

**ОТЗЫВ РЕЦЕНЗЕНТА
О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ**

Обучающегося Нигаматуллинной Генаты Раилевны группы БМ-201
по теме: «Роль грибковой микробиоты в развитии метаболического синдрома у детей».

Целью данной работы являлось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи. При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы. При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет. Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме, которая являлась базой производственной практики обучающихся. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований.

Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, практически отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно. Результаты проведенной работы имеют практическую значимость. На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология.

Рецензент:

к.б.н., научный сотрудник ИБГ УФИЦ РАН

 Масленникова Д. Р.

Дата _____



ОТЗЫВ РЕЦЕНЗЕНТА О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ

Обучающегося Нигаматуллиной Ренаты Раилевны группы БМ-201
по теме: «Роль грибковой микробиоты в развитии метаболического синдрома у детей».

Целью данной работы являлось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи. При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы. При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет. Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме, которая являлась базой производственной практики обучающихся. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований.

Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, практически отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно. Результаты проведенной работы имеют практическую значимость. На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология.

Рецензент:
к.б.н., доцент кафедры
фундаментальной и
прикладной микробиологии

ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

Дата 16.06.2025

Подпись: Ю.Л. Борцова
Заведующий
Ученый секретарь ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России



Борцова Ю.Л.

ОТЗЫВ РУКОВОДИТЕЛЯ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

Обучающийся Нигаматуллина Рената Раилевна группы БМ-201
Выпускная квалификационная работа на тему: «Роль грибковой микробиоты
в развитии метаболического синдрома у детей»

Обучающийся Нигаматуллина Рената Раилевна успешно закончила курс обучения по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Итогом обучения явилось выполнение выпускной квалификационной работы, которая является исследовательской работой обучающегося.

При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования и анализа данных источников литературы, а также обобщения полученной информации. В процессе выполнения экспериментальной части были проведены самостоятельные исследования, освоены методы группировки, сравнения и другие. Тема раскрыта полно, выводы отражают основные результаты исследования и могут быть использованы в практической деятельности.

В период выполнения выпускной квалификационной работы обучающийся показала себя трудолюбивым, добросовестным исследователем, проявила самостоятельность и творческую инициативу.

Работа отвечает требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, аккуратно оформлена и может быть рекомендована к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура).

Научный руководитель:
к.б.н., доцент кафедры
фундаментальной и
прикладной микробиологии

ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

Полное наименование
Р. А. Фатхутдинова
Заведующий
Ученый секретарь ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России

Фатхутдинова Р.А.
(подпись)



СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
"БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ"
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ ANTIPLAGIAT.VUZ

Автор работы: Нигаматуллина Рената Раилевна
Самоцитирование
рассчитано для: Нигаматуллина Рената Раилевна
Название работы: РОЛЬ ГРИБКОВОЙ МИКРОБИОТЫ В РАЗВИТИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение: Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

СОВПАДЕНИЯ	27%	СОВПАДЕНИЯ	25%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	68.37%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	70.5%
ЦИТИРОВАНИЯ	4.63%	ЦИТИРОВАНИЯ	4.5%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 27.06.2025

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 27.06.2025 07:59

Структура документа: Проверенные разделы: основная часть с.9-40, 43-61, введение с.5-8, выводы с.40-43, 61-63
Модули поиска: Переводные заимствования; Цитирование; Патенты СССР, РФ, СНГ; Кольцо вузов; ИПС Адилет; СМИ России и СНГ; Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Медицина; Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования); Шаблоны фразы; Рувики; IEEE; Публикации РГБ; Коллекция НБУ; Публикации РГБ (переводы и перефразирования); Сводная коллекция ЭБС; Публикации eLIBRARY; Перефразирования по коллекции IEEE; СПС ГАРАНТ; аналитика; Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Диссертации НББ; Кольцо вузов...

Работу проверил: Понкратова Наталья Владимировна

ФИО проверяющего

Дата подписи:

27.06.25



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Медико-профилактический факультет с отделением биологии
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ
РАБОТА

РОЛЬ ГРИБКОВОЙ МИКРОБИОТЫ В РАЗВИТИИ
МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ

Выполнила: Нигаматуллина Рената Раилевна
направление подготовки
06.04.01 Биология
направленность (профиль) образовательной
программы Фундаментальная и прикладная
микробиология

Руководитель: Фатхутдинова Римма Ахметовна,
к.б.н., доцент кафедры фундаментальной и
прикладной микробиологии

Выпускная квалификационная
работа допущена к защите:
« 17 » 06 2025 г.

Выпускная квалификационная работа защищена с
оценкой « лично »
« 24 » 06 2025 г.

Уфа – 2025

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Медико-профилактический факультет с отделением биологии
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ
РАБОТА**

**РОЛЬ ГРИБКОВОЙ МИКРОБИОТЫ В РАЗВИТИИ
МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ**

Выполнила: Нигаматуллина Рената Раилевна
направление подготовки
06.04.01 Биология
направленность (профиль) образовательной
программы Фундаментальная и прикладная
микробиология

Руководитель: Фатхутдинова Римма Ахметовна,
к.б.н., доцент кафедры фундаментальной и
прикладной микробиологии

Выпускная квалификационная
работа допущена к защите:
« ____ » _____ 2025 г.

Выпускная квалификационная работа защищена с
оценкой « _____ »
« ____ » _____ 2025 г.

Уфа – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	10
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. Понятие метаболического синдрома.....	14
1.2. Общие сведения о метаболическом синдроме.....	14
1.2.1. Причины.....	15
1.2.2. Другие факторы риска	15
1.2.3. Патогенез.....	17
1.2.4. Симптомы и осложнения.....	17
1.3. Диагностика	18
1.3.1. Дифференциальная диагностика	19
1.4. Различия между метаболическим синдромом и ожирением.....	20
1.4.1. Классификация ожирения	20
1.5. Лечение метаболического синдрома.....	21
1.5.1. Профилактика метаболического синдрома	23
1.6. Микробиота кишечника и метаболический синдром.....	23
1.6.1. Состав кишечника в норме и при метаболическом синдроме	23
1.6.2. Этапы становления кишечной микробиоты и факторы, влияющие на ее становление.....	25
1.6.3. Взаимосвязь микробиоты кишечника с неинфекционными заболеваниями	26
1.7. Функция кишечной микробиоты.....	28
1.8. Влияние кишечной микробиоты и ее компонентов на развитие метаболических нарушений.....	30
1.8.1. Диетический рацион и роль метаболитов кишечной микробиоты.....	30

1.8.2. Лечение метаболических нарушений и кишечная микробиота	32
1.9. Методы анализа кишечной микробиоты	34
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	38
2.1. Объекты исследования и материалы.....	38
2.1.1. Подготовка лабораторной посуды	39
2.2. Методы исследования.....	39
2.2.1. Методика бактериологического исследования толстого кишечника	39
2.2.2. Культуральный посев на среду Сабуро	40
2.2.2.1. Приготовление питательной среды для культивирования грибов	41
2.2.3. Световая микроскопия.....	43
2.2.3.1. Окрашивание по Граму	44
2.2.4. MALDI-TOF масс-спектрометрия	45
2.2.5. Определение среднего количества выявленных микроорганизмов в кале больных и здоровых детей.	45
2.2.5.1. Использование счетчика колоний для подсчета их численности	46
2.2.5.2. Вычисление среднего количества выявленных микроорганизмов.....	47
2.2.6. Метод статистической обработки	48
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.....	49
3.1. Выявление и идентификация микроорганизмов.....	49
3.1.1. Выявление микробиоты в кале больных с метаболическим синдромом и здоровых детей методом посева на питательную среду.	49
3.1.3. Установление видового разнообразия микробиоты у с использованием Масс- спектрометрии	51
3.2. Сравнение профиля грибковой микробиоты при метаболическом синдроме и сохранным здоровьем.	53
3.2.1. Выявление частоты обнаружения микроорганизмов в образцах кала детей.....	53

3.2.2. Применение счётчика колоний для количественного определения их численности	55
3.2.3. Определение среднего количества бактерий <i>E.coli</i> и грибов <i>Candida spp</i>	58
3.2.4. Сравнительный анализ грибковой микобиоты.	58
3.3. Статистическая обработка данных по установлению связи найденной доли грибов и диагнозом метаболический синдром	59
Список сокращений и условных обозначений.....	66
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	67
ВЫВОДЫ.....	68
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	69

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Распространенность метаболического синдрома среди населения мира, в том числе и детского, имеет мировую тенденцию к увеличению и зависит от многих составляющих, одним из которых является нарушение видового и количественного состава микрофлоры кишечника. Поскольку население нормобиоты кишечника включает также и грибковую микрофлору (микобиоту - грибковые компоненты), а информации о влиянии данного компонента микробиома кишечника на метаболический синдром дефицитно мало, становится актуальным исследование изменений кишечной микобиоты при МС и её роли в развитии данного всемирнорастущего недуга. Метаболический синдром тесно взаимосвязан такими состояниями как: абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия, инсулинорезистентность, гипергликемия, дислипидемия, неизбежно приводящих к инвалидизации пациента (возможно даже и к летальному исходу), в связи с распространением МС приобретает важную значимость всестороннее изучение данного состояния и изменений в организме.

Проблема излишнего накопления запаса жиров в подкожно-жировой клетчатке в организме человека, приводящая к хроническим проблемам со здоровьем и инвалидизации, с развитием современной цивилизации - возрастает и приобретает все более угрожающие масштабы в большом количестве стран мирового сообщества, затрагивая всю населенную популяцией *Homo sapiens sapiens* территорию. Численность детей, страдающих данным состоянием, выросло в двое за последние два десятка лет и ежегодно продолжает возрастать. Одновременно с этим отмечается рост заболеваемости ишемической болезнью сердца, гипертонической болезнью, сахарным диабетом типа 2 (СД 2), неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП), желчнокаменной болезнью (ЖКБ), злокачественными новообразованиями. В последнее время, все чаще в поле зрения врачей разных специальностей попадает метаболический синдром – сложная смесь

метаболических, гормональных и клинических нарушений, тесно ассоциированных с СД 2 и являющееся факторам риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, – в основе которой лежит дуэт инсулинорезистентности и компенсаторной гиперинсулинемии. Из источников литературы в работе Гришина И. Ф. и др. (2018) указана следующая информация о распространенности метаболического недуга: «Эксперты ВОЗ следующим образом оценили ситуацию по распространенности МС: «Мы сталкиваемся с новой пандемией XXI века, охватывающей индустриально развитые страны. Это может оказаться демографической катастрофой для развивающихся стран. Распространенность МС в 2 раза превышает распространенность СД, и в ближайшие 25 лет ожидается увеличение темпов его роста на 50%» [17]. Ситуация с детским населением и подростками обстоит аналогично. Ежегодно фиксируются новые случаи приобретения данного диагноза и виной этой трагедии является стремительно развивающаяся человеческая цивилизация.

Цель исследования. Сравнить видовой состав микробиоты кишечника у здоровых детей и детей с метаболическим синдромом.

Для достижения поставленной цели необходимо выполнить следующие задачи:

1. Изучение литературы по проблеме метаболический синдром у детей.
2. Сбор образцов кала.
3. Выявление микробиоты в кале больных с метаболическим синдромом и здоровых детей методом посева на питательную среду.
4. Установление видового разнообразия микробиоты у детей с диагнозом метаболический синдром с использованием масс-спектрометрии.
5. Статистическая обработка данных по установлению связи выявленной доли грибов и диагнозом метаболический синдром.

Научная новизна и теоретическая ценность. В работе выделены и исследованы дрожжеподобные грибы *Candida spp.* Выявлено угнетающее действие грибов на эубиоз кишечника.

Научно-практическая значимость. Результаты проведенного исследования грибковой микобиоты помогут разработать новые методы ранней диагностики; внедрить актуальные терапевтические стратегии в лечении метаболического синдрома, основанных на индивидуальных особенностях грибкового состава у каждого ребенка. Микробиологический подход может служить маркером для диагноза состояния метаболический синдром у детей.

Апробация результатов. Результаты исследования были представлены на Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины», 21 – 22 апреля 2025, г. Уфа.

Публикации:

1. Фатхутдинова Р. А., Нигаматуллина Р.Р. Роль грибковой микобиоты в развитии метаболического синдрома у детей / Материалы III Российского конгресса по медицинской микробиологии и инфектологии с международным участием. Москва, 27 - 28 февраля 2025 года. С. 355 – 357.

2. Нигаматуллина Р.Р. Грибковая микобиота, выявляемая у детей с диагнозом метаболический синдром. ВЕСТНИК Башкирского государственного медицинского университета сетевое издание

Объем и структура диссертации

Работа содержит введение, три главы, заключение, выводы, список сокращений и список использованной литературы. Объем работы составляет 74 страницы. Работа иллюстрирована 8 таблицами, 10 рисунками. Перечень источников литературы содержит 101 источника, из которых 37 отечественных работ и 68 работ зарубежных авторов.



Рисунок 1 – Общая схема исследований, проведенных в рамках магистерской диссертации.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Понятие метаболического синдрома

В рамках Международного классификатора болезней (МКБ) синдром [37]. Это обстоятельство подчеркивает сложность и междисциплинарный характер данного клинического состояния, требующего комплексного подхода к его определению и классификации. Несмотря на отсутствие специфического кода в МКБ - 10, метаболический синдром продолжает оставаться важной клинической и эпидемиологической концепцией, требующей дальнейшего изучения и систематизации.

Из уст многочисленных врачей и ученых звучит однотипное определение метаболического недуга и объединив их многочисленные мнения подытожим следующее; «Метаболический синдром — это многогранный кластер взаимосвязанных гормональных, метаболических и клинических отклонений, характеризующихся резистентностью к инсулину и компенсаторной гиперинсулинемией. Это состояние характеризуется висцеральным ожирением, нарушением гомеостаза глюкозы, дислипидемией и повышенным артериальным давлением. Патофизиологические процессы, вытекающие из этих метаболических нарушений, в конечном итоге приводят к развитию сахарного диабета 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний, значительно увеличивая риск сердечно-сосудистой смертности.» [26, 77].

1.2. Общие сведения о метаболическом синдроме

Термин «метаболический синдром» был впервые введен в научный литературный оборот в 1960-х годах двадцатого столетия, некоторое время он считался проблемой присущей пациентам великовозрастной категории. Позже проявления клинических признаков заболевания были обнаружены у молодой популяции, детей и подростков. Четкое определение и диагностические критерии этого состояния остаются предметом дискуссии в современной

педиатрии. Предполагается поражённость метаболическим синдромом от трети до половины детей, страдающих избыточной массой тела. Учитывая, распространённость ожирения в около 10 – 15% детской популяции человечества, МС стал серьезной проблемой общественного здравоохранения [21,29,32]. Исходя из данных личной переписки с официальным представителем Министерства здравоохранения Республики Башкортостан, Тагиром Гизатуллиным, выяснилась следующая информация о количестве детей в Башкортостане: «Если смотреть по ожирению, то это примерно 10% всего детского населения, т.е. примерно 80000»

1.2.1. Причины

Метаболический синдром в детской популяции представляет собой сложное многофакторное расстройство с гетерогенной этиологией, патофизиология которого тесно переплетена с генетической предрасположенностью, которая является критическим фактором риска. Лица с семейным анамнезом ожирения, дислипидемии, непереносимости глюкозы или сердечно-сосудистых заболеваний демонстрируют значительно повышенную восприимчивость к метаболическому синдрому. Это состояние связано с многочисленными генетическими мутациями, несущими ответственность за выработку лептина, воспалительные процессы и регуляцию метаболизма [9,13,20,27].

