

## КЛИНИКО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА TOLL-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ СИНДРОМА РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА

Тихонова Т.А.<sup>1</sup>, Козлова И.В.<sup>1</sup>, Федотов Э.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Саратов, e-mail: jdipisma@mail.ru;

<sup>2</sup>ООО «Медицинский Di Центр», Саратов

**Цель исследования:** определить особенности течения различных вариантов синдрома раздраженного кишечника (СРК) с учетом коморбидной функциональной патологии, микробного пейзажа толстой кишки и генетических полиморфизмов. **Материалы и методы:** обследован 101 пациент с подтвержденным диагнозом СРК: 28 пациентов с нерефрактерным СРК, 73 пациента с рефрактерным СРК. Группу контроля составили 35 здоровых добровольцев. Проведен анализ возраста дебюта, функциональной коморбидности при различных вариантах СРК, определение полиморфных вариантов G2848A и T-1237C гена TLR9, признаков минимального воспаления в слизистой оболочке толстой кишки, особенностей кишечного микробиоценоза. **Результаты:** при рефрактерном СРК отмечены: дебют заболевания в более раннем возрасте, функциональная коморбидность (при СРКр-з – неэрозивная форма ГЭРБ, при СРКр-д – постпрандиальный дистресс-синдром), более выраженная негастроэнтерологическая симптоматика (при СРКр-д – внутренняя дрожь, неполнота вдоха, потливость; при СРКр-з – снижение настроения, нарушения ночного сна, тахикардия, головокружение). Рефрактерный СРК был ассоциирован с более выраженными изменениями кишечного микробиоценоза, чем нерефрактерный вариант. СРК-д сопровождался минимальными воспалительными изменениями стенки толстой кишки, приводящими к развитию атрофии при длительном течении заболевания. Аллель G в полиморфизме G2848A гена TLR9 была ассоциирована с возникновением диарейного варианта СРК, признаками дисбиоза, минимального воспаления и атрофическими изменениями слизистой оболочки толстой кишки. Аллель C в полиморфизме T-1237C гена TLR9 была ассоциирована с возникновением СРК-д, дисбиотическими изменениями и признаками атрофии слизистой оболочки толстой кишки. **Заключение:** рефрактерный вариант течения СРК ассоциирован с возникновением коморбидной функциональной патологии, признаками дисбиоза, воспалительными и атрофическими изменениями слизистой оболочки толстой кишки, а также определенными генетическими маркерами.

**Ключевые слова:** синдром раздраженного кишечника, рефрактерность к лечению, функциональная коморбидность, микробиоценоз, полиморфизм генов, минимальное воспаление.

## CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL FEATURES AND POLYMORPHISM OF TOLL-LIKE RECEPTOR GENE WITH DIFFERENT VARIANTS OF IRRITABLE BOWEL SYNDROME

Tikhonova T.A.<sup>1</sup>, Kozlova I.B.<sup>1</sup>, Fedotov E.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, e-mail: jdipisma@mail.ru;

<sup>2</sup>«Medical Di center» LLC, Saratov

**Research objective:** to determine the course features of different irritable bowel syndrome (IBS) variants, taking into account the comorbid functional pathology, microbial landscape of the colon and genetic polymorphisms. **Materials and methods:** 101 patients with a confirmed diagnosis of IBS were examined, including 28 patients with non-refractory IBS and 73 patients with refractory IBS. The control group consisted of 35 healthy volunteers. The analysis of onset age and functional comorbidity with different variants of IBS was carried out. In addition, the authors identified G2848A and T-1237C polymorphisms of TLR9 gene, as well as the signs of minimal inflammation in mucous membrane of the colon and features of intestinal microbiocenosis. **Results:** in patients with refractory IBS the following features were revealed: onset of the disease at an earlier age, functional comorbidity (with IBS-C – non-erosive form of GERD; with IBS-D – postprandial distress syndrome) and more severe non- gastroenterological symptoms (with IBS-D – internal shivering, incomplete inhalation, sweating; with IBS-C – decrease in mood, disturbances of a night sleep, tachycardia, dizziness). Refractory IBS was associated with more pronounced changes in the intestinal microbiocenosis than the non-refractory variant. IBS-D was accompanied by minimal inflammatory changes in the wall of the colon, leading to the development

of atrophy during the long course of the disease. G allele of G2848A polymorphism of TLR9 gene was associated with the occurrence of diarrhea-predominant IBS, signs of dysbiosis, minimal inflammation and atrophic changes in the colon mucosa. C allele of T-1237C polymorphism of TLR9 gene was associated with the occurrence of IBS-D, dysbiotic changes and signs of atrophy of the mucous membrane of the colon. Conclusion: the refractory variant of IBS is associated with the occurrence of comorbid functional pathology, signs of dysbiosis, inflammatory and atrophic changes in mucous membrane of the colon, as well as certain genetic markers.

