



УДК 616.34-008-08
МРНТИ 76.29.34

Ю.В. ЧЕРВИНЕЦ¹, С.С. КУРМАНГАЛИЕВА², Е.В. ЗЕВАЛКИНА², А.Ш. САРБУЛАТОВА²,
А.К. АЛПАМЫС², Р.Н. ЖАНАМАНОВА²

ПРИЧИНЫ И ЭФФЕКТИВНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ДИСБИОЗА КИШЕЧНИКА

¹Тверской государственной медицинской университет, Тверь, Россия

²Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова, Актөбе, Казахстан

Червинец Ю.В. – <https://orcid.org/0000-0001-9209-7839>;
Курмангалиева С.С. – <https://orcid.org/0000-0002-9502-1490>;
Зевалкина Е.В. – <https://orcid.org/0000-0001-6319-6547>;
Сарбулатова А.Ш. – <https://orcid.org/0009-0002-7811-5986>;
Алпамыс А.К. – <https://orcid.org/0009-0008-0088-9977>;
Жанаманова Р.Н. – <https://orcid.org/0000-0003-0911-3485>

библиографиялық сілтеме/
citation/
библиографическая ссылка:

Червинец ЮВ, Курмангалиева СС, Зевалкина ЕВ, Сарбулатова АШ, Алпамыс АК, Жанаманова РН. Ишек дисбиозын диагностикалаудың себептері мен тиімді әдістері. Gylym Aliansy. 2024;01(1):23-34.

Chervinets YuV, Kurmangaliyeva SS, Zevakina EV, Sarbulatova ASH, Alpamys AK, Zhanamanova RN. Causes and Effective Methods of Diagnosing Intestinal Dysbiosis. Gylym Aliansy. 2024;01(1):23-34.

Червинец ЮВ, Курмангалиева СС, Зевалкина ЕВ, Сарбулатова АШ, Алпамыс АК, Жанаманова РН. Причины и эффективные методы диагностики дисбиоза кишечника. Gylym Aliansy. 2024;01(1):23-34.

Ишек дисбиозын диагностикалаудың себептері мен тиімді әдістері

Ю.В. Червинец¹, С.С. Курмангалиева², Е.В. Зевалкина², А.Ш. Сарбулатова², А.К. Алпамыс², Р.Н. Жанаманова²

¹Тверь мемлекеттік медицина университеті, Тверь, Ресей

²Марат Оспанов атындағы Батыс Қазақстан медицина университеті, Ақтөбе, Қазақстан

Кіріспе. Дисбиоздың себептері экзогендік және эндогендік факторларды қамтиды. Сондықтан, дисбиоз адамға әртүрлі әсерлердің көрінісі болуы мүмкін, бірақ нәтижесінде – бір жағынан қалыпты микрофлораның міндетті өкілдерінің жоғалуына немесе азаюына және әдетте шамалы мөлшерде кездесетін оппортунистік микробтардың көбеюіне әкеледі. Қазіргі динамикалық өзгеретін өмір сүру жағдайында дәрігерлер диагноз қою және кейінгі емдеу кезінде кешенді диагностикалық шараларды жүргізу үшін микробиоценоздың өзгеруін ескеруі керек.

Зерттеу әдістері. Әдебиет деректерін талдау негізінде ішек дисбиозын диагностикалаудың себептері мен тиімді әдістерін талдау.

«Ишек дисбиозын диагностикалаудың себептері мен тиімді әдістері» тақырыбы бойынша отандық және шетелдік әдебиеттерге әдебиеттік шолу жасалды. Басылымдарды іздеу 2008 жылдан 2023 жылға дейін PubMed, Google Search және eLibrary электронды дерек қорларында жүргізілді.

Зерттеу нәтижелері. Денсаулық сақтау дамыған елдерде ғана емес, бүкіл әлемде көптеген жұқпалы емес аурулар мен жағдайлардың (мысалы, астма, тамақ аллергиясы, семіздік, целиакия ауруы, 1-ші және 2-ші типті қант диабеті, ішектің қабыну аурулары, аутизм, Альцгеймер ауруы, Паркинсон ауруы, жүрек ауруы және қатерлі ісік) таралуының айтарлықтай өсуімен көрініс беруде. Бұл патологиялық жағдайлар спектрдің өзгеруімен, пайда болу жиілігімен және адамның қалыпты микробиотасының мөлшерімен бірге жүреді. Адамның микробиотасы қоршаған ортамен өзара әрекеттесу, метаболизм және адам ағзаның дамуы мен физиологиясын реттеуге ықпал етеді. Дисбиозды зертханалық диагностикалау әдістеріне мыналар жатады: тікелей (материалдан тірі микробиотаны оқшаулау) және жанама (микроорганизмдердің, қысқа тізбекті май қышқылдарының (ҚТМК), газ сигналдық молекулаларының, ферменттердің тіршілік әрекетімен байланысты өнімдерді анықтау)–нәжістің биохимиялық талдаулары, зәрдің индолы мен скатолин анықтау, тыныс алу сынақтары (сутегі: 14С-гликохолаты немесе 14С с D бар сынақтар -кисилоза), нәжістің немесе жіңішке ішек сұйықтығының газ-сұйық хроматографиясы, масс-спектрометрия.

Қорытынды. Әр түрлі биотоптардың дисбиозын дұрыс және тиімді диагностикалау микробиоманы басқаруға басымдық беруге көмектеседі, бұл өз кезегінде тәуекелді бағалау, дәрі-дәрмектің ашылуы мен тиімділігі, алдын алу



Курмангалиева С.С.
e-mail: saule_cc@mail.ru

Received/
Келін түсті/
Поступила:
02.12.2023

Accepted/
Басылымға қабылданды/
Принята к публикации:
02.02.2024

© 2024 The Authors
Published by Marat Ospanov West Kazakhstan
Medical University

және медициналық терапияның тиімділігін арттырып, бізді тұрақты денсаулық сақтауға жақындатады. Микробиоманы емдеу тізбегін оңтайландыру одан әрі зерттеуді қажет етеді, соның ішінде микробиотаны адам өмірінің әр кезеңіне, жынысына және генетикалық тұрғыда бейімдеудің ықтимал қажеттілігін талап етеді.

Негізгі сөздер: микробиота, ішек дисбиозы, дисбиозды тиімді диагностикалау әдістері, газ хроматографиясы, метаболомика, метагеномика

Causes and Effective Methods of Diagnosing Intestinal Dysbiosis

Yu.V.Chervinets¹, S.S.Kurmangaliyeva², E.V.Zevakina², A.Sh.Sarbulatova², A.K.Alpamys², R.N.Zhanamanova²

¹Tver State Medical University, Tver, Russia

²Marat Ospanov West Kazakhstan Medical University, Aktobe, Kazakhstan

Dysbiosis in the intestinal microbiota can arise from various exogenous and endogenous factors. It represents a disruption in the balance of microbial communities within the gut, leading to a reduction or disappearance of beneficial microbes and an increase in opportunistic pathogens. Given the dynamic nature of modern living conditions, clinicians must consider changes in microbiota composition during diagnostic and treatment procedures.

Purpose: to analyze the causes and effective methods of diagnosing intestinal dysbiosis through a comprehensive review of the literature.

Methods. A literature review of both domestic and foreign sources pertaining to the causes and effective diagnostic methods for intestinal dysbiosis was conducted. Publications were sourced from electronic databases, including PubMed, Google Search, and eLIBRARY, spanning the years 2008 to 2023.

Results. Public health is witnessing a significant rise in the prevalence of various noncommunicable diseases (NCDs) globally, such as asthma, food allergies, obesity, celiac disease, diabetes (type 1 and 2), inflammatory bowel disease, autism, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, heart disease, and cancer. These conditions often coincide with alterations in the composition, frequency, and abundance of the normal human microbiota. The human microbiota plays a pivotal role in interactions with the environment, metabolism, and regulation of host organism development and physiology.

Laboratory methods for diagnosing dysbiosis include both direct (isolation of live microbiota from material) and indirect (determination of microbial activity-related products such as short-chain fatty acids (SCFAs), gas signaling molecules, and enzymes) approaches. These include stool biochemical tests, urine indole and skatole determination, respiratory tests (utilizing hydrogen 14C-glycocholate or 14C with D-xylose), gas-liquid chromatography of fecal or small intestinal fluid, and mass spectrometry.

Conclusion. Accurate and effective diagnosis of dysbiosis across various biotopes can prioritize microbiome management, enhancing risk assessment, drug discovery and efficacy, prevention, and medical therapy. The optimization of microbiome treatment regimens requires further investigation, including potential adjustments based on life stage, sex, and genetic background of the host. This approach aims to advance sustainable healthcare practices.

