

ОЦІНКА МІКРОБІОЦЕНОЗУ ТОВСТОГО КИШЕЧНИКА ТА КИШКОВОЇ ПРОНИКНОСТІ У ПІДЛІТКІВ ІЗ ОЖИРІННЯМ

Проф. Л. А. СТРАШОК¹, М. А. ХОМЕНКО¹,
канд. біолог. наук Т. П. ОСОЛОДЧЕНКО²

¹ Харківська медична академія післядипломної освіти,

² ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова Національної академії
медичних наук України», Харків, Україна

Вивчено антропометричні показники, рівень зонуліну, ендотоксемії, інтерлейкінів, показників мікробіоти товстої кишки у підлітків з ожирінням. Установлено кореляційні зв'язки між антропометричними показниками і кишковою проникністю, активацією низькоінтенсивного запалення.

Ключові слова: зонулін, ліпополісахарид, інтерлейкіни, мікробіота, підлітки, ожиріння.

На сьогодні ожиріння у дітей вже набуло рис епідемії. За даними ВООЗ, на надлишкову вагу та ожиріння страждають 340 млн дітей та підлітків у віці від 5 до 19 років і близько 41 млн — до 5 років [1]. Ожиріння асоційовано з розвитком низки станів: цукрового діабету 2-го типу, метаболічного синдрому, артеріальної гіпертензії, атерогенної дисліпідемії, неалкогольної жирової хвороби печінки тощо [2].

Якісні та кількісні зміни характеру харчування у дітей та підлітків з ожирінням, а саме — вживання їжі, багаті жирами та легкозасвоюваними вуглеводами, зменшення споживання клітковини тощо, можуть впливати на біоценоз кишечника та призводити до змін складу кишкової мікробіоти [3].

Одним із механізмів, запропонованих для пояснення розвитку та прогресування ожиріння й пов'язаної з ним патології, є бактеріальна транслокація та ендотоксемія, які, як вважають, можуть бути зумовлені дисбіозом та підвищеною кишковою проникністю [4]. Дисбіоз розглядають як тригер для підвищеного синтезу зонуліну — білка, що є одним із регуляторів кишкової проникності шляхом модуляції міжклітинних щільних з'єднань. Вважається, що зонулін активує рецептор епідермального фактора росту шляхом прямого зв'язування та/або через рецептор, який активується протеазами. Це призводить до розширення міжклітинних контактів у стінці кишечника і, як наслідок, підвищення проникності кишкового бар'єра (так званий leaky gut syndrome) [5].

У кількох роботах було показано вищий рівень циркулюючого зонуліну у дорослих людей, хворих на ожиріння, порівняно зі здоровими [6, 7]. Сучасні дослідження доводять, що зміни кишкової проникності при ожирінні спостерігаються у дітей і підлітків. Т. Kume et al. [8] у своїй роботі показали, що діти з ожирінням мали достовірно вищий рівень зонуліну, ніж їх здорові однолітки. Аналогічні дані отримано й у дослідженні J. H. Kim et al. [9].

Багато компонентів мікробних клітин, включаючи ліпополісахарид (ЛПС) грамнегативних бактерій, флагелін, ліпотейхоєву кислоту та пептидоглікани, є так званими патогенасоційованими молекулярними патернами, що розпізнаються специфічними Toll-подібними рецепторами. За нормальних умов невелика кількість бактеріальних продуктів із кишечника надходить у печінку через порталну циркуляцію, де елімінується клітинами Купфера [4]. Припускають, що підвищення проникності кишкового бар'єра може призводити до надмірного надходження бактерій та їх продуктів до кровотоку і, таким чином, через стимуляцію Toll-подібних рецепторів викликати активацію сигнальних каскадів і вивільнення великої кількості цитокінів та хемокинів. Це запускає процес хронічного уповільненого запалення, що дає поштовх прогресуванню ожиріння та його ускладнень [6].