Keywords: irritable bowel syndrome, refractoriness to treatment, functional comorbidity, microbiocenosis, gene polymorphism, minimal inflammation

Синдром раздраженного кишечника (СРК), или irritable bowel syndrome (IBS) – функциональное расстройство кишечника, проявляющееся рецидивирующими болями в животе, которые возникают по меньшей мере 1 раз в неделю, связаны с дефекацией, изменением частоты и формы стула. Эти признаки должны отмечаться у пациента последние 3 месяца при общей продолжительности не менее 6 месяцев [1; 2].

В Римских рекомендациях (2016) подчеркиваются особенности течения СРК: склонность к персистированию и частым рецидивам симптоматики, коморбидность СРК с различными функциональными заболеваниями, потенциальная возможность трансформации его в другие виды расстройств взаимодействия «головной мозг - желудочно-кишечный тракт» [3-5].

Термин «синдром перекреста функциональных нарушений» официально утвержден в Римских критериях IV пересмотра и определяется как синхронное течение нескольких функциональных заболеваний желудочно-кишечного тракта либо переход одного в другое [4; 5].

Отмечается общность патогенеза разных функциональных расстройств в рамках «синдрома перекреста»: воспаление минимальной степени активности, висцеральная гиперчувствительность, нарушения моторики, изменение соотношения компонентов диффузной нейроэндокринной системы [6].

Функциональная коморбидность утяжеляет течение СРК и предрасполагает к рефрактерности [2; 6]. К предикторам рефрактерности относят: женский пол, ухудшение социально-бытовых условий, вариант СРК с преобладанием диареи [7]. Небольшое число публикаций посвящено генетическим маркерам при СРК [8-10].

В то же время комплексного изучения различных вариантов течения СРК с учетом функциональной коморбидности, кишечной микробиоты, генетических факторов не проводилось.

Цель исследования: определить особенности течения различных вариантов СРК с учетом коморбидной функциональной патологии, микробного пейзажа толстой кишки и генетических полиморфизмов.

## **Материалы и методы исследования**

В исследование был включен 101 пациент с подтвержденным диагнозом СРК (критерии Рим-IV): 32 мужчины и 69 женщин (соотношение мужчин и женщин 1:2,2, средний возраст  $25,34 \pm 6,76$  года), подписавший добровольное информированное согласие и имеющий достаточный уровень комплаентности по данным опросника Мориски-Грина (Morisky D.E., Green L.W., 1986). Пациенты принадлежали к русской этнической группе и проживали на территории Саратовской области. Критерии исключения: воспалительные заболевания кишечника, опухоли, кишечные инфекции и инвазии, дивертикулярная болезнь, прием антибиотиков, НПВС, антипаразитарных средств в течение 2 месяцев до начала исследования, возраст старше 55 лет.

Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» МЗ РФ (протокол № 4 от 6.12.2016 года) и проводилось на базе отделения гастроэнтерологии ГУЗ «СГКБ № 5» (клиническая база кафедры терапии, гастроэнтерологии и пульмонологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» МЗ РФ).

Клиническая форма СРК у пациентов определялась на основании Бристольской шкалы форм кала: 32 пациента с СРК с диареей (СРК-д) (11 мужчин, 21 женщина), 69 пациентов с СРК с запором (СРК-з) (21 мужчина и 48 женщин). Группу контроля составили 35 здоровых добровольцев (14 мужчин и 21 женщина), проходивших профилактическое обследование по поводу колоректального рака в семейном анамнезе.

С учетом варианта течения СРК пациенты были разделены на 2 подгруппы: с рефрактерным (СРКр) и нерефрактерным (СРКн) течением.

Рефрактерную форму заболевания определяли на основании данных анамнеза (непрерывное течение обострения более 6 месяцев либо более 32 недель в течение года) и отсутствия эффекта от соматотропной терапии при достаточной приверженности к лечению [2; 7].

У пациентов обнаруживался перекрест с другими функциональными заболеваниями (функциональная диспепсия, ГЭРБ). В каждую группу были включены пациенты с функциональной коморбидностью и без нее.

