

Жуков Владимир Андреевич

**НАРУШЕНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА И ЕЁ КОРРЕКЦИЯ У
ПАЦИЕНТОВ С НЕОСЛОЖНЕННОЙ ИНФЕКЦИЕЙ
МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ**

3.1.18. Внутренние болезни

3.1.13. Урология и андрология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена на кафедре общей врачебной практики медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научные руководители:

Стуров Николай Владимирович, кандидат медицинских наук, доцент;

Попов Сергей Витальевич, доктор медицинских наук, доцент.

Официальные оппоненты:

Зайцев Андрей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры урологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Суворова Маргарита Петровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной терапии № 2 института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет);

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского».

Защита состоится «__» _____ 2023г. в 13:00 часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.004 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (117292, г. Москва, ул. Вавилова, д. 61, ГБУЗ ГКБ им. В.В. Виноградова ДЗМ)

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале УНИБЦ (Научная библиотека) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

Автореферат разослан «__» _____ 2023г.

Учёный секретарь
диссертационного совета ПДС 0300.004,
кандидат медицинских наук, доцент

Шаваров Андрей Анатольевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Кишечная микробиота (КМ) представляет собой сложноорганизованное сообщество микроорганизмов, населяющих кишечник человека. КМ состоит из бактерий (более 90%), грибов (~0,1%), вирусов (до ~5,8%), архей (~0,8%) и эукариот (~0,5%), находящихся в равновесии друг с другом [Thursby E, Juge N, 2017; Zhang F и др., 2022; Fumagalli MR и др., 2023].

По оценкам специалистов, в состав КМ входят около $3,8 \times 10^{13}$ - $1,0 \times 10^{14}$ бактерий, а совокупность генов всех кишечных микроорганизмов превышает своей численностью собственный геном человека [Sender R, Fuchs S, Milo R, 2016; Thursby R, Juge N, 2017; Chen Y, Zhou J, Wang L, 2021; Fan Y, Pedersen O, 2021].

Важность поддержания нормальной КМ для организма человека обусловлена выполнением ею ряда функций: участие в пищеварительных процессах, ферментация пищевых волокон, формирование и поддержание целостности кишечного барьера, защита от патогенов и регулирование иммунитета человека [Thursby R, Juge N, 2017; Gomaа EZ, 2020]. Часто в литературе можно встретить упоминание о КМ как об «отдельном органе» человеческого тела, что подчеркивает её важность [Ding RX и др., 2019].

Между тем, критерии определения нормального состояния КМ до конца не сформированы. К характеристикам нормальной КМ относят большое биоразнообразие (количество видов микроорганизмов и их относительная численность, Индекс Пиелу – более 0,4), преобладание определенных типов и родов (*Bifidobacteria*, *Lactobacillus*, *Prevotella* и других), а также устойчивость к воздействию внешних факторов и способность возвращаться к состоянию равновесия [Ruan W и др., 2020].

При нарушении структуры и функций КМ (дисбиоз кишечника) повышается риск развития воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), синдрома раздраженного кишечника (СРК), колоректального рака, хронической болезни почек (ХБП), сахарного диабета (СД) 1 и 2 типа, неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), ожирения, сердечно-сосудистых заболеваний и др. [Gomaа EZ, 2020; Chen Y, Zhou J, Wang L, 2021; Dixit K и др., 2021; Ахмадуллина ГИ, Курникова ИА, 2022]. Как правило, о дисбиозе кишечника говорят при сочетании нескольких условий: увеличении количества патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, потере ключевых таксонов (обособленных групп микроорганизмов, связанных той или иной степенью родства) и полезных комменсалов (вид симбиотических взаимоотношений, при котором микроорганизмы питаются за счет человека, не нанося ему ущерба), снижении разнообразия и, как следствие, функциональной недостаточности КМ [Hooks KB, O'Malley MA, 2017].

Имеется небольшое количество исследований, посвященных изучению связи КМ и инфекций мочевыводящих путей (ИМП). Данное заболевание широко распространено: до 50% всех женщин хотя бы раз в жизни сталкивались с эпизодами ИМП [Suskind AM и

др., 2016; Зайцев АВ и др., 2018]. При ИМП снижается качество жизни пациентов, имеются также социальные и экономические последствия [Renard J и др., 2014; Wagenlehner F и др., 2018; Gaitonde S, Malik RD, Zimmern PE, 2019]. Кроме того, заболевание характеризуется высокой частотой рецидивов: после первого эпизода ИМП у 27% женщин рецидив развивается в течение первых 6 месяцев [Зайцев АВ и др., 2018; Medina M, Castillo-Pino E, 2019].

Известно, что основным источником возбудителей ИМП (преимущественно *Escherichia coli* (74,6%) и *Klebsiella pneumoniae* (9,6%)) является КМ, а основной путь инфицирования – восходящая миграция микробов с последующей колонизацией мочевыводящих путей [Flores-Mireles AL и др., 2015; Палагин ИС и др., 2019; Klein RD, Hultgren SJ, 2020; Meštrović T и др., 2020]. Возбудители способны длительное время существовать в кишечнике, в составе так называемых «резервуаров уропатогенов», сохраняясь в КМ даже после курса антимикробной терапии [Thänert R и др., 2019]. Между тем, состояние КМ при ИМП остается малоизученным, а результаты проведенных к настоящему моменту исследований о целесообразности коррекции КМ у пациентов с ИМП достаточно противоречивы [Schwenger EM, Tejani AM, Loewen PS, 2015; Akgül T, Karakan T, 2018; Wawrysiuk S и др., 2019; Vagios S, Hesham H, Mitchell C, 2020; Кубин НД, Волкова ОВ, Шкарупа ДД, 2021; Abdullatif VA и др., 2021; New FJ и др., 2022].

Возможной моделью изучения дисбиоза кишечника следует считать пациенток с неосложненной инфекцией нижних мочевыводящих путей (НИНМП), т.к. это преимущественно здоровые молодые женщины без сопутствующих заболеваний, часто принимающие антимикробные препараты из-за рецидивов, что является важным фактором повреждения КМ.

Учитывая вышеизложенное, проведение дополнительных исследований состава, особенностей нарушения и возможностей коррекции КМ у пациентов с НИНМП представляется актуальным.

Степень разработанности темы

На сегодняшний день отсутствуют данные по комплексной характеристике КМ у взрослых пациентов с НИНМП до начала антимикробной терапии.

Оценку КМ проводят с помощью бактериологического анализа кала, генетических методов (преимущественно 16S рРНК секвенирования), газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХМС).

Бактериологический анализ кала основан на отраслевом стандарте «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника», ОСТ 91500.11.0004-2003. Бактериологический метод имеет целый ряд недостатков, связанных со сложностью транспортировки образцов, невысокой точностью метода и возможностью культивирования лишь небольшого числа микроорганизмов, а также связанной с этим длительностью получения результата. Особенно сложно поддаются культивированию анаэробные бактерии (*Eubacterium* spp, *Clostridium* spp, *Propionibacterium* spp. и другие), которые составляют около 95% от всех бактерий в КМ [Tidjani Alou M и др., 2020].

Генетические методы используются преимущественно для фундаментальных исследований и отличаются высокой стоимостью, что затрудняет их использование в повседневной практике.

Доступным и современным методом исследования микробиоты является газовая хроматография-масс-спектрометрия (ГХМС), позволяющая идентифицировать микробные маркеры непосредственно в биологических образцах. Однако на сегодняшний день данные о референсных или пороговых значениях микроорганизмов для диагностики дисбиоза кишечника по результатам ГХМС в образцах фекалий у пациентов с НИНМП отсутствуют. Данный метод может способствовать получению новых данных о качественном и количественном составе КМ в норме и при патологии, а также о роли КМ в развитии НИНМП. Относительная доступность и экспрессность метода определяет перспективу его широкого внедрения в клиническую практику.

Исследования, посвященные применению различных методов коррекции КМ при ИМП, немногочисленны и противоречивы. Абсолютное большинство работ оценивает эффективность пробиотиков в терапии ИМП без оценки их влияния на КМ [Wawrysiuk S и др., 2019; Abdullatif VA и др., 2021; New FJ и др., 2022;]. К тому же наличие множества различных штаммов микроорганизмов в составе пробиотиков сопряжено с необходимостью оценки эффективности и безопасности каждого отдельного штамма [Ушкалова ЕА, Зырянов СК, 2017; Pradhan D, Mallappa RH, Grover S, 2020].

Более целесообразным может оказаться применение современных метабиотиков (низкомолекулярных соединений микробного происхождения, представляющих собой структурные компоненты пробиотических микроорганизмов, и/или сигнальные молекулы с известной химической структурой, и/или их метаболиты) и пребиотиков (ферментируемые бактериями вещества, такие как инулин, лактоза), способствующих восстановлению нормальной КМ [Davani-Davari D и др., 2019; Олескин АВ, Шендеров БА, 2020; Трухманов АС, Румянцева ДЕ, 2020]. В настоящей работе используется комбинированный препарат на основе мета- и пребиотических компонентов. Исследования с применением в терапии ИМП подобных препаратов на сегодняшний день отсутствуют.