1.2.2. Другие факторы риска

Пищевые аспекты. Чрезмерное употребление животных жиров, особенно содержащих большое количество насыщенных жирных кислот. Они способствуют развитию инсулинорезистентности и метобалической дисфункции, посредством блокировки чувствительности клеток к инсулину, кроме того, чрезмерное накопление жирных кислот в подкожных тканях приводит к ожирению, способному усугубить течение метаболического синдрома.

Гиподинамия, характеризующаяся мало подвижным образом жизни в совокупности с неблагоприятными пищевыми привычками, представляет собой важное звено в развитии ожирения, даже среди детей. Этот малоподвижный образ жизни играет ключевую роль в качестве фактора риска патогенеза резистентности к инсулину и дислипидемии, которые, в свою очередь, усугубляют сложные патофизиологические механизмы, лежащие в основе метаболического синдрома. Взаимодействие между этими факторами подчеркивает многогранную природу метаболической дисфункции и подчеркивает необходимость комплексных вмешательств в области общественного здравоохранения, направленных на смягчение этих факторов риска в уязвимых группах населения.

Низкая масса тела при рождении, определяемая как масса тела менее 2,5 кг, также является значимым фактором риска развития метаболического синдрома, из-за сопутствующего данному состоянию дефициту питательных веществ у плода, ведущего к негативному влиянию на формирование и дифференцировку β -клеток поджелудочной железы. Эти клетки имеют решающее значение для секреции инсулина, необходимого для регуляции углеводного обмена.

Внутриутробная недостаточность питания также приводит к развитию компенсаторной инсулинорезистентности у плода. Эта физиологическая адаптация позволяет более эффективно использовать ограниченные запасы глюкозы, обеспечивая энергетические потребности развивающегося организма. Однако, несмотря на свою адаптивную природу, эта компенсаторная инсулинорезистентность может иметь долгосрочные негативные последствия, способствуя развитию метаболических нарушений в постнатальном периоде.

В итоге, низкая масса тела при рождении является многогранным фактором риска, который охватывает структурные изменения эндокринной системы и функциональные адаптации, направленные на поддержание гомеостаза в условиях внутриутробного стресса. Эти механизмы могут

существенно влиять на метаболическое здоровье человека в пожилом возрасте, увеличивая вероятность развития метаболического синдрома и связанных с ним заболеваний.

1.2.3. Патогенез

Нечувствительность клеток к гормону инсулину выделяют в качестве основного механизма развития метаболического синдрома. В зависимости от уровня нарушения, данное состояние представлено в трёх вариациях: (пре, пост) рецепторной и самой рецепторной. Самый частый механизм - пострецепторный, включающий патологии сигнальных каскадов рецепторов инсулина, проблемы на этапе транспорта глюкозы, избыточную активацию глюконеогенеза.

Стремясь преодолеть сниженную чувствительность клеток к инсулину (инсулинорезистентность), β -клетки поджелудочной железы начинают его избыточный синтез (гиперинсулинемию), но вместо снижения уровня глюкозы, чрезмерно высокий уровень инсулина лишь способствует возрастанию данного показателя, депонированию углеводов и липидов в жировой клетчатке, липолиз замедляется.

1.2.4. Симптомы и осложнения

Избыточный вес основное проявление МС в детском возрасте. Однако зачастую, семья ребёнка не способна заподозрить неладное, считая упитанность одним из признаков нормально протекающего раннего детства и не торопятся с обращением за профессиональной помощью. Со временем ситуация усложняется, приводя к непереносимости физических нагрузок, появлению одышки, увеличению веса за счет увеличения концентрируемого в зоне талии и живота, висцерального жира.

Метаболический синдром имеет воздействие на функционирование всех систем органов. Около 30% детей с этим заболеванием имеют признаки холестероза желчного пузыря, дискинезии желчевыводящих

протоколов, повышения литогенных свойств желчи. В 17% случаев наблюдается снижение функциональной активности поджелудочной железы, диффузные изменения ее паренхимы.

Более 90% пациентов имеют патологии ЖКТ: хронический гастродуоденит, гастрит. В группе детей с МС наблюдается высокая распространенность хеликобактерной инфекции, нарушения состава кишечной микрофлоры: дефицит бифидо- и лактобактерий, активный рост условно-патогенных микроорганизмов. У 20% пациентов обнаруживаются нарушения свертываемости крови, в 14% случаев – патологии щитовидной железы.

1.3. Диагностика

После первичной оценки педиатр может направить пациента к специалисту по детской эндокринологии для комплексного обследования. При сборе анамнеза особое внимание выяснению образа жизни семьи и ребёнка.

Расширенная диагностическая программа включает следующие методы:

Физическое обследование: проводятся антропометрические измерения, включая рост и вес, для расчета индекса массы тела (ИМТ) и оценки степени ожирения. Для диагностики висцерального ожирения проводятся измерения окружности живота и бедер. Артериальное давление измеряется с двух сторон, так как у многих детей наблюдается гипертония, при этом систолическое или диастолическое артериальное давление превышает 95-й перцентиль для их возраста, пола и роста.

Биохимический анализ крови: проводится комплексный анализ крови, включая липидный профиль (липидограмму). Выявление повышенного уровня триглицеридов, превышающим 1,7 ммоль/л, и сниженного уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) ниже 1 ммоль/л.С, служащих одними из маркеров МС. Кроме того, оцениваются уровни белка, активность ферментов печени и маркеры метаболизма азота для исключения сопутствующих патологий.

Оценка метаболизма углеводов: стандартный протокол включает измерение уровня глюкозы в крови натощак, при этом значения, превышающие 6,1 ммоль/л, указывают на метаболический синдром. Также проводится тест на толерантность к глюкозе. Инсулинорезистентность диагностируется с помощью индекса оценки модели гомеостаза (НОМА), при этом значения, превышающие 3,2 единицы, считаются ненормальными. Для дифференциации метаболического синдрома и сахарного диабета 1 типа оцениваются уровни аутоантител и С-пептида. Метаболический синдром у детей диагностируется с 10-летнего возраста при наличии больших критериев (ожирение, инсулинорезистентность) и дополнительных маркеров: дислипидемия, артериальная гипертензия, нарушения системы гемостаза, гиперурикемия [13]. У подростков 16-18 лет используют те же критерии, что и у взрослых. Младшим школьникам и дошкольникам диагноз МС не ставят, но им рекомендовано врачебно-педиатрическое наблюдение, лечебно-профилактические мероприятия [20, 27]. Для установления диагноза МС необходимо сочетание двух из четырех состояний (артериальная гипертензия (АГ), гипертриглицеридемия, повышение липопротеинов низкой плотности, понижение липопротеинов высокой плотности, гипергликемия), при этом облигатным признаком является наличие абдоминального ожирения (АО) [9].

1.3.1. Дифференциальная диагностика

В рамках дифференциальной диагностики ожирения необходимо исключить целый спектр эндокринных патологий, ассоциированных с метаболическими дисфункциями. К числу таких заболеваний относятся болезнь Кушинга (синдром Кушинга, гиперкортицизм), гипотиреоз, а также врожденная гиперплазия надпочечников, известная как адреногенитальный синдром. В случаях выраженного ожирения дифференциальный диагноз должен также включать синдромы Лоуренса-Муна-Барде-Бидля и Прадера-

Вилли, которые характеризуются полиорганными аномалиями и метаболическими дисфункциями.

Для верификации диагноза требуется проведение комплексного обследования, включающего визуализационные методы диагностики, такие как компьютерная томография (КТ) или магнитно-резонансная томография (МРТ) гипофиза и надпочечников. Ультразвуковое исследование (УЗИ) щитовидной железы позволяет исключить структурные изменения. Комплексная оценка гормонального профиля проводится с целью определения уровня кортизола, тиреоидных гормонов (Т3, Т4, ТТГ), адренокортикотропного гормона (АКТГ) и дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С). Таким образом, дифференциальная диагностика ожирения требует применения мультидисциплинарного подхода и современных методов обследования, направленных на выявление сопутствующих эндокринных патологий и установление точного диагноза [24, 35].

1.4. Различия между метаболическим синдромом и ожирением

Метаболический синдром и ожирение тесно связаны, но это не одно и то же. МС – это совокупность нескольких факторов риска, включая ожирение, повышенное артериальное давление, повышенный уровень сахара в крови и аномальные уровни липидов, которые повышают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и диабета 2 типа, приводящих пациента к инвалидизации. Ожирение, в частности абдоминальное (висцеральное) ожирение часто является одним из ключевых компонентов метаболического синдрома [18].

1.4.1. Классификация ожирения

По этиологии:

- простое (конституционально-экзогенное, идиопатическое) – ожирение, связанное с избыточным поступлением калорий в условиях гиподинамии и наследственной предрасположенности (89–90% всех случаев);

- гипоталамическое – ожирение, связанное с наличием и лечением опухолей гипоталамуса и ствола мозга, лучевой терапией опухолей головного мозга и гемобластозов, травмой черепа или инсультом; при нейроэндокринных заболеваниях – гиперкортицизме, гипотиреозе и др.;

- ятрогенное – вызванное длительным приемом глюкокортикоидов, антидепрессантов и других препаратов;

- моногенное – ожирение вследствие мутации в генах лептина, рецептора лептина, рецепторов меланокортинов 3-го и 4-го типов, проопиомеланокортина, проконвертазы 1-го типа, рецептора нейротрофического фактора – тропомиозинсвязанной киназы B;

- синдромальное – ожирение при генетических синдромах Прадера–Вилли, ломкой хромосомы X, Альстрема, Кохена, Дауна, псевдогипопаратиреозе и др. [30].

По степени ожирения:

I степень – SDS ИМТ 2,0–2,5;

II степень – SDS ИМТ 2,6–3,0;

III степень – SDS ИМТ 3,1–3,9;

IV степень (морбидное) – SDS ИМТ $\geq 4,0$ [15, 29].

1.5. Лечение метаболического синдрома

В учебном пособии для педиатров, детских эндокринологов, детских кардиологов и ординаторов Одинаева Н. Д. и др. (2020) подробно описаны применяемые виды лечения для детей и подростков с метаболическим синдромом:

«Цели терапии МС:

- снижение массы тела и окружности талии;

- приведению в порядок: ночного дыхания, уровня глюкозы крови, уровня гликированного гемоглобина и липидного обмена;
- достижение оптимального уровня АД;
- достаточная физическая активность;
- предупреждение острых и отдаленных сердечно-сосудистых осложнений.

Терапевтическое лечение МС

1. Физические упражнения

Играют важную роль, являясь основной частью программы немедикаментозного снижения МТ

2. Умеренно гипокалорийная диета

Необходимо осуществить поэтапное и последовательное снижение его на 5-10% от исходного.

«Рациональное питание» включает употребление здоровых продуктов, соблюдение режима приема пищи, правильное пищевое поведение и приготовление без жиров, не допуская голодания. Суточная калорийность рациона должна быть сбалансированной, способствовать возможности пациента по жизненно придерживаться данного плана питания, не жертвуя качеством своей жизни. Для достижения подобных результатов рассчитываются индивидуальные энергетические затраты.

3. Приведение в порядок режима ночного сна.

Здесь могут применяться гипнотики, позиционные средства, ортопедические подушки, поведенческая терапия.

Медикаментозная терапия

Медикаментозная терапия назначается при ярко выраженном метаболическом синдроме у детей при невозможности контролировать показатели здоровья немедикаментозными методами. Однако из-за риска побочных эффектов и нежелательных воздействий на растущее тело ребёнка, в практической педиатрии ограничен выбор лекарств при МС, по сравнению со взрослой практикой. Программа лечения подбирается индивидуально.

У детей старше 10 лет допустимо применение препаратов на основе метформина. Они повышают чувствительность клеток к действию инсулина, тормозят всасывание глюкозы в кишечнике, нормализуют липидный обмен. Это единственная группа пероральных сахароснижающих средств, которые разрешены в педиатрической практике. По показаниям назначают метаболические препараты на основе L-карнитина, витаминов группы В. Медикаменты для подавления аппетита у детей не применяются» [21].

1.5.1. Профилактика метаболического синдрома

Масса тела чрезвычайно важный фактор: снижение исходного веса всего на 8–10 % уменьшает висцеральное ожирение и улучшает чувствительность к инсулину.

Для профилактики метаболического синдрома важно реализовать правильные стратегии питания: грудное вскармливание и соответствующее введение прикорма в течение первого года жизни. На более поздних стадиях ограничение потребления сладких продуктов и вредных жиров. Крайне важен родительский пример, а также контроль и поощрение уровня физической активности.

1.6. Микробиота кишечника и метаболический синдром

1.6.1. Состав кишечника в норме и при метаболическом синдроме

Микробиом кишечника выполняет ряд важных функций: защищает организм от кишечных инфекций, в том числе благодаря участию в иммунном ответе; вырабатывает витамины; участвует во всасывании минералов; активирует ферменты в тонкой и толстой кишке; регулирует перистальтику кишечника и регулярность стула [4]. В кишечнике человека, не имеющего проблем со здоровьем, обитают три типа микроорганизмов [36]:

1 - постоянные обитатели (90%). В эту группу входят микроорганизмы, которые лучше всего чувствуют себя в среде без кислорода. К ним относятся бифидобактерии, бактероиды и некоторые виды непатогенных клостридий [2]. Состав этих постоянных обитателей может различаться у людей, проживающих в разных географических регионах, имеющих различные экологические условия или придерживающихся разных диет [1,70,85].

2 – непостоянные обитатели (10%) — лактобактерии, кишечную палочку, энтерококки и другие.

3 - статочные, или «случайные» (менее 1%) — эти микроорганизмы настроены агрессивно по отношению к человеку. Разные стафилококки, клостридии и другие патогены недолго задерживаются в кишечнике при условии, что состав микробиоты в норме. Тема состава кишечной микробиоты является актуальной в мире микробиологии, многие ученые по всему миру проводят и сравнивают состав кишечника у разных категорий людей, проводят корреляционные анализы. Пример исследования Ignacio A. et al. (2016): «Детское ожирение является глобальной проблемой, связанной с ожирением у взрослых и связанными с ним проблемами со здоровьем. В этом исследовании изучалась кишечная микробиота 84 образцов фекалий у 30 детей с ожирением, 24 с избыточным весом и 30 худых детей с использованием культуры и количественной ПЦР. Были проанализированы группы *Bacteroides fragilis*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* и *Escherichia coli*, а также *Lactobacillus* и *Methanobrevibacter smithii*. Наиболее распространенными были *Bacteroides vulgatus*, *Clostridium perfringens* и *Bifidobacterium adolescentis*. Концентрации группы *B. fragilis* были выше у детей с ожирением и избыточным весом ($p < 0,015$), как и количество *Lactobacillus* ($p < 0,022$). Они были положительно коррелированы с ИМТ ($r = 0,24$, $p < 0,026$ для *B. fragilis*; $r = 0,44$, $p < 0,002$ для *Lactobacillus*). Напротив, количество *Bifidobacterium* было выше у худых детей ($p < 0,042$) и отрицательно коррелировало с ИМТ ($r = -0,22$, $p < 0,039$). Эти результаты указывают на различия в микробиоте кишечника у детей с

ожирением по сравнению с худыми, со значительной связью между *Lactobacillus* и *B. fragilis* и ИМТ.» [61].