Keywords: microbiota, gut dysbiosis, methods for effective dysbiosis diagnosis, gas chromatography, metabolomics, metagenomics

Причины и эффективные методы диагностики дисбиоза кишечника

Ю.В. Червинец¹, С.С. Курмангалиева², Е.В.Зевалкина², А.Ш.Сарбулатова², А.К.Алпамыс², Р.Н. Жанаманова²

¹Тверской государственный медицинский университет, Тверь, Россия

²Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова, Актобе, Казахстан

Цель. Причины возникновения дисбиоза включают в себя экзогенные и эндогенные факторы. Поэтому дисбиоз может быть проявлением разных воздействий на человека, но как результат – приводит к исчезновению или снижению числа облигатных представителей нормобиоты, с одной стороны, и увеличению количества условно-патогенных микробов, которые в норме встречаются в незначительных количествах. В современных динамично изменяющихся условиях жизни клиницистам необходимо учитывать изменения микробиоценоза для проведения комплексных диагностических мероприятий при постановке диагноза и последующего лечения.

Целью исследования является анализ причин и эффективных методов диагностики дисбиоза кишечника на основе анализа данных литературы.

Методы исследования. Был проведен литературный обзор отечественной и зарубежной литературы по теме работы: «Причины и эффективные методы диагностики дисбиоза кишечника». Поиск публикаций проводился в электронных базах данных: PubMed, Google Search и eLIBRARY с 2008 по 2023 год.

Результаты исследования. Здравоохранение сталкивается со значительным ростом распространенности множественных неинфекционных заболеваний и состояний (НИЗ) (например, астма, пищевая аллергия, ожирение, целиакия, диабет 1 и 2 типа, воспалительные заболевания кишечника, аутизм, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезни сердца и рак) не только в развитых странах, но и во всем мире. Данные патологические состояния сопровождаются изменением спектра, частоты встречаемости и количества нормальной микробиоты человека. Микробиота человека находится в центре взаимодействия с окружающей средой, метаболизма и регуляции развития и физиологии организма хозяина. К методам лабораторной диагностики дисбиоза относятся: прямые (выделение живой микробиоты из материала) и косвенные (определение продуктов, связанных с жизнедеятельностью микроорганизмов, короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), газовых сигнальных молекул, ферментов) — биохимические анализы кала, определение индола и скатола мочи, дыхательные тесты (водородный: тесты с ^{14}C -гликохолом или ^{14}C с D-ксилозой), газожидкостная хроматография фекалий или тонкокишечной жидкости, масс-спектрометрия.

Выводы. Правильная и эффективная диагностика дисбиоза разных биотопов поможет сосредоточить приоритет на управлении микробиомом, который, в свою очередь, должен повысить эффективность оценки риска, открытия и эффективности лекарств, профилактики и медицинской терапии, приближая нас к устойчивому здравоохранению. Оптимизация схем лечения микробиома ожидает дальнейшего изучения, включая потенциальную необходимость адаптации микробиоты к каждому этапу жизни, полу и генетическому фону хозяина.

Ключевые слова: микробиота, дисбиоз кишечника, методы эффективной диагностики дисбиоза, газовая хроматография, метаболомика, метагеномика

Актуальность

Желудочно-кишечный тракт человека (ЖКТ) содержит сложную и динамичную популяцию микроорганизмов, кишечную микробиоту, которая оказывает заметное влияние на организм хозяина во время гомеостаза и болезни. Слизистая оболочка кишечника обеспечивает селективный проницаемый барьер для усвоения питательных веществ и защиты от внешних факторов. Он состоит из эпителиальных клеток, иммунных клеток и их секрета. Микробиота кишечника участвует в регулировании целостности и функции кишечного барьера в гомеостатическом балансе. Множество факторов способствуют формированию микробиоты кишечника человека в младенчестве. Диета считается одним из основных факторов формирования микробиоты кишечника на протяжении всей жизни. Патогенные микроорганизмы, ксенобиотики и пища могут нарушать кишечный барьер, способствуя системному воспалению и повреждению тканей. Генетические и иммунные факторы предрасполагают людей к дисфункции кишечного барьера, и изменения в составе и функции кишечной микробиоты играют центральную роль в этом процессе. Прогрессирующая идентификация этих изменений привела к развитию концепций «синдрома дырявого кишечника» и «дисбактериоза кишечника», которые лежат в основе взаимосвязи между нарушением кишечного барьера,

метаболическими заболеваниями и аутоиммунитетом.

Дисбиоз—понятие более широкое, включающее в себя наличие изменений со стороны не только бактериального состава микроорганизмов, но и вирусов, простейших, грибов. Кроме того, понятие дисбиоза применяется для обозначения нарушений состава микробиоты в разных биотопах организма человека, а также механизмов их взаимодействия [1]. Впервые термин «дисбактериоз» был введен в 1916 году А. Nissle, который под дисбактериозом первоначально понимал изменения, касающиеся только кишечной палочки. До настоящего времени широко использовалось и другое определение дисбактериоза как состояния, характеризующегося нарушением подвижного равновесия кишечной микробиоты и возникновением качественных и количественных изменений в микробном пейзаже кишечника [2]. Термин «Disbiosis» в настоящее время используется повсеместно в научной литературе, но чаще всего его ассоциируют с функциональной дисфункцией пищеварительного тракта.

Некоторыми авторами [3,4, 5] дисбактериоз (не только кишечника, но и других нестерильных полостей и трактов) рассматривался как изменение микробиоценозов различных биотопов человеческого организма, выражающееся в нарушении инфраструктурного отношения «анаэробы/аэробы», популяционных изменениях численности и состава микробных видов биотопов, в том числе появлении

нерезидентных для данного биотопа видов (контаминация, транслокация), изменении их метаболической активности и являющееся следствием и/или одним из патогенетических механизмов различных патологических состояний. [3,4, 5]

В Российском отраслевом стандарте «Протокол ведения больных. «Дисбактериоз кишечника» под дисбактериозом кишечника понимают клинико-лабораторный синдром, связанный с изменением качественного и/или количественного состава микробиоты кишечника с последующим развитием метаболических и иммунологических нарушений с возможным развитием желудочно-кишечных расстройств. [6]

За рубежом для обозначения проблем дисбиоза кишечника чаще используют другие термины, например «антибиотик-ассоциированная диарея» или «синдром интестинального избыточного микробного роста» [7]. Согласно данным Motamedi H. [8], распространенность таких бактерий, как *Clostridioides (Clostridium) difficile*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella oxytoca* и *Staphylococcus aureus*, связанных с антибиотик-ассоциированной диареей, была выявлена среди госпитализированных пациентов в 19,6%, 14,9%, 27% и 5,2% случаях соответственно. Распространенность всех четырех бактерий была выше в Европе по сравнению с другими континентами.

В современных динамично изменяющихся условиях жизни клиницистам и практикующим врачам необходимо учитывать изменения микробиоценоза разных биотопов организма человека при заболеваниях различной этиологии для проведения комплексных диагностических мероприятий при постановке диагноза и последующего лечения.

Целью исследования явился анализ причин и эффективных методов диагностики дисбиоза кишечника на основе анализа данных литературы.

Задачи исследования:

- Проанализировать причины возникновения кишечного дисбиоза на основании оценки данных литературы последних 15-ти лет.
- Оценить эффективные методы диагностики дисбиоза кишечника на основе анализа данных литературы последних 15-ти лет.

Материал и методы исследования

Был проведен обзор отечественной и зарубежной литературы по теме работы: «Причины и эффективные методы диагностики дисбиоза кишечника». Поиск публикаций проводился в электронных базах данных: PubMed, Google Search и eLIBRARY с 2008 по 2023 год. Поиск соответствующих исследований выполнялся по расширенному перечню ключевых слов: «кишечная микробиота», «дисбиоз кишечника», «причины дисбиоза кишечника», «методы диагностики дисбиоза кишечника». Было найдено 985 статей, включая метаанализы, оригинальные исследования, клинические испытания, литературные обзоры. После чего просматривали названия публикаций, аннотации и полнотекстовые статьи. В конечном итоге нами было

отобрано 73 публикации для написания литературного обзора. Дополнительно анализировали источники, включенные в список литературы выбранных статей.

Результаты и обсуждение

Несмотря на то, что кишечный дисбиоз не является заболеванием, а представляет собой синдромокомплекс, включающий в себя как разнообразные клинические проявления, так и лабораторно-инструментальные данные, влияние данного микробного дисбаланса велико и затрагивает все ткани и органы организма человека. Причины возникновения дисбактериоза включают в себя экзогенные факторы, оказывающие негативное воздействие на макроорганизм, например, климат, загрязнение окружающей среды, питание, бытовые, профессиональные и другие факторы. К наиболее важным факторам развития дисбактериоза относятся эндогенные, включающие в себя нерациональное и даже бесконтрольное использование антимикробных препаратов, физические и эмоциональные стрессы, голодание, а также различные инфекционные, соматические и психические заболевания человека. Как видно, дисбиоз может быть проявлением разных воздействий на человека, но как результат – приводит к исчезновению или снижению числа облигатных представителей нормобиоты с одной стороны и увеличению количества условно-патогенных микробов (энтеробактерий, стафилококков, грибов рода *Candida* и др.), которые в норме встречаются в незначительных количествах.