Цель настоящего исследования

Усовершенствование диагностики дисбиоза кишечника в клинике внутренних болезней и улучшение результатов лечения неосложненных инфекций мочевыводящих путей.

Задачи исследования:

1. Изучить количественные характеристики КМ у здоровых добровольцев при помощи ГХМС.
2. Сопоставить количественные характеристики КМ с клиническими проявлениями дисбиоза кишечника.

3. Сравнить состав КМ здоровых добровольцев и пациенток с НИНМП при помощи ГХМС.
4. Оценить влияние антимикробной терапии на структуру КМ на примере пациенток с НИНМП.
5. Определить эффективность метапребиотика, содержащего олигофруктозу, инулин, кальция лактат, в коррекции нарушений КМ на фоне краткосрочной антимикробной терапии и в профилактике рецидивов НИНМП.

Научная новизна

Впервые проведено исследование количественных характеристик КМ и их взаимосвязи с клиническими проявлениями дисбиоза кишечника на примере больных с НИНМП с помощью метода ГХМС.

Впервые определена роль *Eubacterium* spp. в качестве фактора риска развития клинических симптомов дисбиоза кишечника и НИНМП. Изучена динамика показателей состава КМ до и после краткосрочной антимикробной терапии с помощью ГХМС.

Впервые определена эффективность метапребиотика, содержащего олигофруктозу, инулин, кальция лактат в коррекции КМ на фоне антимикробной терапии и в профилактике рецидивов НИНМП.

Теоретическая и практическая значимость

В настоящем исследовании представлена комплексная характеристика структуры КМ у пациенток с НИНМП при помощи ГХМС. Дополнены сведения о составе КМ у здоровых лиц. Доказано, что у пациентов с НИНМП по сравнению со здоровыми добровольцами изначально уже существуют нарушения нормального состава КМ. Продемонстрировано значение численности микроорганизмов рода *Eubacterium* как фактора риска НИНМП. Дополнены данные об ассоциациях микроорганизмов в кишечнике у пациенток с НИНМП, а также об изменениях, возникающих в составе КМ при проведении антимикробной терапии НИНМП.

Предложено пороговое значение *Eubacterium* spp., которое может использоваться в комплексной диагностике и в определении показаний к коррекции КМ у пациенток с острой НИНМП и при рецидивирующих НИНМП. Продемонстрирована целесообразность применения ГХМС в диагностике нарушений КМ. Доказана эффективность использования метапребиотика, содержащего олигофруктозу, инулин, кальция лактат в комплексной терапии НИНМП с целью коррекции нарушений КМ и профилактики рецидивов.

Методология и методы исследования

Данная работа представляет собой клиническое исследование, состоящее из двух параллельно проводимых частей: поперечное исследование состояния КМ на примере пациенток с НИНМП (впервые возникшим острым циститом или симптомным рецидивом до начала антимикробной терапии в сравнении с группой здоровых добровольцев («случай-контроль»)); продольное исследование возможностей коррекции КМ с

помощью метапребиотика, содержащего олигофруктозу, инулин, кальция лактат на фоне антимикробной терапии (Рисунок 1).

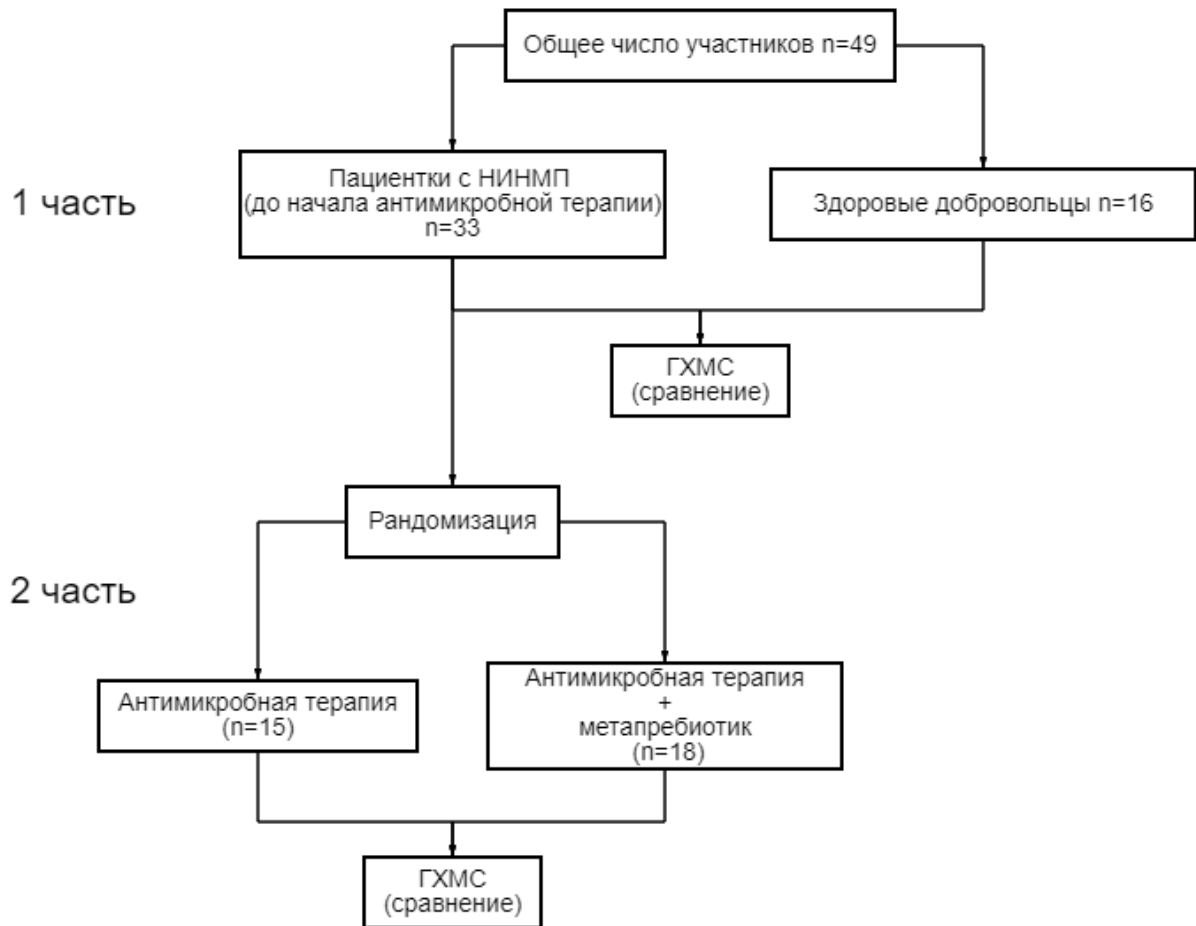


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Положения, выносимые на защиту

1. В составе КМ у пациенток с НИИМП ещё до начала антимикробной терапии наблюдается достоверное уменьшение среднего количества представителей рода *Eubacterium* по сравнению с микробиотой здоровых добровольцев.

2. Клинические симптомы дисбиоза кишечника у пациенток с НИИМП более выражены и наблюдаются еще до начала антимикробной терапии. Выявлена обратная связь между выраженностью клинических симптомов, характерных для дисбиоза кишечника, и количеством маркеров *Eubacterium* spp.

3. Определено пороговое значение *Eubacterium* spp., которое является прогностически значимым в отношении развития желудочно-кишечных симптомов, характерных для дисбиоза кишечника, а также в отношении развития НИИМП: $<151562 \times 10^5$ клеток/грамм.

4. Для коррекции нарушений КМ на фоне краткосрочной антимикробной терапии и в профилактике рецидивов НИИМП эффективен метапребиотик, содержащий олигофруктозу, инулин, кальция лактат.

Внедрение в практику

Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре общей врачебной практики ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», а также в практическую работу Клинико-диагностического центра РУДН, Диагностического клинического центра №1 ДЗМ и Городской поликлиники № 195 ДЗМ.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены на III Международном конгрессе «Health age. Активное долголетие» (г. Москва - 2021 г.); на II Московском объединенном съезде нефрологов (г. Москва - 2021 г.); на Московской городской научно-практической конференции «Диагностика, профилактика и лечение всем пациентам с нефрологическими заболеваниями» (г. Москва – 2023 г.); на I Конгрессе Международного общества клинической физиологии и патологии (г. Москва – 2023 г.). Апробация проведена на расширенном заседании кафедры общей врачебной практики совместно с кафедрой госпитальной терапии с курсом эндокринологии, гематологии и клинической лабораторной диагностики медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» 14.06.2023 г.

