



## Ось «кишечник-мозг» — результаты клинического исследования

Благодравова А. С.<sup>1,2</sup>, Галова Е. А.<sup>2</sup>, Широкова И. Ю.<sup>2</sup>, Галова Д. А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (ул. Петропавловская, д. 26, г. Пермь, 614990 Россия)

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, (площадь Минина и Пожарского, 10/1, г. Нижний Новгород, 603005 Россия)

<sup>3</sup> ООО Медицинский центр «Тонус», (ул. Родионова, д. 190Д, г. Нижний Новгород, 603126 Россия)

**Для цитирования:** Благодравова А. С., Галова Е. А., Широкова И. Ю., Галова Д. А. Ось «кишечник-мозг» — результаты клинического исследования. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023;214(6): 5–13. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-214-6-5-13

✉ Для переписки:

Галова

Елена Анатольевна

galova75@mail.ru

**Благодравова Анна Сергеевна**, д.м.н., и.о. ректора, главный научный сотрудник научно-клинического отдела Университетской клиники

**Галова Елена Анатольевна**, к.м.н., доцент, заместитель директора Университетской клиники по науке; доцент кафедры Общественного здоровья и здравоохранения

**Широкова Ирина Юрьевна**, к.м.н., руководитель отдела лабораторных исследований Университетской клиники; доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины

**Галова Дарья Андреевна**, врач педиатр, гастроэнтеролог

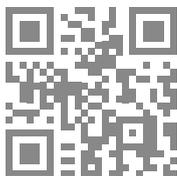
### Резюме

**Цель:** определить особенности кишечного микробиома у детей с расстройствами аутистического спектра.

**Материалы и методы исследования:** Проведено сравнительное, обсервационное, когортное исследование фекальной микробиоты условно-здоровых детей дошкольного возраста ( $n=43$ ) и пациентов с РАС ( $n=38$ ). Результаты исследования обработаны с применением пакета прикладных программ Statistica 12.0. Нулевую гипотезу о наличии различий в группах принимали при  $p<0,05$ .

**Результаты:** Установлено, что для детей с РАС характерно наиболее частое ( $p=0,001$ ) выявление дисбиоза кишечника в целом и обнаружение значимых нарушений в виде дисбиоза кишечника 3–4 степени ( $p=0,001$ ); существенное уменьшение общей бактериальной массы кишечной микробиоты ( $\gamma=0,29$ ,  $p=0,006$ ); снижение представленности основных представителей филотематического ядра микробиоты: *Lactobacillus* ( $p<0,05$ ); *Bifidobacterium* ( $p<0,05$ ); *Bacteroides* ( $p<0,05$ ) и ряда отдельных продуцентов полиненасыщенных жирных кислот ( $0,001<p\leq 0,050$ ). Обнаружена взаимосвязь между интегральным показателем выраженности аутизма и отдельными представителями кишечного микробиома ( $0,020\leq p<0,045$ ).

EDN: AJSCL0



**Заключение:** Расстройства аутистического спектра у детей ассоциированы с изменением биоценоза кишечника. Имеется взаимосвязь между выраженностью дисбиотических нарушений и тяжестью когнитивных расстройств при РАС.

**Ключевые слова:** микробиота кишечника, дисбиоз кишечника, расстройства аутистического спектра, дети

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-214-6-5-13>

## The gut-brain axis — clinical study results

A. S. Blagonravova<sup>1,2</sup>, E. A. Galova<sup>2</sup>, I. Yu. Shirokova<sup>2</sup>, D. A. Galova<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Perm State Medical University n.a. E. A. Wagner of the Ministry of Health of the Russian Federation, (26 Petropavlovsk str., Perm, 614990, Russia)

<sup>2</sup> Privolzhsky Research Medical University, (10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia)

<sup>3</sup> Limited liability company Medical Center "Tonus", (190D, Rodionova str., Nizhny Novgorod, 603126, Russia)

**For citation:** Blagonravova A. S., Galova E. A., Shirokova I. Yu., Galova D. A. The gut-brain axis — clinical study results. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023;214(6): 5–13. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-214-6-5-13

✉ *Corresponding author:*

**Elena A. Galova**  
galova75@mail.ru

**Anna S. Blagonravova**, MD, Head; Chief Researcher of the Scientific and Clinical Department of the University Clinic; ORCID: 0000-0002-1467-049X

**Elena A. Galova**, Cand.Sci. Med., Docent, Deputy Director for science of the University clinic; ORCID: 0000-0002-9574-2933

**Irina Yu. Shirokova**, Cand.Sci. Med., Head of Laboratory Research Department of the University clinic; ORCID: 0000-0002-8387-6344

**Darya A. Galova**, pediatrician, gastroenterologist; ORCID: 0000-0001-9749-0576

### Summary

**The aim** of the study was to investigate the intestinal microbiome in children with autism spectrum disorders (ASD).

**The study** was observational, cohort, comparative. All the patients included in it were divided into 2 groups. The first (comparison group main) group (n=43) consisted of children preschool aged of 1 and 2 health groups; the second (n=38, main group) children with an established diagnosis of ASD.