Древнее изречение «Все болезни начинаются в кишечнике», сформулированное Гиппократом в 3-м веке до н. э., в принципе, выдерживает современную научную проверку. Микробиом участвует в жизненно важных физиологических и иммунологических процессах, включая энергетический гомеостаз и обмен веществ, синтез витаминов и других питательных веществ, эндокринную сигнализацию, профилактику колонизации энтеропатогенов, регуляцию функции иммунной системы и метаболизм ксенобиотических соединений. Действительно, многие желудочно-кишечные и системные заболевания были связаны с абберрантными микробными сообществами кишечника. Неясно, участвует ли микробиом непосредственно в патогенезе этих болезненных состояний. Тем не менее, растущее количество доказательств указывает на то, что это происходит посредством сложных взаимодействий между микробиомом, а также метаболической и иммунной системами хозяина. В обзоре будет рассмотрено текущее состояние знаний о роли кишечного микробиома в состояниях, влияющих на желудочно-кишечное и системное здоровье человека.

Дисбиоз кишечника и патологические состояния. Спектр клинических синдромов и патологических состояний, которые могут быть связаны с дисбиозом кишечника, достаточно широк и имеет тенденцию к увеличению. В настоящее время подтверждена взаимосвязь дисбиозов с заболеваниями практически всех систем организма человека: пищеварительной, иммунной, урогенитальной, дыхательной, кроветворной,

сердечно-сосудистой, нервной, костно-мышечной [9,10].

Дисбиоз кишечника развивается большей частью вторично при различных соматических заболеваниях (язвенный колит, болезнь Крона, диффузный полипоз и распространенный дивертикулез толстой кишки и др.) [11,12,13]. Возникающие на фоне основного заболевания дисбиотические расстройства в толстой кишке долгое время могут не давать отчетливых клинических симптомов, протекают латентно, чем ухудшают диагностику, течение основного заболевания и результаты лечения [14].

Факторы, провоцирующие развитие дисбиоза кишечника, могут быть обусловлены возрастом, сезоном, особенностями питания, наличием онкологических заболеваний, острых и хронических инфекций, хронических заболеваний пищеварительной системы, приемом антибактериальных препаратов, радиоактивным облучением. [15,16].

Множество заболеваний, включая воспалительные заболевания кишечника, а также нарушения обмена веществ, такие как ожирение и диабет II-го типа, связаны с дисбиозом кишечника. Окислительный стресс, индукция бактериофагов и секреция бактериальных токсинов могут вызвать быстрые сдвиги среди кишечных микробных групп, что приводит к дисбактериозу. Исследования последних лет показали взаимосвязь изменений кишечного биоценоза и ожирения [17]. В результате избыточной микробной ферментации пищевых волокон и некоторых других субстратов в организм хозяина попадает небольшое количество дополнительной энергии, что может с течением времени способствовать увеличению веса. Кроме того, показано, что микробиота воздействует на гены, регулирующие расход и запасание энергии [18]. Понимание того, как кишечная микробиота влияет на связь между кишечником и мозгом, было предметом значительных исследований за последнее десятилетие. Расширение термина «ось микробиота-кишечник-мозг» с «оси кишечник-мозг» подчеркивает двунаправленную систему связи между кишечником и мозгом. Ось «микробиота-кишечник-мозг» включает метаболические, эндокринные, нервные и иммунные пути, которые имеют решающее значение для поддержания гомеостаза мозга. Изменения в составе кишечной микробиоты связаны с множественными нервно-психическими расстройствами. Хотя причинно-следственная связь между дисбактериозом кишечника и нервной дисфункцией остается неуловимой, новые данные указывают на то, что дисбиоз кишечника может способствовать агрегации бета-амилоида, нейровоспалению, окислительному стрессу и резистентности к инсулину в патогенезе болезни Альцгеймера (БА) [19].

В экспериментах на мышах Xu Ketan показали, что ишемия головного мозга быстро индуцировала ишемию кишечника и производила избыточное количество нитратов в результате свободнорадикальных реакций, что приводило к дисбактериозу кишечника с распространением Enterobacteriaceae. Обогащение

Enterobacteriaceae усугубляет инфаркт головного мозга за счет усиления системного воспаления и является независимым фактором риска первичного неблагоприятного исхода у пациентов с инсультом. Введение аминогуанидина или супероксиддисмутазы для снижения образования нитратов или введение вольфрама для ингибирования дыхания нитратами приводило к подавлению разрастания энтеробактерий, уменьшению системного воспаления и уменьшению инфаркта головного мозга. Эти эффекты зависели от кишечного микробиома и указывали на поступательное значение оси «мозг-кишечник» при лечении инсульта [20].

Ось «кишечник-печень» относится к двунаправленным отношениям между кишечником и его микробиотой и печенью, возникающими в результате интеграции сигналов, генерируемых диетическими, генетическими факторами и факторами окружающей среды. Алкоголь нарушает ось «кишечник-печень» на нескольких взаимосвязанных уровнях, включая микробиом кишечника, слизистый барьер, эпителиальный барьер и на уровне выработки противомикробных пептидов, что увеличивает микробное воздействие и провоспалительную среду печени. Все больше данных указывают на патогенетическую роль метаболитов микробного происхождения, таких как триметиламин, вторичные желчные кислоты, короткоцепочечные жирные кислоты и этанол, в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени [21]. Идентификация элементов оси «кишечник-печень», которые в первую очередь повреждаются при каждом хроническом заболевании печени, открывает возможности для вмешательства. Помимо антибиотиков, будущие методы лечения, ориентированные на кишечник, включают пробиотики нового поколения, бактериальные метаболиты (постбиотики), трансплантацию фекальных микробов и углеродные наночастицы.

Интересные данные были получены в работе Vrugman, где показано положительное влияние антибиотиков на гликемический профиль крыс с предрасположенностью к сахарному диабету. У крыс без диабета также обнаружено достоверно более низкое содержание Bacteroidetes [22]. Предположительно, прием кишечных антисептиков приводит к снижению активности системного воспаления в ответ на уменьшение антигенной стимуляции, которое может способствовать деструкции β -клеток поджелудочной железы.

Известно, что в регуляции липидного обмена существенное значение имеет поддержание качественного и количественного состава микробиоты кишечника [23]. Нарушение кишечной микробиоты встречается у 90% больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями [24]. Также избыточный бактериальный рост и транслокация кишечных микроорганизмов приводят к активации системного воспалительного ответа, прочно связанного с патогенезом хронической сердечной недостаточности (ХСН) [25].

Устойчивый дисбиоз кишечника способствует клинической манифестации иммунозависимых синдро-

мов, в частности атопического и аутоиммунного. Есть данные об осложненном течении воспалительных (аутоиммунных) заболеваний кишечника в результате нарушения дифференцировки нативных Т-хелперов из-за нарушенной стимуляции последних дендритными клетками кишечника при дисбиозе [26,27]. Для больных неспецифическим язвенным колитом характерен дисбиоз со снижением количества бифидобактерий и лактобацилл, облигатной микробиоты и увеличением факультативных бактерий [28,29,30], при этом определяется дефицит защитного слоя муцинов [31].

При болезни Крона наблюдается нарушение микробиоценоза толстого кишечника за счет микобактерий, псевдомонад, иерсиний, патогенных штаммов эшерихий [32,33] с избытком слизиобразования.

Клинические последствия дисбиоза кишечника обусловлены, в первую очередь, утратой полезных свойств нормобиоты: она участвует в терминальном (толстокишечном) пищеварении, синтезирует биологически активные вещества, осуществляет колонизационную резистентность (сдерживает рост оппортунистической микробиоты) и вызывает позитивные иммуномодуляторные эффекты. Поэтому при определенной продолжительности дисбиоза возникает кишечная диспепсия (броидильная и гнилостная), метаболические нарушения, бактериальная и микотическая эндогенная интоксикация и сенсбилизация, отягщенное течение иммунодефицитных, аллергических и аутоиммунных синдромов.

Нарушение состава кишечной микробиоты способствует повреждению энтероцитов; повышению кишечной проницаемости для макромолекул; снижению защитных свойств слизистого барьера; созданию условий для развития патогенных микроорганизмов; нарушению физиологических процессов в кишечнике; изменению моторики кишечника.

Один из самых частых вариантов дисбиоза кишечника — кандидозный (согласно другой терминологии, «дисбиоз кишечника с избыточным ростом грибов рода *Candida*», или «неинвазивный кандидоз кишечника»). По данным Шевякова М.А. и соавт., доля кандидозного дисбиоза может достигать 31% [34]. Современные антибиотики отличаются высокой антибактериальной эффективностью и широким спектром антибактериального действия, однако не действуют на дрожжевые грибы и, более того, угнетают естественного антагониста грибов — резидентную микробиоту. В одной из последних работ, основанной на принципах доказательной медицины, показано, что рост дрожжеподобных грибов рода *Candida* в кишечнике статистически достоверно ассоциирован с увеличением частоты кандидозного вульвовагинита у женщин, пищевой аллергией и аллергическими заболеваниями вообще, а также с курением [35].