1.6.2. Этапы становления кишечной микробиоты и факторы, влияющие на ее становление

В статье Ворошилиной Е. С. и др. (2023) «Фундаментальные основы современных подходов к оценке микробиоты кишечника детей» рассмотрены результаты некоторых исследований, проведённых в последние годы, говорят о том, что плод в утробе матери, вероятно, находится в стерильной среде, материнский микробиом всё же играет важную роль в регулировании метаболических процессов и иммунной реакции плода в период беременности [66,76]. Особенно значимо влияние микробиома кишечника матери, в котором во время беременности усиливается синтез короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК). Это необходимо для дифференцировки регуляторных Т-клеток в тимусе плода. Эксперименты на мышцах показали, что изменения в рационе матери во время беременности влияют на состав кишечной микробиоты матери и экспрессию определённых рецепторов в кишечнике плода. Процесс заселения организма ребёнка микроорганизмами в условиях нормально протекающей беременности начинается со времени родов и продолжается после появления на свет [14,78].

Важнейшие факторы, формирующие микробиом ребёнка до и после рождения.

- гестационный возраст;
- способ рождения [41];
- тип питания;
- применение антибиотиков в период беременности и в первый год жизни ребёнка;
- условия окружающей среды [100].

У доношенных детей микробная колонизация начинается с вагинальной и кишечной микробиоты матери. Первые бактерии обнаруживаются в меконии, ранее считавшемся стерильным, но содержащем *Enterococcus*, *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*. Микробиота мекония характеризуется низким α -разнообразием и высоким β -разнообразием. В первую неделю жизни микробиота кишечника часто представлена одним родом бактерий, среди которых *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Veilonella* и *Escherichia* [38,52,76]. Эволюция микробиоты кишечника младенца определяется его питанием. При грудном вскармливании доминируют *Bifidobacterium* (*Actinomycetota*). Переход к прикорму в 4-6 месяцев ведет к снижению их доли и увеличению разнообразия микробиоты. К году состав микробиоты ребенка начинает напоминать материнский, но полного наследования не происходит [96].

В настоящее время не установлена возрастная граница, определяющая окончательное формирование микробиома кишечника. Первоначально считалось, что этот процесс завершается к первому году жизни, однако позднее было предложено, что он может продолжаться до трех лет. Микробиом кишечника детей в возрасте до двух-трех лет является объектом активного изучения. Были выявлены значительные различия между его составом и структурой по сравнению с микробиомом взрослых. В то же время отмечается дефицит исследований, микробиома кишечника здоровых детей старшего возраста, включая дошкольный и подростковый периоды [91].

1.6.3. Взаимосвязь микробиоты кишечника с неинфекционными заболеваниями

Микробиота кишечника, связана и с развитием различных заболеваний, включая аллергии, эндокринные, сердечно-сосудистые, неврологические, психические и онкологические патологии [31]. Одни из них дебютируют в детстве, другие — значительно позже.

В последние годы замечен стремительный рост воспалительных заболеваний кишечника. Болезнь Крона (БК) и язвенный колит — основные хронические рецидивирующие ВЗК, которые характеризуются хроническим и острым воспалением слизистой оболочки кишечника. Исследования роли кишечной микробиоты при ВЗК, включая БК, активно проводятся, но в педиатрии таких наблюдений пока недостаточно. В масштабном исследовании D. Gevers et al. (2014) было обнаружено, что у детей в возрасте от 3 до 17 лет повышенное содержание *Enterobacteriaceae*, *Pasteurellaceae*, *Veillonellaceae* и *Fusobacteriaceae*, и сниженное содержание *Erysipelotrichales*, *Bacteroidales* и *Eubacteriales*, взаимосвязанно с впервые диагностированной БК [57]. У детей, которые лучше реагировали на лечение БК, был отмечен высокий уровень *Bifidobacterium* [59].

В ходе ряда исследований Penders J. (2007), Fang Z. et al. (2021), Cukrowska B. (2020) установлена связь между аллергическими заболеваниями и составом кишечной микробиоты, и иногда изменения микробиоты может служить сигналом возможного дебюта заболевания в течении последующей жизни человека. Например, повышенное содержание бактерий *E. coli* и *C. difficile* в микробиоте кишечника у детей в возрасте одного месяца связано с риском развития экземы к годовалому возрасту. *C. difficile* фактор риска развития атопии [79]. Снижение количества *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* и увеличение доли *E. coli*, *C. difficile* и *S. aureus* детей. на первом году жизни у детей с атопическим дерматитом [55]. Снижение уровня *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides spp.* и увеличение количества *Clostridium spp.* у детей более старшего возраста с аллергическими заболеваниями также наблюдается. [45].

Возникшие в раннем детстве изменения микробиоты кишечника могут стать причиной развития ожирения во взрослом состоянии [63]. У подростков и взрослых с ожирением отмечали снижение микробного разнообразия [94] и увеличение соотношения *Bacillota/Bacteroidota* [61]. Присутствие же *A.*

muciniphila, *M. smithii* и *Bifidobacterium spp.*, напротив, было ассоциировано с нормальным ИМТ [50,73].

Дисфункции центральной нервной системы детей в равной мере тесно связаны с дисфункцией ЖКТ, что объяснимо с позиций существования системы «кишечник-мозг». В работе Vojović K. et al. (2020) выявили, что у пациентов с аутизмом было характерно пониженное α -разнообразие, полное отсутствие или значительное снижение *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, а также *butyrate*-продуцирующих видов (*F. prausnitzii*, *Butyricicoccus pullicaecorum* и *Eubacterium rectale*) [40.]. В микробиоте детей с аутизмом существенно чаще выявляли *Clostridium* (sulfate-редуцирующие бактерии) [56]. Следует отметить, что снижение α -разнообразия кишечной микробиоты с утратой ряда значимых представителей характерно для значительной части описанных патологий. Данные изменения могут быть краткосрочными, как результат неких деструктивных воздействий (антибиотики, инфекции, стресс, средовые факторы окружения), однако наилучшим образом эубиоз должен быстро возвращаться к персональной норме. Устойчивость кишечной микробиоты к интервенциям определяется разнообразием микробного сообщества. Богатый видами «кишечный мир» более устойчива к воздействиям окружающей среды, поскольку функционально связанные микробы могут компенсировать функцию других отсутствующих видов. Здесь можно сказать, очевидное разнообразие кишечных микроорганизмов в принципе, может является хорошим признаком для "здорового кишечника" [51].

1.7. Функция кишечной микробиоты

1) Метаболический баланс. Бактерии, обитающие в кишечнике, формируют уникальный метаболический орган, способный извлекать питательные вещества и метаболическую энергию из потребляемой пищи. В частности, кишечная микробиота участвует в расщеплении пищевых волокон,

неспособных перевариться силами организма человека, выделяя короткоцепочечные жирные кислоты (SCFAs), органические соединения с длиной углеродной цепи менее шести атомов играющие ключевую роль в регуляции аппетита и метаболических процессов, включая метаболизм липидов и глюкозы, в качестве основных продуктов. Помимо всего прочего, данные вещества оказывают влияние на целостность кишечного барьера, способствуя поддержанию нормальной проницаемости эпителия и регулируя абсорбцию ксенобиотиков [42,69]

2) Иммунная функция. Микробиом кишечника способствует корректному функционированию иммунной системы посредством двух основных механизмов. Во-первых, он обеспечивает физическую защиту от патогенных микроорганизмов, поддерживая структурную целостность кишечного барьера. Во-вторых, микробиом кишечника играет ключевую роль в процессах иммуномодуляции. Симбиотические бактерии способны модулировать иммунный ответ организма, повышая активность макрофагов и натуральных киллеров (NK-клеток). Кроме того, они способствуют формированию толерогенных дендритных клеток и регулируют воспалительные процессы [58,69].

3) Кишечник и мозг: взаимосвязь и взаимодействие. В настоящее время продолжается изучение механизма двусторонней коммуникации между кишечной микробиотой и центральной нервной системой. Тем не менее исследования выявили ряд путей, обеспечивающих функционирование этой взаимосвязи, включая нейроанатомические тракты, а также эндокринные, иммунные и метаболические системы. Эта сложная сеть взаимодействий позволяет центральной нервной системе влиять на моторику кишечника, а также модифицировать сенсорные и секреторные функции кишечного тракта. С другой стороны, микроорганизмы, входящие в состав кишечной микробиоты, способны синтезировать нейротрансмиттеры, такие как дофамин, и стимулировать высвобождение кишечных гормонов из

энтероэндокринных клеток. Эти вещества обеспечивают передачу сигналов, влияющих на функционирование центральной нервной системы [88,89,97].

1.8. Влияние кишечной микробиоты и ее компонентов на развитие метаболических нарушений

1.8.1. Диетический рацион и роль метаболитов кишечной микробиоты

В исследованиях Croci et al. (2021) о стратегиях диеты и влияния на лечение МС в рамках проведенного выявляли взаимосвязь между метаболитами микробиоты, эндотоксией и метаболическим синдромом: и высказали следующее: «Некоторые метаболиты, выделяемые микроорганизмами (включая триметиламин N-оксид (ТМАО), липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий, индоксилсульфат и паракрезолсульфат), способствуют вызову субклинических воспалительных МС ассоциированных процессов. Диета, образ жизни и приём лекарств способны оказывать воздействие на численный и видовой состав ландшафта кишечного микробиома.

Многочисленные данные научных исследований подтверждают, способность определённых микробных метаболитов, (например, N-оксид триметиламин (ТМАО), липополисахарид (ЛПС), индоксилсульфат и паракрезолсульфат) способствовать началу развития субклинических воспалительных процессов, ассоциируемых с метаболическим синдромом и кардиоваскулярными патологиями. [39,46,84,86,92,101]. Несмотря на обширные исследования на мышинных моделях, чьи микробные сообщества отличаются от человеческих [75, 95], некоторые явления, связанные с рассеянным склерозом (РС), демонстрируют схожие характеристики как у животных, так и у людей. [41,65,72].

Среди факторов (возраст, образ жизни, лекарства, тип рождения, курение сигарет и т.д.), влияющих на состав микробиоты, ключевую роль играют пищевые привычки. Например, средиземноморская диета (MD),

богатая полезными питательными веществами и биологически активными соединениями, особенно эффективна в модуляции состава микробиоты кишечника и воспалительных процессов (включая повышенную кишечную проницаемость и последующую эндотоксемию); соблюдение MD действительно связано с разрешенным дисбактериозом, повышением уровней SCFAs, снижением уровней TMAO и обилием *Prevotella* и *Firmicutes*, разлагающих пищевые волокна [46,47], в то время, как западная диета, содержащая мало доступных для микробиоты углеводов, способствует сокращению видового разнообразия микробиома кишечника, через исчезновение определенных бактериальных штаммов, тем самым отрицательно влияя на ряд метаболических функций. Вегетарианская диета или диета с высоким содержанием клетчатки способствует снижению общего потребления холина, помогая модулировать состав кишечных микробиот и / или их метаболитов, но в связи с неспособностью подобной диеты обеспечить организм адекватным поступлением ПНЖК, играющих важную роль в противовоспалительном действии и целостности кишечного эпителия, долгосрочное соблюдение MD представляется наиболее лучшим лечением для сохранения наибольшего разнообразия видов микробиоты, среди представленных вариантов.

Функциональные продукты, обогащенные пробиотическими или синбиотическими бактериями, могут принести пользу в достижении целей таргетирования состава микробиоты или специфических биохимических путей, поскольку они, как было показано, значительно снижают инсулинорезистентность и способствуют улучшению липидного профиля [50]. Однако в связи со стремлением экосистемы микробиома кишечника человека возвратиться к исходному паттерну после внесённых изменений, мы все еще далеки от бактериальной терапии. По той же причине данные о трансплантации фекальной микробиоты, клинически успешной при лечении рецидивирующих инфекций *Clostridium difficile* [64,74], не являются надежными и окончательными; доступных в настоящее время исследований

немного [67,68,87], и они имеют несколько недостатков, среди которых наиболее актуальными являются отсутствие долгосрочных наблюдений и однородных образцов кала от доноров.

В заключение, хотя вышеупомянутые аспекты кажутся обнадеживающими и позитивными, микробиота и ее производные не могут служить надежными индикаторами метаболического синдрома и не могут иметь подлинного терапевтического значения. Для того, чтобы это стало реальностью, необходимо устранить многочисленные препятствия [44].

1.8.2. Лечение метаболических нарушений и кишечная микробиота

В последние годы наблюдается тенденция к расширению исследований, посвященных фекальной трансплантации (ФТ), представляющей собой процедуру пересадки микробиоты кишечника от донора к реципиенту. Данный метод рассматривается как потенциальный терапевтический подход к лечению метаболического синдрома.

В мета-анализе Rossen и др., проведенном в 2015 году и оценивающим эффективность применения донорского фекального материала при различных заболеваниях, включая МС, было отмечено улучшение чувствительности к инсулину у пациентов с МС после проведения ФТ [83].

В 2019, 2020 годах были опубликованы систематические обзоры. Посвящены они были изучению влияния ФТ на ожирение и метаболический синдром, а также повышение чувствительности к инсулину у реципиентов через 6 недель после трансплантации по сравнению с контрольной группой, получавшей плацебо. Итог исследования привел к тому, что через шесть недель после переноса кала у участников снизились уровни гликированного гемоглобина (HbA1c) и повысились концентрации ЛПВП.

Стоит отметить, факт того, что статистически значимых различий, по показателям уровень глюкозы в крови натощак, чувствительность к инсулину, индекс массы тела (ИМТ) и параметры липидного обмена, между группой получившей ФТ и контрольной, обнаружить не удалось. В частности, через 6–

12 недель после проведения ФТ не было установлено значимых изменений в метаболических параметрах, свидетельствующих о наличии нарушений.

Активно разрабатываемые аутопробиотики — препараты с эндогенными штаммами кишечной микробиоты очень эффективны при антибиотик-ассоциированном дисбиозе, *Helicobacter pylori* и синдроме раздраженного кишечника (Соловьева О.И. и др., 2017; Suvorov et al., 2018) [34,90]. В исследовании Ermolenko et al. (2022) отмечено снижение ИМТ, массы тела и уровня триглицеридов у пациентов с метаболическим синдромом после 10 дней применения аутопробиотика [53].

Симаненков В.И. и др., (2020) установлен факт, что у пациентов с сахарным диабетом 2 типа аутопробиотики изменяли состав кишечной микробиоты, но не влияли на углеводный обмен [33]. Влияние аутопробиотиков на метаболический синдром требует дальнейшего изучения. Proença и др., сошлись во мнении о необходимости расчёта наилучшей порции и метода введения микробиоты (2020; Zhang и др., (2019) [81,98].

Cicero и др., (2021) в ходе своих научных исследований, где участники случайным образом получают либо лекарство, либо "пустышку" (плацебо), ученые изучали свойства различных методов применения пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков доказали возможность корректировать метаболические нарушения: принимая двухмесячный курс синбиотика (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri* и пребиотик), который улучшил показатели метаболического синдрома по сравнению с плацебо: снизилась окружность талии, уровень инсулина, общего холестерина, ХС ЛПВП, ХС не ЛПВП, триглицеридов, индекса висцерального ожирения, артериального давления и глюкозы натощак [43].