It was stated that children with ASD are characterized by the most frequent (p=0.001) detection of intestinal dysbiosis; the detection of significant disorders in the form of intestinal dysbiosis of 3–4 degrees (p=0.001); a significant decrease in the total bacterial mass of the intestinal microbiota ( $\gamma=0.29$ , p=0.006); a decrease in the representation of the main representatives of the philometabolic nucleus of the microbiota: *Lactobacillus* (p<0.05); *Bifidobacterium* (p<0.05); *Bacteroides* (p<0.05) and a number of individual producers of polyunsaturated fatty acids (0.001<p≤0.050). A negative relationship was found between the integral indicator of autism severity and the representation of typical *E.coli* (R=0.57; F=4.17; p<0.045).

In that way Autism spectrum disorders in preschool children are associated with changes in intestinal biocenosis. The structure of microbiome differed significantly from that typical for healthy children. There is a relationship between the severity of dysbiotic disorders and the severity of cognitive disorders in absent-minded.

Keywords: gut microbiota, intestinal dysbiosis, autism spectrum disorders, children

**Conflict of interest.** Authors declare no conflict of interest.

### Введение

Отсутствие официально одобренных методов лечения аутистических расстройств у детей [1], свидетельствуют о необходимости научного поиска и обоснования возможных способов их коррекции и предупреждения прогрессирования.

В последнее десятилетие пристальное внимание уделяется взаимосвязи нейропсихиатрических нарушений с расстройствами функционирования желудочно-кишечного тракта, изменением качественного и количественного состава микрофлоры кишечника, которые коррелируют со степенью выраженности психических отклонений [2].

Высказано предположение, что наличие нарушений микрофлоры, ассоциированных с гастроинтестинальными нарушениями, у детей с генетической предрасположенностью к расстройствам

аутистического спектра (РАС) может усиливать проявления аутистического фенотипа и/или тяжесть поведенческих симптомов [3]. И действительно, у детей с сочетанием РАС и гастроинтестинальных расстройств отмечаются более выраженные тревога, раздражительность и социальная изоляция по сравнению с детьми с РАС без желудочно-кишечных отклонений. Возможно, тяжесть поведенческих симптомов ассоциирована с риском возникновения желудочно-кишечных нарушений и наоборот [4].

Вместе с тем, отчетливые причинно-следственные связи обнаруженной ассоциации в научных исследованиях до настоящего времени не установлены.

Нельзя исключить, что микрофлора оказывает влияние как на функционирование желудочно-

кишечного тракта, так и на нейробиологическое состояние (собственно симптомы аутизма) за счет продуцируемых ей нейромодулирующих метаболитов. Имеются сведения, что использование антибактериальных препаратов в течение первых трех лет жизни у детей с РАС дестабилизирует их кишечную микробиоту и открывает возможности для конкурентных потенциальных патогенов для внесения вклада в тяжесть РАС [5].

## Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на базе Университетской клиники ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (далее – Университет) в период 2020–2021 гг.; представляет собой один из этапов научных работ по государственному заданию «Трансплантация кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра у детей» (рег.номер. АААА-А20–120022590145–1); одобрено Локальным этическим комитетом Университета (Протокол № 3 от 21.02.2020 г.).

Проведено сравнительное, обсервационное, когортное клиническое исследование в 2-х группах пациентов. Первую группу (сравнения) составили условно здоровые (1 и 2 групп здоровья) дети дошкольного ( $5,04 \pm 1,29$  лет) возраста, не страдающие РАС ( $n=43$ ); во вторую группу (основную) вошли дети в возрасте  $4,36 \pm 1,44$  лет, с установленным диагнозом РАС ( $n=38$ ).

Критерии включения пациентов в 1 группу (сравнения): письменное добровольное информированное согласие законного представителя ребенка на включение в исследование; возраст 3–6 лет; отнесение ребенка к 1–2 группам здоровья; индекс массы тела (ИМТ) в пределах нормы для соответствующего возраста; отсутствие диспепсических расстройств не менее чем в течение 2-х недель перед осмотром; отсутствие острого вирусного/бактериального/вирусно-бактериального заболевания по данным объективного осмотра врача-педиатра; отсутствие проявлений атопического дерматита на момент осмотра; отсутствие в анамнезе хронических воспалительных заболеваний органов пищеварения, онко-/гемато-/онкогематологического заболевания, системного заболевания соединительной ткани, бронхиальной астмы и/или респираторного аллергоза, ВИЧ, гепатитов В/С; отрицательный результат обследования кала на я/глист и простейшие.

Критерии не включения детей в 1 группу (сравнения): прием антибиотиков в течение 1 мес. до включения в исследование (независимо от продолжительности курса); прием препаратов из группы пробиотиков, употребление биопродуктов и пробиотических БАД к пище в течение 1 мес. до включения в исследование; наличие у близкого родственника или человека, проживающего непосредственно с обследуемым, РАС, шизофрении и других тяжелых психических расстройств; отклонение индекса массы тела от возрастной нормы (менее 15,5/более 16,5); моногенное наследственное заболевание.

Критерии включения в исследование детей с РАС во 2 группу (основную): письменное добровольное

Таким образом, научный и практический интерес представляет исследование взаимосвязи нарушений микробиоценоза кишечника и поведенческих реакций при РАС и обоснование коррекции поведенческих нарушений путем воздействия на кишечную микробиоту.