Публикации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 10 работ, в том числе 2 публикации в изданиях из перечня РУДН/ВАК, а также 3 публикации в изданиях, индексируемых в международных базах данных Scopus/Web of Science.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 133 страницах, состоит из введения, основной части и заключения. Список литературы включает 182 источника. В работе имеются 41 таблица и 23 рисунка.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Научная работа представляет собой клиническое исследование, состоящее из двух параллельно проводимых частей. Выполнена на кафедре общей врачебной практики РУДН в 2021-2023 г. В отношении работы имеется положительное решение этического комитета медицинского института РУДН № 28 от 22 апреля 2021 г. Отбор участников проводился в Клинико-диагностическом центре РУДН и ЧУЗ «КБ «РЖД-Медицина» им. Н.А. Семашко» в период с 01.08.2021 г. по 28.02.2023 г.

Для участия в исследовании были отобраны 33 пациентки, соответствующие критериям включения (Таблица 1), а также 16 здоровых добровольцев, не принимавших antimicrobные и пробиотические препараты в предшествующие 3 месяца, без симптомов и/или подтвержденного диагноза ИМП.

Таблица 1 – Критерии включения и исключения

| Критерии включения | Критерии исключения |
|--|---|
| Женский пол | Мужской пол |
| Возраст 18 лет и старше | Возраст младше 18 лет |
| Наличие симптомов или установленного диагноза острой спорадической инфекции нижних мочевых путей (цистит) или рецидива данного заболевания | Подозрение на инфекционно-воспалительные заболевания половых органов (вагинит, бактериальный вагиноз и т.д.). |
| Нет осложняющих факторов (беременность, мочекаменная болезнь, аномалии строения мочевых путей и т.д.) | Наличие осложняющих факторов (беременность, мочекаменная болезнь, аномалии строения мочевых путей и т.д.) |
| Нет приема антимикробных или пробиотических препаратов по текущему эпизоду НИНМП | Прием антибактериальных или пробиотических препаратов |
| Наличие информированного добровольного согласия на участие в исследовании | Отсутствие информированного добровольного согласия |

Первая часть представляет собой поперечное исследование состояния КМ у группы здоровых добровольцев и сравнительный анализ с показателями КМ пациенток с НИНМП (впервые возникшим острым циститом или симптомным рецидивом) до начала антимикробной терапии («случай-контроль»).

Вторая часть – продольное исследование эффективности коррекции КМ на фоне антимикробной терапии у пациентов с НИНМП с помощью метапребиотика, содержащего олигофруктозу, инулин, кальция лактат, в сравнении со стандартной антимикробной терапией (без метапребиотика). Для оценки эффективности метапребиотика были случайным образом отобраны 18 пациенток из группы НИНМП (подгруппа А), остальные 15 пациенток составили подгруппу стандартной антимикробной терапии, без дополнительного применения метапребиотика (подгруппа Б). Пациентки подгруппы А, в дополнение к антимикробной терапии цистита, получали в течение двух недель метапребиотик по 2 таблетки 3 раза в сутки.

Исследование КМ проводилось по образцам фекалий с помощью метода ГХМС.

Для оценки выраженности жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и связанного с ними нарушения качества жизни в предшествующую исследованию неделю применялась шкала «Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS)». Для оценки выраженности симптомов НИНМП применялась валидизированная русская версия шкалы ACSS – «Шкала оценки симптомов острого цистита» (Acute Cystitis Symptom Score – ACSS).

Всем пациентам группы НИНМП была назначена эмпирическая антимикробная терапия, которая определялась в соответствии с действующими клиническими рекомендациями МЗ РФ от 2021 года.

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакетов прикладного программного обеспечения Statsoft Statistica 12, IBM SPSS Statistics 26, Microsoft Excel. Нормальность распределения данных оценивалась с использованием W-критерия Шапиро-Уилка и критерия Колмогорова-Смирнова. Количественные переменные характеризовались методами описательной статистики с указанием медианы (Me), 25% - и 75% - квартилей (IQR). Достоверность различий между двумя независимыми группами оценивалась при помощи методов непараметрической статистики, в частности U-критерия Манна-Уитни (распределение данных отличное от нормального) и критерия Хи-квадрат, точного критерия Фишера (двустороннего). Статистическая значимость различий в зависимых выборках устанавливалась по W-критерию Уилкоксона. Значимость различий переменных считалась достоверной при $p < 0,05$. Пороговые значения для количественных переменных устанавливались на основе анализа ROC (receiver operating characteristic). Значение для точек отсечения (cut-off value) было выбрано при оптимальном соотношении чувствительности и специфичности.

Результаты исследования

Состав кишечной микробиоты по данным газовой хромато-масс-спектрометрии у здоровых добровольцев

Установлено, что основная доля (67,2%) микроорганизмов в КМ здоровых добровольцев приходится на *Eubacterium* spp. (23,4%), *Propionibacterium jensenii* (13,0%), *Clostridium perfringens* (10,8%), *Eggerthella lenta* (6,1%), *Bifidobacterium* spp. (6,0%), *Clostridium propionicum* (4,0%), *Lactobacillus* spp. (3,8%) (Рисунок 2). Структура вирусной части КМ представлена *Herpes* spp. (62,7%), *Cytomegalovirus* (22,2%), *Epstein-Barr virus* (15,1%) (Рисунок 3).

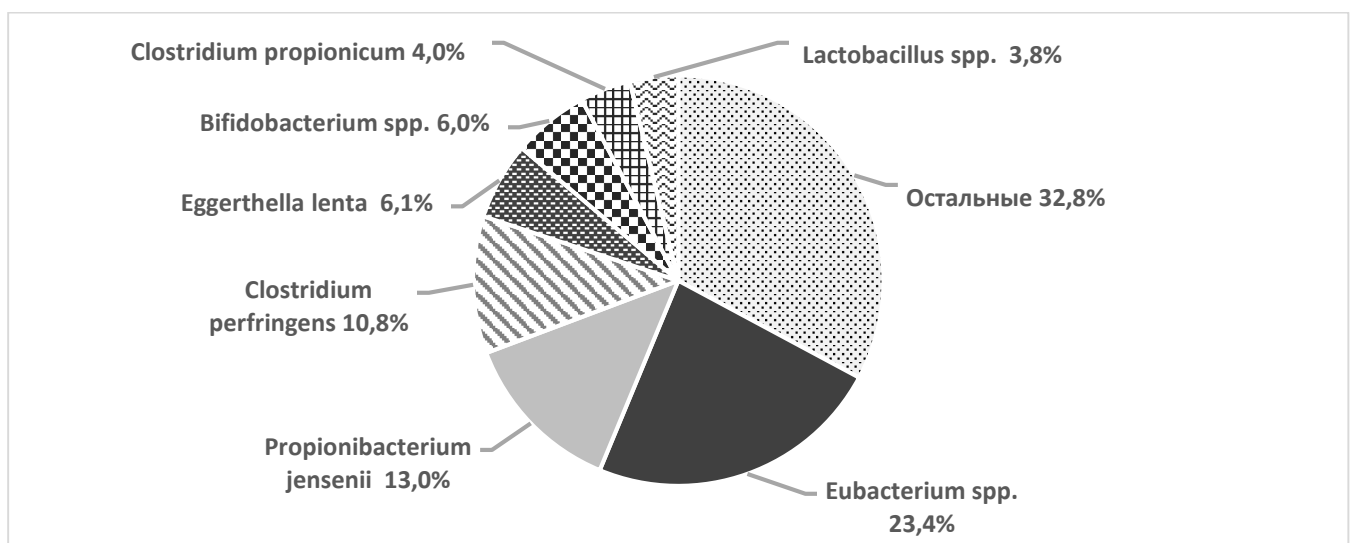


Рисунок 2 – Структура КМ здоровых добровольцев (%)

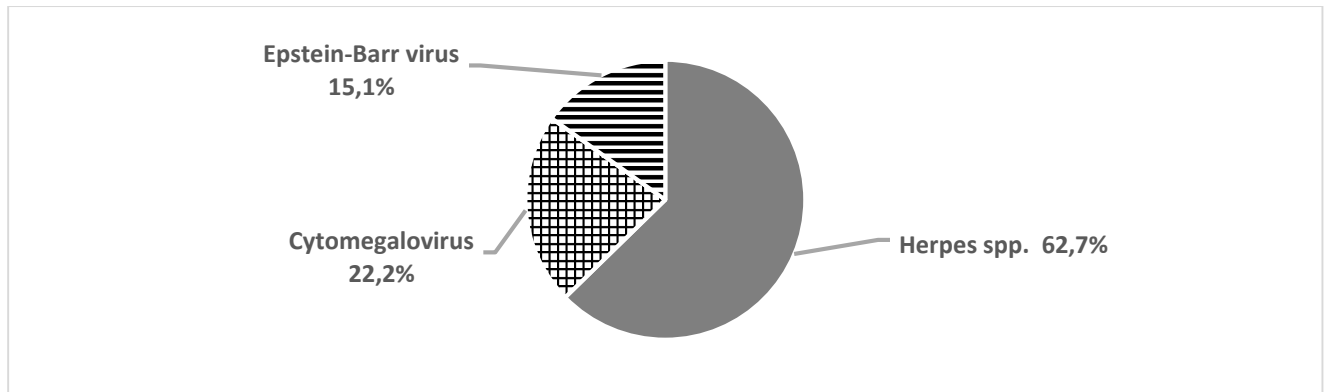


Рисунок 3 – Структура вирусной части КМ здоровых добровольцев (%)

Ассоциации микроорганизмов (группы взаимодействующих популяций микроорганизмов разных видов, формирующие естественные сообщества, существующие в определенных условиях) были изучены с помощью методики корреляции Спирмена. Корреляционный анализ установил достоверные связи *Eubacterium* spp. и *Bacteroides fragilis* ($R: 0,74, p < 0,01$), *Clostridium propionicum* ($R: 0,50, p < 0,05$). Для *Enterococcus* spp. выявлена связь с *Bacillus cereus* ($R: 0,59, p < 0,02$), *Streptococcus* spp. ($R: 0,81, p < 0,01$), *Clostridium* spp. (группа *C. tetani*) ($R: 0,78, p < 0,01$). Для *Bacteroides fragilis* обнаружена ассоциация с *Bifidobacterium* spp ($R: 0,57, p < 0,02$), *Clostridium propionicum* ($R: 0,60, p < 0,01$), и *Eubacterium* spp. ($R: 0,74, p < 0,01$).