В иранском исследовании Rabiei и др., (2018) с участием 46 пациентов с МС добавление синбиотика (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium* и фруктоолигосахариды) к низкокалорийной диете привело к более выраженному снижению массы тела, ИМТ, глюкозы натощак, инсулина

и индекса инсулинорезистентности по сравнению с плацебо. Уровень гормонов, подавляющих аппетит (ГПП-1, PYY), значительно повысился [82].

В китайском исследовании Zheng и др. (2021) на мышах, получавших пробиотик с *Lactobacillus reuteri* и *Lactobacillus rhamnosus*, наблюдалось более медленное увеличение массы тела и снижение уровня глюкозы натощак по сравнению с контрольной группой [98].

Однако в польском исследовании ученых микробиологов Czajeczny, Kabzińska, Wójciak, (2021) прием пробиотика с *Bifidobacterium lactis* и *Lactobacillus acidophilus* не оказал значимого влияния на снижение массы тела у женщин [19].

Употребление пробиотических *Akkermansia muciniphila* содержащих препаратов, или препаратов, включающих в состав её очищенные структурные компоненты, положительно воздействует на метаболические процессы. Chatelier и др., (2013) установлено, что численность популяции *Akkermansia muciniphila* имеет обратную корреляцию с такими заболеваниями, как ожирение, сахарный диабет 2 типа и артериальная гипертензия [19]. Применение данного микроорганизма значительно улучшает чувствительность тканей к инсулину, снижает концентрацию инсулина и общего холестерина в плазме крови (Derommier и др., 2019; Plovier и др., 2016) [50,80].

1.9. Методы анализа кишечной микробиоты

В клинической и микробиологической практике для оценки состояния микробиоценоза кишечника рекомендовано использовать совокупный комплекс микроскопических, культуральных, биохимических, физико-химических методов исследования [92].

Микроскопическое исследование содержимого кишечника позволяет идентифицировать определённые виды бактерий, такие как йодофильная микрофлора и дрожжевые грибы. Однако традиционное микроскопическое

исследование имеет свой недостаток, так как не даёт возможности получить полную картину всех микроорганизмов, присутствующих в желудочно-кишечном тракте. Позволяет выявить индикаторы нарушений регуляции сообщества микроорганизмов, населяющих желудочно-кишечный тракт [5].

Культуральный или бактериологический метод – единственное исследование, позволяющее выделять живые микроскопические организмы и исследовать их морфобиологические характеристики. Между тем большинство представителей микробиоты кишечника человека относятся к трудновывращиваемым и невыращиваемым культурам. На основании некоторых оценок, есть виды микроорганизмов, которые еще не описаны микробиологами и не культивированы в лабораторных условиях, к ним принадлежит около 50-80% видов [14]. Поэтому при микробиологическом культуральном исследовании возможно обнаружить исключительно ограниченный набор представителей кишечной микробиоты.

Метаболомические исследования направлены на определение спектра низкомолекулярных органических соединений (метаболического следа), которые производятся микроорганизмами, либо входят в их состав. В бактериологических лабораториях для видовой идентификации микроорганизмов применяются некоторые методы метаболомики, включая матрично-активированную лазерную десорбцию/ионизацию с времяпролетной масс-спектрометрией (MALDI-TOF MS). Газожидкостная хроматография (ГЖХ) используется для оценки метаболической активности микробиоценоза кишечника путем определения концентраций короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в кишечном содержимом. Важно отметить, что метод ГЖХ не позволяет оценить видовой состав микробиоты кишечника, а лишь описывает микрoэкологические изменения, возникающие в результате метаболической активности определенных групп микроорганизмов. [6,55]. Метод газовой хроматографии-масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ) направлен на определение спектра специфических жирных кислот, являющихся компонентами микроорганизмов

[7]. На основе профиля жирных кислот делается заключение о присутствии в исследуемом материале различных микроорганизмов, включая бактерии, вирусы и грибы (всего 57 параметров).

Молекулярно-генетические методы представляют собой альтернативу традиционным культуральным (бактериологическим) исследованиям. Основным инструментом для комплексного анализа микробиоты кишечника является технология массового параллельного секвенирования молекул дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) в исследуемом образце. Данная технология позволяет анализировать фрагменты генов, кодирующих рибосомальную РНК 16S, или полный бактериальный геном. К преимуществам метода секвенирования относятся:

- Высокая скорость получения результатов: Время анализа значительно сокращается по сравнению с традиционными методами.
- Устойчивость к условиям хранения клинического материала: Метод не требует поддержания жизнеспособности микроорганизмов, что упрощает процесс транспортировки и хранения образцов.
- Высокое разрешение: Технология позволяет классифицировать микроорганизмы до уровня операционных таксономических единиц (OTUs), что обеспечивает высокую точность идентификации.
- Возможность вычисления соотношений между видами: Метод позволяет количественно оценивать соотношение различных видов микроорганизмов в образце.

ПЦР-РВ - количественная полимеразная цепная реакция представляет собой высокоточный метод количественного определения микроорганизмов, включая труднокультивируемые и некультивируемые формы, в рамках рутинной лабораторной практики. Данный метод позволяет выявлять и количественно оценивать наличие микроорганизмов в биоматериале посредством использования видо- или группоспецифических праймеров и нормирования полученных данных на количество генов-мишеней, таких как рибосомальные РНК. Для анализа широкого спектра микроорганизмов

рекомендуется использовать крупные таксономические категории, включая роды и семейства. ПЦР-РВ обладает высокой скоростью получения результатов и не зависит от жизнеспособности исследуемых микроорганизмов, этот метод особенно эффективен для комплексной оценки кишечной микробной экосистемы. Простота соблюдения стандартизированных протоколов хранения и транспортировки образцов, которые могут проводиться при температуре окружающей среды или при +4 °С, не оказывает негативного влияния на достоверность получаемых результатов [93].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования и материалы

В качестве материала были использованы 40 образцов кала детей возрастной группы от 10 до 14 лет, предоставленных педиатрическим отделением ГБУЗ РБ № 17 и ГБУЗ РБ ДП № 4 г. Уфа.

Фекалии, собранные у каждого пациента, были свежими и помещались в специально подготовленные контейнеры. Каждый образец доставлялся в лабораторию в течение двух часов после сбора в коробке с пакетом льда и хранился при температуре -80 °С.

Образцы были разделены на две группы по 20 в каждой: первая - опытная от детей с МС и вторая - от детей с сохранным здоровьем.

Практическая часть эксперимента была выполнена на кафедре фундаментальной и прикладной микробиологии Башкирского государственного медицинского университета.

В результате исследований были выявлены следующие микроорганизмы:

- 1 – бактерия *E.coli*;
- 2 – грибы *C. albicans* и *C. glabrata*.

Бактериологический посев отобранного материала проводили на питательной среде Сабуро (ФБУН ГНЦ МПБ, Оболенск).

Таблица 1– Состав питательной среды Сабуро

Питательная среда агар Сабуро, г/л:	панкреатический гидролизат рыбной муки – 10,0; панкреатический гидролизат казеина – 10,0; дрожжевой экстракт – 2,0; натрия фосфат однозамещенный – 2,0; Д-глюкоза – 40,0; агар – 10,0±3,0
--	--

2.1.1. Подготовка лабораторной посуды

Лабораторная посуда должна быть чисто вымыта, для этой цели используют нейтральные моющие средства, дополнительно для чистки могут использоваться специальные ершики и щетки. Вымытую в водопроводной воде посуду ополаскивают дистиллированной водой, после чего высушивают на лабораторных подносах при комнатной температуре. Далее вымытую и высушенную посуду заворачивают в бумагу и размещают в печи Пастера не слишком плотно друг к другу. Стерилизацию проводят 2 часа при температуре 150°C. По завершению стерилизации печь Пастера не открывают до тех пор, пока температура в ней не снизится до комнатной. После чего посуда может быть использована по необходимости.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Методика бактериологического исследования толстого кишечника

Образец в один грамм нативных фекалий без добавления каких-либо консервантов был точно взвешен и гомогенизирован с 9 миллилитрами физиологического раствора (0,85% хлорида натрия) или фосфатного буфера. Эта процедура дала начальное разведение материала в концентрации 10^{-1} . Содержимое смеси тщательно перемешивалось с помощью стеклянной палочки, а затем оставлялось при комнатной температуре на период от 10 до 15 минут. Начальное разведение впоследствии использовалось для инокуляции среды, обычно используемой для выделения грибов.

Материал был несколько раз разведён в физиологическом растворе, пока не были достигнуты концентрации 10^{-9} и 10^{-10} , используя начальное разведение в качестве отправной точки. Каждое последующее разведение готовилось с использованием новой стерильной пипетки для обеспечения наивысшего уровня контроля загрязнения. Из этих приготовленных разведений стандартизированные инокуляции были введены в питательную

среду, предназначенную для выращивания грибов. В частности, 0,1 миллилитра суспензии из каждого соответствующего разбавления наносили на твердые среды в чашках Петри, а затем равномерно распределяли, растирая материал шпателем.

Все инокулированные культуры инкубировали при температуре 37 градусов Цельсия в течение 24–48 часов. После этой первичной инкубации чашки Петри, содержащие среду Сабуро, дополнительно инкубировали в течение дополнительных двух дней при комнатной температуре, которая обычно составляет от 18 до 24 градусов Цельсия. Анаэробные организмы культивировали с использованием анаэробных камер вместе с эксикаторами для создания необходимых условий окружающей среды. Процесс культивирования этих анаэробов был продлен как минимум до пяти дней, чтобы обеспечить оптимальный рост и изоляцию микроорганизмов.

2.2.2. Культуральный посев на среду Сабуро

Биологическое идентификационное распознавание грибкового организма была проведена методом культурального исследования. Фекальный материал (кал) помещали на бактериологическую среду Сабуро, применяемую для получения патогенных грибов, для последующего посева и в частности, для получения чистой культуры.

Способ применения

Отмеренные на точных весах 72 г препарата, размешивали в дистиллированной воде объёмом 1 дм³, довели смесь до кипения и продержали до полного расплавления агара в течение 2 - 3 минут, фильтровали через ватно-марлевый фильтр. Разливали в стерильную посуду и избавили от микроорганизмов, посредством пятнадцатиминутного автоклавирования при температуре (121±1) °С. Среду охлаждали до температуры (47,5± 2,5) °С, разливали по (25±5) см³ в стерильные чашки Петри.

После застывания среду, соблюдая правила асептики, подсушивали при температуре (33 ± 2) °С в течение (40 ± 5) минут.

Через неделю провели анализ выросших колоний.

2.2.2.1. Приготовление питательной среды для культивирования грибов

Агар Сабуро – это питательная среда для выделения и культивирования дрожжеподобных и плесневых грибов. Сухая среда представляет собой мелкодисперсный гомогенный порошок светло-желтого цвета.

Состав питательной среды Сабуро; панкреатический гидролизат рыбной муки (10,0 г/л), панкреатический гидролизат казеина (10,0 г/л), дрожжевой экстракт (2,0 г/л), натрия фосфат однозамещенный (2,0 г/л), Д-глюкоза (40,0 г/л), агар ($10,0\pm 3,0$ г/л)

Пример рецепта на приготовление 6 чашек Петри

Приготовление:

1. Взвесить 9,7 г сухой среды Сабуро.
2. Размешать в 150 мл дистиллированной воды.
3. Довести до кипения и кипятить 2 мин до полного расплавления агара.
4. Профильтровать через ватно-марлевый фильтр.
5. Разлить в стеклянные флаконы.
6. Стерилизовать автоклавированием при температуре 121°С в течение 15 мин.
7. Охладить среду до температуры 45-50 °С.
8. Разлить в стерильные чашки Петри.
9. После застывания подсушить при температуре 23 ± 2 °С в течение 40 ± 5 мин.

Получилось 6 чашек Петри.

Приготовление шести чашек Петри: методический аспект

Для проведения микробиологических исследований необходимо использовать чашки Петри, которые являются важным инструментом для культивирования микроорганизмов. Процесс их подготовки требует строгого соблюдения методологии, учитывающей специфику лабораторной работы и стандарты качества. В данной статье подробно рассматриваются основные

этапы приготовления чашек Петри, с акцентом на стандартизацию и контроль качества на каждом этапе.

Чашки Петри изготавливают из прозрачного стекла или пластика, что обеспечивает возможность визуального контроля за содержимым. Рекомендуется использовать чашки с плоским дном и герметично закрывающейся крышкой для предотвращения контаминации образцов. Перед началом работы необходимо провести визуальную проверку целостности и чистоты чашек, исключая наличие трещин, сколов и загрязнений.

Стерилизация является критически важным этапом, обеспечивающим отсутствие контаминации чашек микроорганизмами. Для этого могут быть использованы следующие методы:

1. Автоклавирование при температуре 121°C и давлении 15 фунтов на квадратный дюйм (psi) в течение 15 минут;
2. Обработка сухим жаром при температуре 170°C в течение 1 часа;
3. Стерилизация ультрафиолетовым излучением в течение 30 минут.
4. Выбор метода стерилизации зависит от конкретных требований эксперимента и характеристик используемого материала.
5. Маркировка чашек Петри необходима для идентификации образцов и обеспечения точности результатов исследований. Для этого рекомендуется использовать перманентные маркеры, которые не оставляют следов при автоклавировании. На каждой чашке должны быть указаны следующие данные:

1. Номер образца;
2. Дата проведения эксперимента;
3. Любые другие релевантные данные, такие как тип питательной среды или условия культивирования.

Для культивирования микроорганизмов необходимо подготовить подходящую питательную среду. В зависимости от целей исследования, это может быть агар-агар, бульон или специализированные среды, такие как среды для селективного роста определенных микроорганизмов. Важно строго

соблюдать рецептуру и технологию приготовления, чтобы обеспечить однородность и стерильность среды.

После стерилизации чашки Петри заполняются подготовленной питательной средой с использованием стерильных инструментов, таких как пипетки или шпатели. Важно равномерно распределить среду по дну чашки, избегая образования пузырьков и воздушных карманов. Затем чашки закрываются стерильными крышками и маркируются в соответствии с установленными требованиями.

После завершения подготовки чашек Петри необходимо провести контроль качества. Этот этап включает проверку герметичности крышек, отсутствие контаминации, а также соответствие маркировки. В случае обнаружения дефектов, чашки подлежат повторной стерилизации и подготовке.

Таким образом, процесс приготовления шести чашек Петри требует тщательного соблюдения всех этапов работы и использования стерильных материалов. Это обеспечивает надежность и точность результатов микробиологических исследований, что критически важно для научных и практических целей.

2.2.3. Световая микроскопия

Микроскопия — это исследование объектов и элементов, которые имеют очень маленькие размеры. Человеческий глаз не способен рассмотреть такие объекты в деталях из-за своих природных ограничений. Для преодоления этого ограничения используются специальные приборы — микроскопы.

В настоящее время одним из основным методом, применяемым в области биологических наук для исследования микроскопических объектов, является оптическая микроскопия. Оптические микроскопы значатся первостепенным инструментом как в клинической практике, так и в научных исследованиях в области биологии и медицины. Они позволяют изучать

морфологические характеристики различных организмов, включая насекомых, паразитов, растительные и животные клетки, простейшие и бактерии.