**Цель исследования:** определить особенности кишечного микробиома у детей с расстройствами аутистического спектра.

информированное согласие законного представителя ребенка на включение в исследование; возраст с 3 до 6 лет; наличие расстройства аутистического спектра согласно МКБ-10 диагноза «детский аутизм» (F84.0), «атипичный аутизм» (F84.1), «синдром Аспергера» (F84.5), установленное ранее врачом-психиатром и подтвержденное с помощью ADI-R (Autism Diagnostic Interview Revised) и ADOS-2 (Autism Diagnostic Observation Schedule, 2 edition).

Критерии не включения в исследование детей с РАС во 2-ю группу (основную): прием антибиотиков в течение 1 месяца до включения в исследование (независимо от продолжительности курса); прием препаратов из группы пробиотиков, употребление биопродуктов и пробиотических БАД к пище в течение 1 месяца до включения в исследование; моногенное наследственное заболевание.

Критерии исключения детей 1-й и 2-й групп из исследования: желание законного представителя обследуемого выйти из исследования без объяснения причины; несоблюдение режима проведения обследования; отказ от проведения обследования.

Обследование детей обеих групп в 100% случаев включало исследование качественного и количественного состава кишечной микрофлоры бактериологическим методом [6, 7] и изучение фекальной микробиоты с применением полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией результатов амплификации в режиме реального времени. Оценку результатов данных изучения микробиоты проводили по ОСТ 91500.11.0004–2003 [8].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением пакета прикладных программ Statistica 12.0. При анализе вида распределения признака использовали метод Q-Q plot. Описательные статистики признака включали медиану (Me) и интерквартильный размах (Q25-Q75); сравнительный анализ количественных показателей проводили с применением теста Манна-Уитни, критерия Вальда-Вольфовица и критерия Колмогорова-Смирнова; при сравнительном анализе качественных признаков применяли критерий  $\chi^2$  Пирсона; взаимосвязи между признаками изучали методом корреляции гамма ( $\gamma$ ), и парной регрессии (при нормальном распределении признаков) с указанием коэффициента аппроксимации (R) и коэффициента Фишера (F). С применением факторного анализа (VARIMAX), методом главных компонент, выделяли «ведущие» факторы биоценоза в каждой из исследуемых групп. Нулевую гипотезу о наличии различий в группах и статистической значимости полученных результатов принимали при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Расстройство аутистического спектра у детей основной группы было различной степени выраженности. По данным ADOS половина (21/55%) пациентов имели легкие или умеренно выраженные расстройства аутистического спектра, остальные (17/45%) – выраженные аутистические расстройства.

Характеристика детей с РАС по данным ADOS и ADIR в баллах представлена в Таблице 1 и в Таблице 2.

По данным бактериологического метода исследования установлено, что для детей с РАС по сравнению с условно-здоровыми детьми было характерно наиболее частое (97,3% против 58,1%,  $p=0,001$ ) выявление дисбиоза кишечника в целом и обнаружение значимых нарушений в виде дисбиоза кишечника 3–4 степени (28,9% против 6,9%,  $p=0,001$ ). На фоне сопоставимой представленности микробиоты в части рода *Bifidobacterium* ( $p=0,082$ ) имела место заметная тенденция к уменьшению отдельных родов микроорганизмов, входящих в филометаболическое ядро микробиоты: *Lactobacillus* ( $p=0,054$ ) и типичной *Escherichia coli* ( $p=0,050$ ). Индивидуальный и корреляционные методы анализа результатов исследования подтвердили, что у детей с РАС в 1,5 раза чаще регистрировали сниженное содержание лактобактерий (73% против 47%,  $p=0,017$ ;  $\gamma=0,48$ ,  $p=0,009$ ), типичной кишечной палочки (69% против 42%,  $p=0,015$ ;  $\gamma=0,44$ ,  $p=0,007$ ), молочнокислых стрептококков (97% против 76%,  $p=0,007$ ;  $\gamma=0,83$ ,  $p=0,009$ ).

По данным уравнения парной регрессии обнаружена отрицательная взаимосвязь между интегральным показателем «Сравнительный балл по ADOS» и представленностью типичной *E. coli* в микробиоте кишечника по данным бактериологического исследования:  $y=8,12-0,05E-7x$  *E. Coli* ( $R=0,57$ ;  $F=4,17$ ;  $p<0,045$ ).

По данным анализа кишечной микробиоты методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией результатов амплификации в режиме реального времени установлено, что для детей с РАС по сравнению с условно здоровыми детьми было характерно существенное уменьшение общей бактериальной массы кишечной микробиоты ( $\gamma=0,29$ ,  $p=0,006$ ); снижение представленности основных представителей филометаболического ядра микробиоты [9]: *Lactobacillus spp.* ( $\gamma=0,47$ ,  $p=0,001$ ); *Bifidobacterium spp.* ( $\gamma=0,37$ ,  $p=0,001$ ); *Bacteroides spp.* ( $\gamma=0,34$ ,  $p=0,002$ ); *Bacteroides thetaomicron* ( $\gamma=0,33$ ,  $p=0,021$ ) *Faecalibacterium* ( $\gamma=0,40$ ,  $p=0,001$ ); *Blautia spp.* ( $\gamma=0,43$ ,  $p=0,002$ ); *Eubacterium rectale* ( $\gamma=0,44$ ,  $p=0,001$ ); *Roseburia inulinivorans* ( $\gamma=0,41$ ,  $p=0,001$ ) и *Ruminococcus spp.* ( $\gamma=0,41$ ,  $p=0,001$ ), являющихся продуцентами полиненасыщенных жирных кислот (Таблица 3, рисунок 1).