Лабораторная диагностика кишечного дисбиоза

К методам лабораторной диагностики относятся: прямые (выделение живой микробиоты из материала) и косвенные (определение продуктов, связанных

с жизнедеятельностью микроорганизмов) — биохимические анализы кала, определение индола и скаптола мочи, дыхательные тесты (водородный: тесты с 14С-гликохоломатом или 14С с D-ксилозой), газовожидкостная хроматография фекалий или тонкокишечной жидкости [36].

В диагностике дисбиоза кишечника по-прежнему сохраняет значение «классический» бактериологический анализ. [37,38,39]. В результате многолетнего изучения кишечной микрофлоры Р.В. Эпштейн-Литвак и Ф.Л. Вильшанская (1970) разработали методы лабораторной диагностики дисбактериоза с исследованием фекалий в нарастающих разведениях, последующим посевом на бактериальные среды и количественным определением видового состава микрофлоры кишечника. [40].

Бактериологическое исследование на дисбиоз позволяет установить количественный и видовой состав микробиоты, обнаружить смену облигатной микробиоты на условно-патогенную и обосновать необходимость коррекции выявленных нарушений (с учетом степени дисбиоза, его этиологии и патогенеза, видового состава транзитной микробиоты). Важно не только установить факт наличия дисбиоза, но и «вычленил» его клиническую составляющую в случае появления и нарастания клинических симптомов, усугубляющих симптоматику основного заболевания [41,42].

В литературе также имеются сообщения, подтверждающие низкую диагностическую ценность исследования кала на дисбактериоз [43,44,45].

В соответствии с Российским Отраслевым стандартом («Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника») микробиологическими критериями дисбактериоза кишечника считаются:

- нарастание количества условнопатогенных микроорганизмов одного или нескольких видов в кишечнике при нормальном количестве бифидобактерий;
- нарастание одного или нескольких видов условнопатогенных микроорганизмов при умеренном снижении концентрации бифидобактерий (на 1-2 порядка);
- снижение содержания облигатных представителей микробиоценоза (бифидобактерий и/или лактобацилл) без регистрируемого увеличения количества сапрофитной или условнопатогенной микробиоты кишечника;
- умеренное или значительное (меньше 10⁷) снижение содержания бифидобактерий, сочетающееся с выраженными изменениями в аэробной микробиоте — редукцией лактобацилл, появлением измененных форм кишечной палочки, обнаружением одного или нескольких представителей условнопатогенных микроорганизмов в высоких титрах (до 10⁷–10⁸ КОЕ/г).

Улучшение условий хранения и отбора проб может позволить культивировать прихотливые и чрезвычайно чувствительные бактерии. Прошлые и текущие ис-

следования показали, что метод консервации сильно влияет на результаты, полученные культурально-зависимыми методами. Замораживание при температуре -20°C или -80°C используется для хранения образцов перед экспериментом. Замораживание при температуре -80°C , часто используемое для длительного хранения, считается золотым стандартом сохранения образцов с особым вниманием к холодной цепи [46]. Для кратковременного хранения может быть достаточно охлаждения (4°C), а не хранения при комнатной температуре. Было описано, что добавление защитных агентов, таких как дисахариды, полиолы и белки по отдельности или, как показано в недавнем исследовании, в комбинации всего вышеперечисленного, повышает жизнеспособность бактерий в фекалиях после замораживания. [47,48,49].

Залогом успеха в бактериологическом исследовании на дисбактериоз является эффективная питательная среда. Среда с дрожжевым экстрактом, гидролизатом казеина и жирными кислотами (ДЭГКЖК) представляет собой богатую среду, состоящую из факторов роста, антиоксидантов, летучих жирных кислот и витаминов. Поскольку микробиота кишечника человека состоит в основном из видов бактерий, не переносящих кислород, среда ДЭГКЖК должна быть особенно подходящей для культивирования этой микробиоты. Исследования Browne H Petal. показали, что большую часть бактерий кишечной микробиоты человека можно культивировать с использованием этой единственной среды. В этом исследовании было выделено 137 видов, среди которых 68 новых видов (63 Firmicutes, 4 Bacteroidetes и 1 Actinobacteria) [50,51].

Условия высокопродуктивного культивирования включали обогащение образцов во флаконах с питательной средой с добавлением овечьей крови [52]. Сочетание обогащения культуры с добавлением свежей среды привело к увеличению выделенных видов на 22% [53]. Кроме того, обогащение культуры улучшило глубину секвенирования ампликонов, а также метагеномики [54].

В последнее время быстрое развитие методов, основанных на анализе ГХ-МС (газовой хроматографии масс-спектрометрии), ЖХ-МС (жидкостной хроматографии масс-спектрометрии) и ВМС (визуализационной масс-спектрометрии), оказалось мощным для чувствительного и объективного обнаружения небольших молекулярных метаболитов и связанных с ними метаболических путей [55]. Комбинированное использование нескольких аналитических подходов способствует увеличению охвата метаболомом, обеспечивая чувствительные и надежные характеристики низкомолекулярных метаболитов, связанные с взаимодействием микробиоты кишечника и хозяина.

Метод быстрой ГХ с экстракцией подкисленной воды и методом прямого впрыска был разработан Zhao et al для определения короткоцепочечных жирных кислот в фекалиях человека, включая уксусную кислоту, пропионовую кислоту, масляную кислоту,

валериановую кислоту, капроновую кислоту и гептановую кислоту. [56]. Для анализа неадекватно летучих или термонестабильных небольших молекулярных метаболитов в метаболоме были разработаны и использованы химические модификации или дериватизации небольших молекулярных метаболитов. В процессе дериватизации ГХ-МС можно использовать для анализа не только летучих и неполярных соединений, но и полярных соединений, таких как нейротрансмиттеры и полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), амины и аминокислоты [57,58,59]. ГХ-МС обладает уникальным преимуществом для идентификации неизвестных соединений путем поиска по библиотеке спектра.

Жидкостная хроматография масс-спектрометрии широко используется в исследованиях метаболомики [60]. Объектами изучения в данном методе являются полярные соединения, нелетучие соединения и термонестабильные соединения. В зависимости от полярности соединений для анализа компонентов средней и высокой полярности использовали реверснофазную жидкостную хроматографию и гидрофильную интерактивную хроматографию соответственно [61]. Жидкостная хроматография в сочетании с различными вариациями масс-спектрометрии подходила как для качественного, так и для количественного анализа. Массовые анализаторы в основном включают QQQ-MS, LTQ-MS, TOF-MS, QTOF-MS и Orbitrap-MS. Данная методика обеспечивает высокую чувствительность, точность, линейность и широкий динамический диапазон для определения небольших молекулярных метаболитов.

Визуализационная масс-спектрометрия была разработана и применена для анализа пространственного распределения химических композиций с их молекулярными массами, которая стала привлекательным инструментом метаболомики. Применение данной методики не требует предварительного знания анализируемых образцов и обеспечивает высокую пропускную способность профилирования небольших молекулярных метаболитов с точной массой, что отличается от широко используемых традиционных методологий визуализации, таких как радиохимия и иммуногистохимия. С помощью визуализационной масс-спектрометрии можно увидеть пространственное распределение молекулярных метаболитов, полученных из кишечных микробов. Для анализа небольших молекулярных метаболитов, были разработаны качественные и количественные методы визуализационной масс-спектрометрии, включая матричную лазерную десорбцию/ионизацию ВМС (MALDI-ВМС), десорбционную ионизацию электрораспылением ВМС (ДИЭР-ВМС) и ВМС с наноструктурой-инициатором [62]. MALDI-TOF ВМС в настоящее время, по-видимому, является одним из наиболее распространенных подходов ВМС, с его высоким диапазоном масс (до 500 кДа), пространственным разрешением 20 мкм и возможностью получения спектра MS/MS. Нецелевой метод MALDI-ВМС был применен для изучения био-

логической сложности взаимодействия микробиоты кишечника с хозяином.

В дополнение к широкому использованию вышеуказанных методов масс-спектрометрии некоторые платформы также добились значительных успехов в метаболомике нейродегенеративных заболеваний, например, масс-спектрометрия с прямой или проточной инъекцией и капиллярный электрофорез-масс-спектрометрия [63]. Метод ядерного магнитного резонанса (ЯМР) также широко используется для рутинных измерений метаболома с преимуществом неразрушения образцов. Однако основным недостатком ЯМР является его относительно низкая чувствительность по сравнению с технологиями МС [64]. Комбинированное применение методов масс-спектрометрии и ЯМР в метаболомике становится все более распространенным для всесторонних исследований метаболома и играет все более важную роль в раскрытии механизма заболевания и клинической диагностики [65].

Анаэробную микробиоту можно выявлять с помощью хромато-масс-спектрометрии. М.Д. Ардатская и О.Н. Минушкин разработали способ определения короткоцепочечных (летучих) жирных кислот методом газожидкостной хроматографии (по метаболомической активности микробиоты), которая позволяет быстро и достаточно точно выявлять содержание индигенной микробиоты, а также присутствие условно-патогенных и патогенных микроорганизмов в толстой кишке [3].