Влияние состава кишечной микробиоты на выраженность желудочно-кишечных симптомов

Для исследования связи состава микробиоты и выраженности желудочно-кишечных симптомов по шкале GSRS ($n=49$) была построена корреляционная матрица Кендала-Тау. В данный анализ были включены как пациенты с НИНМП до начала антимикробной терапии, так и группа здоровых добровольцев. Выявлена обратная связь между выраженностью клинических проявлений, характерных для дисбиоза кишечника, и количеством маркеров *Eubacterium* spp. ($R: -0,472$), *Clostridium propionicum* ($R: -0,306$), *Propionibacterium jensenii* ($R: -0,288$) и прямая связь с *Actinomyces* spp ($R: 0,343$) и *Corynebacterium* spp. ($R: 0,275$) ($p < 0,05$).

Для оценки влияния указанных родов бактерий на наличие симптомов со стороны ЖКТ проведен вторичный анализ с построением ROC кривой. Пациенты разделены на две группы, в зависимости от наличия или отсутствия симптомов в предыдущие две недели. В результате ROC-анализа установлено, что снижение количества *Eubacterium* spp. является наиболее прогностически значимым фактором риска в развитии желудочно-кишечных симптомов, а также определено пороговое значение *Eubacterium* spp. $< 151562 \times 10^5$ клеток/г (чувствительность 97%, специфичность 87,5%) (Рисунок 4). Для определения отношения шансов были использованы таблицы сопряженности (критерий Хи-квадрат). Установлено, что количество *Eubacterium* spp. менее 151562×10^5 клеток/грамм является фактором риска развития клинических симптомов дисбиоза кишечника ($p < 0,01$; ОШ: 224,0; ДИ: 18,735-2678,201).

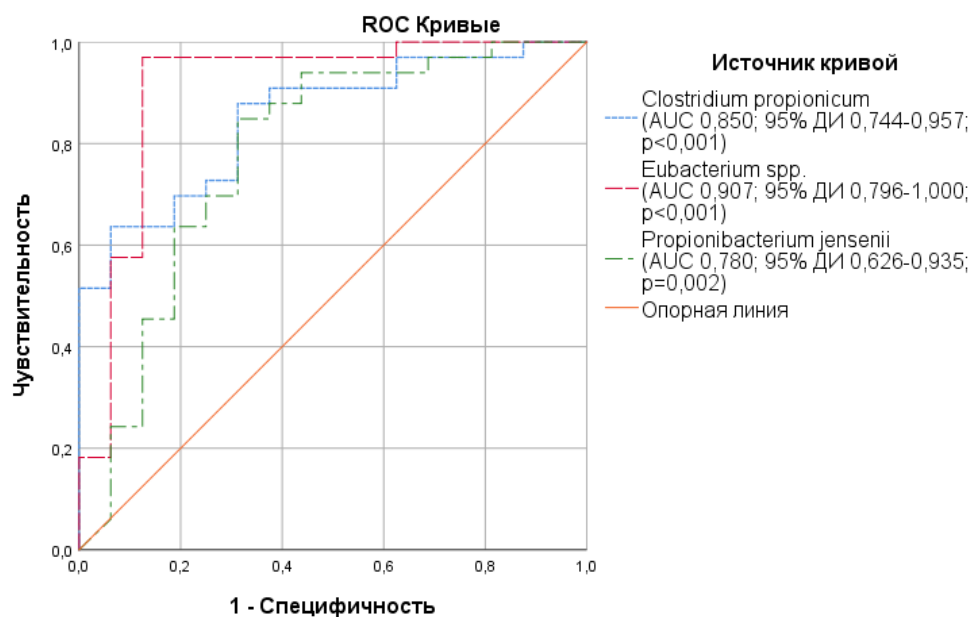


Рисунок 4 – ROC-кривая зависимости развития симптомов дисбиоза кишечника от количества биомаркеров

Оценка проявлений дисбиоза кишечника на примере пациенток с неосложненной инфекцией нижних мочевыводящих путей до начала антимикробной терапии

При опросе пациентов на наличие желудочно-кишечных симптомов, характерных для дисбиоза, жалобы предъявили 28 (85%) пациентов. Наиболее часто предъявлялись жалобы на урчание и вздутие живота (54,5%), метеоризм (39,4%), а также чередование запора и диареи (36,4%) (Таблица 2). Проведена оценка выраженности желудочно-кишечных симптомов у пациенток с НИНМП в предшествующие включению в исследование 7 дней по шкале GSRS, медианный общий балл составил 24 (межквартильный размах (IQR): 12; $n=33$).

Таблица 2 – Частота клинических симптомов, характерных для дисбиоза кишечника, у пациенток с НИНМП ($n=33$)

| Симптом | n (%) |
|---|------------|
| Снижение или отсутствие аппетита | 6 (18,2%) |
| Тошнота | 6 (18,2%) |
| Рвота | 1 (3%) |
| Боль в животе (тупая или схваткообразная) самостоятельная и при пальпации | 8 (24%) |
| Отрыжка | 6 (18,2%) |
| Метеоризм | 13 (39,4%) |
| Урчание, вздутие живота | 18 (54,5%) |
| Чувство неполного опорожнения кишечника | 5 (15,2%) |
| Императивные позывы на дефекацию | 1 (3%) |

Продолжение таблицы 2

| Симптом | n (%) |
|--|------------|
| Запор | 2 (6%) |
| Диарея | 3 (9,1%) |
| Чередование запора и диареи | 12 (36,4%) |
| Каловые массы: | |
| • в виде пробкообразного стула | 3 (9,1%) |
| • овечий кал (при запоре) с примесью слизи | 1 (3%) |
| • гнилостный или кислый запах каловых масс | 1 (3%) |

Связь клинических симптомов дисбиоза кишечника с неосложненной инфекцией нижних мочевыводящих путей

Проведена сравнительная оценка выраженности симптомов со стороны ЖКТ у группы участников без НИИМП (n=16) и группы НИИМП (n=33). Оценка выраженности проводилась с применением опросника GSRS с подсчетом общего количества баллов. Установлено, что пациенты группы НИИМП отмечают более выраженные симптомы со стороны ЖКТ по сравнению со здоровыми добровольцами ещё до начала антимикробной терапии ($p < 0,05$) (Рисунок 5, Таблица 3).

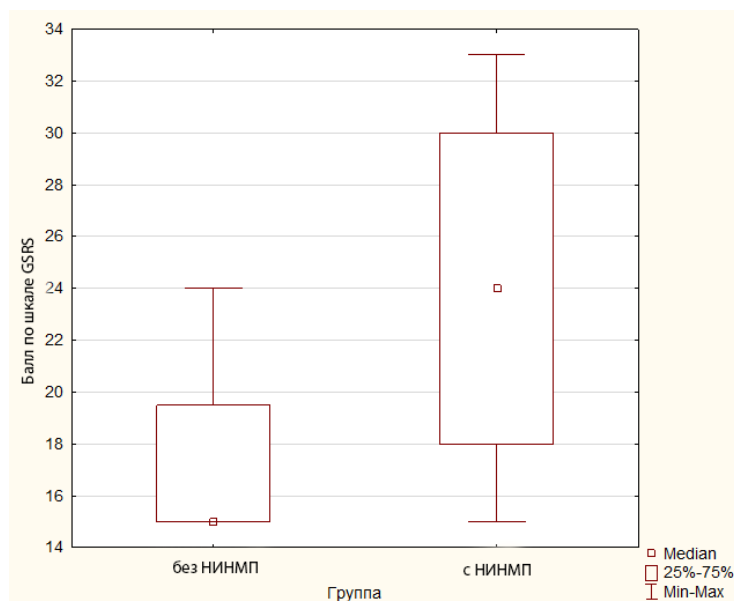


Рисунок 5 – Интенсивность желудочно-кишечных симптомов в баллах по GSRS у группы без НИИМП (n=16) и группы НИИМП (n=33)

Таблица 3 – Сравнение выраженности симптомов со стороны ЖКТ (клинических симптомов дисбиоза кишечника) у пациенток с НИИМП и здоровых добровольцев по шкале GSRS

| | GSRS медианный общий балл | | p |
|---------------------------|---------------------------|-------------------|--------|
| | Группа НИИМП | Группа без НИИМП | |
| Значение, Me (IQR) | 24,0 (18,0; 30,0) | 15,0 (15,0; 19,5) | 0,0003 |

Изучение количественных характеристик кишечной микробиоты пациенток с неосложненной инфекцией нижних мочевыводящих путей до антимикробной терапии

В ходе исследования проведен количественный анализ состава КМ по образцам фекалий, полученных от пациенток группы НИНМП, собранных до начала антимикробной терапии. Среди всех исследуемых микроорганизмов преобладали *Eubacterium* spp. (17,01%), *Clostridium perfringens* (13,87%), *Propionibacterium jensenii* (9,81%), *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 (9,04%), *Bifidobacterium* spp. (6,23%), *Clostridium* spp. (группа *C. tetani*) (5,06%), *Eggerthella lenta* (4,84%), *Lactobacillus* spp. (4,74%). Структура вирусной части микробиоты представлена следующим образом: *Herpes* spp. (52,90%), *Cytomegalovirus* (38,19%), *Epstein-Barr virus* (8,91%) (Рисунки 6, 7).

