ПДО [2, 7]. В нашем исследовании высокое содержание *Prevotella spp.* было отличительной чертой микробиоты кишечника у детей с ПДО. *Prevotella spp.* участвует в выработке янтарной кислоты, участвующей в расщеплении глутамата, который, в свою очередь, является нейромедиатором [7]. Избыток *Prevotella spp.* связывают с дисбиозом кишечника, что может способствовать воспалению и ухудшению когнитивных характеристик.

В настоящем исследовании у детей с ПДО содержание *Lactobacillaceae* и *Lactococcus lactis* было снижено у детей с ПДО по сравнению со здоровыми. Аналогичные данные получили De Angelis M. и соавт. [2]. Однако ряд авторов отмечали напротив повышение численности лактобактерий у детей с психоневрологическими отклонениями [3, 5].

Streptococcus у детей с РАС выявляют реже, чем у здоровых детей [2], что согласуется с полученными нами данными.

Численность *Parabacteroides* в образцах детей с ПДО была выше, чем в образцах здоровых детей, что согласуется с данными других исследователей [3].

Численность представителей рода *Lachnospiraceae* была относительно ниже в группе детей с ПДО по сравнению с группой здоровых детей, аналогичные закономерности были описаны ранее [2].

ВЫВОДЫ

1. Микробиота толстого кишечника детей дошкольного возраста с расстройствами аутистического спектра и другими проявлениями психического дизонтогенеза отличалась снижением количества ряда представителей нормобиоты (*Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillaceae*, *Lactococcus lactis*) при повышенном содержании *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Parabacteroides spp.* и *Coriobacteria*.

2. Наиболее значимым отличием между группой детей с ПДО и здоровыми являлось содержание бактерий рода *Prevotella*, количество и доля которых в кишечнике детей с ПДО было выше в 100–1000 раз по сравнению с группой сравнения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Influence of gut microbiota on neuropsychiatric disorders / Cenit M. C., Sanz Y., Codoñer–Franch P. //World journal of gastroenterology. – 2017. – Т. 23. – №. 30. – С. 5486.
2. Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified / De Angelis M. et al. //PloS one. – 2013. – Т. 8. – №. 10. – С. e76993.
3. Gut microbiota of children with autism spectrum disorder and healthy siblings: A comparative study / Abuljadayel D. et al. //Experimental and Therapeutic Medicine. – 2024. – Т. 28. – №. 5. – С. 430.
4. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years—autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2020 / Maenner M. J. //MMWR. Surveillance Summaries. – 2023. – Т. 72.
5. Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia / Tomova A. et al. //Physiology & behavior. – 2015. – Т. 138. – С. 179–187.
6. Microbiota and Autism: A Review on Oral and Gut Microbiome Analysis Through 16S rRNA Sequencing / Anaclerio F. et al. //Biomedicine. – 2024. – Т. 12. – №. 12. – С. 2686.
7. Diversity of Gut Microbiota in Autism Reveals Differential Abundance of *Prevotella* and *Akkermansia* Species / Agarwala S., Naik B., Ramachandra N. B. //Preprints. – 2018.

Сведения об авторах

И.А. Лихачев* – аспирант

Е.С. Ворошилина – доктор медицинских наук, профессор

О.Б. Есина – кандидат медицинских наук, доцент

Д.Л. Зорников – кандидат медицинских наук, доцент

Information about the authors

I.A. Likhachev* – Postgraduate student

E.S. Voroshilina – Doctor of Sciences (Medicine), Professor

O.B. Esina – Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor

D.L. Zornikov – Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

ialikhachev@mail.ru