В последних исследованиях, посвященных анализу микробиоценоза кала, используется метод флуоресцентной гибридизации ДНК *in situ* (FISH). Количественный анализ бактериального состава и интенсивности свечения в центральных участках образца фекалий, на поверхности и в слизи позволили различить особенности биологической структуры кала здоровых и больных. Особенностью данных исследований является то, что исследуются не гомогенизированные образцы, а цилиндрические образцы кала, полученные от больных, так как при гомогенизации бактерии равномерно распределяются в образце, чего не бывает в естественных условиях [66].

В результате методов секвенирования следующего поколения, которые позволили проводить множественное параллельное секвенирование [67], метагеномика стала ключевым методом анализа микробиоты кишечника. В 2006 г. впервые сообщалось о применении этого метода к микробиому человека для анализа стула двух здоровых взрослых людей [68]. Четыре года спустя стал доступен генный каталог микробиома человека [69]. С тех пор участие кишечной микробиоты в физиологии и патологии человека продолжали изучать с помощью метагеномики. Метагеномика заключается в обнаружении всех компонентов образца с геномом путем секвенирования их генов без необходимости культивирования. Возможны два разных подхода. Целевая метагеномика основана на амплификации выбранной последовательности (часто области гена 16S) перед секвенированием и позволяет таксо-

номически описать все бактериальные компоненты анализируемого образца. Метагеномика основана на секвенировании всей ДНК, присутствующей в образце, без априорного знания ее содержания и позволяет дать общее описание образца, включая бактерии, вирусы и паразиты.

В последнее время были предложены и апробированы скрининговые биохимические методы оценки состояния микробиоценоза кишечника по уровню протеолитической, Ig-расщепляющей активности супернатантов фекалий [70,71]. На кафедре микробиологии Тверского ГМУ модифицирован экспресс-метод диагностики дисбактериоза кишечника, принцип которого заключается в том, что при взаимодействии протеиназ бактериальных культур с казеином, содержащимся в агаровой среде, происходит его расщепление [72]. При добавлении коагулянта белка на мутном фоне агара выявляются зоны просветления вокруг лунок с казеинолитически активными микроорганизмами. Далее при использовании определенных критериев величины зоны просветления проводят оценку степени дисбиоза.

Микроорганизмы в процессе жизнедеятельности могут потреблять из внешней среды или выделять в нее различные вещества, в том числе простейшие по химической структуре газообразные соединения (оксид азота-NO, оксид углерода-CO, сероводород- H₂S, водород -H₂, метан- CH₄, аммиак- NH₃ и другие), являющиеся разнообразными регуляторами внутри и межклеточной коммуникации, и динамика их концентрации в среде является важным физиологическим показателем. Сотрудниками кафедры микробиологии Тверского ГМУ во главе с Червинец Ю.В. получен патент на изобретение «Способ диагностики газового состава метаболитов микробиоты человека», позволяющий определить количество газовых сигнальных молекул, выделяемых микробиотой человека, с большой точностью и специфичностью, обладающего хорошей воспроизводимостью результатов, использованием минимального количества биомассы микроорганизмов в микрообъемах, отсутствием необходимости использования опасных химических реагентов [73]. Определение газовых сигнальных молекул (H₂, H₂S, N₂, O₂, NO, CO₂, CO, CH₄, C₂H₆, C₃H₈ и др.) проводится с помощью газовой хроматографии с применением газового хроматографа «Хроматэк-Кристалл 5000.2», оснащенного детектором по теплопроводности (ДТП), пламенно-ионизационным детектором (ПИД) и электрозахватным детектором (ЭЗД), подключенными последовательно, что обеспечивает одновременный анализ горючих и негорючих компонентов. Предлагаемый способ позволяет выявить закономерности между выделением газовых сигнальных молекул и различными заболеваниями (нервной, сердечно-сосудистой систем и др.). Данные газотрансмиттеры являются маркерами в диагностике, профилактике и лечении заболеваний различного профиля. Экономическая выгода очевидна вследствие раннего скрининга заболеваний нервной, сердечно-сосудистой

систем, с последующим индивидуальным подбором программы ведения и методов профилактики, снижение затрат на реабилитацию при своевременном выявлении факторов риска появления данных заболеваний, отсутствия расходов на лечение осложнений заболеваний (инсульт, инфаркт, тромбоз).

Заключение

Человеческое тело полно обширного количества комменсальных микробов, состоящих из бактерий, вирусов и грибов, которые в совокупности называются микробиомом человека. Первоначальное приобретение микробиоты происходит как из внешней, так и из материнской среды, и подавляющее большинство из них колонизирует желудочно-кишечный тракт. Эти микробные сообщества играют центральную роль в созревании и развитии иммунной системы, центральной нервной системы и системы желудочно-кишечного тракта, а также отвечают за основные метаболические пути. Различные факторы, включая генетическую предрасположенность хозяина, факторы окружающей

среды, образ жизни, диету, использование антибиотиков или неантибиотических препаратов и т. д., влияют на состав микробиоты кишечника. Причины, приводящие к развитию дисбиоза кишечника, широки и разнообразны.

Задача практикующего врача – выявить причинно-следственную связь не только в появлении разнообразных состояний у человека, но и в развитии последствий или осложнений как со стороны органов и тканей человека, так и его микробной экосистемы. Для поддержания здоровья, лечения и профилактики различных заболеваний человека и снижения риска их возникновения необходимо уделять большое внимание диагностике функциональной активности и количества нормальной микробиоты, влияющей как на поддержание состояния здоровья, так и на развитие разнообразных заболеваний. Использование пробиотиков, пребиотиков, постбиотиков и синбиотиков может принести потенциальную пользу для здоровья человека в плане укрепления и восстановления функциональной активности собственной нормобиоты.

Список литературы:

1. Каширская НЮ. Значение пробиотиков и пребиотиков в регуляции кишечной микрофлоры. *Русс. мед. журн.*, 2000;13–14:3-6.
2. Красноголовец ВН. Дисбактериоз кишечника. Москва: Медицина; 1989:208.
3. Ардатская МД, Бельмер СВ, Добрица ВП, Захаренко СМ, и др. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы. Комплексная диагностика и лечебная коррекция. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2015;117 (5):13–50.
4. Новиков ДК. Дисбактериоз влагалища. Клиническая иммунопатология для акушеров-гинекологов. Минск: Вышэйшая школа; 2021:224.
5. Анисимова СА, Фомина МА. Дисбактериоз полости рта. *Бюллетень Северного государственного медицинского университета*. 2020;44(1):56-57.
6. Российский отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. «Дисбактериоз кишечника»» (ОСТ 91500.11.0004–2003). <https://docs.cntd.ru/document/1200119089>.
7. Маев ИВ, Кучерявый ЮА, Ивашкина НЮ, и др. Синдром избыточного бактериального роста в тонкой кишке: клиническое значение, критерии диагностики и терапевтическая тактика. *Инфекционные болезни*. 2016;3:118-125.
8. Motamedi H, Fathollahi M, Abiri R, Kadivarian S, Rostamian M, Alvandi A, et al. A worldwide systematic review and meta-analysis of bacteria related to antibiotic-associated diarrhea in hospitalized patients. *PLoS One*. 2021;16(12):e0260667.
9. Шендеров БА. Нормальная микрофлора и ее роль в поддержании здоровья человека. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 1998;1:61-65.
10. Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Дисбактериозы и эубиотики». *ЖМЭИ*. 1996;5:124-125.
11. Allan Radaic, Yvonne L. Kapila. The oralome and its dysbiosis: New insights into oral microbiome-host interactions. *Science Direct, Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2021;19: 1335-1360.
12. Алифирова ВМ, Жукова НГ, Жукова ИА, Латыпова АВ, Титова МА, Миронова ЮС, и др. Возможная роль микробиоты желудочно-кишечного тракта в патогенезе болезни Паркинсона. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016;116(11):174-179. doi: 10.17116/jnevro201611611174-179.