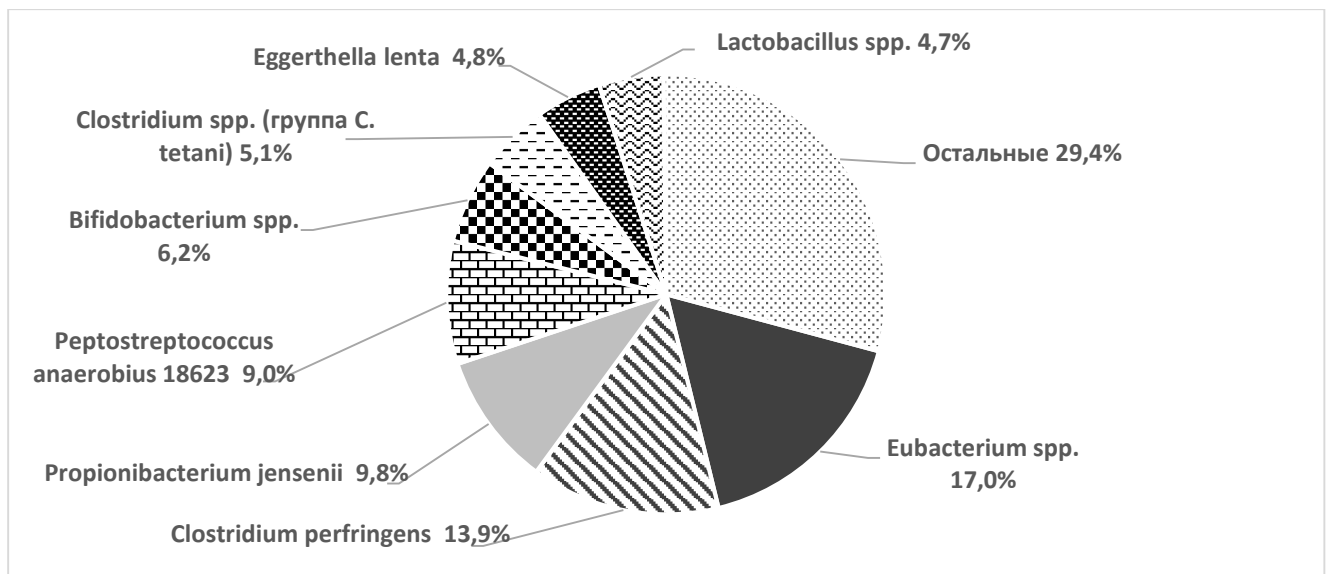


Рисунок 6 – Структура КМ в группе НИНМП (%)

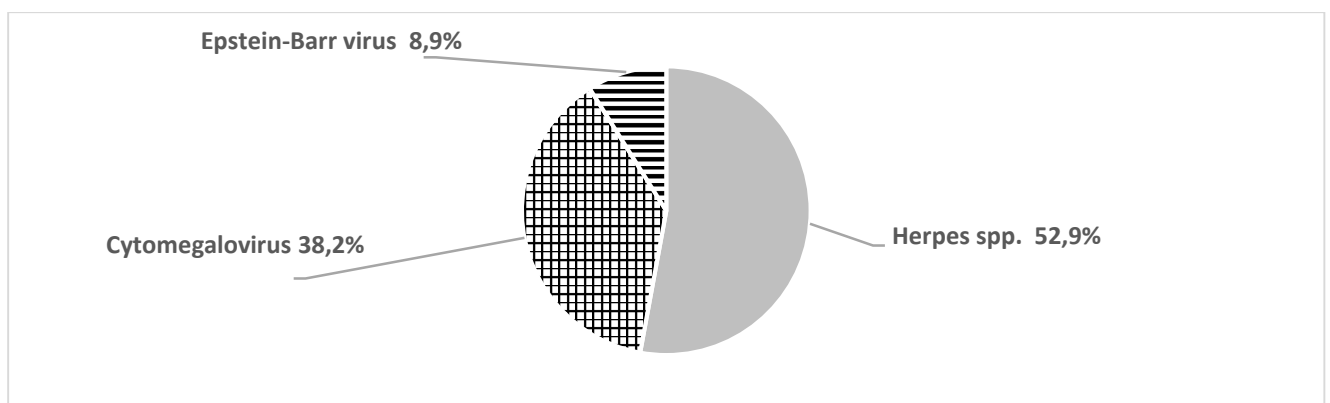


Рисунок 7 – Структура вирусной части КМ в группе НИНМП (%)

В группе НИНМП также проведен корреляционный анализ для выявления существующих ассоциаций микроорганизмов. Установлены отличия в микробных ассоциациях при НИНМП и у здоровых добровольцев еще до начала антимикробной терапии.

Характеристика дисбиоза кишечника на примере пациенток с неосложненной инфекцией мочевыводящих путей до антимикробной терапии

Сравнительный анализ КМ по образцам фекалий группе в НИИМП до начала антимикробной терапии (n=33) и у здоровых добровольцев (n=16) с оценкой статистической значимости различий проводился с применением U критерия Манна-Уитни. Было выявлено достоверное различие между исследуемыми группами по абсолютному количеству следующих микроорганизмов: *Bacillus cereus*, *Cl. hystolyticum/Str. Pneumonia*, *Clostridium propionicum*, *Eubacterium* spp., *Propionibacterium jensenii*, *Alcaligenes* spp./*Klebsiella* spp., *Herpes* spp., а также по сумме маркеров микроорганизмов и по сумме маркеров вирусов (во всех случаях p<0,05) (Таблица 4). Достоверных различий в среднем содержании маркеров *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. выявлено не было (все p>0,05).

Таблица 4 – Сравнительный анализ различий КМ пациенток с НИИМП до антимикробной терапии и здоровых добровольцев

| Маркер | Кол-во микроорганизмов Me (IQR) | | p |
|---|------------------------------------|--------------------------|-------|
| | Пациенты с НИИМП | Здоровые добровольцы | |
| <i>Bacillus cereus</i> | 1974 (1279; 3166) | 3659 (2458; 8322) | 0,011 |
| <i>Cl. hystolyticum/Str. Pneumonia</i> | 0 (0; 55) | 264 (0; 535) | 0,014 |
| <i>Clostridium propionicum</i> | 2561 (506; 4873) | 7585 (2508; 41369) | 0,007 |
| <i>Eubacterium</i> spp. | 71791 (42423; 119775) | 195649 (72058; 268479) | 0,005 |
| <i>Propionibacterium jensenii</i> | 47110 (20644; 76483) | 81774 (36948; 155689) | 0,045 |
| <i>Alcaligenes</i> spp./ <i>Klebsiella</i> spp. | 101 (0; 325) | 512 (108; 726) | 0,043 |
| <i>Herpes</i> spp. | 164 (43; 525) | 950 (508; 1815) | 0,002 |
| Сумма микроорганизмов | 484019 (273609; 656760) | 732786 (476013; 1009381) | 0,020 |
| Сумма маркеров вирусов | 442 (200; 1672) | 1633 (662; 2609) | 0,048 |

Преимущественные различия приходятся следующие микроорганизмы: *Clostridium propionicum*, *Eubacterium* spp., *Propionibacterium jensenii*, которые у пациентов с НИИМП имеют меньшее количественное выражение, чем у здоровых добровольцев (Рисунок 8).

С помощью ROC-анализа определено пороговое значение *Eubacterium* spp. < 151562×10^5 клеток/г, обладающее прогностической ценностью в отношении развития НИИМП (чувствительность 87,9%, специфичность 68,8%) (Рисунок 9). Для вычисления отношения шансов использован критерий Хи-квадрат. Установлено, что количество *Eubacterium* spp. менее 151562×10^5 клеток/грамм является фактором риска развития НИИМП (p<0,01; ОШ: 15,95, ДИ 3,60-70,54). Данное пороговое значение совпадает с

пороговым значением *Eubacterium* spp. в отношении риска развития клинических симптомов дисбиоза кишечника.