Благодаря возможности изучения топографии, морфологии и ультраструктуры, человек смог значительно расширить свои знания о микроорганизмах. В медицине микроскопы позволяют подсчитывать клетки крови, анализировать биопсийные образцы на структуру, морфологию и наличие определённых включений. С развитием молекулярно-биологических методов стало возможным определять локализацию отдельных химических веществ.

2.2.3.1. Окрашивание по Граму

Метод Грама представляет собой микробиологическую технику окрашивания, предназначенную для классификации бактерий на основании их клеточной структуры и химического состава. Данная методика была разработана датским микробиологом Кристианом Грамом в 1884 году.

Окрашивание по Граму применяется для дифференциации бактериальных клеток на две основные группы. Грамположительные бактерии приобретают интенсивный синий оттенок, тогда как грамотрицательные остаются неокрашенными. Данный феномен обусловлен структурными особенностями клеточной стенки и мембраны микроорганизмов. Порядок выполнения действий;

- 1) Образец бактерий наносится на предметное стекло;
- 2) Мазок медленно высушивается и фиксируется над пламенем горелки;
- 3) Предметное стекло заливают генциановым фиолетовым и оставляют на 1 минуту;
- 4) Краситель генциановый фиолетовый смывают;
- 5) Добавляется раствор йода или Люголя, чтобы облегчить проникновение и удержание красителя;

- 6) Через 30 секунд предметное стекло промывают спиртом, который вымывает йод;
- 7) Для окрашивания грамотрицательных бактерий добавляется красный контрастный краситель (фуксин или эозин);
- 8) Краситель оставляют на 30-60 секунд, а затем смывают водой;
- 9) На предметное стекло добавляется капля иммерсионного масла;
- 10) Теперь препарат можно изучать под микроскопом;

2.2.4. MALDI-TOF масс-спектрометрия

2.2.5. Определение среднего количества выявленных микроорганизмов в кале больных и здоровых детей.

AUTOF MS 2600: Автоматическая система идентификации микроорганизмов

AUTOF MS 2600 — передовая автоматическая система для быстрой и точной идентификации микроорганизмов с использованием технологии MALDI-TOF. Она позволяет идентифицировать бактерии, грибки и микобактерии за 6 минут, оптимизируя диагностику и улучшая клинические решения.

Основные этапы работы:

1. Подготовка образца: Микробный материал из колонии смешивается с матрицей (CHCA или синапиновая кислота), что облегчает ионизацию.
2. Процесс идентификации: Лазерный луч вызывает десорбцию и ионизацию молекул, которые ускоряются и направляются к детектору времени пролета. Полученный масс-спектр сравнивается с базой данных для точной идентификации.

Преимущества:

- Скорость: Анализ одной колонии занимает 2 минуты.

- Точность: Высокая специфичность благодаря уникальным рибосомальным белковым профилям.

- Автоматизация: Отсутствие ручной обработки и трудоемкой интерпретации спектров.

Применение:

AUTOF MS 2600 используется в клинической микробиологии для быстрого выявления патогенов, что сокращает время до начала лечения и улучшает результаты.

Заключение:

Система AUTOF MS 2600 — инновационное решение для диагностики инфекций, повышающее эффективность и точность лабораторных исследований.

2.2.5.1. Использование счетчика колоний для подсчета их численности

Определение числа колоний микроорганизмов осуществляли на счетчике для подсчета колоний микроорганизмов СКМ - 1 (рисунок 2). Устройство нужно, чтобы сосчитать крошечные и невидимые колониальные организмы, которые сначала выращивают на биологических лабораторных чашках, их еще называют чашки Петри. Далее используя электрическую ручку, указывают на позиции на дне чашки в местах расположения колониальных сообществ, затем регистрируют контакт с помощью счетчика и выводят результат на цифровой экран, фиксирующий поэтапный подсчет.

Принцип функционирования счетчика СКМ-1 состоит в следующем:

- 1) увеличение показаний на единицу при нанесении точки на дно чашки электропером или при нажатии клавиши ТЕСТ;
- 2) обнуление показаний при нажатии клавиши СБРОС;
- 3) формирование звукового сигнала при нанесении точки на дно чашки электропером или при нажатии клавиш ТЕСТ и СБРОС.
- 4) подсветку снизу чашки Петри;

5) регулировку положения увеличительного стекла по высоте и вдоль рабочей поверхности.

Счётчик СКМ-1 представляет собой высокоточное устройство для измерения и регистрации параметров, связанных с электропотреблением. Основой его работы является электромеханическая система, преобразующая измеряемую величину в механическое движение, которое затем фиксируется счётным механизмом. Счётчик оснащён микропроцессорным блоком, обеспечивающим высокую точность и надёжность измерений, а также возможность передачи данных в автоматизированные системы учёта.

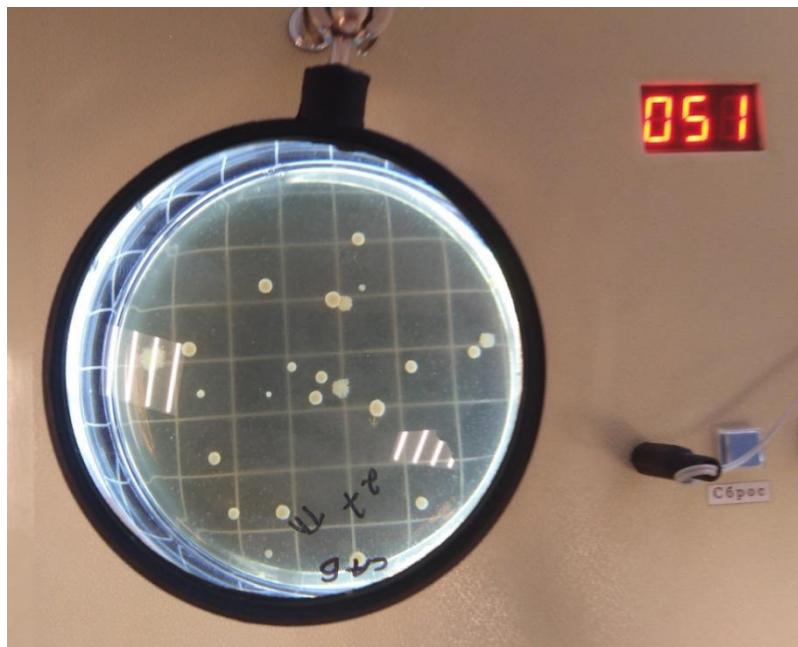


Рисунок 2 – Счетчик колоний микроорганизмов СКМ-1 (в комплект счетчика входит лупа 2х, закрепляемая на штативе).

2.2.5.2. Вычисление среднего количества выявленных микроорганизмов

Вычисление среднего количества микроорганизмов проводили по формуле:

$$\text{КОЕ/мл (или КОЕ/г)} = \frac{\text{Количество колоний} \times \text{Разведение}}{\text{Объем посеянного образца (в мл или г)}}$$

Количество колоний: Среднее количество колоний, подсчитанное на чашках Петри с подходящим количеством колоний.

Разведение: Степень разведения, используемая при посеве.

Объем посеянного образца: Объем образца, внесенного в чашку Петри (в мл).

2.2.6. Метод статистической обработки

1) Методы первичной статистической обработки (использование непараметрической статистики). Полученные данные обрабатывали в пакете программ Statistics26 (IBM SPSS).

2) Метод статистической обработки данных в Microsoft Excel. Данный метод позволил проанализировать и сравнить частоту встречаемости грибов *Candida spp.* в кишечной микробиоте детей с метаболическим синдромом и здоровых детей. Метод выполнялся при помощи диаграммы и гистограммы, что позволило наглядно увидеть необходимые показатели, полученные в ходе исследования, обобщить их и привести в систему, выявив в них скрытые закономерности.

На графиках и в таблицах представлены средние арифметические значения из n -числа повторностей (где $n \geq 10$) и их стандартные отклонения. Для сравнения независимых выборок, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали параметрический критерий Стьюдента, значения t -критерия находили для 95% уровня значимости.

Данные в таблицах и на диаграммах представляют средние арифметические величины и стандартные ошибки, количество повторений указано для каждого случая отдельно.

Результаты обработаны с использованием стандартных пакетов программы Microsoft Excel 2010.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1. Выявление и идентификация микроорганизмов

3.1.1. Выявление микробиоты в кале больных с метаболическим синдромом и здоровых детей методом посева на питательную среду.

При культуральном исследовании на универсальной питательной среде Сабуро рост колоний микроорганизмов отмечали на 5 - 7 й день посева (рисунок 3).

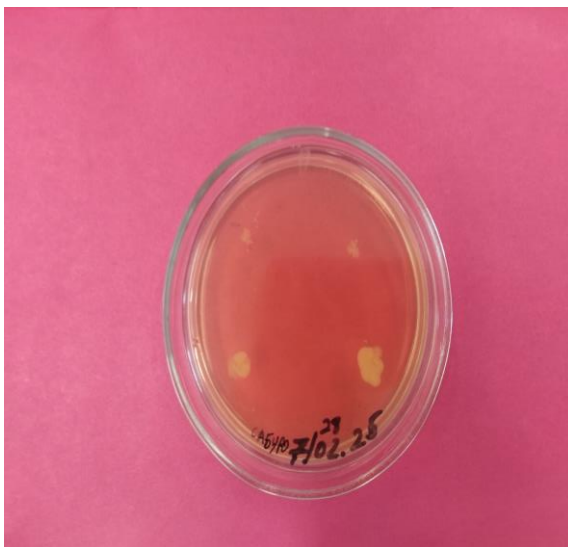


Рисунок 3 – Колонии *Candida albicans* на среде Сабуро.

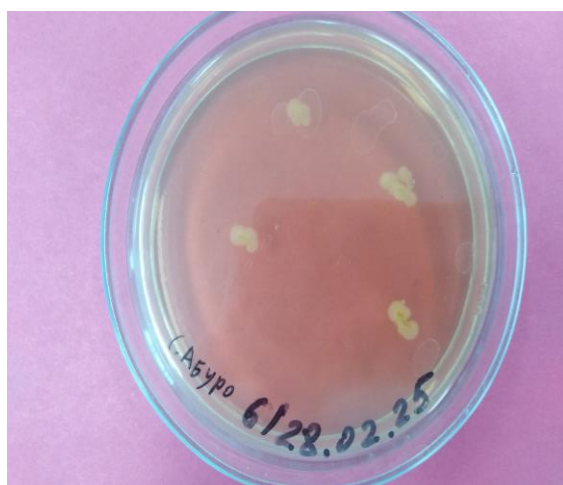


Рисунок 4 – Колонии *Candida glabrata* на среде Сабуро.

3.1.2. Световая микроскопия.

Идентификации только на основании морфологии колоний на среде Сабуро недостаточно, поэтому на следующем этапе применяли световой микроскоп. В ходе исследования было проанализировано сорок образцов кала детей с метаболическим синдромом и здоровых детей. Оценка видового состава микобиоты проводилась путем микроскопирования культур, выращенных из образцов кала на культуральной среде.

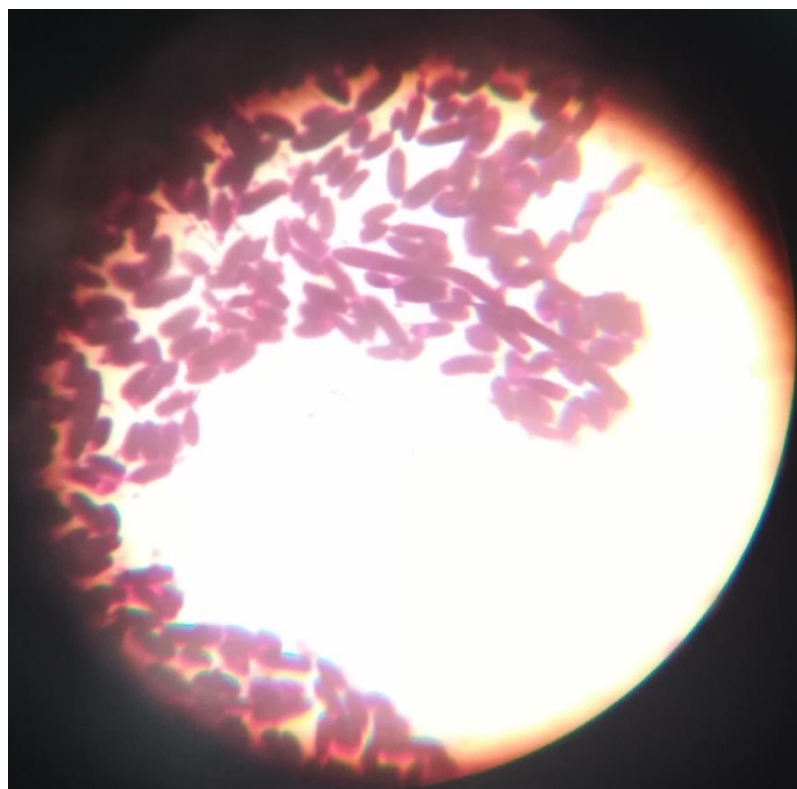


Рисунок 5– Микроскопия *Candida albicans*, окраска по Граму, иммерсия.

На рисунке 5 изображены псевдомицелии *Candida albicans*, похожая на цепочки удлиненных клеток, соединенных между собой, но не имеющих настоящих перегородок, как в истинном мицелии.

На рисунке 6 представлена *Candida glabrata* похожие на коротких, толстых овальных клеток, часто соединенных друг с другом в цепочки без

ярко выраженного удлинения и разветвления. Никогда не образует псевдомицелий.

Микроскопия обнаружила присутствие в посевах *E. Coli*. Что подтвердилось при использовании метода масс – спектрометрии.

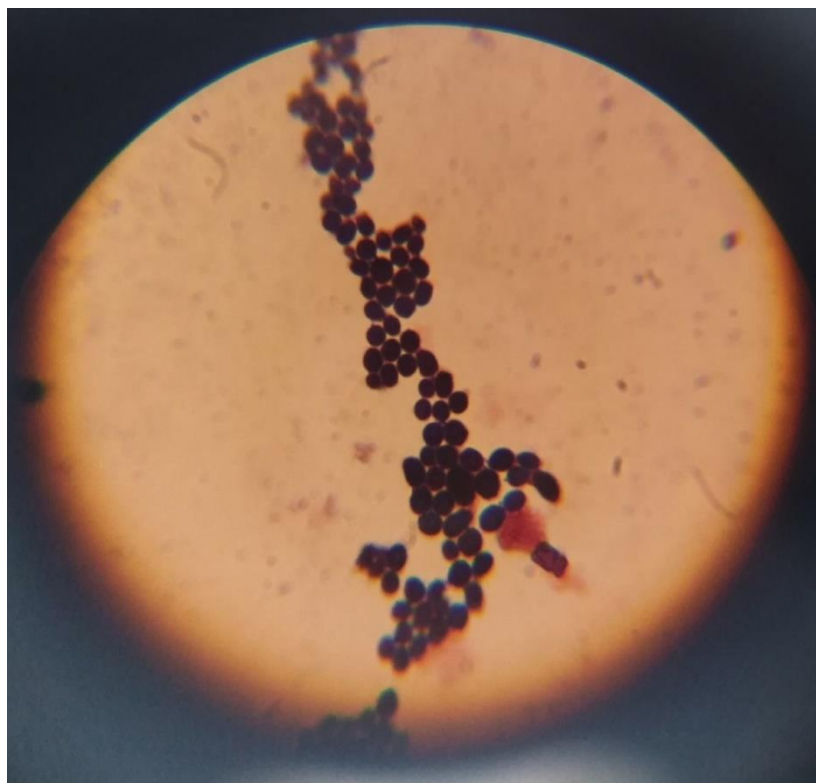


Рисунок 6 – Микроскопия *Candida glabrata*, окраска по Граму, иммерсия.