Spisok literatúry:

1. Kashirskaia N.Iy. Znachenie probiotikov i prebiotikov v regylyatsii kishhechnoi mikroflory. *Rýss. med. jýrn.*, 2000;13–14:3-6. [in Russian]
2. Krasnogolovets VN. Disbakterioz kishhechnika. Moskva: Meditsina; 1989:208. [in Russian]
3. Ardatskaia MD, Belmer SV, Dobritsa VP, Zaharenko SM, i dr. Disbioz (disbakterioz) kishhechnika: sovremennoe sostoianie problemy. Kompleksnaia diagnostika i lechebnaia korrektsiia. *Eksperimentalnaia i klinicheskaja gastroenterologija*. 2015;117 (5):13–50. [in Russian]
4. Novikov DK. Disbakterioz vlagalitsa. Klinicheskaja immýnopatologija dlia akýsherov-ginekologov. Minsk: Vysheishaia shkola; 2021:224. [in Russian]
5. Anisimova SA, Fomina MA. Disbakterioz polosti rta. *Býlleten Severnogo gosýdarstvennogo meditsinskogo ýniversiteta*. 2020;44(1):56-57. [in Russian]
6. Rossiiskii otraslevoi standart «Protokol vedeniia bolnyh. “Disbakterioz kishhechnika”» (OST 91500.11.0004–2003). <https://docs.cntd.ru/document/1200119089>. [in Russian]
7. Maev IV. Kýcheriavyi IyA, Ivashkina NIy, i dr. Sindrom izbytochnogo bakterialnogo rosta v tonkoi kishke: klinicheskoe znachenie, kriterii diagnostiki i terapevticheskaja taktika. *Infektsionnye bolezni*. 2016;3:118-125. [in Russian]
8. Motamedi H, Fathollahi M, Abiri R, Kadivarian S, Rostamian M, Alvandi A, et al. A worldwide systematic review and meta-analysis of bacteria related to antibiotic-associated diarrhea in hospitalized patients. *PLoS One*. 2021;16(12):e0260667.
9. Shenderov BA. Normalnaia mikroflora i ee rol v podderzhanii zdorovia cheloveka. *Rossiiskii jýrnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 1998;1:61-65. [in Russian]
10. Materialy Vserossiiskoi naýchno-prakticheskoi konferentsii «Disbakteriozy i eýbiotiki». *JMEI*. 1996;5:124-125. [in Russian]
11. Allan Radaic, Yvonne L. Kapila. The oralome and its dysbiosis: New insights into oral microbiome-host interactions. *Science Direct, Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2021;19: 1335-1360.
12. Alifirova VM, Jýkova NG, Jýkova IA, Latypova AV, Titova MA, Mironova IyS, i dr. Vozmojnaia rol mikrobioty jelydochno-kishhechnogo trakta v patogeneze bolezni Parkinsona. *Jýrnal nevrologii i psichiatrii im. S.S. Korsakova*. 2016;116(11):174-179. doi: 10.17116/jnevro201611611174-179. [in Russian]

13. Frank A, Scannapieco, Anna Dongari-Bagtzoglou. Dysbiosis revisited: Understanding the role of the oral microbiome in the pathogenesis of gingivitis and periodontitis: A critical assessment. *Journal of Periodontology*. 2021;92(8):1063-1200. doi: 10.1002/JPER.21-0120.
14. Копанев ЮА, Соколов АЛ. Дисбактериоз кишечника у детей. Литрес. 2017:192.
15. Новокшонов АА, Ковалев ОБ, Соколова НВ, и др. Биоценоз сберегающая терапия острых кишечных инфекций и дисбактериоза кишечника у детей сорбированными пробиотиками и пробиотическими продуктами питания: Информ. Письмо. М., 2005:20 с.
16. Буторова ЛИ, Калинин АВ. Возможности коррекции нарушений кишечного микробиоценоза лактулозой. *Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол.* 2001;1:79-83.
17. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444:1022–1023.
18. Backhed F, Manchester JK, Semenkovich. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci US*. 2007; 104 (3): 979–984.
19. Liu S, Gao J, Zhu M, Liu K, Zhang HL. Gut Microbiota and Dysbiosis in Alzheimer's Disease: Implications for Pathogenesis and Treatment. *Mol Neurobiol*. 2020;57(12):5026-5043. doi: 10.1007/s12035-020-02073-3.
20. Xu K, Gao X, Xia G, Chen M, Zeng N, Wang S, et al. Rapid gutdysbiosis induced by stroke exacerbates brain infarction in turn. *Gut*. 2021:323-263. doi: 10.1136/gutjnl-2020-323263.
21. Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. Albillos A, et al. The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy. *J Hepatol*. 2020;72(3):558-577. doi: 10.1016/j.jhep.2019.10.003.
22. Brugman S, Klatter FA, Visser JT, et al. Antibiotic treatment partially protects against type 1 diabetes in the bio-breeding diabetes-prone rat: is the gut flora involved in the development of type 1 diabetes? *Diabetologia*. 2006;49(9):2105–2108.
23. Ahmad MS, Krishnan S, Ramakrishna BS, et al. Butyrate and glucose metabolism by colonocytes in experimental colitis in mice. *Gut*. 2000;46:493–499.
24. Гриневич ВВ, Захарченко ММ. Современные представления о значении кишечного микробиоценоза человека и способы коррекции его нарушений. *Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости*. 2003;3:13–20.
25. Арутюнов ГП, Кафарская ЛИ, Власенко ВК, и др. Биоценоз кишечника и сердечно-сосудистый континуум. *Сердечная недостаточность*. 2004;5(5):224–229.
26. Долль М. Пробиотики и их значение для организма. *Биологическая медицина*. 2007;13(1):11–15.
27. Senok AC, et al. Probiotics: facts and myths. *Clin. Microb. And Inf.* 2005;11(12):958–966.
28. Ткаченко ЕИ, Суворова АН. Дисбиоз кишечника: руководство по диагностике и лечению. СПб.: Спецлит; 2007:238.
29. Дорофеев АЭ, Звягинцева ТД, Харченко НВ. Заболевания кишечника. Горловка: ПП Издательство Ліхтар; 2010:532.
30. Ардатская МД. Диагностическое значение короткоцепочечных жирных кислот при синдроме раздраженного кишечника. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2000;3:3641.
31. Дорофеев АЭ, Руденко НН, Деркач ИА, Чечула ЮВ. Заболевания кишечника и почки. *Гастроэнтерология*. 2015;3(57):101-105.
32. Григорьев АВ. Желудочно-кишечный тракт как среда обитания бактерий. Раздел 1. Морфология желудочно-кишечного бактериального биотопа. Москва; Киев; 2004:95.
33. Ардатская МД. Дисбактериоз кишечника. *Materia Medica*. 2003(2-3):28.
34. Шевяков МА, Колб ЗК, Савельева ОГ, Борзова ЮВ. Интестинальный дисбиоз у пациентов с синдромом раздраженного кишечника: материалы II Всероссийского конгресса по медицинской микологии. *Успехи медицинской микологии*. 2004;4:95–96.
35. Jobst D, Kraft K. Candida species in stool, symptoms and complaints in general practice — a cross-sectional study of 308 outpatients. *Mycoses*. 2006;49:415–420.
36. Хавкин АИ. Нарушения микробиологии кишечника. Принципы коррекции. Москва; 2004:40.
37. Циммерман ЯС. О сущности понятия «дисбактериоз (дисбиоз)
13. Frank A, Scannapieco, Anna Dongari-Bagtzoglou. Dysbiosis revisited: Understanding the role of the oral microbiome in the pathogenesis of gingivitis and periodontitis: A critical assessment. *Journal of Periodontology*. 2021;92(8):1063-1200. doi: 10.1002/JPER.21-0120.
14. Kopanев ЮА, Sokolov AL. Disbakterioz kishechnika u detei. Litres. 2017:192. [in Russian]
15. Novokshonov AA, Kovalev OB, Sokolova NV, i dr. Biotsenoz sberegaiyaya terapiya ostryh kishechnyh infektsii i disbakterioza kishechnika u detei sorbirovannymi probiotikami i probioticheskimi prodyyktami pitaniya: Inform. Pismo. M., 2005:20. [in Russian]
16. Bytorova LI, Kalinin AV. Vozmozhnosti korrektsii naruysheni kishechnogo mikrobiotsenoza laktulozoi. *Ross. jyrn. gastroenterol., gepatol. i koloproktol.* 2001;1:79-83. [in Russian]
17. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444:1022–1023.
18. Backhed F, Manchester JK, Semenkovich. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci US*. 2007; 104 (3): 979–984.
19. Liu S, Gao J, Zhu M, Liu K, Zhang HL. Gut Microbiota and Dysbiosis in Alzheimer's Disease: Implications for Pathogenesis and Treatment. *Mol Neurobiol*. 2020;57(12):5026-5043. doi: 10.1007/s12035-020-02073-3.
20. Xu K, Gao X, Xia G, Chen M, Zeng N, Wang S, et al. Rapid gutdysbiosis induced by stroke exacerbates brain infarction in turn. *Gut*. 2021:323-263. doi: 10.1136/gutjnl-2020-323263.
21. Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. Albillos A, et al. The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy. *J Hepatol*. 2020;72(3):558-577. doi: 10.1016/j.jhep.2019.10.003.
22. Brugman S, Klatter FA, Visser JT, et al. Antibiotic treatment partially protects against type 1 diabetes in the bio-breeding diabetes-prone rat: is the gut flora involved in the development of type 1 diabetes? *Diabetologia*. 2006;49(9):2105–2108.
23. Ahmad MS, Krishnan S, Ramakrishna BS, et al. Butyrate and glucose metabolism by colonocytes in experimental colitis in mice. *Gut*. 2000;46:493–499.
24. Grnevich VB, Zaharchenko MM. Sovremennye predstavleniya o znachenii kishechnogo mikrobiotsenoza cheloveka i sposoby korrektsii ego naruysheni. *Novye Sankt-Peterbyrgskie vrachebnye vedomosti*. 2003;3:13–20. [in Russian]
25. Arutyunov GP, Kafarskaia LI, Vlasenko VK, i dr. Biotsenoz kishechnika i serdechno-sosydistyi kontinyum. *Serdechnaia nedostatocnost*. 2004;5(5):224–229. [in Russian]
26. Doll M. Probiotiki i ih znachenie dlia organizma. *Biologicheskaya meditsina*. 2007;13(1):11–15. [in Russian]
27. Senok AC, et al. Probiotics: facts and myths. *Clin. Microb. And Inf.* 2005;11(12):958–966.
28. Tkachenko EI, Suvorova AN. Disbioz kishechnika: rykovodstvo po diagnostike i lecheniy. SPb.: Spetslit; 2007:238. [in Russian]
29. Dorofeev AE, Zviagintseva TD, Harchenko NV. Zabolevaniya kishechnika. Gorlovka: PP Vidavnitstvo Lihhtar; 2010:532. [in Russian]
30. Ardatskaia MD. Diagnosticheskoe znachenie korotkotsepochechnyh jirnyh kislot pri sindrome razdrajennogo kishechnika. *Rossiiskii jyrnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2000;3:36–41. [in Russian]
31. Dorofeyev AE, Rudenko NN, Derkach IA, Chechula YUV. Zabolevaniya kishechnika i pochki. *Gastroenterologiya*. 2015;3(57):101-105. [in Russian]
32. Grigorev AV. Jelydochno-kishechnyi trakt kak sreda obitaniya bakterii. Razdel 1. Morfologiya jelydochno-kishechnogo bakterialnogo biotopa. Moskva; Kiev; 2004:95. [in Russian]
33. Ardatskaia MD. Disbakterioz kishechnika. *Materia Medica*. 2003(2–3):2-8. [in Russian]
34. Sheviakov MA, Kolb ZK, Saveleva OG, Borzova IyV. Intestinalny disbioz y patsientov s sindromom razdrajennogo kishechnika: materialy II Vserossiiskogo kongressa po meditsinskoi mikologii. *Yspehi meditsinskoi mikologii*. 2004;4:95–96. [in Russian]
35. Jobst D, Kraft K. Candida species in stool, symptoms and complaints in general practice — a cross-sectional study of 308 outpatients. *Mycoses*. 2006;49:415–420.
36. Havkin AI. Naruysheniya mikroekologii kishechnika. Printsipy korrektsii. Moskva; 2004:40. [in Russian]
37. Tsimmerman IaS. O syynosti poniatia «disbakterioz (disbioz)