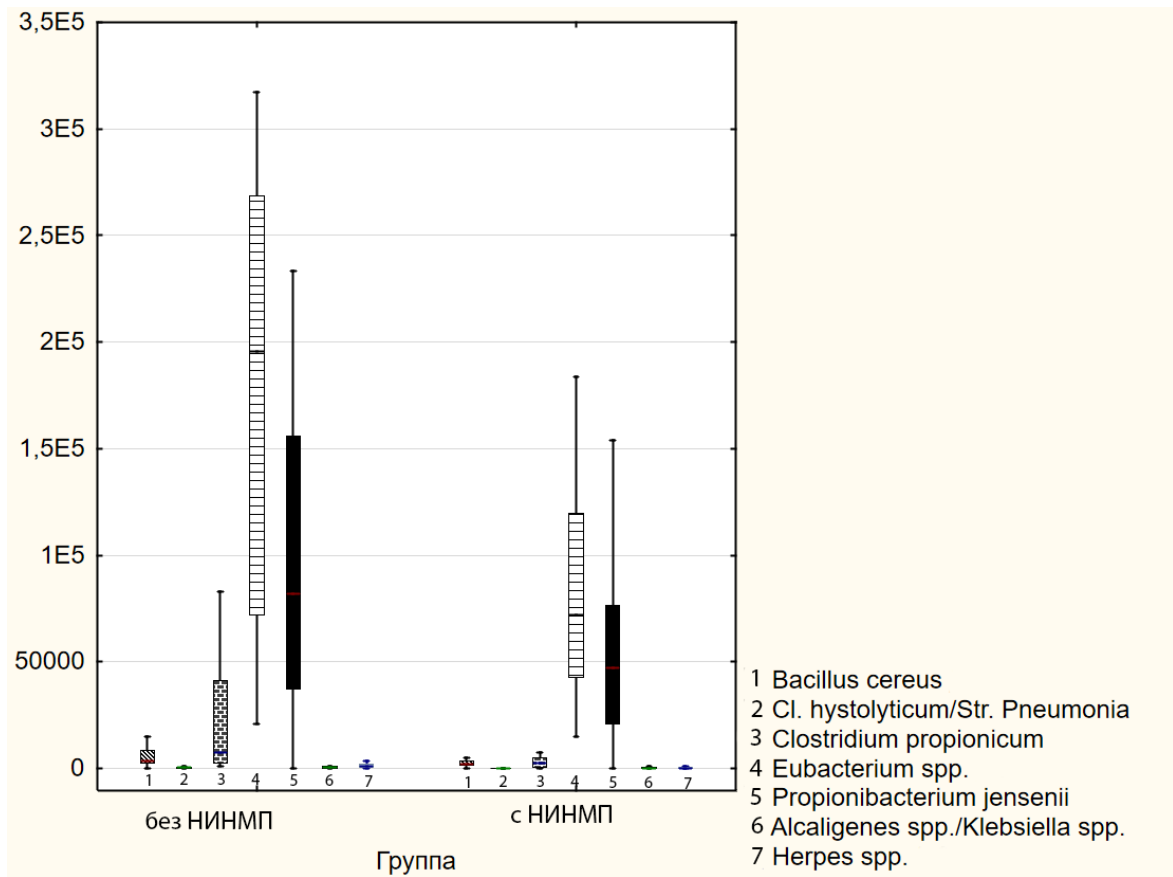


Рисунок 8 – Сравнение КМ пациенток с НИИМП до антимикробной терапии и здоровых добровольцев ($p < 0,05$)

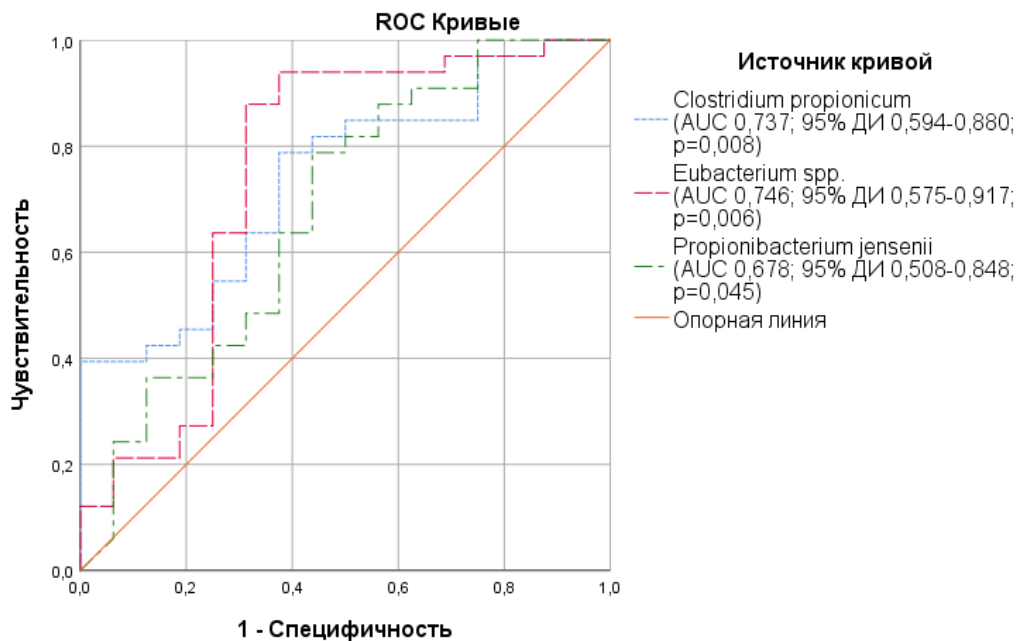


Рисунок 9 – ROC кривая зависимости наличия НИИМП от количества биомаркеров ($n=49$)

Оценка влияния предшествующей антимикробной терапии на кишечную микробиоту

По маркерам *Blautia coccooides*, *Propionibacterium acnes* (*Cutibacterium acnes*), *Moraxella* spp./*Acinetobacter* spp. и *Herpes* spp. установлены значимые отличия в составе КМ образцов пациенток с НИНМП (n=33) в зависимости от использования антибиотиков в предшествующие заболеванию 3 месяца. Пациентки, принимавшие антибиотики (по любой причине) в течение 3 месяцев до включения в исследование, имеют большее среднее количество маркеров указанных условно-патогенных микроорганизмов в образцах фекалий (p<0,05) (Таблица 5).

Таблица 5 – Сравнение количества микроорганизмов в КМ в зависимости от предшествующего применения антимикробных препаратов, Me (IQR)

| Маркер | Прием антимикробных препаратов предшествующие 3 месяца | | p |
|--|--|-----------------|-------|
| | да | нет | |
| <i>Blautia coccooides</i> | 7442 (71; 20833) | 0 (0; 144) | 0,003 |
| <i>Propionibacterium acnes</i> (<i>C. acnes</i>) | 9122 (8300; 19853) | 6510 (0; 14732) | 0,039 |
| <i>Moraxella</i> spp./ <i>Acinetobacter</i> spp. | 220 (45; 556) | 0 (0; 0) | 0,031 |

Оценка эффективности коррекции кишечной микробиоты с помощью метапребиотика

Оценка эффективности коррекции КМ проводилась путём установления статистической значимости изменения среднего количества *Bifidobacterium* spp., *Clostridium propionicum*, *Eubacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Propionibacterium jensenii*. Статистический анализ влияния метапребиотика на состав КМ у пациенток с НИНМП проведен с помощью теста Уилкоксона.

Установлено статистически значимое увеличение численности *Eubacterium* spp. на фоне назначения метапребиотика (p<0,05) (Таблица 6). Увеличение количества *Eubacterium* spp. при дополнении стандартной антимикробной терапии метапребиотиком наблюдалось у 78% (14 из 18) пациенток.

Таблица 6 – Результаты сравнительного анализа состояния КМ до и после лечения при включении в комплексную терапию метапребиотика, $\times 10^5$ клеток/грамм (n=18)

| Маркер | До лечения Me (IQR) | После лечения Me (IQR) | p |
|-------------------------|------------------------|---------------------------|-------|
| <i>Eubacterium</i> spp. | 74975 (29706; 104546) | 78676 (33608; 145037) | 0,047 |

Исследование влияния стандартной антимикробной терапии на КМ при НИНМП так же проводилось с помощью теста Уилкоксона. Для этого проведен анализ ГХМС пациенток с НИНМП до начала терапии и в конце курса антимикробной терапии (группа без добавления метапребиотика). При этом установлено незначительное изменение

количества комменсалов *Bifidobacterium* spp., *Clostridium propionicum*, *Eubacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Propionibacterium jensenii* ($p > 0,05$). Влияние обеих стратегий терапии на *Eubacterium* spp. в виде среднего \log_2 -кратного изменения количества маркеров относительно начала терапии (нулевой точки) отражены на Рисунке 10.