3.1.3. Установление видового разнообразия микобиоты у с использованием Масс- спектрометрии

С целью более точного и надёжного определения видовой принадлежности выявленных микроорганизмов, проводилась идентификация при помощи метода масс-спектрометрии (рисунок 7,8,9).

Графики, отражающие масс-спектрометрические данные, полученные при идентификации в системе AUTOF MS 2600

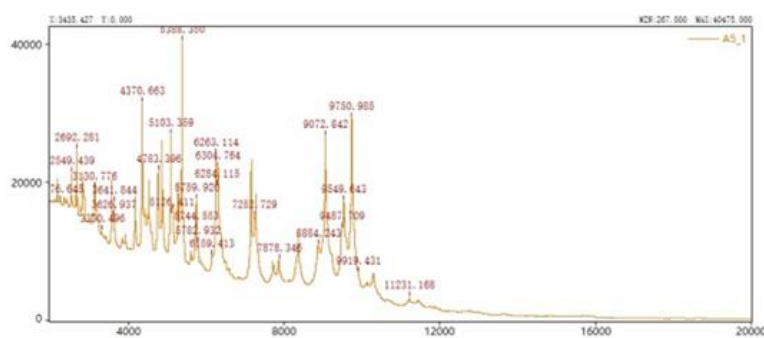


Рисунок 7 – Масс-спектрометрические данные *C. albicans*.

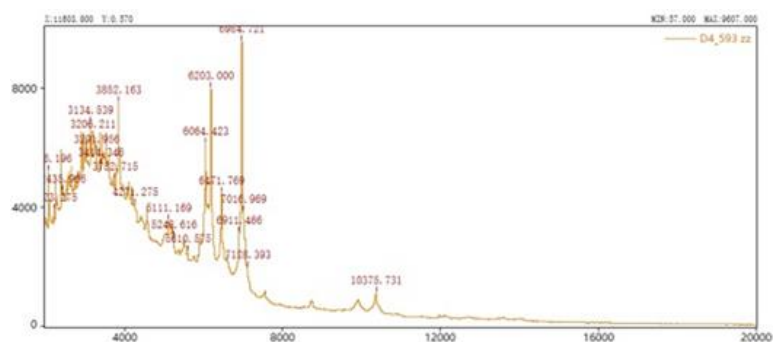


Рисунок 8 – Масс-спектрометрические данные *E. Coli*.

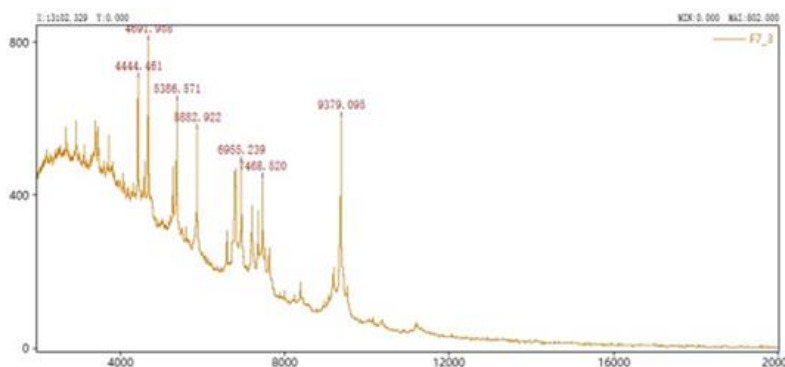


Рисунок 9 – Масс-спектрометрические данные *C. glabrata*.

Результаты MALDI TOF-анализа, изображённые на рисунках в форме линейных графиков, где ось абсцисс отражает значения отношения m/z для каждого пика, а ось ординат - частоту регистрации каждого пика.

3.2. Сравнение профиля грибковой микробиоты при метаболическом синдроме и сохранным здоровьем.

Профиль описывает качественный (вид) и количественный (КОЕ) состав грибов, населяющих одну из самых важных сфер человеческого организма – кишечник. Микобиом включает в себя разнообразные грибы: дрожжи и плесень, которые могут быть патогенными либо симбиотическими. Состав и разнообразие которых меняется в зависимости от возрастной группы, диетического предпочтения, наличия патологических состояний организма и стиля жизни. Грибковые ассоциации могут являться частью нормальной естественной микробиоты кишечника, но при определенных условиях способны вызывать инфекцию.

3.2.1. Выявление частоты обнаружения микроорганизмов в образцах кала детей

После выявления и установления принадлежности микроорганизмов из кала детей с метаболическим синдромом и здоровых детей зафиксировали результаты по группам (таблицах 2 и 3).

В группе детей с метаболическим синдромом выявлено 16 случаев обнаружения *Candida spp.*: 13 - *Candida albicans*, 3 - *Candida glabrata*.

В группе детей без метаболического синдрома обнаружена только *Candida albicans* у трех детей.

Таблица 2 – Результаты исследования образцов кала детей с МС на наличие микроорганизмов

Образец №	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>E.coli</i>
1	+	-	+
2	-	+	+
3	+	-	+
4	-	+	+
5	-	-	+

6	-	-	+
7	+	-	+
8	-	-	+
9	+	-	+
10	+	-	+
11	+	-	+
12	-	+	+
13	+	-	+
14	+	-	+
15	+	-	+
16	+	-	+
17	+	-	+
18	+	-	+
19	+	-	+
20	+	-	+
Итого	13	3	20

Таблица 3 – Результаты исследования образцов кала детей без МС на
наличие микроорганизмов

Образец №	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>E.coli</i>
1	+	-	+
2	-	--	+
3	-	-	+
4	-	-	+
5	-	-	+
6	-	-	+
7	-	-	+
8	+	-	+
9	-	-	+

10	-	-	+
11	-	-	+
12	-	-	+
13	-	-	+
14	-	-	+
15	-	-	+
16	-	-	+
17	+	-	+
18	-	-	+
19	-	-	+
20	-	-	+
Итого	3	0	20

3.2.2. Применение счётчика колоний для количественного определения их численности

Количественная оценка содержания микобиоты в фекальных массах:

В ходе работы поместили чашку Петри на счетчик колоний. С помощью увеличительного стекла счетчика четко различали отдельные колонии. Отмечали каждую колонию, используя маркер или нажатием на кнопку счетчика. Считали колонии аккуратно и последовательно, чтобы избежать ошибок.

$$\text{КОЕ/мл (или КОЕ/г)} = \frac{\text{Количество колоний} \times \text{Разведение}}{\text{Объем посеянного образца (в мл или г)}}$$

В формуле:

Количество колоний: Среднее количество колоний, подсчитанное на чашках Петри с подходящим количеством колоний.

Разведение: Степень разведения, используемая при посеве.

Объем посеянного образца: Объем образца, внесенного в чашку Петри (в мл).

Расчет количества микроорганизмов в исходном образце (пример):

Если на чашке с разведением 10^{-3} (1:1000) выросло 170 колоний, а объем посеянного образца был 0,1 мл, то:

$$\text{КОЕ/мл} = (170 \times 1000) / 0,1 = 1\,700\,000 \text{ КОЕ/мл}$$

Таблица 4– Результаты подсчета колоний микроорганизмов в образцах кала детей с МС (КОЕ/г)

Образец №	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>E.coli</i>
1	$135 \cdot 10^7$	-	$5 \cdot 10^3$
2	-	$30 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^3$
3	$132 \cdot 10^7$	-	$1 \cdot 10^3$
4	-	$38 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^3$
5	-	-	$6 \cdot 10^3$
6	-	-	$5 \cdot 10^3$
7	$120 \cdot 10^7$	-	$2 \cdot 10^3$
8	-	-	$7 \cdot 10^3$
9	$131 \cdot 10^7$	-	$4 \cdot 10^3$
10	$128 \cdot 10^7$	-	$5 \cdot 10^3$
11	$132 \cdot 10^7$	-	$5 \cdot 10^3$
12	-	$34 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^3$
13	$116 \cdot 10^7$	-	$6 \cdot 10^3$
14	$110 \cdot 10^7$	-	$3 \cdot 10^3$
15	$112 \cdot 10^7$	-	$1 \cdot 10^3$
16	$123 \cdot 10^7$	-	$4 \cdot 10^3$
17	$125 \cdot 10^7$	-	$4 \cdot 10^3$
18	$123 \cdot 10^7$	-	$3 \cdot 10^3$
19	$124 \cdot 10^7$	-	$2 \cdot 10^3$
20	$129 \cdot 10^7$	-	$2 \cdot 10^3$
Итого	$1740 \cdot 10^7$	$92 \cdot 10^7$	$80 \cdot 10^3$

Среднее кол-во	$134 \cdot 10^7$	$31 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^3$
----------------	------------------	-----------------	----------------

Таблица 5 – Результаты подсчета колоний микроорганизмов в образцах кала детей без МС (КОЕ/г)

Образец №	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>E.coli</i>
1	$4 \cdot 10^3$	-	$5 \cdot 10^7$
2	-	-	$3 \cdot 10^7$
3	-	-	$1 \cdot 10^7$
4	-	-	$3 \cdot 10^7$
5	-	-	$6 \cdot 10^7$
6	-	-	$5 \cdot 10^7$
7	-	-	$2 \cdot 10^7$
8	$6 \cdot 10^3$	-	$7 \cdot 10^7$
9	-	-	$4 \cdot 10^7$
10	-	-	$5 \cdot 10^7$
11	-	-	$5 \cdot 10^7$
12	-	-	$4 \cdot 10^7$
13	-	-	$6 \cdot 10^7$
14	-	-	$3 \cdot 10^7$
15	-	-	$1 \cdot 10^7$
16	-	-	$4 \cdot 10^7$
17	$5 \cdot 10^3$	-	$4 \cdot 10^7$
18	-	-	$3 \cdot 10^7$
19	-	-	$2 \cdot 10^7$
20	-	-	$2 \cdot 10^7$
Итого	$15 \cdot 10^3$	-	$80 \cdot 10^7$
Среднее кол-во	$4 \cdot 10^3$	-	$4 \cdot 10^7$

3.2.3. Определение среднего количества бактерий *E.coli* и грибов

Candida spp

Произвели подсчет общего количества выявленных микроорганизмов, вывели средние значения. Средние значения представлены в таблице № 1

Таблица 6 – Среднее количество колоний, обнаруженных в образцах кала (КОЕ/г)

Вид микроорганизмов	Дети с МС	Дети без МС
<i>Candida albicans</i>	134×10^7	5×10^3
<i>Candida glabrata</i>	31×10^7	0
<i>Escherichia coli</i>	4×10^3	24×10^7

Среднее количество колоний *E.coli*, обнаруженных в образцах кала здоровых детей соответствует норме, у детей с метаболическим синдромом показатели ниже нормативных значений.

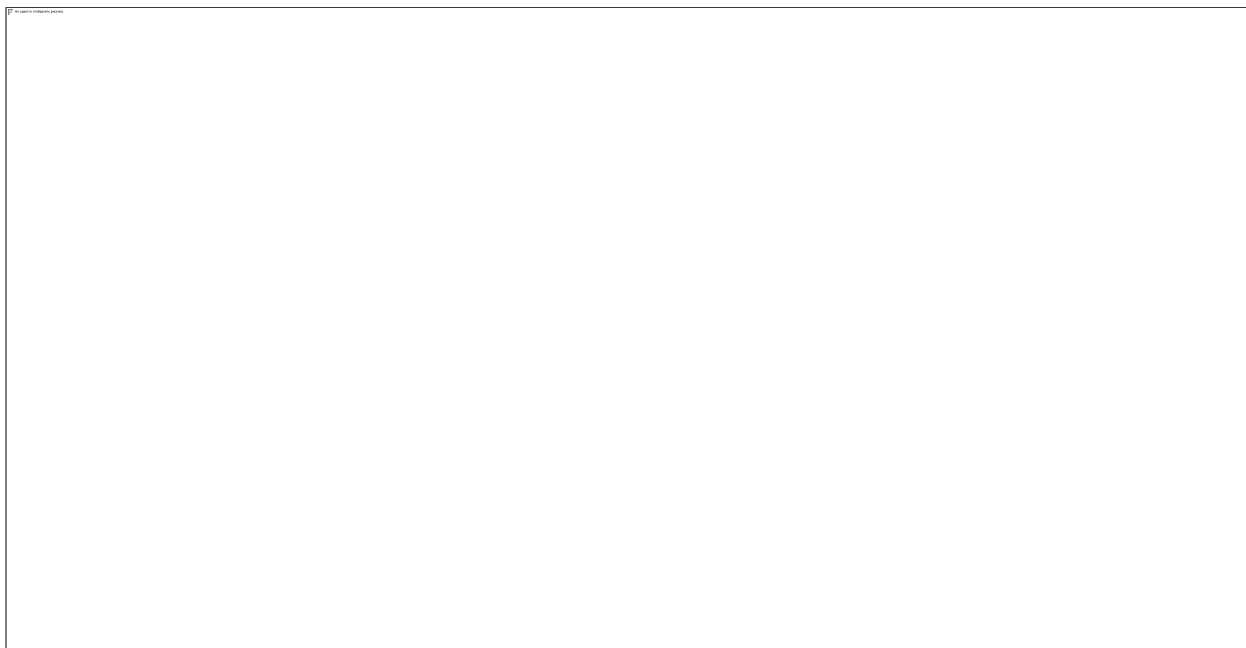
Среднее количество колоний грибов *C. albicans*, обнаруженных в образцах кала детей с МС значительно повышено и составляет 134×10^7 КОЕ/г при норме содержания грибов менее 10^3 КОЕ/г, у здоровых детей – 5×10^3 КОЕ/г, что соответствует норме.

Среднее количество колоний грибов *C. glabrata*, обнаруженных в образцах кала детей с МС – 31×10^7 КОЕ/г

3.2.4. Сравнительный анализ грибковой микобиоты.

Видовой состав и частота обнаружения выявленных микроорганизмов представлены в виде круговой вложенной диаграммы (рисунок 10). Частота встречаемости грибов у здоровых детей составила 15% , в трех образцах была выявлена *Candida albicans*. Частота встречаемости грибов у детей с МС составила 80% (у 16 детей из 20-ти). Из всех обнаруженных грибов подавляющее большинство – 65% – составляет вид *Candida albicans*, который

был выявлен в образцах фекалий у 13 детей с МС. Ещё 15% приходится на вид *Candida glabrata*, обнаруженный у трёх детей.



*МС - группа детей с метаболическим синдромом. внутренний круг

*без МС - группа детей без метаболического синдрома, внешний круг

*4 – количество детей с обнаруженными патогенами

Рисунок 10 – Видовой состав грибов и частота обнаружения у детей с метаболическим синдромом и здоровых детей.