Полиморфизмы генов определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с аллель-специфичными праймерами с последующей электрофоретической детекцией продуктов амплификации. Использовали наборы «SNP-экспресс» производства ООО НПФ «Литех» (Россия): комплект реагентов для выявления полиморфизма G2848A в гене TLR9 (кат. № 01306-50); комплект реагентов для выявления полиморфизма T-1237C в гене TLR9 (кат. № 01267-50).

Генетические полиморфизмы изучали в гене Toll-like рецептора 9 (TLR9). Известно,

что у пациентов с СРК происходит изменение экспрессии Toll-like рецепторов мембраны колоноцитов, связанное с модификацией индивидуального иммунного ответа, а также с хроническим персистирующим воспалением толстой кишки и верхних отделов ЖКТ [8; 11].

Выделялись следующие генотипы в гене TLR9: полиморфизм G2848A (*rs352140*): G/G; A/A; G/A, полиморфизм T-1237C (*rs5743836*): T/T; C/C; T/C. Анализ генетических полиморфизмов проводился в лаборатории ООО «Медицинский Di Центр» (Саратов).

Биоптаты слизистой оболочки толстой кишки для гистоморфологического исследования получали в ходе фиброколоноскопии (колоноскоп Olympus-CF-EL и набор инструментов к нему) из средней трети интактной (макроскопически неизменной) сигмовидной кишки.

С каждого блока были выполнены срезы толщиной 4 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином. Гистологическое исследование проводилось с целью выявления признаков минимального воспаления в слизистой оболочке толстой кишки по общепризнанной методике [12].

Для оценки особенностей кишечного микробиоценоза выполнялся бактериологический анализ кала («Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника», утвержден Приказом МЗ РФ № 231 от 9.06.2003 г.).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием статистических программ Statistica 6.0 и Gretl, для создания базы данных использовался редактор электронных таблиц Excel. Проверка на нормальность распределения проводилась при помощи тестов Шапиро-Уилка и Лиллифорса.

Для сравнения групп данных с нормальным распределением применялся t-критерий Стьюдента. Для сравнения долей и средних в выборках с нормальным распределением использовался z-критерий Фишера. При распределении данных, отличном от нормального, использовался критерий Манна-Уитни. Для определения линейной связи между двумя количественными показателями, ее тесноты и статистической значимости использовался коэффициент корреляции Пирсона. Для установления наличия и уровня значимости взаимосвязи номинальных признаков проводился анализ таблиц сопряженности с использованием критерия  $\chi^2$ . Для определения направления связи использовался коэффициент ассоциации (Юла). Порогом статистической значимости принимались вероятность 0,01 и 0,05 [13].

### **Результаты исследования и их обсуждение**

73 (72,3%) пациента, включенных в исследование, имели рефрактерное течение заболевания (СРКр): СРКр-д страдали 20 человек (19,8%), СРКр-з – 53 человека (52,5%). Нерефрактерная форма заболевания (СРКн) была обнаружена у 28 пациентов (27,7%): СРКн-

д – 12 пациентов (11,9%), СРКн-з – 16 (15,8%).

Средний возраст дебюта СРК составил 22,85±1,49 года. Для рефрактерного СРК было характерно раннее начало болезни. У мужчин раньше дебютировал СРКр-д (средний возраст дебюта 16,57±3,11) в сравнении с СРКн-д (22,25±8,26). У женщин – СРКр-з (средний возраст начала 20,00±2,33) в сравнении с нерефрактерным СРК-з (28,00±3,18) (p<0,05).

В таблице 1 представлена внекишечная симптоматика у пациентов, включенных в исследование.

Таблица 1

Внекишечные симптомы у пациентов с СРК (n=101)

Функциональные заболевания и клинические симптомы	СРКн-д абс. число (%) n=12	СРКн-з абс. число (%) n=16	СРКр-д абс. число (%) n=20	СРКр-з абс. число (%) n=53
Функциональная диспепсия с постпрандиальным дистресс-синдромом	4 (33,3)	3 (18,8)	16 (80,0) ***	12 (22,6)
Функциональная диспепсия с эпигастральным болевым синдромом	0 (0)	1 (6,25)	2 (10)	1 (1,9)
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, неэрозивная форма	3 (25,0)	6 (37,5)	8 (40,0)	39 (73,6) ***
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, эрозивная форма	1 (8,3)	3 (12,5)	1 (5)	8 (15,1)
Внутренняя дрожь	4 (33,3)	4 (25,0)	15 (75,0) ***	17 (32,1)
Одышка	3 (25,0)	3 (18,8)	12 (60,0) *	21 (39,6)
Потливость	4 (33,3)	5 (31,3)	14 (70,0)*	24 (45,3)
Тахикардия	2 (16,7)	3 (18,8)	4 (20)	33 (62,3) *. **
Головокружение	3 (25,0)	4 (25,0)	8 (40,0)	28 (52,8)*
Снижение настроения	2 (16,7)	7 (43,8)	6 (30,0)	43 (81,1) *. **
Нарушение ночного сна	4 (33,3)	7 (43,8)	11 (55,0)	40 (75,5)*