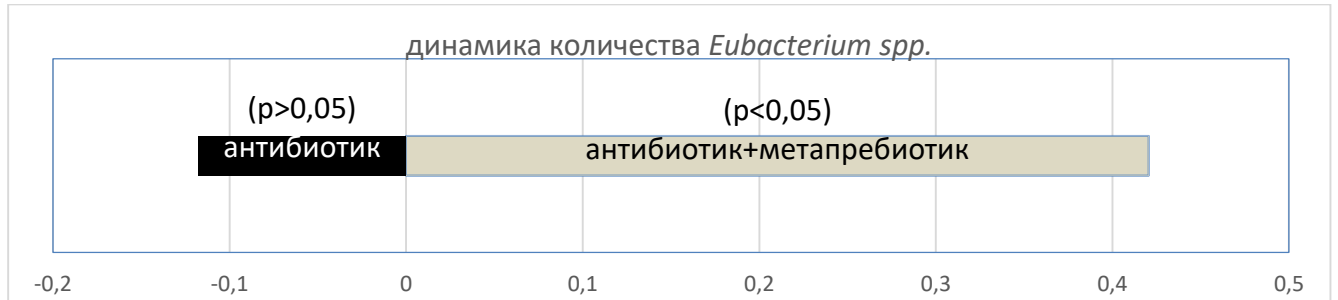


Рисунок 10 – Логарифмический (\log_2 fold change) график кратности изменения среднего количества *Eubacterium* spp. в зависимости от стратегии терапии

С помощью критерия Манна-Уитни был проведен сравнительный анализ состава КМ до и после лечения между подгруппами стандартной антимикробной терапии ($n=15$) и в комбинации с метапребиотиком ($n=18$) (Таблица 7). Установлено, что после лечения количество *Lactobacillus* spp. было достоверно выше в группе комбинированной терапии с метапребиотиком ($p < 0,05$).

Таблица 7 – Результат сравнительного анализа состава КМ после лечения между подгруппами стандартной антимикробной терапии ($n=15$) и в комбинации с метапребиотиком ($n=18$)

| Маркер | Группа без метапребиотика Me (IQR) | Группа с метапребиотиком Me (IQR) | p |
|---------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-------|
| <i>Lactobacillus</i> spp. | 9090 (4877; 20776) | 22750 (14551; 46621) | 0,016 |

Влияние антимикробной терапии в комбинации с метапребиотиком на частоту рецидивов инфекций мочевыводящих путей

Для оценки эффективности различных терапевтических стратегий (только антимикробная терапия и антимикробная терапия с добавлением метапребиотика) было проведено сравнение среднего количества рецидивов цистита на пациента в течение последующего года наблюдения. Всего зарегистрировано 9 пациенток, у которых после лечения возникли рецидивы НИМП: 2 пациентки в группе терапии в комбинации с метапребиотиком, 7 пациенток в группе стандартной антимикробной терапии. У 2 пациенток (по одной в каждой группе) отмечалось 2 рецидива за год наблюдения. Для статистического расчета применялся U-критерий Манна-Уитни. Результаты свидетельствуют о достоверном снижении количества рецидивов ИМП (в среднем в 3 раза) в группе антимикробной терапии в комбинации с метапребиотиком в сравнении с пациентками, получавшими только антимикробную терапию: 0,18 эпизода на человека против 0,54 соответственно ($p < 0,05$). Сравнительный анализ по точному критерию

Фишера (двустороннему) показал, что рецидивы НИИМП достоверно реже возникали в группе антимикробной терапии в комбинации с метапребиотиком в сравнении с пациентами, получавшими только антимикробную терапию: 2 (11%) против 7 (47%) соответственно ($p < 0,05$).

ВЫВОДЫ

1. В структуре КМ здоровых добровольцев преобладают преимущественно комменсальные и некоторые условно-патогенные микроорганизмы, характерные для нормальной КМ. По данным анализа ГХМС по образцам фекалий структура КМ здоровых добровольцев представлена *Eubacterium* spp. (23,4%), *Propionibacterium jensenii* (13,0%), *Clostridium perfringens* (10,8%), *Eggerthella lenta* (6,1%), *Bifidobacterium* spp. (6,0%), *Clostridium propionicum* (4,0%), *Lactobacillus* spp. (3,8%); среднее общее количество бактерий составляет $753777,1 \times 10^5$ клеток/г.

2. Признаки дисбиоза кишечника характерны для пациенток с НИИМП ещё до начала антимикробной терапии по поводу текущего эпизода заболевания. Клинические проявления, характерные для дисбиоза кишечника, у таких пациенток более выражены, чем у лиц без НИИМП. Выраженность клинических проявлений находится в обратной зависимости от количества в КМ представителей *Eubacterium* spp. ($R: -0,472$), *Clostridium propionicum* ($R: -0,306$), *Propionibacterium jensenii* ($R: -0,288$) и прямой зависимости от *Actinomyces* spp ($R: 0,343$) и *Corynebacterium* spp. ($R: 0,275$) ($p < 0,05$).

3. Подтверждением наличия дисбиоза кишечника у пациенток с НИИМП является снижение количества некоторых комменсальных микроорганизмов в составе КМ: *Clostridium propionicum*, *Eubacterium* spp., *Propionibacterium jensenii* ($p < 0,05$). Снижение данных микроорганизмов относительно КМ здоровых добровольцев отмечается ещё до начала антимикробной терапии. В качестве биомаркера дисбиоза кишечника следует рассматривать количество *Eubacterium* spp. Снижение количества *Eubacterium* spp. менее 151562×10^5 клеток/г в образцах фекалий по данным ГХМС является фактором риска развития клинических симптомов дисбиоза кишечника и НИИМП. Данное значение следует использовать для принятия решения о необходимости коррекции КМ.

4. Предшествующая антимикробная терапия у пациенток с НИИМП, проводимая в течение трёх месяцев до включения в исследование, обуславливает повышение в КМ количества условных патогенов *Blautia coccooides*, *Propionibacterium acnes* (*C. acnes*), *Moraxella* spp./*Acinetobacter* spp., *Herpes* spp ($p < 0,05$).

5. Клиническая эффективность метапребиотика в дополнение к стандартной антимикробной терапии при НИИМП подтверждается снижением частоты (11% против 47% в группе без метапребиотика) и количества (0,18 эпизода на человека против 0,54) последующих рецидивов ($p < 0,05$), а также положительной динамикой в виде повышения в КМ количества *Eubacterium* spp. относительно начала терапии и количества *Lactobacillus* spp. относительно группы стандартной антимикробной терапии ($p < 0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При наличии стойких клинических проявлений дисбиоза кишечника, а также у пациенток с рецидивирующим течением НИНМП исследование КМ по образцам фекалий методом ГХМС целесообразно включать в план лабораторного обследования. Дальнейшее ведение этих пациенток следует осуществлять по схеме, представленной на Рисунке 11.

2. Снижение количества бактерий рода *Eubacterium* spp. ниже порогового значения в 151562×10^5 клеток/г по данным ГХМС фекалий следует рассматривать в качестве лабораторного признака дисбиоза кишечника и фактора риска развития НИНМП.

3. Пациентам со стойкими клиническими симптомами дисбиоза кишечника и снижением количества бактерий рода *Eubacterium* spp. ниже порогового значения в 151562×10^5 клеток/г рекомендовано назначение метапребиотика, содержащего олигофруктозу, инулин, кальция лактат по схеме 2 таблетки 3 раза в день в течение 2 недель.

4. В состав комплексной терапии пациенток с рецидивирующей НИНМП следует включать метапребиотик, содержащий олигофруктозу, инулин, кальция лактат по схеме 2 таблетки 3 раза в день в течение 2 недель. По аналогичной схеме данный метапребиотик назначается в случае снижения количества *Eubacterium* spp. меньше порогового значения в 151562×10^5 клеток/г с целью профилактики рецидивов НИНМП.