3.3. Статистическая обработка данных по установлению связи найденной доли грибов и диагнозом метаболический синдром

Условия исследования для статистического анализа следующие:

Характеристика групп

В исследовании приняли участие 40 детей, разделенных на две группы:

Группа с метаболическим синдромом (МС): 20 детей.

Группа без МС (контрольная): 20 детей.

Исследуемые показатели

В образцах кала оценивали:

Наличие и количество грибов рода *Candida*:

- *C. albicans* и - *C. glabrata*

Количество *E. coli* (в случаях отсутствия грибковой колонизации).

Статистические методы:

Для сравнения групп применялись следующие методы:

Сравнение частоты встречаемости грибов:

Для оценки различий в частоте обнаружения *C. albicans* и *C. glabrata* между группами использовался точный тест Фишера (в связи с малым количеством наблюдений в некоторых категориях).

Сравнение количественных показателей:

Поскольку распределение данных не соответствовало нормальному (проверка критерием Шапиро-Уилка), для сравнения количества колоний (*C. albicans*, *C. glabrata*, *E. coli*) применялся непараметрический U-критерий Манна-Уитни.

Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (IQR).

Программное обеспечение – обработка данных проводилась в программах: IBM SPSS Statistics 26 (для тестов Фишера, Манна-Уитни).

Критерии значимости

Статистически значимыми считались различия при $p < 0.05$.

Статистический анализ данных

1. Описание данных

Группы:

Дети с метаболическим синдромом (МС): 20 образцов.

Дети без МС: 20 образцов.

Показатели:

1) Наличие и количество грибов:

- *C. albicans* (Кандида альбиканс).

- *C. glabrata* (Кандида глабрата).

2) Количество *E. coli* (кишечная палочка) в образцах, где грибы не обнаружены.

2. Сравнение частоты обнаружения грибов

1) *C. albicans*:

- Группа с МС: 13 из 20 (65%)
- Группа без МС: 3 из 20 (15%)

2) *C. glabrata*:

- Группа с МС: 3 из 20 (15%)
- Группа без МС: 0 из 20 (0%)

Статистическая проверка (критерий хи-квадрат или точный тест Фишера):

1) Для *C. albicans*:

Разница между группами значима ($p < 0.05$).

2) Для *C. glabrata*:

Разница незначима из-за малого количества случаев ($p > 0.05$).

Количественные показатели в группах (Me [Q1; Q3])

Таблица 7 – Группа с метаболическим синдромом (МС, n=20)

Показатель	Медиана (Me)	Межквартильный размах (IQR)
<i>C. albicans</i> ($\times 10^7$)	128	[123; 132]
<i>C. glabrata</i> ($\times 10^7$)	0	[0; 30]
<i>E. coli</i> ($\times 10^3$)	4	[3; 5]

Таблица 8 – Группа без МС (контрольная, n=20)

Показатель	Медиана (Me)	Межквартильный размах (IQR)
<i>C. albicans</i> ($\times 10^3$)	0	[0; 5]
<i>C. glabrata</i> ($\times 10^7$)	0	[0; 0]
<i>E. coli</i> ($\times 10^7$)	24.5	[24; 25]

1. *C. albicans*:

В группе с МС медианная концентрация составила 128×10^7 КОЕ/г, что значительно выше, чем в контрольной группе (0×10^3 КОЕ/г).

Распределение в группе с МС: 25% образцов имели $\leq 123 \times 10^7$, 75% — $\leq 132 \times 10^7$.

2. *C. glabrata*:

Обнаружена только у 3 детей с МС (медиана 0, IQR $[0; 30] \times 10^7$).

В контрольной группе не выявлена (Me = 0, IQR $[0; 0]$).

3. *E. coli*:

В группе без МС концентрация *E. coli* была выше (Me = 24.5×10^7 vs 4×10^3 в группе с МС).

Статистическая значимость - U-критерий Манна-Уитни подтвердил значимые различия между группами для: *C. albicans* ($p < 0.001$), *E. coli* ($p < 0.001$), *C. glabrata* ($p = 0.11$, различия незначимы).

Выводы

1. Дети с МС чаще имеют *C. albicans* в кале, и количество колоний у них значительно выше.

2. *C. glabrata* встречается редко, и разница между группами незначима.

3. Количество *E. coli* выше у детей без МС, что может указывать на различия в микробиоте.

Пояснения

Почему медиана (Me) равна нулю?

Да, это корректно и отражает реальное распределение данных. Вот объяснение:

1. Когда медиана = 0?

Медиана — это значение, которое делит выборку пополам:

Если $>50\%$ значений нулевые, медиана будет 0, даже если есть ненулевые "выбросы".

Примеры из наших данных:

1) *C. albicans* в группе без МС:

- 17 из 20 детей имеют 0 КОЕ/г,

- 3 ребенка — 4×10^3 , 5×10^3 , 6×10^3 .
- $Me = 0$, так как более половины значений нулевые.

2) *C. glabrata* в группе без МС:

- Все 20 детей имеют 0 КОЕ/г.
- $Me = 0$ (единственно возможное значение).

2. Почему это правильно?

Медиана устойчива к выбросам. В отличие от среднего, она не искажается редкими высокими значениями.

Отражает реальную картину: Если у большинства детей грибы не обнаружены, $Me = 0$ — это точное описание выборки.

Сравнение со средним:

Для *C. albicans* в группе без МС:

Среднее = 5×10^3 (из-за 3 ненулевых значений),

Медиана = 0 (так как 85% данных — нули).

Медиана здесь информативнее: она показывает, что типичный ребенок из группы не имеет колоний *C. albicans*.

3. Как интерпретировать IQR при $Me = 0$?

IQR $[Q1; Q3] = [0; 0]$: Все значения в выборке нулевые (например, *C. glabrata* без МС).

IQR $[0; X]$: У 25% детей показатели ≤ 0 , у 75% — $\leq X$.

Пример: *C. albicans* без МС: IQR = $[0; 5 \times 10^3]$.

25-й процентиль ($Q1$) = 0,

75-й процентиль ($Q3$) = 5×10^3 .

Это означает: 25% детей имеют 0 КОЕ/г, 75% — $\leq 5 \times 10^3$ КОЕ/г (но реально только 3 ребенка имеют $4-6 \times 10^3$).

4. Когда использовать медиану, а когда среднее?

Параметр	Использовать, когда...	Пример из наших данных
Медиана (Me)	Данные не нормальны или есть нули	<i>C. albicans</i> в группе без МС
Среднее	Данные нормальны, выбросов нет	<i>E. coli</i> в группе с МС (4×10^3)

Почему при $Me = 0$ межквартильный размах (IQR) может быть ненулевым (например, $[0; 30]$)?

Это абсолютно нормальная ситуация в статистике. Вот подробное объяснение:

1. Как рассчитывается IQR?

IQR (интерквартильный размах) = Q3 (75-й процентиль) - Q1 (25-й процентиль).

Q1 (25-й процентиль): Значение, ниже которого находятся 25% данных.

Q3 (75-й процентиль): Значение, ниже которого находятся 75% данных.

Если в данных много нулей, но есть и ненулевые значения, возможны такие случаи:

2. Пример из наших данных:

C. glabrata в группе с МС

Данные: 17 нулей и 3 ненулевых значения (29×10^7 , 30×10^7 , 34×10^7).

Ранжированный ряд:

0, 0, 0, ..., 0 (17 раз), 29×10^7 , 30×10^7 , 34×10^7 .

Расчет процентилей:

Q1 (25% от 20 данных = 5-е значение): 0.

Q3 (75% от 20 данных = 15-е значение): 30×10^7 (так как 15-е значение попадает в ненулевую часть).

$IQR = Q3 - Q1 = 30 \times 10^7 - 0 = 30 \times 10^7$.

Итог: $Me = 0$, $IQR = [0; 30 \times 10^7]$.

3. Как это интерпретировать?

$Me = 0$: Более 50% детей не имеют *C. glabrata*.

IQR $[0; 30 \times 10^7]$:

У 25% детей количество ≤ 0 (фактически все нули), У 75% детей количество $\leq 30 \times 10^7$ (но реально только 3 ребенка имеют ненулевые значения).

Это означает: грибок редко встречается, но у немногих носителей его концентрация высока.

4. Почему это корректно?

Медиана показывает "типичного" ребенка (грибка нет). IQR указывает на разброс среди носителей: если $IQR = [0; 30 \times 10^7]$, это говорит: «У большинства детей грибка нет, но у тех, где он есть, концентрация достигает 30×10^7 ».

Список сокращений и условных обозначений

АГ – артериальная гипертензия

АД – артериальное давление

АО – абдоминальное ожирение

ГБ – гипертоническая болезнь

ДЛП – дислипидемии

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМТ – индекс массы тела

ИР – инсулинорезистентность

МС – метаболический синдром

НТГ - нарушенная толерантность к глюкозе

СД – сахарный диабет

ССЗ- сердечно-сосудистые заболевания

ТТГ – тест толерантности к глюкозе

ФА – физическая активность

КОЕ – колониеобразующая единица

ГБУЗ РБ – государственное бюджетное учреждение здравоохранения
Республики Башкортостан

ГБУЗ РБ ДП – государственное бюджетное учреждение здравоохранения
детская поликлиника

СКМ – счетчик колоний микроорганизмов

ЖКТ– желудочно-кишечный тракт

МТ– масса тела

ВЗК - воспалительное заболевание кишечника

АКЛЮЧЕНИЕ

Метаболический синдром является совокупным комплексом метаболических нарушений, включающих ожирение, повышенное артериальное давление, нарушение липидного обмена и инсулинорезистентность. Исходя из этого метаболический недуг повышает риск развития СД 2, кардиологических и сосудистых заболеваний, а также может быть причиной других серьезных осложнений.

Своевременная диагностика и ранее лечение считается важным моментом для предотвращения развития метаболических факторов.

При МС микроорганический мир кишечника довольно часто демонстрирует биотический дисбаланс, характеризующийся снижением количественного и качественного составного видового многообразия, что в последствии приводит к воспалению.

В работе выделены и исследованы дрожжеподобные грибы *Candida spp.* Выявлено угнетающее действие грибов на эубиоз кишечника.

Результаты проведенного исследования грибковой микробиоты помогут разработать новые методы ранней диагностики; внедрить актуальные терапевтические стратегии в лечении метаболического синдрома, основанных на индивидуальных особенностях грибкового состава у каждого ребенка. Микробиологический подход может служить маркером для диагноза состояния метаболический синдром у детей.

ВЫВОДЫ

1. Анализ трудов российских и зарубежных учёных о метаболическом синдроме у детей позволил сделать выводы: о широкой распространенности данного заболевания, ключевых факторах, способствующих его развитию (ожирение, неправильное питание, недостаточная физическая активность, генетическая предрасположенность) и о необходимости дальнейших исследований, которые позволят более глубоко понимать механизмы развития метаболического синдрома, а значит способных направить человеческие умы на путь разработки более эффективных стратегий профилактики и лечения.

2. Микробиота кала детей с метаболическим синдромом содержала повышенное количество дрожжевых грибов, принадлежащих видам *C.albicans* и *C.glabrata*. Общее количество *C.albicans* составила 1740×10^7 КОЕ/г. *C. glabrata* у больных обнаружено в количестве 93×10^7 КОЕ/г при норме содержания грибов менее 10^3 КОЕ/г. Подсчёт бактерий *E. coli* у детей с метаболическим синдромом выявили в количестве 80×10^3 КОЕ/г при норме 10^7 - 10^8

3. В исследуемых образцах кала здоровых детей обнаружено среднее содержание грибов *C.albicans* 5×10^3 , *E.coli* 24×10^7 , что соответствует норме.

4. Причиной метаболического синдрома может стать сдвиг количественного соотношения между нормальной резистентной микрофлорой и условно - патогенной.

5. Микробиологический подход может служить маркером для диагноза состояния метаболический синдром у детей.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаева Г. Е. Артериальная гипертензия ассоциированная с метаболическим синдромом у детей и подростков / Г. Е. Абдуллаева, А. Э. Эміржанова, А. Э. Эділбек // Студенческий. — 2023. — № 16–2 (228). — С. 41–42.
2. Агафонова Н. А. Постинфекционный синдром раздраженного кишечника: пособие для врачей //М.: Форте принт. – 2013. – Т. 52.
3. Акулова Е. А., Волоконская М. А. МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ ПО Г. ВОЛГОГРАДУ //Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины. – 2023. – С. 179-179.
4. Алешкин В. А. и др. Определение дисбиотических изменений желудочно-кишечного тракта по маркёрам содержимого кишечника. – 2016.
5. Андрианова М. Ю. и др. Методики клинических лабораторных исследований. – 2009.
6. Ардатская М. Д. Клиническое значение короткоцепочечных жирных кислот при патологии желудочно-кишечного тракта //Дисс. докт. мед. наук. М. – 2003.
7. Бойко Н. Б. и др. Методика масс-спектрометрии микробных маркеров как способ оценки пристеночной кишечной микробиоты при заболеваниях органов пищеварения. – 2013.
8. Бокова Т. А. Неалкогольная жировая болезнь печени и основные компоненты метаболического синдрома у детей //Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2020. – №. 1 (173). – С. 15-20.
9. Бокова Т. А. Факторы риска формирования метаболического синдрома у детей //Практика педиатра. – 2016. – №. 2. – С. 5-8.
10. Болотова Н. В., Посохова Н. В., Дронова Е. Г. Риск артериальной гипертензии у детей с метаболическим синдромом в возрастном аспекте //Лечащий врач. – 2015. – Т. 1. – С. 32-35.

11. Булавко Я. Э. и др. Формирование метаболического синдрома в детском возрасте: теоретические и прикладные клинические аспекты //Педиатр. – 2019. – Т. 10. – №. 4. – С. 64-75.
12. Власов Н. Н., Корниенко Е. А. Неалкогольная жировая болезнь печени и метаболический синдром в детском возрасте //Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2020. – №. 11 (183). – С. 51-61.
13. Волков В. П. Метаболический синдром: история вопроса //Universum: медицина и фармакология. – 2017. – №. 4 (38). – С. 36-45.
14. Ворошилина Е. С. и др. Фундаментальные основы современных подходов к оценке микробиоты кишечника детей //Неонатология: Новости. Мнения. Обучение. – 2023. – Т. 11. – №. 3 (41). – С. 47-59.
15. Геппе Н. А. Детские болезни: учебник/Геппе НА-Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018.-760 с //Доступ из ЭБС «Консультант студента».–URL: <http://www.studmedlib.ru>.
16. Голошубина В. В., Трухан Д. И., Багишева Н. В. Нарушения кишечного микробиоценоза: актуальные аспекты терминологии, клиники, профилактики //РМЖ. – 2020. – Т. 28. – №. 12. – С. 17-22.
17. Гришина И. Ф. и др. Амбулаторный пациент с метаболическим синдромом. Тактика ведения: учебное пособие. – 2018.
18. Кукина Г. Н., Подсеваткин В. Г., Кирюхина С. В. Связь метаболического синдрома и ожирения у подростков //Современная медицина новые подходы и актуальные исследования. – 2020. – С. 99-103.
19. Котрова А. Д. и др. Роль кишечной микробиоты в развитии метаболического синдрома //Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2019. – №. 12 (172). – С. 101-108. Котрова А. Д. и др. Роль кишечной микробиоты в развитии метаболического синдрома //Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2019. – №. 12 (172). – С. 101-108.