С применением многофакторного анализа в каждой из групп пациентов определены характеристики микробиома кишечника (Таблица 4 и Таблица 5).

В группе условно-здоровых детей (Таблица 4) наибольший удельный вес ( $\sigma^2 = 31\%$ ) имели первые два фактора, которые могли отражать состояние баланса между продукцией и потреблением

короткоцепочечных жирных кислот (бутирата и пропионата). Так, фактор ( $f_1$ ), был сформирован положительными влияниями от показателей, характеризующих, в первую очередь синтез короткоцепочечных жирных кислот, бутирата и пропионата: *Faecalibacterium* (0,98), *Bacteroides spp.* (0,98) и *Akkermansia muciniphila* (0,93); второй фактор ( $f_2$ ) объяснял 14% общей дисперсии, был образован отрицательными вкладами от показателей *Eubacterium rectale* (-0,79), *Escherichia coli* (-0,7) и *Roseburia inulinivorans* (-0,77), которые являются продуцентами/потребителями бутирата, пропионата и лактата.

Третий фактор ( $f_3$ ) составлял 14% общей дисперсии, характеризовал метаболическую активность микробиоты в отношении продукции лактата и биосинтеза витаминов: *Lactobacillus spp.* (0,76) и *Bifidobacterium spp.* (0,83).

Четвертый фактор ( $f_4$ ,  $\sigma^2 = 13\%$ ) был образован положительным влиянием от показателей *Blautia spp.* (0,78) и *Ruminococcus spp.* (0,72) и мог свидетельствовать о функциональной активности микробиоты относительно водород-утилизирующих механизмов.

В отличие от 1-й группы у пациентов во 2-й группе, несмотря на аналогичную представленность филометаболического ядра микробиоты, выделены другие факторы, которые могут иметь значение в патогенезе аутистических расстройств (Таблица 5).

Наибольший удельный вес ( $\sigma^2 = 32\%$ ) при РАС имел первый фактор ( $f_1$ ), он был сформирован положительными влияниями от показателей, характеризующих, не только активность микробиоты в отношении синтеза бутирата (*Roseburia inulinivorans*, 0,94) и пропионата (*Ruminococcus spp.*, 0,90), но и относительно водород-утилизирующих механизмов (*Blautia spp.* (0,90).

Второй фактор ( $f_2$ ) объяснял 20% общей дисперсии, был образован положительными вкладами от показателей *Lactobacillus spp.* (0,95) и *Akkermansia muciniphila* (0,95), которые не являются продуцентами бутирата, но активны в отношении пропионата и лактата. Не выявлено показателей, которые могли бы отражать состояние баланса между образованием и потреблением бутирата и пропионата.

Третий фактор ( $f_3$ ) составлял также 19% общей дисперсии, характеризовал метаболическую активность микробиоты в отношении биосинтеза бутирата и лактата (*Faecalibacterium* (0,76) и *Eubacterium rectale* (0,95)).

Четвертый фактор ( $f_4$ ,  $\sigma^2 = 16\%$ ) был образован положительным влиянием от показателей *Bifidobacterium* (0,82) и *Bacteroides spp.* (0,83) и мог свидетельствовать о функциональной активности микробиоты относительно синтеза лактата, пропионата и витаминов.

Методом корреляционного анализа в этой группе выявлена отрицательная взаимосвязь ( $\gamma = -0,24$ ,  $p=0,053$ ) между фактором  $f_3$  и возрастом, которая может свидетельствовать об увеличении значения этого фактора с возрастом при РАС; так же установлена положительная ассоциация между фактором  $f_4$  и интегральным показателем «Сравнительный балл» по данным ADOS,  $\gamma = 0,43$  ( $p=0,042$ ).

**Таблица 1.**  
Характеристика обследованных детей с РАС по данным ADOS (Сумма баллов, абс., Me[Q25-Q75])

Признак	Легкий/умеренный РАС	Тяжелый РАС	р
СА	13,5 [10,5; 16,0]	17,0 [17,0; 18,0] *; **	0,001
ОСП	3,5 [3,0; 4,5]	6,0 [5,0; 6,0] *	0,007
СА+ОСП	16,5 [15,0; 19,0]	23,0 [22,0; 25,0]*; **	0,001
Сравн.балл	6,0 [6,0; 7,0]	9,0 [8,0; 10,0]*; **	0,001

**Примечание:**

Характеристика обследованных детей с РАС по данным ADOS (Сумма баллов, абс., Me[Q25-Q75])

СА – социальный аффект;

ОСП – стереотипные и ограниченные формы поведения;

СА+ОСП – суммарные нарушения по шкалам Социальный аффект и Стереотипные и ограниченные формы поведения;

Сравн. балл – сравнительный балл выраженности аутизма;

р – статистическая значимость различий между группами по данным критерия Манна-Уитни (точное значение);

\* – статистическая значимость различий между группами по данным критерия Колмогорова-Смирнова ( $p < 0,025$ );

\*\* – статистическая значимость различий между группами по данным критерия Вальда-Вольфовица ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 2.**  
Характеристика детей с РАС по данным ADIR (Сумма баллов, абс., Me[Q25-Q75])

Признак	Легкий/умеренный РАС	Тяжелый РАС	р
A	26,0 [22,0; 28,0]	27,5 [22,0; 30,0]	0,605
B	14,0 [12,0; 15,0]	14,0 [11,0; 14,0]	0,167
C	12,0 [7,0; 16,0]	9,50 [5,0; 16,0]	0,321
D	5,0 [4,0; 5,0]	5,0 [4,0; 5,0]	0,605

**Примечание:**

A – качественные нарушения социального взаимодействия (взгляд, улыбка, игра, общение со сверстниками и т.д.);

B – качественные нарушения вербального взаимодействия;

C – ограниченное, повторяющееся и стереотипное поведение;

D – заметное нарушение развития в возрасте до 36 мес;

р – статистическая значимость различий между группами по данным критерия Манна-Уитни (точное значение).