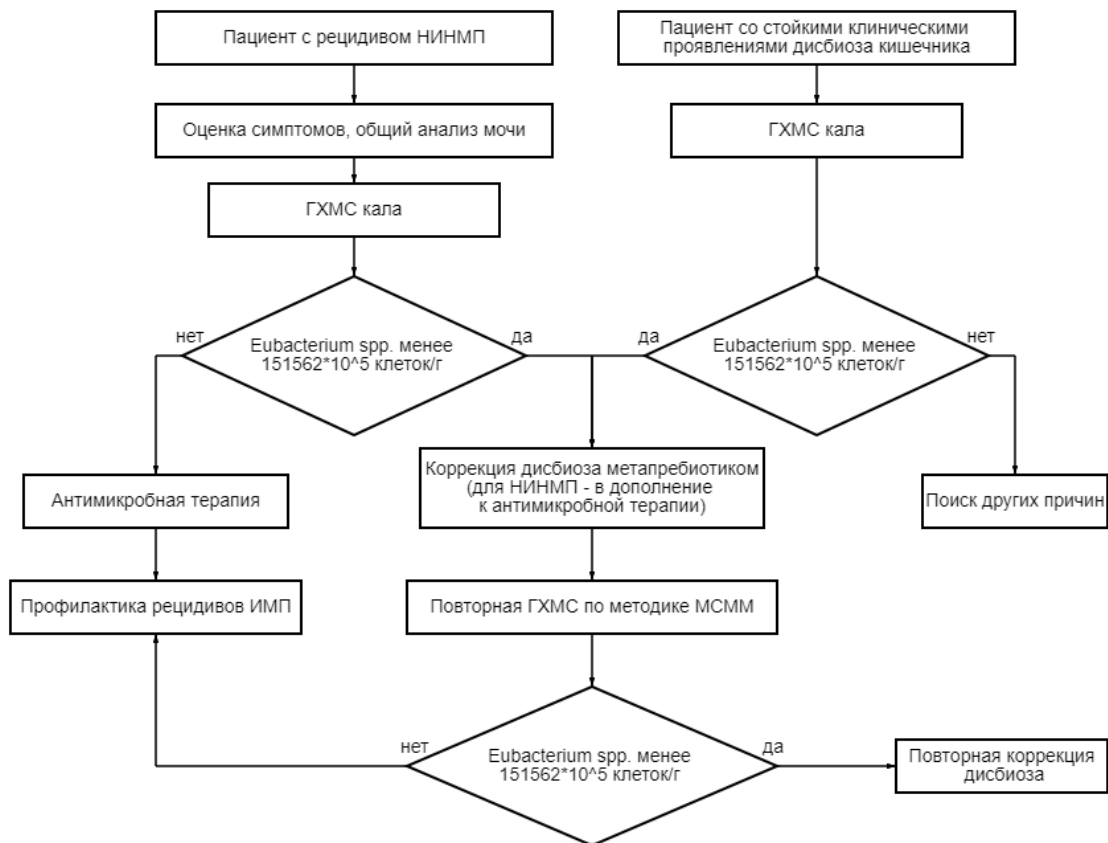


Рисунок 11 – Алгоритм диагностики и коррекции дисбиоза кишечника у пациенток с НИНМП

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ

1. Стуров, Н.В. Патогенетическая роль и возможности коррекции нарушения кишечной микробиоты при инфекции мочевых путей / Н.В. Стуров, С.В. Попов, В.А. Жуков // Антибиотики и химиотерапия. – 2021. – 66(7-8). – 100-108.
2. Стуров, Н.В. Особенности кишечной микрофлоры при возрастных заболеваниях мужчин / Н.В. Стуров, С.В. Попов, В.А. Жуков [и др.] // Трудный пациент. – 2021. – 19 (8). – 37-41.
3. Sturov, N.V. Intestinal Microbiota Correction in the Treatment and Prevention of Urinary Tract Infection / N.V. Sturov, S.V. Popov, V.A. Zhukov et al. // Turkish Journal of Urology. – 2022. – 48(6). – 406-414.
4. Стуров, Н.В. Современные подходы к коррекции микробиоты кишечника / Н.В. Стуров, С.В. Попов, В.А. Жуков // Медицинский совет. – 2021. – №4. – 136-143.
5. Стуров, Н.В. Коррекция дисбиоза кишечника у пациентов с инфекцией мочевых путей (обзор). / Н.В. Стуров, С.В. Попов, В.А. Жуков, Т.В. Ляпунова // Фармакология & фармакотерапия. – 2022. – №3. – 24-27.
6. Стуров, Н.В. Состояние микробиоты кишечника у пациентов с заболеваниями почек и мочевого пузыря / Н.В. Стуров, С.В. Попов, И.И. Беликов, В.А. Жуков, Е.Э. Казанцева // Материалы съезда «II Московский объединённый СЪЕЗД НЕФРОЛОГОВ», Москва 2021, 2-3 декабря. – С. 54-56.
7. Zhukov, V.A. Modulating gut microbiome to improve treatment and prevention of urinary tract infections in women: a prospective clinical study / V.A. Zhukov, S.V. Popov, N.V. Sturov, V.E. Ulyumdzhieva // Сборник статей по материалам девятой международной научно-практической конференции на иностранных языках «Современная парадигма научного знания: актуальность и перспективы», Москва 2021, 7 апреля. – С. 62-63.
8. Стуров, Н.В. Состояние микробиоты кишечника у пациентов с неосложненной инфекцией нижних мочевых путей / Н.В. Стуров, С.В. Попов, В.А. Жуков // Материалы конференции «Диагностика, профилактика и лечение всем пациентам с нефрологическими заболеваниями», Москва, 10 марта. – С. 23-24.
9. Стуров, Н.В. Избранные вопросы амбулаторной нефрологии: учебно-методическое пособие / Н.В. Стуров, С.В. Попов, В.А. Жуков – Москва: РУДН, 2023. – 66 с.
10. Стуров, Н.В. Избранные вопросы амбулаторной урологии: учебно-методическое пособие / Н.В. Стуров, С.В. Попов, В.А. Жуков – Москва: РУДН, 2021. – 59 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВЗК – воспалительные заболевания кишечника,
ГХМС – газовая хроматография-масс-спектрометрия,
ДИ – доверительный интервал,
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт,
ИМП – инфекции мочевыводящих путей,
КМ – кишечная микробиота,
НИНМП – неосложненные инфекции нижних мочевыводящих путей,
ОСТ – отраслевой стандарт,
ОШ – отношение шансов,
СД – сахарный диабет,
СРК – синдром раздраженного кишечника,
ХБП – хроническая болезнь почек,
ACSS – acute cystitis symptom score (шкала «оценка симптомов острого цистита»),
GSRs – gastrointestinal symptom rating scale (шкала оценки гастроэнтерологических симптомов),
ROC – Receiver operating characteristic.

Жуков Владимир Андреевич (Российская Федерация)

Нарушение микробиоты кишечника и её коррекция у пациентов с неосложненной инфекцией мочевыводящих путей

В данное проспективное исследование в качестве модели дисбиоза кишечника включено 33 пациентки, проходивших лечение в амбулаторных условиях в связи с неосложненной инфекцией нижних мочевыводящих путей (НИНМП). Клинические проявления дисбиоза кишечника до начала антимикробной терапии отмечались у 28 (85%) пациенток. С помощью валидизированного опросника качества жизни в гастроэнтерологии (GSRS) установлено, что симптомы дисбиоза кишечника более выражены у пациенток с НИНМП и наблюдаются ещё до начала антимикробной терапии, по сравнению с группой здоровых добровольцев (n=16). Впервые проведено исследование количественных характеристик кишечной микробиоты (КМ) и их взаимосвязи с симптомами дисбиоза кишечника на примере больных с НИНМП с помощью метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХМС), выявлена обратная корреляционная связь между выраженностью симптомов и количеством маркеров *Eubacterium* spp. Впервые определена роль снижения количества *Eubacterium* spp. в качестве фактора риска развития симптомов дисбиоза кишечника и НИНМП. У пациенток с НИНМП установлено достоверное снижение количества *Clostridium propionicum*, *Eubacterium* spp., *Propionibacterium jensenii* ещё до начала антимикробной терапии, в сравнении со здоровыми добровольцами. Впервые установлена эффективность метапребиотика, содержащего олигофруктозу, инулин, кальция лактат в коррекции изменений КМ на фоне антимикробной терапии у пациенток с НИНМП, а также в профилактике рецидивов данного заболевания. Продемонстрирована целесообразность проведения коррекции нарушений КМ у пациенток с НИНМП.

Zhukov Vladimir Andreevich (Russian Federation)

Alterations of gut microbiota and its correction in patients with uncomplicated urinary tract infection

This prospective study included 33 outpatients with episode of uncomplicated lower urinary tract infection (uUTI) who were supposed to be a model of intestinal dysbiosis in the form of acute cystitis (for the first time or in recurrence). Clinical manifestations of intestinal dysbiosis before the start of antimicrobial therapy were observed in 28 (85%) patients. Using a validated questionnaire of quality of life in gastroenterology (GSRS), it was found that the symptoms of intestinal dysbiosis are more pronounced in patients with acute cystitis and were observed even before the start of antimicrobial therapy, compared with the group of healthy volunteers (n=16). For the first time, the quantitative characteristics of the gut microbiota (GM) and relation with the symptoms of intestinal dysbiosis were studied using the gas chromatography-mass spectrometry (GCMS) method on the example of patients with uUTI, and an inverse correlation was revealed between the severity of symptoms and the number of markers of *Eubacterium* spp. The role of reducing the amount of *Eubacterium* spp. was determined for the first time as a risk factor for the development of symptoms of intestinal dysbiosis and uUTI. In patients with acute cystitis, a significant decrease in the number of *Clostridium propionicum*, *Eubacterium* spp., *Propionibacterium jensenii* was found even before the start of antimicrobial therapy, compared with healthy people. For the first time, the effectiveness of a metaprebiotic containing oligofructose, inulin, and calcium lactate in correcting changes in the intestinal microbiota against the background of antimicrobial therapy in patients with uUTI, as well as in preventing relapses of this disease, has been established. The expediency of correction of GM disorders in patients with uUTI has been demonstrated.