Досліджено деякі маркери низькоінтенсивного запалення у дітей із ожирінням. Повідомляється, що діти з ожирінням мають підвищені рівні циркулюючих інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) [10, 11] та інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) [11] порівняно зі здоровими. Однак у роботах J. S. Chang et al. [12] та M. Behrooz et al. [13] виявлено нижчий рівень ІЛ-10 у дітей із надмірною масою тіла порівняно із однолітками з нормальною вагою. У дослідженні N. A. Ismail et al. [14] рівень ЛПС був вищий у дітей, хворих на ожиріння, порівняно з однолітками без зайвої ваги. Проте, наприклад, у роботі R. V. Radilla-Vázquez et al. [15] не відзначено статистично значущої різниці у рівні ендотоксемії залежно від наявності ожиріння в обстежених осіб. Актуальність проблеми ожиріння у дітей зумовлює необхідність подальших досліджень у цьому напрямку.

Мета нашого дослідження — вивчити показники мікробіоти товстої кишки, зонуліну, ЛПС, ІЛ-6 та ІЛ-10 у підлітків, хворих на ожиріння.

Проведено обстеження 74 підлітків з ожирінням (основна група), серед яких було 47,3% юнаків, 52,7% дівчат віком 12–17 років, що перебували на стаціонарному лікуванні у ДУ «Ін-

Показники лабораторного дослідження обстежених підлітків ($M \pm m$)

| Показник | Основна група, $n = 74$ | Контроль, $n = 12$ | p |
|----------------|-------------------------|--------------------|------------|
| Зонулін, нг/мл | 94,43±4,48 | 14,64±5,36 | $p < 0,01$ |
| ІЛ-6, пг/мл | 2,11±0,12 | 1,14±0,18 | $p < 0,01$ |
| ІЛ-10, пг/мл | 4,09±0,35 | 2,47±0,48 | $p > 0,05$ |
| ЛПС, нг/мл | 11,36±0,55 | 11,12±0,36 | $p > 0,05$ |

ститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України» (м. Харків), та 12 їх здорових однолітків (контрольна група). Діагноз «ожиріння» встановлювали згідно з МКХ-10. Під час проведення антропометрії визначали зріст стоячи, масу тіла, обвід талії (ОТ), обвід стегон (ОС), розраховували співвідношення ОТ/ОС, ОТ/зріст, індекс маси тіла (ІМТ).

Під час лабораторного дослідження методом імуноферментного аналізу визначали рівні зонуліну (Elabscience), ЛПС (Abbexa), ІЛ-6 та ІЛ-10 («Вектор-Бест»).

У 55 хворих проведено мікробіологічне дослідження випорожнень за стандартною методикою. Ступінь вираженості мікробіологічних змін визначали на підставі Уніфікованого клінічного протоколу медичної допомоги дітям із захворюваннями органів травлення (наказ МОЗ України від 29.01.2013 Р. № 59).

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням пакетів комп'ютерних програм Excel 2010, Statistica. Дані наведено як середнє значення та середню похибку середнього арифметичного ($M \pm m$). Для оцінки зв'язку між антропометричними та лабораторними параметрами проводили кореляційний аналіз. Різниця між показниками вважалася достовірною при $p < 0,05$.

У ході клініко-анамнестичних досліджень виявлено, що у 68,9% хворих відзначався підвищений апетит, у 52,7% — диспепсичні симптоми, у 51,3% — біль у животі різної локалізації, у 20,3% — нестійкі випорожнення, у 18,9% — закрепи.

У результаті вивчення антропометричних показників статистично значуще вищими у підлітків з ожирінням порівняно із підлітками контрольної групи були ІМТ ($31,15 \pm 0,42$ та $18,97 \pm 0,49$ кг/м², $p < 0,01$), ОТ ($94,28 \pm 1,09$ та $66,42 \pm 1,11$ см, $p < 0,01$), ОС ($111,49 \pm 0,68$ та $90,83 \pm 1,50$ см, $p < 0,01$), ОТ/ОС ($0,84 \pm 0,01$ та $0,73 \pm 0,01$, $p < 0,01$), ОТ/зріст ($0,56 \pm 0,01$ та $0,39 \pm 0,01$, $p < 0,01$).

Під час аналізу рівнів зонуліну отримано статистично значуще вищий рівень показника у хворих підлітків ($94,43 \pm 4,48$ нг/мл) порівняно з контрольною групою ($14,64 \pm 5,36$ нг/мл), $p < 0,01$. Дані щодо зонуліну можуть свідчити про порушення цілісності кишкового бар'єра у підлітків з ожирінням (таблиця).