Примечания: СРКн-д – нерефрактерный СРК с диареей; СРКн-з – нерефрактерный СРК с запором; СРКр-д – рефрактерный СРК с диареей; СРКр-з – рефрактерный СРК с запором;

\* различия с показателями группы нерефрактерных пациентов (p<0,05);

\*\* различия с показателями группы рефрактерных пациентов (p<0,05).

Среди пациентов с рефрактерным вариантом заболевания значительно чаще встречалась функциональная коморбидность (функциональная диспепсия, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ)). СРКр-з чаще сочетался с неэрозивной формой ГЭРБ, СРКр-д

был ассоциирован с постпрандиальным дистресс-синдромом. Полученные данные подтверждают опубликованные сведения об общности патогенеза данных расстройств, а также об особенностях течения СРК в условиях функциональной коморбидности [2; 14].

Среди рефрактерных пациентов значимо преобладала негастроэнтерологическая симптоматика. Пациенты с СРКр-д чаще отмечали соматические эквиваленты тревоги (внутренняя дрожь, неполнота вдоха, потливость). Для СРКр-з более характерны были снижение настроения, нарушения ночного сна, тахикардия, головокружение. Перечисленные симптомы могут привести к частым посещениям врача, снизить эффективность терапии, провоцируя развитие рефрактерности.

Особенности микробного пейзажа толстой кишки были изучены у 52 пациентов с различными вариантами СРК и здоровых. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Характеристика микробиоценоза толстой кишки при синдроме раздраженного кишечника (n=52)

Микроорганизмы, КОЕ 1g (M±m)	СРКн-д (n=9)	СРКн-з (n=10)	СРКр-д (n=13)	СРКр-з (n=20)	Группа контроля (n=18)
Бифидобактерии	8,22±0,34*	8,20±0,56	7,08±0,52*, **	7,30±0,46*	9,00±0,30
Лактобактерии	7,22±0,64	7,10±0,63	5,46±0,72*, **	6,05±0,42*, **	8,11±0,51
Клостридии	3,00±0,54*	0,10±0,23	3,08±0,46* #	0,10±0,14	0,06±0,12
Е. coli типичные	6,22±0,84*	6,00±0,67*	6,00±0,55*	5,10±0,45*	8,44±0,35
Е. coli лактозонегативные	1,00±0,38*	3,30±0,83*	2,23±0,66*, **	5,00±0,50*, ** #	0,06±0,12
Е. coli гемолитические	0,11±0,26	0,10±0,23	1,15±0,48*, **	3,15±0,41*, ** #	0,06±0,12
Протеи	3,00±0,54*	0,10±0,23	4,08±0,39*, ** #	2,00±0,50*, **	0,06±0,12
Клебсиелла	3,22±0,51*	0,10±0,23	4,00±0,43*, ** #	1,25±0,50*, **	0,06±0,12
Стафилококки	3,00±0,54*	1,00±0,48	4,08±0,46*, ** #	1,00±0,46	1,06±0,36
Энтерококки	5,22±0,75	8,00±0,58*	5,23±0,56*	8,05±0,42* #	6,11±0,29
Грибы рода Candida	3,11±0,46*	0,10±0,23	4,00±0,55*, ** #	2,00±0,46*, **	0,06±0,12

Примечания: СРКн-д – нерефрактерный СРК с диареей; СРКн-з – нерефрактерный СРК с запором; СРКр-д – рефрактерный СРК с диареей; СРКр-з – рефрактерный СРК с запором;

\* различия с показателями группы контроля (p<0,01);

\*\* различия с показателем в группе нерефрактерных пациентов (p<0,01);

# различия с показателем в группе рефрактерных пациентов ( $p < 0,01$ ).

Дисбиотические нарушения были выявлены у 50,9% пациентов с СРК. При СРКн преобладал дисбиоз 1-й степени (при СРКн-д - 44,4%, при СРКн-з – 30,0%). У пациентов с СРКр чаще встречался дисбиоз 2-й степени (СРКр-д – 53,8%, СРКр-з – 40%). При СРКн-з изменения биоценоза были минимальны. При СРКр-з уменьшение концентрации Бифидо- и Лактобактерий сочеталось со значимым увеличением численности Энтерококков, а также штаммов *E.coli* с измененными свойствами. Из литературы известно об активации при СРК-з аэробных бактерий с протеолитической активностью [2; 3; 10].