- кишечника» и правомерности использования этого термина. *Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2000;1: 81-84.
38. Митрохин СД. Клиническое значение дисбактериоза. *Инфекции в амбулат. практике.* Москва; 2002:117-124.
 39. Митрохин СД. Дисбактериоз: современный взгляд на проблему. *Инфекции и антимикробная тер.* 2000;(5):15-17.
 40. Яхонтова ОМ, Рутгайзер ЯМ, Валенкевич ЛН. Хронические болезни кишечника. СПб; 2002:320.
 41. Барановский АЮ, Кондрашина ЭА. Дисбактериоз и дисбиоз кишечника. СПб.; 2000:209.
 42. Плотникова ЕЮ, Захарова ЮВ. Диагностика и лечение синдрома избыточного бактериального роста. *Русский медицинский журнал.* 2015 (13):767.
 43. Барсук АЛ, Сумина АВ, Кузин ВБ, Козлов РС. Практическое обоснование низкой диагностической ценности микробиологического исследования кала на дисбактериоз. *Вопросы диагностики в педиатрии.* 2009(2):7-11.
 44. Василенко ВВ. Дисбактериоз — синдром раздраженного кишечника: эссе — анализ проблемы. *Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол.* 2000(6):10-12.
 45. Ивашкин ВТ, Шептулин АА, Скланская ОА. Синдром диареи. Москва; 2002:164.
 46. Martínez N, Hidalgo-Cantabrana C, Delgado S, Margolles A, Sánchez B. Filling the gap between collection, transport and storage of the human gut microbiota. *Sci Rep.* 2019;9:8327. doi: 10.1038/s41598-019-44888-8.
 47. De Marco AL, Rabe LK, Austin MN, Stoner K A, Avolia HA, Meyn LA, et al. Survival of vaginal microorganisms in three commercially available transport systems. *Anaerobe.* 2017;45:44–49. doi: 10.1016/j.anaerobe.2017.02.019.
 48. Bircher L, Geirnaert A, Hammes F, Lacroix C, Schwab C. Effect of cryopreservation and lyophilization on viability and growth of strict anaerobic human gut microbes. *Microb Biotechnol.* 2018;11:721–733. doi: 10.1111/1751-7915.13265.
 49. Bellali S, Bou Khalil J, Fontanini A, Raoult D, Lagier J-C. A new protectant medium preserving bacterial viability after freeze drying. *Microbiological Research.* 2020;236:126-454. doi: 10.1016/j.micres.2020.126454.
 50. Browne HP, Forster SC, Anonye BO, Kumar N, Neville B A, Stares M D, et al. Culturing of “unculturable” human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation. *Nature.* 2016;533:543–546. doi: 10.1038/nature17645.
 51. Forster SC, Kumar N, Anonye BO, Almeida A, Viciani E, Stares MD, et al. A human gut bacterial genome and culture collection for improved metagenomic analyses. *Nature Microbiology.* 2019; 37:186–192. doi: 10.1038/s41587-018-0009-7.
 52. Lagier J-C, Khelaifia S, Alou MT, Ndongo S, Dione N, Hugon P, et al. Culture of previously uncultured members of the human gut microbiota by culturomics. *Nature Microbiology.* 2016; 16:203. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.203.
 53. Chang Y, Hou F, Pan Z, Huang Z, Han N, Bin L, et al. Optimization of culturomics strategy in human fecal samples. *Front Microbiol.* 2019;10:2891. doi: 10.3389/fmicb.2019.02891.
 54. Whelan FJ, Waddell B, Syed SA, Shekarriz S, Rabin HR, Parkins MD, et al. Culture-enriched metagenomic sequencing enables in-depth profiling of the cystic fibrosis lung microbiota. *Nature Microbiology.* 2020;5:379–390. doi: 10.1038/s41564-019-0643-y.
 55. Levi Mortera S, Del Chierico F, Vernocchi P, et al. Monitoring perinatal gut microbiota in mouse models by mass spectrometry approaches: parental genetic background and Breastfeeding effects. *Front Microbiol.* 2016;7:1523.
 56. Zhao G, Nyman M, Jonsson JA. Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography. *Biomed Chromatogr.* 2006;20:674–682.
 57. Ecker J, Scherer M, Schmitz G, Liebisch GA. Rapid GC-MS method for quantification of positional and geometric isomers of fatty acid methyl esters. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2012;897:98–104.
 58. Naccarato A, Gionfriddo E, Sindona G, Tagarelli A. Development of a simple and rapid solid phase microextraction-gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry method for the analysis of kishchnika» i pravomernosti ispolzovaniia etogo termina. *Ross. jýrn. gastroenterol., gepatol., koloproktol.* 2000;1: 81-84. (In Russ.).
 38. Mitrohin SD. Klinicheskoe znachenie disbakterioza. *Infektsii v ambýlat. praktike.* Moskva; 2002:117-124. [in Russian]
 39. Mitrohin SD. Disbakterioz: sovremennyy vzglad na problemy. *Infektsii i antimikrobnaya ter.* 2000;(5):15-17. [in Russian]
 40. Iahontova OM, Rýtgaizer IaM, Valenkevich LN. Hronicheskie bolezni kishhechnika. SPb; 2002:320. [in Russian]
 41. Baranovskii Aý, Kondrashina EA. Disbakterioz i disbioz kishhechnika. SPb.; 2000:209. [in Russian]
 42. Plotnikova Eý, Zaharova ÝV. Diagnostika i lechenie sindroma izbytochnogo bakterialnogo rosta. *Rýsskii meditsinskii jýrnal.* 2015 (13):767. [in Russian]
 43. Barsýk AL, Sýmina AV, Kýzin VB, Kozlov RS. Prakticheskoe obosnovanie nizkoi diagnosticheskoi tsennosti mikrobiologicheskogo issledovaniia kala na disbakterioz. *Voprosy diagnostiki v pediatrii.* 2009(2):7-11. [in Russian]
 44. Vasilenko VV. Disbakterioz — sindrom razdražennogo kishhechnika: esse — analiz problemy. *Ross. jýrn. gastroenterol. i koloproktol.* 2000(6):10-12. [in Russian]
 45. Ivashkin VT, Sheptylin AA, Sklianskaia OA. Sindrom diarei. Moskva; 2002:164. [in Russian]
 46. Martínez N, Hidalgo-Cantabrana C, Delgado S, Margolles A, Sánchez B. Filling the gap between collection, transport and storage of the human gut microbiota. *Sci Rep.* 2019;9:8327. doi: 10.1038/s41598-019-44888-8.
 47. De Marco AL, Rabe LK, Austin MN, Stoner K A, Avolia HA, Meyn LA, et al. Survival of vaginal microorganisms in three commercially available transport systems. *Anaerobe.* 2017; 45:44–49. doi: 10.1016/j.anaerobe.2017.02.019.
 48. Bircher L, Geirnaert A, Hammes F, Lacroix C, Schwab C. Effect of cryopreservation and lyophilization on viability and growth of strict anaerobic human gut microbes. *Microb Biotechnol.* 2018;11:721–733. doi: 10.1111/1751-7915.13265.
 49. Bellali S, Bou Khalil J, Fontanini A, Raoult D, Lagier J-C. A new protectant medium preserving bacterial viability after freeze drying. *Microbiological Research.* 2020;236:126-454. doi: 10.1016/j.micres.2020.126454.
 50. Browne HP, Forster SC, Anonye BO, Kumar N, Neville B A, Stares M D, et al. Culturing of “unculturable” human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation. *Nature.* 2016;533:543–546. doi: 10.1038/nature17645.
 51. Forster SC, Kumar N, Anonye BO, Almeida A, Viciani E, Stares MD, et al. A human gut bacterial genome and culture collection for improved metagenomic analyses. *Nature Microbiology.* 2019; 37:186–192. doi: 10.1038/s41587-018-0009-7.
 52. Lagier J-C, Khelaifia S, Alou MT, Ndongo S, Dione N, Hugon P, et al. Culture of previously uncultured members of the human gut microbiota by culturomics. *Nature Microbiology.* 2016; 16:203. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.203.
 53. Chang Y, Hou F, Pan Z, Huang Z, Han N, Bin L, et al. Optimization of culturomics strategy in human fecal samples. *Front Microbiol.* 2019;10:2891. doi: 10.3389/fmicb.2019.02891.
 54. Whelan FJ, Waddell B, Syed SA, Shekarriz S, Rabin HR, Parkins MD, et al. Culture-enriched metagenomic sequencing enables in-depth profiling of the cystic fibrosis lung microbiota. *Nature Microbiology.* 2020;5:379–390. doi: 10.1038/s41564-019-0643-y.
 55. Levi Mortera S, Del Chierico F, Vernocchi P, et al. Monitoring perinatal gut microbiota in mouse models by mass spectrometry approaches: parental genetic background and Breastfeeding effects. *Front Microbiol.* 2016;7:1523.
 56. Zhao G, Nyman M, Jonsson JA. Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography. *Biomed Chromatogr.* 2006;20:674–682.
 57. Ecker J, Scherer M, Schmitz G, Liebisch GA. Rapid GC-MS method for quantification of positional and geometric isomers of fatty acid methyl esters. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2012;897:98–104.
 58. Naccarato A, Gionfriddo E, Sindona G, Tagarelli A. Development of a simple and rapid solid phase microextraction-gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry method for the analysis of