В ході дослідження цитокінового профілю виявлено статистично значуще вищий рівень прозапального ІЛ-6 у пацієнтів основної групи

($2,11 \pm 0,12$ пг/мл) порівняно з обстеженими контрольною групи ($1,14 \pm 0,18$ пг/мл) ($p < 0,01$), що свідчить про напруження імунної відповіді у підлітків із ожирінням. Рівень ІЛ-10 був вищим у хворих, але різниця не досягала статистичної значущості ($p > 0,05$) (таблиця). Це може свідчити про активацію протизапальних механізмів у підлітків, хворих на ожиріння.

Нами не встановлено значущої різниці між хворими та підлітками контрольної групи під час порівняння рівнів ЛПС, що узгоджується з даними [15] та відрізняється від результатів дослідження [14]. Відомо, що ЛПС циркулюють у крові у «вільній» та «зв'язаній» формах. У літературі зазначалося, що частина ЛПС, зв'язана з ліпопротеїдами, може не виявлятися лабораторними методами [16]. Також відома роль печінки у метаболізмі та кліренсі ЛПС, а отримані нами результати, можливо, свідчать про високий детоксикаційний потенціал печінки у підлітковому віці.

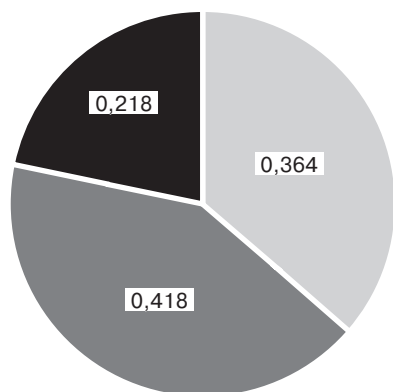
Не встановлено статистично значущої різниці між рівнями лабораторних показників залежно від статі пацієнтів.

Проведено кореляційний аналіз антропометричних та лабораторних показників. У групі хворих відзначено статистично значущий позитивний зв'язок між зонуліном і ІМТ ($r = 0,30$, $p < 0,01$) та співвідношенням ОТ/зріст ($r = 0,24$, $p < 0,05$), між ІЛ-6 і ІМТ ($r = 0,36$, $p < 0,01$), ОТ ($r = 0,24$, $p < 0,05$), ОБ ($r = 0,31$, $p < 0,01$), ОТ/зріст ($r = 0,34$, $p < 0,01$). Отримані дані свідчать про зв'язок між кишковою проникністю, прозапальними реакціями та масою тіла й абдомінальним типом жиророзподілу. У контрольній групі не виявлено статистично значущих кореляційних зв'язків між лабораторними та антропометричними показниками.

Аналіз видового та кількісного складу мікрофлори товстої кишки у підлітків з ожирінням показав, що у 78,2% із них спостерігалися дисбіотичні порушення (1-го ступеня — у 36,4% випадків, 2-го ступеня — у 41,8% хворих) (рисунок).

Основними ознаками дисбіозу у хворих було зменшення облігатної автохтонної мікрофлори: біфідобактерій, лактобактерій, бактероїдів. Зниження облігатної мікрофлори створює умови для зростання рівнів умовно патогенної. У нашому дослідженні у 52,7% хворих висівали гриби роду кандиди, у 30,9% — клостридії, у 23,6% — клібсієлу, у 14,5% — ентеробактер, у 3,6% — протей.

Проведено кореляційний аналіз між антропометричними показниками та показниками мікрофлори товстої кишки залежно від статі. У дівчат



Показники мікробіологічного дослідження випорожнень хворих підлітків: □ – дисбіоз 1-го ступеня; ■ – дисбіоз 2-го ступеня; ■ – дисбіоз відсутній

визначено позитивний зв'язок між рівнем стафілококу та ОТ ($r = 0,36$, $p < 0,05$). У юнаків не відзначено кореляційних зв'язків між зазначеними групами показників.

Аналіз кореляційних взаємозв'язків між статтю та лабораторними показниками встановив у хлопців позитивний зв'язок між рівнями клебсієли та зонуліну ($r = 0,42$, $p < 0,05$) і негативний – між рівнями зонуліну та бактероїдів ($r = -0,41$, $p < 0,05$). У дівчат визначався позитивний зв'язок між рівнями пептококів та зонуліну ($r = 0,51$, $p < 0,05$) і ІЛ-6 ($r = 0,47$, $p < 0,05$), стафілококів та зонуліну ($r = 0,46$, $p < 0,05$) і ІЛ-6 ($r = 0,49$, $p < 0,05$).