**Таблица 3.**  
Характеристика кишечного микробиома пациентов по отдельным представителям филотаблического ядра микробиоты Абс. (Me [Q25; Q75])

Показатель	1 группа N=43		2 группа N=38		р
	Me	Q25; Q75	Me	Q25; Q75	
<i>Lactobacillus spp. abc</i>	8,00E+05	1,00E+04; 9,00E+06	1,00E+04	1,00E+04; 8,00E+05	0,016*
<i>Bifidobacterium spp.abc</i>	2,00E+09	2,00E+08; 7,00E+10	6,50E+07	2,00E +06; 1,00E+10	0,005*
<i>Bacteroides spp. abc</i>	9,00E+10	2,00E+10; 1,00E+12	8,00E+09	2,00E +08; 8,00E+11	0,009*; **
<i>Bacteroides thetaomicon abc</i>	0,00E-01	0,00E-01; 5,00E+07	0,00E-01	0,00E+00; 0,00E-01	0,091**
<i>Faecalibacterium. abc</i>	4,00E+09	3,00E+08; 5,00E+10	2,00E+08	4,00E +06; 4,00E+09	0,002*
<i>Blautia spp. abc</i>	0,00E+00	0,00E+00; 5,00E+07	0,00E+00	0,00E+00; 0,00E+00	0,023
<i>Eubacterium rectale. abc</i>	5,00E+07	0,00E+00; 9,00E+08	0,00E+00	0,00E+00; 4,00E+07	0,003*
<i>Roseburia inulinivorans. abc</i>	3,00E+08	2,00E+06; 1,00E+09;	2,20E+06	5,00E+05; 1,00E+07	0,017*
<i>Ruminococcus spp. abc</i>	4,00E+07	5,00E+05; 4,00 E+08;	8,50E+04	0,00E+00; 5,00E+07	0,003*
<i>Escherichia coli abc</i>	8,00E+06	9,00E+05; 1,00E+08	2,00E+06	6,00E +05; 1,00E+07	0,072
<i>Streptococcus spp. abc</i>	0,00E+00	0,00E+00; 3,00E+07	0,00E+00	0,00E+00; 0,00E+00	0,034
<i>Akkermansia muciniphila. abc</i>	8,00E+07	0,00E+00; 3,00E+09	8,50E+06	0,00E+00; 6,00E+08	0,192
<i>Prevotella spp. abc</i>	0,00E+00	0,00E+00; 8,00E+06	0,00E+00	0,00E+00; 7,00E+05	0,745

**Примечание:**

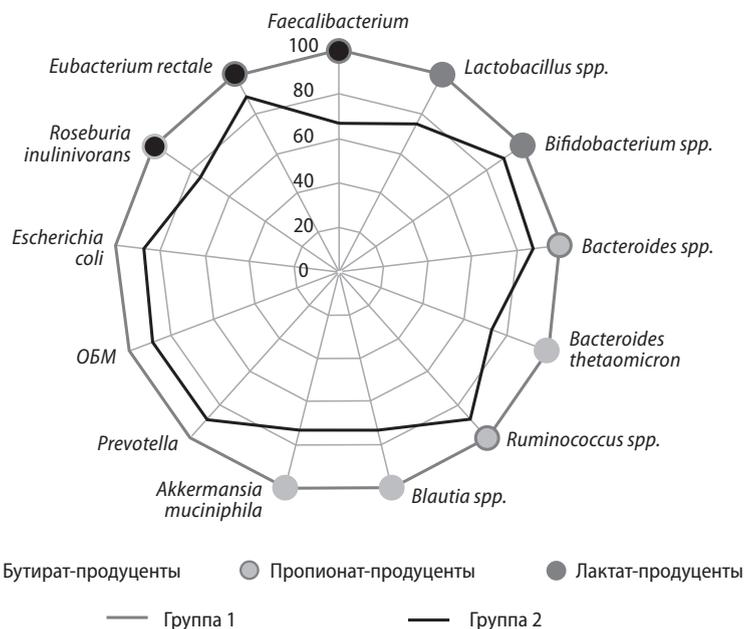
ОБМ – общая бактериальная масса;

р – статистическая значимость различий между группами по данным критерия Манна-Уитни (точное значение);

\*\* – статистическая значимость различий между группами по данным критерия Колмогорова-Смирнова ( $p < 0,025$ );

\*\* – статистическая значимость различий между группами по данным критерия Вальда-Вольфовица ( $p < 0,05$ )

**Рисунок 1.** Особенности кишечного биоценоза кишечника у пациентов с РАС (% отклонения от показателей в группе сравнения),  $p < 0,05$  для всех представленных резидентов биоценоза



**Таблица 4.** Итоги факторного анализа результатов исследования кишечного микробиома в группе сравнения (условно-здоровых детей)

**Примечание:** в таблице выделены показатели, вес которых преодолел пограничную величину 0,7 – как статистически значимую; *f* – факторы.