При СРК-д значимые изменения микробиоты появлялись при нерешительном течении и становились более выраженными при наличии рефрактерности. В структуре кишечного микробиоценоза преобладали анаэробные микроорганизмы – Клостридии, а также факультативные анаэробы (Протей, Клебсиелла, Стафилококки, грибы рода *Candida*), концентрация которых увеличивалась при непрерывном течении заболевания. Можно предположить, что указанные изменения приводили к снижению колонизационной резистентности слизистой оболочки.

В таблице 3 представлена частота встречаемости полиморфных вариантов гена TLR9 (G2848A, T-1237C) у пациентов с СРК.

Варианты генетических полиморфизмов гена TLR9 при различных вариантах СРК (n=101)

Вариант СРК	G2848A ( <i>rs352140</i> )			T-1237C ( <i>rs5743836</i> )		
	G/G	A/A	G/A	T/T	C/C	T/C
СРКн-д абс. число (%) n=12	3 (25)	1 (8,3) *	8(66,7) *	4 (33,3)	7 (58,3) *	1 (8,4) *
СРКн-з абс. число (%) n=16	8 (50) *	4 (25) *	4 (25)	12 (75) *	2 (12,5)	2 (12,5) *
СРКр-д абс. число (%) n=20	16 (80) *, **, #	2 (10) *	2 (10) **	2 (10)	17 (85) *, #	1 (5) *
СРКр-з абс. число (%) n=53	28 (52,8) *	13 (24,6) *	12 (22,6)	40 (75,5) *, #	6 (11,3)	7 (13,2) *
Группа контроля абс. число (%) n=35	6 (17,1)	25 (71,5)	4 (11,4)	8 (22,9)	5 (14,3)	22 (62,8)

Примечания: СРКн-д – нерезрактерный СРК с диареей; СРКн-з – нерезрактерный СРК с запором; СРКр-д – резрактерный СРК с диареей; СРКр-з – резрактерный СРК с запором;

\* различия с показателями группы контроля ( $p<0,05$ );

\*\* различия с показателем в группе нерезрактерных пациентов с тем же клиническим вариантом СРК ( $p<0,05$ );

# различия с показателем в группе резрактерных пациентов с иным клиническим вариантом СРК ( $p<0,05$ ).

Согласно нашим данным, аллель G полиморфизма G2848A гена TLR9 встречалась чаще при диарейном варианте СРК. При этом гомозиготные носители аллели чаще имели рефрактерный вариант течения заболевания, а гетерозиготы – нерефрактерный. Известно, что TLR9, являясь сигнальным рецептором, специфичен к нуклеиновым кислотам бактериального и вирусного происхождения, детерминирует индивидуальный иммунный ответ и потенцирует воспалительные изменения в стенке кишки [9; 11; 15]. Можно предположить, что аллель G была ассоциирована с высокой активностью рецептора и в гомозиготном состоянии предрасполагала к развитию рефрактерного варианта СРК. У гетерозигот в связи с меньшей активностью рецептора болезнь имела нерефрактерное течение.

При изучении полиморфизма T-1237C гена TLR9 мы обнаружили ассоциации генотипа CC с СРК-д, генотипа TT – с СРК-з. В литературе имеются противоречивые сведения о различных полиморфных вариантах данного гена при инфекционных, аллергических, аутоиммунных процессах, а также злокачественных образованиях и воспалительных заболеваниях кишечника [9; 11; 15]. Можно предположить, что генотип CC ассоциирован с повышенной восприимчивостью к инфекционным триггерам, а также персистенцией воспалительного процесса в слизистой оболочке толстой кишки при СРК-д [8; 11; 15].

Морфологические особенности различных вариантов СРК представлены в таблице 4.