Під час аналізу лабораторних показників і показників мікрофлори товстого кишечника встановлено, що при 1-му ступені дисбіозу відзначається позитивний зв'язок між рівнями пептококів і зонуліну ($r = 0,61$, $p < 0,05$) та ІЛ-6 ($r = 0,44$, $p < 0,05$). При 2-му ступені дисбіозу відзначено позитивний зв'язок між рівнями стафілококів та ІЛ-6 ($r = 0,43$, $p < 0,05$), пептококів і зонуліну ($r = 0,56$, $p < 0,05$), стафілококів і зонуліну ($r = 0,37$, $p < 0,05$), пептококів та ІЛ-6 ($r = 0,38$, $p < 0,05$), клебсієли та ЛПС ($r = 0,36$, $p < 0,05$).

Відомо, що переважна частина мікробіоти кишечника людини представлена бактеріями, які на-

лежать до одного з чотирьох філотипів: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* та *Proteobacteria*. Мікроорганізми *Firmicutes* та *Bacteroidetes* становлять близько 90% дистальної мікрофлори кишечника, тому від їх співвідношення значно залежить стабільність кишкової мікробіоти та пов'язаний із нею стан кишкового бар'єра [17]. У низці досліджень за участі як дорослих, так і дітей виявлено, що ожиріння асоційовано зі збільшенням чисельності *Firmicutes* та зменшенням *Bacteroidetes*, однак в інших роботах було зазначено протилежне [18, 19]. Отже, визначені нами кореляційні зв'язки, можливо, свідчать про переважну роль певної частини мікрофлори у регуляції стану кишкового бар'єра та кишкової проникності.

Отримані дані можуть свідчити про існування зв'язку між станом кишкового бар'єра, особливостями складу мікробіоти кишечника та розвитком ожиріння у підлітків.

У ході дослідження ми дійшли таких висновків. У підлітків із ожирінням встановлено ознаки низькоінтенсивного запалення, про що свідчить достовірне підвищення рівня ІЛ-6 та тенденція до підвищення рівня ІЛ-10 порівняно з підлітками, які мають нормальну вагу. Зафіксовано достовірне підвищення рівня зонуліну у підлітків, хворих на ожиріння, що може свідчити про підвищену кишкову проникність. Установлено позитивні кореляційні зв'язки між масою тіла, абдомінальним типом жиророзподілу і підвищенням кишкової проникності та активацією низькоінтенсивного запалення.

Ожиріння супроводжується формуванням кишкового дисбіозу 1-го та 2-го ступенів у 78,2% хворих, що характеризується підвищенням рівня умовно патогенних представників мікрофлори кишечника та зменшенням кількості представників облігатної її частини.

Отримані результати є підґрунтям для гармонізації режиму та стилю харчування, що сприяє існуванню нормальної мікрофлори кишечника. За наявності дисбіотичних порушень у лікуванні доцільною є корекція кишкового дисбіозу та відновлення кишкового бар'єра.

Список літератури

1. WHO. Commission on ending childhood obesity. Facts and figures on childhood obesity. Geneva, 2017.
2. Wittcopp C., Conroy R. Metabolic syndrome in children and adolescents // Pediatrics in review. 2016. Vol. 37, № 5. P. 193–202. doi: <https://doi.org/10.1542/pir.2014-0095>
3. Microbiome and NAFLD: potential influence of aerobic fitness and lifestyle modification / M. Panasevich et al. // Physiol Genomics. 2017. Vol. 49, № 8. P. 385–399. doi: <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00012.2017>
4. The role of the gut microbiota in NAFLD / C. Leung et al. // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2016. Vol. 13, № 7. P. 412–425. doi: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.85>
5. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer // Physiological reviews. 2011. Vol. 91, № 1. P. 151–175. doi: <https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2008>
6. Ohlsson B., Orho-Melander M., Nilsson P. Higher levels of serum zonulin may rather be associated with increased risk of obesity and hyperlipidemia, than with gastrointestinal symptoms or disease manifestations // Int. J. Mol. Sci. 2017. Vol. 18, № 3. P. 582. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms18030582>