Показатель	<i>f</i> 1	<i>f</i> 2	<i>f</i> 3	<i>f</i> 4
<i>Lactobacillus spp. abc</i>	-0,06	0,12	<b>0,73</b>	0,09
<i>Bifidobacterium spp. abc</i>	0,05	-0,09	<b>0,83</b>	-0,08
<i>Escherichia coli abc</i>	0,08	<b>-0,70</b>	0,29	0,19
<i>Faecalibacterium. abc</i>	<b>0,98</b>	0,02	-0,07	0,01
<i>Bacteroides spp. abc</i>	<b>0,98</b>	0,02	-0,06	0,01
<i>Akkermansia muciniphila. abc</i>	<b>0,93</b>	0,05	0,17	-0,06
<i>Blautia spp. abc</i>	-0,04	-0,07	0,01	<b>0,78</b>
<i>Eubacterium rectale. abc</i>	-0,05	<b>-0,79</b>	0,04	0,06
<i>Roseburia inulinivorans. abc</i>	-0,06	<b>-0,77</b>	-0,01	-0,9
<i>Ruminococcus spp. abc</i>	-0,02	0,14	-0,01	<b>0,72</b>
Удельный вес фактора, абс.	<b>0,31</b>	<b>0,14</b>	<b>0,14</b>	<b>0,13</b>

**Таблица 5.** Итоги факторного анализа результатов исследования кишечного микробиома пациентов с РАС

**Примечание:** в таблице выделены показатели, вес которых преодолел пограничную величину 0,7 – как статистически значимую; *f* – факторы

Показатель	<i>f</i> 1	<i>f</i> 2	<i>f</i> 3	<i>f</i> 4
<i>Lactobacillus spp. abc</i>	-0,07	<b>0,95</b>	0,05	0,15
<i>Bifidobacterium spp. abc</i>	0,20	0,09	0,17	<b>0,82</b>
<i>Faecalibacterium. abc</i>	0,53	-0,05	<b>0,76</b>	0,19
<i>Bacteroides spp. abc</i>	0,19	0,01	0,03	<b>0,83</b>
<i>Akkermansia muciniphila. abc</i>	0,06	<b>0,95</b>	-0,06	-0,07
<i>Blautia spp. abc</i>	<b>0,90</b>	-0,01	0,38	0,16
<i>Eubacterium rectale. abc</i>	0,01	0,01	<b>0,95</b>	0,04
<i>Roseburia inulinivorans. abc</i>	<b>0,94</b>	-0,01	0,06	0,17
<i>Ruminococcus spp. abc</i>	<b>0,90</b>	-0,01	-0,06	0,08
Удельный вес фактора, абс.	<b>0,32</b>	<b>0,20</b>	<b>0,19</b>	<b>0,16</b>

## Обсуждение

Выявленная способность микробиоты кишечника обмениваться химической информацией с клетками центральной нервной системы и таким образом влиять на развитие и функционирование головного мозга расширила знания о многообразных эффектах воздействиях низкомолекулярных соединений микробного происхождения на организм животных и человека.

Становится все более очевидным, что нормальное функционирование мозга связано не только с организмом хозяина, но и находится под влиянием его симбиотической микробиоты. Так как бактерии способны и распознавать, и синтезировать нейромедиаторы и нейроэндокринные гормоны, следует согласиться, что, «нарушая кишечную микрофлору, мы в серьезной мере нарушаем химию мозга». Взаимодействие микробиоты кишечника с энтеральной нервной системой и мозгом млекопитающих подтверждено рядом исследователей [10, 11]. Выдвинута гипотеза о том, что без микробиоты человек не смог бы достичь современного уровня познавательных способностей [12]. Можно констатировать, что риск возникновения нейродегенеративных заболеваний следует связывать с глубокой разбалансировкой оси микробиота–кишечник–мозг (microbiota–gut–brain axis). Микробиота существенно влияет на психику и поведение человека и может рассматриваться как эволюционная сила, активно модулирующая его социальное поведение и формирование социальных структур, воздействующая на нейропсихические механизмы аффилиации (стремления жить в составе группы) [13, 14]

Полученные нами данные о дефиците *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, в целом продуцентов короткоцепочечных жирных кислот, в полной мере согласуются с имеющимися литературными данными о функциональной активности микробиоты в отношении коррекции поведенческих реакций человека.

Так, среди микроорганизмов, продуцирующих низкомолекулярные соединения, способных модифицировать поведенческие реакции человека, в различных научных исследованиях фигурируют штаммы *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum* и т.д. [10].

