

Важность бутират продуцирующих бактерий в микробиоте кишечника для иммунного системного воспаления при воспалительных заболеваниях кишечника.

Научный руководитель – Решетова Надежда Владимировна

Фроян Алина Рубеновна

Студент (бакалавр)

Медицинский университет «Реавиз», Самара, Россия

E-mail: A.f_87@mail.ru

Важность бутират продуцирующих бактерий в микробиоте кишечника для иммунного системного воспаления при воспалительных заболеваниях кишечника.

Авторы- Фроян А.Р.

Научный руководитель - Решетова Н.В.

Актуальность-настоящее время, наука всё больше подтверждает важность влияния кишечной микробиоты на организм, как важно ключевого регулятора иммунной системы [1]. Среди большого количества бактерий, которые населяют кишечник, большое значение имеет группа бутират-продуцирующих симбионтов (представители-Firmicutes: Eubacterium rectale, Faecalibacterium prausniti, Clostridium butiratum), данные микроорганизмы продуцируют короткоцепочечную жирную кислоту, а именно бутират. Бутират является важной сигнальной молекулой, имеющий противовоспалительный потенциал [5]. Дело в том что бутират ингибирует ядерный фактор (NF- κ B), при этом снижая синтез провоспалительных цитокинов-интерлейкина 6 (ИЛ-6), Фактор Некроза Опухоли Альфа (ФНО- α), также интерлейкина 1 β . Это влияет на дифференцировку Т-регуляторных лимфоцитов -Treg, которые экспрессируют транскрипционный фактор Fox P3 [5,6]. При дисбиозе кишечника, дефицит бутирата, может являться фактором риска развития системного хронического воспаления.

Цель исследования- найти наличие корреляционной связи между показателями иммунного системного воспаления (количество Treg-клеток, и уровнем провоспалительных цитокинов, таких как- ФНО- α , ИЛ-6, и ИЛ-1 β) и характеристикой количества бутират-продуцирующих бактерий (по методу газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС), на основе анализа короткоцепочечных жирных кислот) у пациентов, имеющих воспалительные заболевания кишечника (ВЗК).

Материалы и методы- в сравнительное проспективное исследование включена основная группа (n=30)- пациенты с язвенным колитом в стадии умеренного или лёгкого обострения, а также пациенты с болезнью Крона. Контрольная группа (n=30)- пациенты, которые сопоставимы по возрасту и полу, условно здоровые.

Критерии включения- приём пробиотиков, иммуносупрессоров, и антибиотиков. Также проведение колоноскопии, не ранее чем за месяц до исследования.

Лабораторные методы- проведение всем пациентам забора венозной крови, в целях определения концентрации цитокинов, таких как-интерлейкин 6, интерлейкин 1 β , Фактор Некроза Опухоли Альфа. Анализ проведён методом иммуноферментного анализа. Для количественной оценки короткоцепочечных жирных кислот, продуцирующих пропионат, бутират и ацетат, был проведён забор образцов кала и анализ методом газовой хромато-масс-спектрометрии, по методу Г.А. Осипова.

Биоинформатический анализ- в целях филогенетической идентификации бактерий, продуцирующих бутират использовалась программное обеспечение UGENE. Отбор рибонуклеиновой рибосомальной кислоты (рРНК) последовательностей по Гену 16 S, происходил из базы данных VCB1 Nucleotide Database. Поисковой запрос произведён по

"Clostridium butyricum" [Organism] AND 16S rRNA. Критериями отбора являлись-тип молекул DNA/RNA; тип последовательности-Nucleotide, диапазон длины последовательности - 1300—1700 пар оснований; клиническая активность воспалительных заболеваний кишечника оценивалось по индексам Майро для язвенного колита, и для болезни Крона по индексам CDAI.

Обработка статистических данных выполнена с использованием критериев Стьюдента, и коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты-у основной группы пациентов с воспалительным заболеванием кишечника было выявлено статистически значимое снижение концентрации бутирата в кале ($p < 0,001$), в отличие от контрольной группы ($4,0 \pm 0,6$ ммоль/л). Анализ филогенетического древа бактерий, выполненный на программе UGENE, подтвердил присутствие ключевых таксонов, продуцирующих бутират, в микробиоте исследованных пациентов.

Также наблюдалось увеличение уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови (ИЛ-6- $15,2 \pm 3,1$ пг/мл в контроле, $p < 0,01$), у пациентов с воспалительным заболеванием кишечника. Корреляционный анализ показал большую отрицательную связь между уровнем корреляции интерлейкина 6 ($r = -0,72$; $p < 0,001$), уровнем бутирата. А также отрицательную связь с фактором некроза опухолей Альфа (ФНО-а). Наибольшая отрицательная корреляция была зафиксирована между индексом клинической активности заболевания ($r = -0,80$; $p < 0,001$), и уровнем бутирата.

Выводы-

1- анализ филогенетического древа с использованием базы данных NCBI, и программного обеспечения UGENE, даёт возможность достоверно оценить генетическое разнообразие и идентифицировать бутират-продуцирующие бактерии.

2- у пациентов с воспалительным заболеванием кишечника наблюдалось достоверное снижение уровня бутирата в кишечнике, которая в системном кровотоке ассоциировано с повышением концентрации провоспалительных цитокинов, таких как Фактор Некроза Опухолей Альфа, и Интерлейкин 6.

3-показанная отрицательная корреляция между маркером системного воспаления и уровнем бутирата, может подтверждать важность бутират-продуцирующей микробиоты в модуляции иммунного ответа, у пациентов с воспалительным заболеванием кишечника [5,6].

4-концентрация в кале бутирата может рассматриваться и как активность воспалительного процесса, и как перспективный биохимический маркер.

Список используемая литературы-

Список литературы:

1. Stinson LF, Payne MS, Keelan JA. Planting the seed: Origins, composition microbiota. 2017;43(3):352-69.

2. Rooks MG, Garrett WS. Gut microbiota, metabolites and host immunity. Nat Rev Immunol. 2016;16(6):341-52.

3. Arpaia N, Campbell C, Fan X, et al. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. Nature. 2013;504:451-5.

4. Tolhurst G, et al. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. Diabetes. 2012;61:364-71.

5. Geirnaert A, Calatayud M, Grootaert C, et al. Butyrate-producing bacteria supplemented in vivo to Crohn's disease patient microbiota increased butyrate production and enhanced intestinal epithelial barrier integrity. Sci Rep. 2017;7(1):11450.

6. Arpaia N, Campbell C, Fan X, et al. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. Nature 2013, 504, 451–455.