7. Gut microbiota, microinflammation, metabolic profile, and zonulin concentration in obese and normal weight subjects / A. Zak-Gołąb et al. // *Int. J. Endocrinol.* 2013. Vol. 2013. P. 1–9. doi: <https://doi.org/10.1155/2013/674106>
8. The relationship between serum zonulin level and clinical and laboratory parameters of childhood obesity / T. Kūme et al. // *J. of clinical research in pediatric endocrinology.* 2017. Vol. 9, № 1. P. 31–38. doi: <https://doi.org/10.4274/jcrpe.3682>
9. Zonulin level, a marker of intestinal permeability, is increased in association with liver enzymes in young adolescents / J. Kim et al. // *Clinica Chimica Acta.* 2018. Vol. 481. P. 218–224. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.03.005>
10. Relationship between immune parameters and non-alcoholic fatty liver disease in obese children / J. Shi et al. // *Indian Pediatrics.* 2017. Vol. 54, № 10. P. 825–829. doi: <https://doi.org/10.1007/s13312-017-1143-x>
11. Elevated tumour necrosis factor-alpha was associated with intima thickening in obese children / L. Bo et al. // *Acta Paediatrica.* 2017. Vol. 106, № 4. P. 627–633. doi: <https://doi.org/10.1111/apa.13737>
12. Interleukin 10 and clustering of metabolic syndrome components in pediatrics / J. Chang et al. // *Eur. J. of Clinical Investigation.* 2014. Vol. 44, № 4. P. 384–394. doi: <https://doi.org/10.1111/eci.12247>
13. Behrooz M., Vaghef-Mehrabany E., Ostadrahimi A. Different spexin level in obese vs normal weight children and its relationship with obesity related risk factors // *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 2020. Vol. 30, № 4. P. 674–682. doi: <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.11.008>
14. Intestinal microbiota and serum LPS level and correlation to fatty liver in obese Egyptian children / N. Ismail et al. // *RJPBCS.* 2014. Vol. 5, № 6. P. 646–653.
15. Gut microbiota and metabolic endotoxemia in young obese mexican subjects / R. Radilla-Vázquez et al. // *Obesity facts.* 2016. Vol. 9, № 1. P. 1–11. doi: <https://doi.org/10.1159/000442479>
16. Endotoxin may not be the major cause of postprandial inflammation in adults who consume a single high-fat or moderately high-fat meal / Z. Mo et al. // *The J. of Nutrition.* 2020. Vol. 150, № 5. P. 1303–1312. doi: <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa003>
17. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness / A. Cotillard et al. // *Nature.* 2013. Vol. 500, № 7464. P. 585–588. doi: <https://doi.org/10.1038/nature12480>
18. Childhood obesity and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the gut microbiota: a systematic review / C. Indiani et al. // *Child. Obes.* 2018. Vol. 14, № 8. P. 501–509. doi: <https://doi.org/10.1089/chi.2018.0040>
19. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients / F. Magne et al. // *Nutrients.* 2020. Vol. 12, № 5. P. 1474. doi: <https://doi.org/10.3390/nu12051474>

ОЦЕНКА МИКРОБИОЦЕНОЗА ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА И КИШЕЧНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ У ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ

Л. А. СТРАШОК, М. А. ХОМЕНКО, Т. П. ОСОЛОДЧЕНКО

Изучены антропометрические показатели, уровень зонулина, эндотоксемии, интерлейкинов, показателей микробиоты толстой кишки у подростков с ожирением. Установлены корреляционные связи между антропометрическими показателями и кишечной проницаемостью, активацией низкоинтенсивного воспаления.

Ключевые слова: зонулин, липополисахарид, интерлейкины, микробиота, подростки, ожирение.

EVALUATION OF MICROBIOCENOSIS OF LARGE INTESTINE AND INTESTINAL PERMEABILITY IN OBESE ADOLESCENTS

L. A. STRASHOK, M. A. KHOMENKO, T. P. OSOLODCHENKO

Anthropometric indices, the level of zonulin, endotoxemia, interleukins, indices of the colon microbiota in obese adolescents have been studied. Correlations between anthropometric parameters and intestinal permeability, activation of low-intensity inflammation have been established.

Key words: zonulin, lipopolysaccharide, interleukins, microbiota, adolescents, obesity.

Надійшла 12.10.2020