Различные штаммы лактобацилл, бифидобактерий и кишечной палочки способны продуцировать серотонин, тирамин, ацетилхолин, агматин, сероводород, аспартат, ГАМК, инсулин, ДОФА. Так, например, *L. plantarum* и *L. fermentum* способны продуцировать лактат (фениллактат, гидроксифениллактат), короткоцепочечные жирные кислоты (уксусную, пропионовую, изомасляную, масляную, изовалериановую, валериановую, изокапроновую, капроновую кислоты), формиат, аминокислоты, этанол, перекись водорода, лизоцим, внеклеточные полисахариды и т.д. [15, 16]. Также лактобациллы этих видов продуцируют бактериоцины и бактериоциноподобные вещества: антибиотики

(класс I) – термостабильные пептиды с молекулярной массой менее 5 кДа, состоящие из необычных, посттрансляционно-модифицированных аминокислот (дегидроаланин, лантионин, α-метиллантионин); не-антибиотики (класс II) – термостабильные пептиды с молекулярной массой менее 10 кДа, которые не содержат лантионин и сохраняют свою активность при широком диапазоне pH (3–9); высокомолекулярные (более 30 кДа) термолабильные пептиды (класс III); катионные, амфифильные, мембрано-проницаемые антимикробные пептиды размером от 2 до 6 кДа (липидно-гликопротеины) класс IV. Так, *L. plantarum* 8 PA 3 способен продуцировать плантарицин – белок размером около 10 кДа.

*B. bifidum* и *B. longum* синтезируют лактат, короткоцепочечные жирные кислоты (уксусную, пропионовую кислоты), янтарную кислоту, перекись водорода, витамины группы B, фолат, лизоцим, бактериоциноподобные вещества и бактериоцины различных классов [17].

Представители вида *E. coli* способны продуцировать лактат, уксусную кислоту, янтарную кислоту, этанол, бактериоцины (колицин), витамин K [16, 17].

Перечисленные нейромедиаторы участвуют в поддержании активного бодрствующего состояния и регуляции ритма сон – бодрствование, стимуляции гедонического поведения, исполнении произвольных движений, переключении внимания, регуляции эмоций, запоминании, обучении, когнитивной деятельности, в регуляции аппетита, болевой чувствительности, облегчении тревожности и стресса [10].

Результаты проведенного исследования в полной мере согласуются с таковыми исследователей, обнаружившими значимое снижение микробного разнообразия при РАС [17, 18] в части количественной представленности отдельных представителей микробиоты.

Сопоставление результатов анализа бактериологического исследования кишечной микрофлоры, полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией результатов амплификации в режиме реального времени, удельных весов факторов в сформированных моделях и вкладом каждого из показателей в значение фактора, выявило существенные отличия, которые могут свидетельствовать о функциональном разбалансировании фило-метаболического ядра микробиоты в отношении бутират-, лактат- и в меньшей степени пропионат-продуцентов [9] у пациентов с аутистическими расстройствами.

С применением многомерных статистических методов исследования нам удалось визуализировать особенности кишечной микробиоты при РАС в отношении продуцентов отдельных короткоцепочечных жирных кислот, что в дальнейшем может служить одним из направлений в разработке подходов к повышению эффективности имеющихся методов реабилитации и коррекции поведенческих расстройств при РАС.

## Выводы

Таким образом, расстройства аутистического спектра у детей дошкольного возраста ассоциированы с изменением биоценоза кишечника, уменьшением общей бактериальной массы кишечной микробиоты и значимым снижением представленности

основных представителей филлометаболического ядра микробиоты, продуцентов короткоцепочечных жирных кислот. Имеется взаимосвязь между выраженностью дисбиотических нарушений и тяжестью когнитивных расстройств при РАС.