Таблица 4

Морфологические характеристики различных вариантов синдрома раздраженного кишечника (n=101)

Вариант течения СРК	СРКн-д (n=12)	СРКн-з (n=16)	СРКр-д (n=20)	СРКр-з (n=53)
Признак	Частота встречаемости. Абсолютное кол-во (%)			
Отек слизистой оболочки	7 (58,3) #	3 (18,8)	12 (60,0)	29 (54,7) *
Полнокровие сосудов микроциркуляторного русла	7 (58,3) #	3 (18,8)	11 (55,0)	28 (52,8) *
Очаговая плазмочитарная инфильтрация	6 (50,0) #	2 (12,5)	12 (60,0)	31 (58,4) *
Очаговая лимфоцитарная инфильтрация	5 (41,6) #	2 (12,5)	12 (60,0)	32 (60,4) *
Очаговая макрофагальная инфильтрация	3 (25,0)	1 (6,3)	4 (20,0)	9 (16,9)
Очаговая эозинофильная инфильтрация	2 (16,6)	1 (6,3)	3 (15,0)	11 (20,8)

Очаговая нейтрофильная инфильтрация	5 (41,6) <sup>#</sup>	2 (12,5)	11 (55,0)	31 (58,4) <sup>*</sup>
Атрофия крипт	1 (8,3)	1 (6,3)	11 (55,0) <sup>*, **</sup>	5 (9,4)
Гистиоцитарная инфильтрация	1 (8,3)	0 (0)	8 (40,0) <sup>*, **</sup>	3 (5,7)

Примечания: СРКн-д – нерефрактерный СРК с диареей; СРКн-з – нерефрактерный СРК с запором; СРКр-д – рефрактерный СРК с диареей; СРКр-з – рефрактерный СРК с запором;

<sup>\*</sup> различия с показателями группы нерефрактерных пациентов с тем же клиническим вариантом СРК ( $p < 0,05$ );

<sup>\*\*</sup> различия с показателями группы рефрактерных пациентов с иным клиническим вариантом СРК ( $p < 0,05$ );

<sup>#</sup> различия с показателями группы нерефрактерных пациентов с иным клиническим вариантом СРК ( $p < 0,05$ ).

У 50,5% пациентов в биоптатах из эндоскопически интактной кишки были выявлены признаки неспецифического воспаления минимальной активности (отек слизистой оболочки, полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, очаговая инфильтрация лимфоцитами, плазмócитами, макрофагами, нейтрофилами и эозинофилами), 17,8% пациентов имели признаки атрофии (атрофия крипт, инфильтрация гистиоцитами). При СРК-д воспалительные изменения обнаруживались при нерефрактерном течении. Признаки очаговой атрофии СОТК появлялись только при рефрактерном варианте СРК-д.

Признаки воспаления при СРК-з отмечались в группе рефрактерных пациентов.

Полученные сведения подтверждают данные об участии воспаления низкой степени активности (Low-grade mucosal inflammation) в патогенезе СРК [2; 3; 6].

В таблицах 5 и 6 представлены взаимосвязи между генетическими факторами, внекишечной симптоматикой, дисбиотическими изменениями и маркерами воспаления при СРК.

Таблица 5

## Корреляционные связи между генетическими факторами и дисбиотическими изменениями при СРК

Особенности микробиоценоза	Генетические полиморфизмы в гене TLR9											
	G2848A						T-1237C					
	G/G		A/A		G/A		T/T		C/C		T/C	
	г	р	г	р	г	р	г	р	г	р	г	р
Бифидобактерии	-0,3524	0,2810	0,1712	0,2250	<b>-0,3168*</b>	<b>0,0220</b>	0,0641	0,6520	0,0016	0,9910	0,0977	0,4910
Лактобактерии	<b>-0,3400*</b>	<b>0,0140</b>	0,0113	0,9360	-0,0966	0,4960	<b>0,3657*</b>	<b>0,0080</b>	<b>-0,4074*</b>	<b>0,0030</b>	0,0422	0,7670
Протеи	<b>0,3096*</b>	<b>0,0250</b>	-0,1605	0,2560	-0,2098	0,1350	<b>-0,3400*</b>	<b>0,0140</b>	<b>0,4793*</b>	<b>0,0000</b>	-0,1908	0,1760
Клебсиелла	<b>0,5575#</b>	<b>0,0000</b>	-0,0767	0,5890	0,0570	0,6880	<b>-0,5125#</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,6438#</b>	<b>0,0000</b>	-0,0125	0,9300

Примечание: \*- корреляция слабой силы, уровень статистической значимости <0.05; # - корреляция средней силы, уровень статистической значимости <0.05.