20. Лисьих Л. В. и др. Особенности клинико-диагностических критериев метаболического синдрома у больных артериальной гипертензией //Астраханский медицинский журнал. – 2014. – Т. 9. – №. 4. – С. 38-44.
21. Майданник В. Г. Клинические рекомендации по диагностике и лечению метаболического синдрома и ожирения у детей и подростков //Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии. – 2014. – Т. 6. – №. 2. – С. 39-55.
22. Малявская С. И. Педиатрический метаболический синдром: состояние высокого риска //Педиатрия. Журнал им. ГН Сперанского. – 2010. – Т. 89. – №. 4. – С. 119-121.
23. Махрова И. А. Наследственная предрасположенность к метаболическому синдрому у детей: дис. – Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, 2011.
24. Миняйлова Н. Н. Клинико-метаболические аспекты диагностики ожирения и его различных форм у детей и подростков: дис. – 2012.
25. Михеева О.М., Комиссаренко И.А. Метаболический синдром как проблема полиморбидности // Эффективная фармакотерапия. Кардиология и ангиология. – 2013. – № 3. – С. 10–18.
26. Мычка В. Б., Жернакова Ю. В., Чазова И. Е. Рекомендации экспертов всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома (второй пересмотр) //Доктор. ру. – 2010. – №. 3. – С. 15-18
27. Новикова В. и др. (ред.). Желудочно-кишечный тракт и ожирение у детей. – Litres, 2022.
28. Определение дисбиотических изменений желудочно-кишечного тракта по маркерам содержимого кишечника. Федеральные клинические рекомендации. Москва, 2015. 36 с.
29. Панасенко Л. М. и др. Роль ожирения в развитии метаболического синдрома у детей //Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2020. – Т. 65. – №. 2. – С. 125-132.

30. Петеркова В. А., Васюкова О. В. К вопросу о новой классификации ожирения у детей и подростков //Проблемы эндокринологии. – 2015. – Т. 61. – №. 2. – С. 39-44.
31. Рылова Н.В., Жолинский А.В. Становление микробиоты кишечника и когнитивное развитие // Практическая медицина. 2020. Т. 18, № 3. С. 21-25.
32. Самошкина Е. С. и др. Метаболический синдром у детей и подростков: современное состояние проблемы. Педиатрия //Журнал им. ГН Сперанского. – 2022. – Т. 101. – №. 6. – С. 138-45.
33. Симаненков В. И. и др. Эффективность и безопасность аутопробиотической терапии у пациентов с сахарным диабетом второго типа //Медицинский алфавит. – 2020. – Т. 1. – №. 30. – С. 48-53.
34. Соловьева О. И. и др. Использование пробиотиков и аутопробиотиков в лечении синдрома раздраженной толстой кишки //Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – №. 7 (143). – С. 115-120.
35. Успенский Ю. П. и др. Метаболический синдром. – 2020.
36. Циммерман Я. С. Учение о дисбиозе (" дисбактериозе") кишечника: состояние проблемы и новые тенденции //Клиническая медицина. – 2017. – Т. 95. – №. 8. – С. 677-686.
37. Шишкин А. Н. и др. Классические и современные представления о метаболическом синдроме. Часть 3. Лечение и профилактика //Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2009. – №. 3. – С. 24-37.
38. Ardisson A. N. et al. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth //PloS one. – 2014. – Т. 9. – №. 3. – С. e90784.
39. Barrea L. et al. Trimethylamine-N-oxide (TMAO) as novel potential biomarker of early predictors of metabolic syndrome //Nutrients. – 2018. – Т. 10. – №. 12. – С. 1971.

40. Bojović K. et al. Gut microbiota dysbiosis associated with altered production of short chain fatty acids in children with neurodevelopmental disorders //Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2020. – T. 10. – C. 223.
41. Cani P. D., Delzenne N. M. Involvement of the gut microbiota in the development of low grade inflammation associated with obesity: focus on this neglected partner //Acta Gastroenterol Belg. – 2010. – T. 73. – №. 2. – C. 267-9.
42. Chambers E. S., Morrison D. J., Frost G. Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms? //Proceedings of the Nutrition Society. – 2015. – T. 74. – №. 3. – C. 328-336.
43. Cicero A. F. G. et al. Impact of a short-term synbiotic supplementation on metabolic syndrome and systemic inflammation in elderly patients: a randomized placebo-controlled clinical trial //European journal of nutrition. – 2021. – T. 60. – C. 655-663.
44. Croci S. et al. Dietary strategies for management of metabolic syndrome: role of gut microbiota metabolites //Nutrients. – 2021. – T. 13. – №. 5. – C. 1389.
45. Cukrowska B. et al. The relationship between the infant gut microbiota and allergy. The role of Bifidobacterium breve and prebiotic oligosaccharides in the activation of anti-allergic mechanisms in early life //Nutrients. – 2020. – T. 12. – №. 4. – C. 946.
46. De Angelis M. et al. The food-gut human axis: the effects of diet on gut microbiota and metabolome //Current Medicinal Chemistry. – 2019. – T. 26. – №. 19. – C. 3567-3583.
47. De Filippis F. et al. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome //Gut. – 2016. – T. 65. – №. 11. – C. 1812-1821.
48. Depommier C. et al. Supplementation with Akkermansia muciniphila in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study //Nature medicine. – 2019. – T. 25. – №. 7. – C. 1096-1103.

49. Depommier C. et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study //Nature medicine. – 2019. – T. 25. – №. 7. – C. 1096-1103.
50. Depommier C. et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study //Nature medicine. – 2019. – T. 25. – №. 7. – C. 1096-1103.
51. Dogra S. K., Doré J., Damak S. Gut microbiota resilience: definition, link to health and strategies for intervention //Frontiers in microbiology. – 2020. – T. 11. – C. 572921.
52. Dominguez-Bello M. G. et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2010. – T. 107. – №. 26. – C. 11971-11975.
53. Ermolenko E. et al. Consortium of indigenous fecal bacteria in the treatment of metabolic syndrome //Microorganisms. – 2022. – T. 10. – №. 8. – C. 1574.
54. Fang Z. et al. Gut microbiota, probiotics, and their interactions in prevention and treatment of atopic dermatitis: a review //Frontiers in immunology. – 2021. – T. 12. – C. 720393.
55. Farup P. G., Rudi K., Hestad K. Faecal short-chain fatty acids-a diagnostic biomarker for irritable bowel syndrome? //BMC gastroenterology. – 2016. – T. 16. – C. 1-7.
56. Finegold S. M. et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism //Clinical Infectious Diseases. – 2002. – T. 35. – №. Supplement_1. – C. S6-S16.
57. Gevers D. et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease //Cell host & microbe. – 2014. – T. 15. – №. 3. – C. 382-392.
58. Goldman C. G. et al. Effect of a probiotic food as an adjuvant to triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* infection in children //Nutrition. – 2006. – T. 22. – №. 10. – C. 984-988

59. Höyhtyä M. et al. Quantitative fecal microbiota profiles relate to therapy response during induction with tumor necrosis factor α antagonist infliximab in pediatric inflammatory bowel disease //Inflammatory Bowel Diseases. – 2023. – T. 29. – №. 1. – C. 116-124.
60. Ignacio A. et al. Correlation between body mass index and faecal microbiota from children //Clinical microbiology and infection. – 2016. – T. 22. – №. 3. – C. 258. e1-258. e8.
61. Indiani C. M. S. P. et al. Childhood obesity and firmicutes/bacteroidetes ratio in the gut microbiota: a systematic review //Childhood obesity. – 2018. – T. 14. – №. 8. – C. 501-509.
62. J. C. et al. Culture of previously uncultured members of the human gut microbiota by culturomics //Nature microbiology. – 2016. – T. 1. – №. 12.
63. Karvonen A. M. et al. Gut microbiota and overweight in 3-year old children //International journal of obesity. – 2019. – T. 43. – №. 4. – C. 713-723
64. Kassam Z. et al. Fecal Microbiota Transplantation forClostridium difficileInfection: Systematic Review and Meta-Analysis //Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG. – 2013. – T. 108. – №. 4. – C. 500-508.
65. Kassam Z. et al. Fecal Microbiota Transplantation forClostridium difficileInfection: Systematic Review and Meta-Analysis //Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG. – 2013. – T. 108. – №. 4. – C. 500-508.
66. Kennedy K. M. et al. Questioning the fetal microbiome illustrates pitfalls of low-biomass microbial studies //Nature. – 2023. – T. 613. – №. 7945. – C. 639-649
67. Kootte R. S. et al. Improvement of insulin sensitivity after lean donor feces in metabolic syndrome is driven by baseline intestinal microbiota composition //Cell metabolism. – 2017. – T. 26. – №. 4. – C. 611-619. e6.
68. Ley R. E. et al. Human gut microbes associated with obesity //nature. – 2006. – T. 444. – №. 7122. – C. 1022-1023.

69. Li X. et al. Gut microbiota as an “invisible organ” that modulates the function of drugs //Biomedicine & pharmacotherapy. – 2020. – T. 121. – C. 109653.
70. Lozupone C. A. et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota //Nature. – 2012. – T. 489. – №. 7415. – C. 220-230.
71. McBurney M. I. et al. Establishing what constitutes a healthy human gut microbiome: state of the science, regulatory considerations, and future directions //The Journal of nutrition. – 2019. – T. 149. – №. 11. – C. 1882-1895.
72. Mehta N. N. et al. Experimental endotoxemia induces adipose inflammation and insulin resistance in humans //Diabetes. – 2010. – T. 59. – №. 1. – C. 172-181.
73. Million M. et al. RETRACTED ARTICLE: obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *bifidobacterium animalis* and *methanobrevibacter smithii* //International journal of obesity. – 2012. – T. 36. – №. 6. – C. 817-825
74. Mullish B. H. et al. The use of faecal microbiota transplant as treatment for recurrent or refractory *Clostridium difficile* infection and other potential indications: joint British Society of Gastroenterology (BSG) and Healthcare Infection Society (HIS) guidelines //Gut. – 2018. – T. 67. – №. 11. – C. 1920-1941.
75. Nguyen T. L. A. et al. How informative is the mouse for human gut microbiota research? //Disease models & mechanisms. – 2015. – T. 8. – №. 1. – C. 1-16.
76. Nuriel-Ohayon M., Neuman H., Koren O. Microbial changes during pregnancy, birth, and infancy //Frontiers in microbiology. – 2016. – T. 7. – C. 204716.
77. O'Neill S., O'Driscoll L. // Obes. Rev. – 2015. – Vol.16, N1. – P.1–12
78. Palladino E., Van Mieghem T., Connor K. L. Diet alters micronutrient pathways in the gut and placenta that regulate fetal growth and development in pregnant mice //Reproductive Sciences. – 2021. – T. 28. – №. 2. – C. 447-461.

79. Penders J. et al. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study //Gut. – 2007. – T. 56. – №. 5. – C. 661-667.
80. Plovier H. et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice //Nature medicine. – 2017. – T. 23. – №. 1. – C. 107-113.
81. Proença I. M. et al. Fecal microbiota transplantation improves metabolic syndrome parameters: systematic review with meta-analysis based on randomized clinical trials //Nutrition Research. – 2020. – T. 83. – C. 1-14.– 2016. – T. 129. – №. 19. – C. 2373-2380.
82. Rabiei S. et al. The effects of synbiotic supplementation on body mass index, metabolic and inflammatory biomarkers, and appetite in patients with metabolic syndrome: A triple-blind randomized controlled trial //Journal of dietary supplements. – 2019. – T. 16. – №. 3. – C. 294-306.
83. Rossen N. G. Fecal microbiota transplantation as novel therapy in gastroenterology: A systematic review / Rossen, N. G., Macdonald, J. K., Vries, E.
84. Schiattarella G. G. et al. Gut microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide as cardiovascular risk biomarker: a systematic review and dose-response meta-analysis //European heart journal. – 2017. – T. 38. – №. 39. – C. 2948-2956.
85. Schoeler M., Caesar R. Dietary lipids, gut microbiota and lipid metabolism //Reviews in endocrine and metabolic disorders. – 2019. – T. 20. – №. 4. – C. 461-472.
86. Seldin M. M. et al. Trimethylamine N-oxide promotes vascular inflammation through signaling of mitogen-activated protein kinase and nuclear factor- κ B //Journal of the American Heart Association. – 2016. – T. 5. – №. 2. – C. e002767.
87. Smits L. P. et al. Effect of vegan fecal microbiota transplantation on carnitine-and choline-derived trimethylamine-N-oxide production and vascular

inflammation in patients with metabolic syndrome //Journal of the American Heart Association. – 2018. – T. 7. – №. 7. – C. e008342.7.

88. Strandwitz P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota //Brain research. – 2018. – T. 1693. – C. 128-133

89. Sun L. J., Li J. N., Nie Y. Z. Gut hormones in microbiota-gut-brain cross-talk //Chinese medical journal. – 2020. – T. 133. – №. 7. – C. 826-833.

90. Suvorov A. Autoprobiotics as an approach for restoration of personalised microbiota / Suvorov, A., Karaseva, A., Kotyleva, M., Kondratenko, Y., Lavrenova, N., Korobeynikov, A., Kozyrev, P., Kramskaya, T., Leontieva, G., Kudryavtsev, I., Guo, D., Lapidus, A., & Ermolenko, E. // Front Microbiol. 2018. T. 9. № 1869. P. 1–9.

91. Tamburini S. et al. The microbiome in early life: implications for health outcomes //Nature medicine. – 2016. – T. 22. – №. 7. – C. 713-722.

92. Tang W. H. W. et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk //New England Journal of Medicine. – 2013. – T. 368. – №. 17. – C. 1575-1584.

93. Tedjo D. I. et al. The effect of sampling and storage on the fecal microbiota composition in healthy and diseased subjects //PloS one. – 2015. – T. 10. – №. 5. – C. e0126685.

94. Turnbaugh P. J. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins //nature. – 2009. – T. 457. – №. 7228. – C. 480-484.

95. Turnbaugh P. J. et al. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice //Science translational medicine. – 2009. – T. 1. – №. 6. – C. 6ra14-6ra14.

96. Vallès Y. et al. Microbial succession in the gut: directional trends of taxonomic and functional change in a birth cohort of Spanish infants //PLOS genetics. – 2014. – T. 10. – №. 6. – C. e1004406.

97. Wang H. X., Wang Y. P. Gut microbiota-brain axis //Chinese medical journal.

98. Zhang Z. et al. Impact of fecal microbiota transplantation on obesity and metabolic syndrome—a systematic review //Nutrients. – 2019. – T. 11. – №. 10. – C. 2291.
99. Zheng F. et al. Lactobacillus rhamnosus FJSYC4-1 and Lactobacillus reuteri FGSZY33L6 alleviate metabolic syndrome via gut microbiota regulation //Food & Function. – 2021. – T. 12. – №. 9. – C. 3919-3930.
100. Zhtokarek J. et al. What is the role of gut microbiota in obesity prevalence? A few words about gut microbiota and its association with obesity and related diseases //Microorganisms. – 2021. – T. 10. – №. 1. – C. 52.
101. Zhu W. et al. Gut microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk //Cell. – 2016. – T. 165. – №. 1. – C. 111-124.