## Литература | References

- Neul J.L., Sahin M. Therapeutic advances in autism and other neurodevelopmental disorders. *Neurotherapeutics*. 2015;12(3):519–20. doi: 10.1007/s13311-015-0364-8.
- Blagonravova A. S., Zhilyaeva T. V., Kvashnina D. V. Dysbiosis of intestinal microbiota in autism spectrum disorders: new horizons in search for pathogenetic approaches to therapy. Part 1. Features of intestinal microbiota in autism spectrum disorders. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021; 98 (1): 65–72. (In Russ.)  
 Благодравова А. С., Жилиева Т. В., Квашнина Д. В. Нарушения кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра: новые горизонты в поиске патогенетических подходов к терапии. Часть 1. Особенности кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98 (1): 65–72.
- Blagonravova A. S., Zhilyaeva T. V., Kvashnina D. V. Dysbiosis of intestinal microbiota in autism spectrum disorders: new horizons in search for pathogenetic approaches to therapy. Part 2. Gut-brain axis in pathogenesis of autism spectrum disorders. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021; 98 (2): 221–230. (In Russ.)  
 Благодравова А. С., Жилиева Т. В., Квашнина Д. В. Нарушения кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра: новые горизонты в поиске патогенетических подходов к терапии. Часть 2. Ось кишечник-мозг в патогенезе расстройств аутистического спектра. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98 (2): 221–230.
- Blagonravova A. S., Zhilyaeva T. V., Kvashnina D. V. Disturbances of intestinal microbiota in autism spectrum disorders: new horizons in search for pathogenetic approaches to therapy. Part 3. Potential strategies of influence on gut-brain axis for correction of symptoms of autism spectrum disorders. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021; 98 (3): 331–338. (In Russ.)  
 Благодравова А. С., Жилиева Т. В., Квашнина Д. В. Нарушения кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра: новые горизонты в поиске патогенетических подходов к терапии. Часть 3. Потенциальные стратегии влияния на ось кишечник-мозг для коррекции симптомов расстройств аутистического спектра. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021. Т. 98. № 3. С. 331–338.
- Neznanov N. G., Rukavishnikov G. V., Kasyanov E. D., Ganzenko M. A., Leonova L. V., Zhilyaeva T. V., Mazo G. E. The role of nutrients and probiotics in treatment of depression. *Byulleten' sibirskoj mediciny*. 2021; 20(4): 171–179 (In Russ.)  
 Незнанов Н. Г., Рукавишников Г. В., Касьянов Е. Д., Ганзенко М. А., Леонова Л. В., Жилиева Т. В., Мазо Г. Э. Роль нутриентов и пробиотических препаратов в терапии депрессии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20(4): 171–179.
- [The use of bacterial biological preparations in the practice of treating patients with intestinal infections. Diagnosis and treatment of intestinal dysbacteriosis]. MNIEM im. G. N. Gabrichevskogo, Moscow, 1986 (In Russ.)  
 Применение бактериальных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями. Диагностика и лечение дисбактериоза кишечника/Методические рекомендации МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского, Москва, 1986.
- Efimov E. I., Sokolova K. Ya. [Diagnosis and biocorrection of anti-infective homeostasis disorders in the "Mother-Child" system]. *Nizhny Novgorod*, 2004, 378 p (In Russ.)  
 Диагностика и биокоррекция нарушений антиинфекционного гомеостаза в системе «Мать-дитя»/ под ред. Ефимова Е. И., Соколовой К. Я. Нижний Новгород, 2004 г., 378 с
- The protocol of conducting patients. Intestinal dysbacteriosis: OST 91500.11.0004–2003. Order of the Ministry of Health of Russia No. 231 dated 09.06.03. – (Industry standard). (In Russ.)  
 Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника: ОСТ 91500.11.0004–2003. Приказ Минздрава России № 231 от 09.06.03. – (Отраслевой стандарт).
- Sitkin S. I., Tkachenko E. I., Vakhitov T. Y. Phylometabolic core of intestinal microbiota. *Al'manah klinicheskoy mediciny*. 2015; 40: 12–34 (In Russ.)  
 Ситкин С. И., Ткаченко Е. И., Вахитов Т. Я. Филометаболическое ядро микробиоты кишечника. *Альманах клинической медицины*. 2015; 40: 12–34
- Oleskin A. V., SHenderov B. A., Rogovskij V. S. Sociality of microorganisms and relationships in the microbiota-host system: the role of neurotransmitters. Monograph. Moscow, Moscow University Press, 2020., 286 P. (In Russ)  
 Олескин А. В., Шендеров Б. А., Роговский В. С. Социальность микроорганизмов и взаимоотношения в системе микробиота – хозяин: роль нейромедиаторов. Монография. – Москва: Издательство Московского университета, 2020. – 286 с.
- Stilling R. M., Bordenstein S. R., Dinan T. G., Cryan J. F. Friends with social benefits: host-microbe interactions as a driver of brain evolution and development? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2014; 29(4):147 doi: 10.3389/fcimb.2014.00147.
- Montiel-Castro A. J., Gonzalez-Cervantes R. M., Bravo-Ruiseco G., Pacheco-Lopez G. The microbiota-gut-brain axis: neurobehavioral correlates, health and sociality. *Frontiers in Integrative Neuroscience*. 2013; 7(7): 70 doi: 10.3389/fnint.2013.00070.
- Shenderov B. A., Golubev V. L., Danilov A. B., Prishchepa A. V. Gut human microbiota and neurodegenerative diseases. *Neurology*. 2016; 1: 7–13 (In Russ.)

- Шендеров Б. А., Голубев В. Л., Данилов А. Б., Прищепа А. В. Кишечная микробиота человека и нейродегенеративные заболевания. *Неврология*. 2016; 1: 7–13.
14. Dinan T.G., Stilling R. M., Stanton C., Cryan J. F. Collective unconscious: how gut microbes shape human behavior. *Journal of Psychiatric Research*. 2015;63:1–9 doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.02.021.
15. Sitkin S.I., Tkachenko E.I., Vakhitov T. Y. Metabolic dysbiosis of the gut microbiota and its biomarkers. *Experimental and Clinical Gastroenterology* 2015;12(124): 6–29. (In Russ)  
Ситкин С. И., Ткаченко Е. И., Вахитов Т. Я. Метаболический дисбиоз кишечника и его биомаркеры. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2015;12(124): 6–29.
16. Sitkin S.I., Tkachenko E. I., Vakhitov T. Y. Phylometabolic core of intestinal microbiota. *Al'manah klinicheskoy mediciny*. 2015; 40: 12–34 (In Russ.)  
Ситкин, С.И., Ткаченко Е. И., Вахитов Т. Я. Филометаболическое ядро микробиоты кишечника. *Альманах клинической медицины*. 2015; 40: 12–34.
17. Kang D.W., Ilhan Z. E., Isern N. G., Hoyt D. W., Howsmon D. P., Shaffer M., et al. Differences in fecal microbial metabolites and microbiota of children with autism spectrum disorders. *Anaerobe*. 2018; 49: 121–131. doi: 10.1016/j.anaerobe.2017.12.007.
18. Kang D.W., Park J. G., Ilhan Z. E., Wallstrom G., LaBaer J., Adams J. B., Krajmalnik-Brown R. Reduced incidence of *Prevotella* and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PLoS ONE*. 2013; 8: e68322. doi: 10.1371/journal.pone.0068322.