Таблица 6

## Взаимосвязи между генетическими факторами, внекишечной симптоматикой и маркерами воспаления при СРК

Функциональные заболевания, морфологические изменения	Генетические полиморфизмы в гене TLR9											
	G2848A						T-1237C					
	G/G		A/A		G/A		T/T		C/C		T/C	
	$\chi^2$	р	$\chi^2$	р	$\chi^2$	р	$\chi^2$	р	$\chi^2$	р	$\chi^2$	р
Постпрандиальный дистресс-синдром	<b>13,07*</b>	<b>0,0003</b>	0,38	0,5354	<b>4,75*</b>	<b>0,0293</b>	3,00	0,0830	<b>9,65*</b>	<b>0,0019</b>	2,41	0,1207
Гастроэзофагеальный рефлюкс без эзофагита	1,88	0,1703	2,43	0,1191	<b>9,3#</b>	<b>0,0023</b>	1,76	0,1848	0,21	0,6477	1,21	0,2713
Отек слизистой оболочки	2,79	0,0950	0,07	0,7973	<b>14,01#</b>	<b>0,0002</b>	0,21	0,6466	1,17	0,2800	<b>4,09#</b>	<b>0,0432</b>
Полнокровие сосудов микроциркуляторного русла	1, 29	0,2567	1,33	0,2486	<b>11,38#</b>	<b>0,0007</b>	0,12	0,7287	2,21	0,1370	<b>6,01#</b>	<b>0,0142</b>
Очаговая плазмочитарная инфильтрация	<b>4,29*</b>	<b>0,0384</b>	1,74	0,1875	<b>17,54#</b>	<b>0,0000</b>	0,74	0,3892	1,17	0,2800	<b>7,08#</b>	<b>0,0078</b>
Очаговая лимфоцитарная инфильтрация	<b>4,29*</b>	<b>0,0384</b>	0,85	0,3563	<b>17,54#</b>	<b>0,0000</b>	1,60	0,2063	0,43	0,5141	<b>7,08#</b>	<b>0,0078</b>
Очаговая нейтрофильная инфильтрация	<b>4,47*</b>	<b>0,0346</b>	0,07	0,7973	<b>17,32#</b>	<b>0,0000</b>	1,75	0,1858	0,85	0,3559	<b>9,98#</b>	<b>0,0016</b>
Атрофия крипт	<b>4,72*</b>	<b>0,0298</b>	1,04	0,3069	1,33	0,2486	1,51	0,2192	<b>5,77*</b>	<b>0,0163</b>	1,49	0,2229

Примечание: \*- прямая связь, уровень статистической значимости <0.05; # - обратная связь, уровень статистической значимости <0.05.

Обнаружена прямая связь генотипов G/G, G/A полиморфизма G2848A гена TLR9, а также гомозиготности по аллели С в полиморфизме T-1237C с наличием постпрандиального дистресс-синдрома и дисбиотическими изменениями.

Отрицательная корреляционная связь отмечена между гомозиготностью по аллели Т (TLR9 T-1237C) и признаками дисбиоза.

Прямая связь была обнаружена между генотипом G/G полиморфизма G2848A и признаками воспаления низкой активности и атрофии слизистой оболочки, а также между генотипом С/С полиморфизма T-1237C и атрофическими изменениями.

Кроме того, выявлена обратная связь между гетерозиготностью по полиморфизму T-1237C гена TLR9 и маркерами минимального воспаления.

Указанные ассоциации требуют дополнительного изучения ввиду сложности межгенных и ген-средовых взаимодействий.

Обобщая изложенные факты, при рефрактерном течении СРК можно проследить взаимосвязь внекишечных функциональных расстройств, дисбиотических нарушений, изменений экспрессии сигнального рецептора TLR9 и признаков минимального воспаления в толстой кишке. Проблема первичности указанных изменений остается не вполне ясной [3; 5].

### **Выводы**

1. Для рефрактерного варианта СРК характерны: дебют заболевания в более раннем возрасте (вариант с диареей – у мужчин, с запором – у женщин) в сравнении с нерефрактерными пациентами, функциональная коморбидность (при СРКр-з – неэрозивная форма ГЭРБ, при СРКр-д – постпрандиальный дистресс-синдром), выраженные дисбиотические изменения (при СРКр-з – с преобладанием условно-патогенных аэробных микроорганизмов, при СРКр-д – анаэробов).
2. СРК-д сопровождается минимальными воспалительными изменениями стенки толстой кишки, приводящими к развитию атрофии при длительном течении заболевания.
3. Обнаружена ассоциация аллели G полиморфизма G2848A гена TLR9 с возникновением диарейного варианта СРК (гомозиготность – СРКр-д, гетерозиготность – СРКн-д), признаками дисбиоза, минимального воспаления и атрофическими изменениями слизистой оболочки толстой кишки. Аллель С полиморфизма T-1237C гена TLR9 была ассоциирована с возникновением СРК-д, дисбиотическими изменениями и признаками атрофии слизистой оболочки толстой кишки.