- dopamine, serotonin and norepinephrine in human urine. *Anal Chim Acta*. 2014;810:17–24.
59. Luan H, Yang L, Ji F, Cai Z. PCI-GC-MS-MS approach for identification of non-amino organic acid and amino acid profiles. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2017;1047:180–184.
 60. Cortez LM, Campeau J, Norman G, et al. Bile acids reduce prion conversion, reduce neuronal loss, and prolong male survival in models of prion disease. *J Virol*. 2015;89:7660–7672.
 61. Khamis MM, Adamko DJ, El-Aneed A. Mass spectrometric based approaches in urine metabolomics and biomarker discovery. *Mass Spectrom Rev*. 2017;36:115–134.
 62. Shariatgorji M, Svenningsson P, Andren P E. Mass spectrometry imaging, an emerging technology in neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*. 2014;39:34–49.
 63. Ramautar R, Somsen G W, de Jong GJ. CE-MS for metabolomics: developments and applications in the period 2014–2016. *Electrophoresis*. 2017;38:190–202.
 64. Emwas AH. The strengths and weaknesses of NMR spectroscopy and mass spectrometry with particular focus on metabolomics research. *Methods Mol Biol*. 2015;1277:161–193.
 65. Bingol K, Bruschweiler R. Two elephants in the room: new hybrid nuclear magnetic resonance and mass spectrometry approaches for metabolomics. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2015;18:471–477.
 66. Swidsinski A, et al. Структура микробиоценоза кала у больных с хронической идиопатической диареей и у здоровых лиц. *Клиническая гастроэнтерология и гепатология*. 2009;2(4):302–313.
 67. Oulas A, Pavloudi C, Polymenakou P, et al. Metagenomics: tools and insights for analyzing next-generation sequencing data derived from biodiversity studies. *Bioinform Biol Insights*. 2015;9(5):12462.
 68. Gill SR, Pop M, De Boy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*. 2006;312(5778):1355–1359.
 69. Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464(7285):59–65.
 70. Зинкевич ОД, Тюрин ЮА, Сафина НА. Скрининговая диагностика дисбактериоза кишечника человека по уровню активности протеолитических ферментов в копрофильтратах: методические рекомендации. Казань: 2003:18.
 71. Тюрин ЮА. Протеиназная активность микрофлоры кишечника при острых кишечных инфекциях у детей.: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Казань: 2003.
 72. Червинец ВМ, Бондаренко ВМ, Виноградов ВФ, Червинец ЮВ. Способ определения кazeинолитической активности микроорганизмов при экспресс диагностике дисбактериоза кишечника. Патент на изобретение.- № 2235324 от 25.08.2004. <https://patents.google.com/patent/RU2235324C1/ru>
 73. Червинец ЮВ, Червинец ВМ, Беляева ЕА, Червинец ЛФ, Червинец АВ., Лебедев СН. Способ диагностики газового состава метаболитов микробиоты человека. Патент на изобретение № 2683949 от 03.04.2019. <https://patents.google.com/patent/RU2683949C1/ru>
 - dopamine, serotonin and norepinephrine in human urine. *Anal Chim Acta*. 2014;810:17–24.
 59. Luan H, Yang L, Ji F, Cai Z. PCI-GC-MS-MS approach for identification of non-amino organic acid and amino acid profiles. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2017;1047:180–184.
 60. Cortez LM, Campeau J, Norman G, et al. Bile acids reduce prion conversion, reduce neuronal loss, and prolong male survival in models of prion disease. *J Virol*. 2015;89:7660–7672.
 61. Khamis MM, Adamko DJ, El-Aneed A. Mass spectrometric based approaches in urine metabolomics and biomarker discovery. *Mass Spectrom Rev*. 2017;36:115–134.
 62. Shariatgorji M, Svenningsson P, Andren P E. Mass spectrometry imaging, an emerging technology in neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*. 2014;39:34–49.
 63. Ramautar R, Somsen G W, de Jong GJ. CE-MS for metabolomics: developments and applications in the period 2014–2016. *Electrophoresis*. 2017;38:190–202.
 64. Emwas AH. The strengths and weaknesses of NMR spectroscopy and mass spectrometry with particular focus on metabolomics research. *Methods Mol Biol*. 2015;1277:161–193.
 65. Bingol K, Bruschweiler R. Two elephants in the room: new hybrid nuclear magnetic resonance and mass spectrometry approaches for metabolomics. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2015;18:471–477.
 66. Swidsinski A, et al. Strýktýra mikrobiotsenoza kala ý bolnyh s hronicheskoj idiopaticheskoj diareej i ý zdorovyh lits. *Klinicheskaja gastroenterologija i gepatologija*. 2009;2(4):302–313. [in Russian]
 67. Oulas A, Pavloudi C, Polymenakou P, et al. Metagenomics: tools and insights for analyzing next-generation sequencing data derived from biodiversity studies. *Bioinform Biol Insights*. 2015;9(5):12462.
 68. Gill SR, Pop M, De Boy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*. 2006;312(5778):1355–1359.
 69. Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464(7285):59–65.
 70. Zinkevich OD, Týrin ÝA, Safina NA. Skringovaia diagnostika disbakterioza kishechnika cheloveka po ýrovniý aktivnosti proteoliticheskikh fermentov v koprofiltratah: metodicheskie rekomendatsii. Kazan: 2003:18. [in Russian]
 71. Týrin ÝA. Proteinaznaia aktivnost mikroflory kishechnika pri ostryh kishechnyh infektsiiakh ý detei.: Avtoref. diss. ... kand. med. naýk. Kazan: 2003. [in Russian]
 72. Chervinets VM, Bondarenko VM, Vinogradov VF, Chervinets ÝV. Sposob opredelenia kazeinoliticheskoi aktivnosti mikroorganizmov pri ekspress diagnostike disbakterioza kishechnika. Patent na izobretenie. № 2235324 ot 25.08.2004. <https://patents.google.com/patent/RU2235324C1/ru>. [in Russian]
 73. Chervinets ÝV, Chervinets VM, Beliaeva EA, Chervinets LF, Chervinets AV., Lebedev SN. Sposob diagnostiki gazovogo sostava metabolitov mikrobioty cheloveka. Patent na izobretenie № 2683949 ot 03.04.2019. <https://patents.google.com/patent/RU2683949C1/ru>. [in Russian]