### **Список литературы**

1. Drossman D.A., Hasler W.L., Rome IV-Functional GI Disorders: Disorders of Gut-Brain Interaction. *Gastroenterology*. 2016. vol. 150. no.6. P.1257-61. DOI:10.1053/j.gastro.2016.03.035

2. Тихонова Т.А., Козлова И.В. Синдром раздраженного кишечника: эпидемиологические и патогенетические аспекты (обзор) // Саратовский научно-медицинский журнал. 2018. № 14 (1). С.53–60.
3. Маев И.В., Черёмушкин С.В., Кучерявый Ю.А. Синдром раздраженного кишечника. Римские критерии IV. О роли висцеральной гиперчувствительности и способах ее коррекции. М.: Прима Принт, 2016. 64 с.
4. Drossman D.A. Functional gastrointestinal disorders: history, pathophysiology, clinical features and Rome IV. *Gastroenterology*. 2016. vol. 150. P. 1262–1279. DOI:10.1053/j.gastro.2016.02.032.
5. Mearin F., Lacy B. E., Chang L., Chey W. D., Lembo A. J., Simren M., Spiller R. Bowel Disorders. *Gastroenterology*. 2016. vol. 150. P. 1393–1407. DOI:10.1053/j.gastro.2016.02.031.
6. Осадчук М.А., Бурдина В.О. Синдром раздраженного кишечника с внекишечными проявлениями с позиций нейроэндокринной патологии // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2015. № 2 (114). С. 29-34.
7. Lackner J.M., Jaccard J., Keefer L., Brenner D.M., Firth R.S., Gudleski G.D., Hamilton F.A., Katz L.A., Krasner S.S., Ma C.X., Radziwon C.D., Sitrin M.D. Improvement in Gastrointestinal Symptoms After Cognitive Behavior Therapy for Refractory Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology*. 2018. vol.155 no.1. P. 47 -57. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.03.063.
8. Семенова Е.В., Иванов А.В. Роль одиночных нуклеотидных полиморфизмов ряда генов врожденного иммунитета в развитии синдрома раздраженного кишечника // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2017. № 1. С. 30–41.
9. Camilleri M., Katzka D.A. Irritable Bowel Syndrome: Methods, Mechanisms, and Pathophysiology. Genetic epidemiology and pharmacogenetics in irritable bowel syndrome. *American Journal of Physiology*. 2012. vol. 302 no.10. P. G1075-G1084. DOI:10.1152/ajpgi.00537.2011.
10. Spiller R., Lam C. An Update on Post-infectious Irritable Bowel Syndrome: Role of Genetics, Immune Activation, Serotonin and Altered Microbiome. *J. Neurogastroenterol Motil*. 2012. vol. 18 no.3. P. 258–268. DOI: 10.5056/jnm.2012.18.3.258.
11. Cynthia K.Y., Cheung J., Wu C.Y. Genetic polymorphism in pathogenesis of irritable bowel syndrome. *World J. Gastroenterol*. 2014. vol. 20 no.47. P. 17693-17698. DOI: 10.3748/wjg.v20.i47.17693.
12. Пауков В.С. Патологическая анатомия. Учебник в 2-х томах. Т. 1. Общая патология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 720 с.
13. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика: учебное пособие. М.: ГЭОТАР-

Медиа, 2015. 216 с.

14. Talley N.J., Holtmann G., Walker M.M. Therapeutic strategies for functional dyspepsia and irritable bowel syndrome based on pathophysiology. *J. Gastroenterol.* 2015. vol.50. no.6. P. 601-13. DOI:10.1007/s00535-015-1076-x.
15. Valverde-Villegas J.M., Santos B.P., Machado M.B., Jobim M., Jobim L.F., Flores C., Damin D.C., Portela P. G2848A and T-1237C polymorphisms of the TLR9 gene and susceptibility to inflammatory bowel disease in patients from southern Brazil. *John Wiley & Sons Ltd Tissue Antigens.* 2014. vol. 83. P. 190–192. DOI: 10.1111/tan.12302.