

ՀՏԴ.616.379-008.64:616.34-008.87

**Աղիքային միկրոֆլորայի քանակական և որակական
տեղաշարժերը տիպ 1 շաքարային դիաբետով հիվանդ
երեխաների և երիտասարդների շրջանում**

**Ա. Մ. Մելքոնյան¹, Ջ. Հ. Գևորգյան², Ա. Ա. Մնացականյան²,
Գ. Մ. Բայբուրդյան¹, Լ. Վ. Նավասարդյան¹,
Ե. Մ. Աղաջանովա¹**

*¹Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարան,
0025, Երևան, Կորյունի փ., 2*

*²Նորք ինֆեկցիոն կլինիկական հիվանդանոց
0047, Երևան, Արմենակյան փ., 153*

Բանալի բառեր. տիպ 1 շաքարային դիաբետ, աղիքային միկրոֆլորա,
օբլիգատ ֆլորա, պայմանական պաթոգեններ

Տիպ 1 շաքարային դիաբետը (Տ1ԾԴ) աուտոիմուն հիվանդություն է գենետիկ նախատրամադրվածությամբ անձանց մոտ, որը բնորոշվում է β-բջջների աուտոիմուն դեստրուկցիայով և բացարձակ ինսուլինային անբավարարությամբ [9]: Վերջին տարիներին իրականացված տարբեր համաճարակաբանական հետազոտությունները փաստում են այս հիվանդության հաստատուն և համատարած աճի մասին, որը կազմում է դիաբետի բոլոր դեպքերի 5-10%-ը [26]: Համաձայն Դիաբետի միջազգային ֆեդերացիայի (International Diabetes Federation) տվյալների՝ 2017 թվականի դրությամբ շուրջ մեկ միլիոն երեխա (0-19 տարեկան) տառապում է Տ1ԾԴ-ով, իսկ յուրաքանչյուր տարի նոր ախտորոշված դեպքերի թիվն անցնում է 130 000-ը [15]: Հայաստանի Հանրապետությունում (ՀՀ) 2018 թվականի դրությամբ գրանցված են շուրջ 800 Տ1ԾԴ-ով հիվանդ երեխաներ, դեռահասներ և երիտասարդներ (0-25 տարեկան), իսկ նույն թվականին նոր ախտորոշված դեպքերի թիվն անցել է 100-ը: Չնայած այսօր հիվանդների բուժման միակ և պաթոգենետիկ հիմնավորված մեթոդի՝ փոխարինող հորմոնալ թերապիայի առկայությանը՝ դիաբետի ուշ՝ միկրո- և մակրովասկուլյար բարդություններից խուսափել չի հաջողվում, որոնք էլ հիվանդների հաշմանդամության և մահացության հիմնական պատճառներն են [1]:

Վերջին տարիներին աղիքային միկրոֆլորայի (ԱՄ) նկատմամբ գիտական հետաքրքրության տենդագին աճը պայմանավորված է կենդանիների և մարդկանց վրա կատարված բազմաթիվ հետազոտություններով, որոնք ցուցադրել են, որ փոփոխված աղիքային միկրոֆլորան կարող է դեր ունենալ տիրոջ բազմաթիվ մետաբոլիկ և իմուն միջնորդավորված հիվանդությունների պաթոգենեզում, ինչպիսիք են ճարպակալումը, ցելիակիան, տիպ 1 և տիպ 2 շաքարային դիաբետները և այլն [12,25]: ԱՄ-ն աղիքային իմուն համակարգի մոդուլյատոր է՝ ազդեցություն ունենալով և՛ բնածին, և՛ ադապտիվ իմուն համակարգի վրա [29]: Այսօր ապացուցված է նաև, որ ԱՄ-ն մասնակից է ոչ միայն տեղային՝ աղիքային իմուն համակարգի ֆունկցիաներին, այլև կարող է և լուրջ դերակատարում ունենալ համակարգային իմուն պատասխանի մեխանիզմներում [30]: ԱՄ-ից (մանրէային պրոդուկտներից) մշտապես եկող ազդանշանները նպաստում են աղիքի տեղային և օրգանիզմի համակարգային իմուն պատասխանի ձևավորմանն ու գործարկմանը [3,21]: Այսպիսով, ԱՄ-ն կարող է լինել կամուրջ միջավայրային գործոններից դեպի β -բջջային աուտոիմունացում և տիպ 1 շաքարային դիաբետ:

Մեր նպատակն է գնահատել աղիքային միկրոֆլորայի տարբերությունները ՏԼԾԴ-ով հիվանդների և առողջների միջև, ինչպես նաև արձանագրել հնարավոր կապը փոփոխված աղիքային միկրոֆլորայի, արյան մեջ գլյուկոզայի միջին ցուցանիշների և հիվանդության տևականության միջև:

Նյութը և մեթոդները

Ստուգիչ կլինիկական հետազոտության մեջ ընդգրկվել են ՏԼԾԴ-ով 4-ից 24 տարեկան 108 հիվանդներ և 108 առողջներ: Հետազոտվող խմբերի առողջ և հիվանդ մասնակիցները համապատասխանում են միմյանց ըստ տարիքի, սեռի, ռասայի, ծննդաբերության կենսամեխանիզմի և կրծքով կերակրման տևողության և ունեն միանման ֆիզիկական ակտիվություն և սննդային վարքագիծ: Հիվանդներից կազմված ընտրանքը (հավաքված պատահականության սկզբունքով) բաժանվել է ենթախմբերի՝ ըստ դիաբետի տևականության (առաջնային հայտնաբերվածներ և դիաբետի տևական անամնեզով հիվանդներ), ըստ ածխաջրատային փոխանակության կոմպենսացիայի աստիճանի՝ կոմպենսացվածներ և դեկոմպենսացվածներ (կոմպենսացիայի ցուցանիշ է ընդունվել գլիկոզիլացված հեմոգլոբինի մակարդակը՝ $HbA1C < 7.5 \%$):

Հետազոտվող երեխաների և երիտասարդների մոտ շաքարային դիաբետն ախտորոշվել է համաձայն Դիաբետի ամերիկյան ասոցիացիայի(ADA), չափորոշիչների և կոդակային բջիջների հանդեպ նվազագույնը երկու տեսակի հակամարմինների առկայության (հակամարմիններ ինսուլինի՝ anti-Insulin, գլուտամատ-դեկարբոքսիլազայի՝ anti-GAD և Թիրոզին ֆոսֆատազայի՝ anti-IA2 հանդեպ) [8]: Հիվանդ երեխաները բուժվում և հսկվում են «Մուրացան» համալսարանական հիվանդանոցի (Հայաստան, Երևան) էնդոկրինոլոգիայի կլինիկայում՝ համաձայն ստանդարտ բժշկական ուղեցույցների: Հետազոտության սկզբում մասնակիցների մոտ բացառվել են սուր և քրոնիկ բորբոքային հիվանդությունները (այդ թվում՝ աղեստամոքսային տրակտի), իսկ հետազոտության սկզբում նախորդող երեք ամիսներին նրանք չեն ընդունել հակաբիոտիկներ, պրե-, պրոբիոտիկներ կամ այլ պրեպարատներ, որոնք կարող էին ազդեցություն ունենալ ադիքային միկրոֆլորայի վրա: Ադիքային միկրոֆլորայի վրա սննդակարգի հնարավոր ազդեցությունը բացառելու, ինչպես նաև հետազոտվող խմբերում սնման միանման ռեժիմ ապահովելու նպատակով մեր կողմից մշակվել են սննդակարգային խորհուրդներ, որոնք տրվել են բոլոր հիվանդներին և հսկիչ խմբի անդամներին հետազոտությունից 2-4 շաբաթ առաջ: Վերջինին կից հետազոտության մասնակիցներին տրվել են նաև «Ուսումնական հաստատություններում սովորողների օրգանիզմի համար անհրաժեշտ սննդային նյութերի (սպիտակուցների, ճարպերի, ածխաջրերի), վիտամինների, միկրոտարրերի և էներգիայի ֆիզիոլոգիական պահանջի միջինացված նորմերի» աղյուսակները:

Ադիքային միկրոֆլորայի որակական և քանակական քննությունն իրականացվել է «Նորք» ինֆեկցիոն կլինիկական հանրապետական հիվանդանոցի (Հայաստան, Երևան) լաբորատորիայում սննդային միջավայրում ֆեկալ նմուշների ցանքսի միջոցով: Ֆեկալ նմուշները վերցվել են վաղ առավոտյան հաստուկ նախատեսված ստերիլ տարաներում՝ պահպանելով տվյալ պրոցեդուրայի իրականացման բոլոր կանոնները: Նմուշները հաջորդող երկու ժամերի ընթացքում տեղափոխվել են լաբորատորիա, որտեղ սննդային միջավայրում ցանքսի միջոցով իրականացվել է հաստ աղու միկրոֆլորայի որակական և քանակական քննություն: Մեկ գրամ կղանքում հարուցիչների քանակի որոշման համար նախ՝ որոշվել են սննդային միջավայրում (թերմոստատում) մեկից չորս օրերի ընթացքում առաջացած գաղութների քանակը, ապա կատարվել է ստացված ցուցանիշի վերահաշվարկ՝ ըստ օգտագործված նմուշի քանակի և նոսրացման աստիճանի: Միկրոֆլորայի հարուցիչների քանակական քննության արդյունքները ներկայացված են տասի հիմքով լոգարիթմներով [2]:

Գլիկոզիլացված հեմոգլոբինի՝ HbA1C որոշումը կատարվել է «Մուրացան» համալսարանական հիվանդանոցի լաբորատորիայում: Հեմոլիզատի պատրաստումից հետո հեմոգլոբին A1C-ի կոնցենտրացիան որոշվել է տուրբիդիմետրիկ մեթոդով (լատեքսի օգտագործմամբ): Հեմոգլոբինի առանձին տեսակները կամայականորեն նստում են լատեքսի մասնիկների վրա նույն հարաբերությամբ, որով ներկայացված են հեմոլիզատում: Մարդկային հակամարմինների (anti HbA1C) ավելացումը բերում է հեմոգլոբին A1C-ի ագլյուտինացիային, որի կոնցենտրացիան էլ որոշվում է տուրբոդիմետրիայի օգնությամբ [13]:

Հետազոտվող մի քանի խմբերի համեմատությունն իրականացվել է պարամետրիկ մեկ գործոնային դիսպերսիոն անալիզի (one-way Anova) և Հոլմ-Սիդակի հետդիսպերսիոն թեստի միջոցով (Sigma Stat 3.5 for Windows): Երկու անկախ խմբերի համեմատությունն իրականացվել է երկկողմանի t-թեստի օգնությամբ (Microsoft Office Excel 2007): Ստացված արդյունքների հավաստիությունը գնահատվել է ըստ Ստյուդենտի t – չափանիշի: Տվյալները ներկայացվել են միջին (M) ± ստանդարտ սխալի միջին (SEM): Կորելյացիան հաշվարկվել է Պիրսոնի գծային կորելյացիայի գործակցի հիման վրա: Հավաստիության չափանիշը ընդունվել է $p < 0.05$:

Արդյունքները և քննարկումը

Մեր կողմից ուսումնասիրվել են աղիքային միկրոֆլորայի բաղադրության քանակական և որակական տեղաշարժերը ՏՆԴ-ով 108 հիվանդների և նույնքան առողջների շրջանում: Հիվանդների և հսկիչ խմբի նկարագրական, անթրոպոմետրիկ և կենսաքիմիական ցուցանիշները ներկայացված են աղյուսակ 1-ում և 2-ում:

Կուտակված գիտական փաստերը վկայում են, որ ծննդաբերության կենսամեխանիզմը ԱՄ-ի բաղադրության վրա ազդող առաջին գործոնն է նորածնի կյանքում [10], մյուս կողմից քիչ չեն տվյալներն այն մասին, որ այն կարող է ազդել ՏՆԴ-ի զարգացման ռիսկի վրա [7,16]: Ինչպես երևում է աղյուսակից, երկու խմբերում էլ հետազոտության մասնակիցները (բացի ծննդաբերության կենսամեխանիզմից) հսկվել են նաև ըստ կրծքով կերակրման տևողության և կյանքի առաջին վեց ամիսներին կովի կաթի օգտագործման. բազմաթիվ և հակասական են տվյալներն այս գործոնների՝ ՏՆԴ-ի զարգացման ռիսկի վրա ունեցած ազդեցության մասին [17,18]: Հետազոտության հիվանդ և առողջ մասնակիցները հսկվել են նաև ըստ տարիքի, սեռի և բնակության վայրի (գյուղաբնակներ/քաղաքաբնակներ):

Աղյուսակ 1

Հետազոտության մասնակիցների նկարագրական ցուցանիշներ

Փոփոխական	Տ1ՇԴ	Հսկիչ խումբ
Մասնակիցների թիվ	108	108
Տղա/աղջիկ	62 / 46	55 / 53
Բնակության վայր՝ քաղաք / գյուղ	77 / 31	75 / 33
Ծննդաբերության կենսամեխանիզմ՝ բնական / կեսարյան	91 / 17	88 / 20
Կրծքով կերակ. տևող. (ամիս) մեղիանա (միջ.)	12.0 [0 – 50.0]	12.3 [0 – 30.0]
Կովի կաթի օգտագործում՝ այո / ոչ	19 / 89	17 / 91
HbA1C (%), մեղիանա (միջ.)	8.8 [5.7 – 16.0]	4.5 [3.9 – 5.3]
Տարիք (տ.), մեղիանա (միջակայք)	11.9 [4.3 – 22.8]	12.2 [4.5 – 24.3]
Կոմպենսացված / դեկոմպենսաց- ված	61 / 47	-
Քաշ (կգ) մեղիանա (միջակայք)	40.5 [17.0 – 82.0]	38.6 [15.8 – 74.5]
Հասակ (մ.) մեղիանա (միջակայք)	1.46 [0.96 – 1.82]	1.42 [1.0 – 1.81]
ՄՁԻ (կգ/մ ²), մեղիանա (միջ.)	18.2[12.3 – 28.9]	19.2[14.1 – 26.1]
Խոլեսթերին (մգ/դլ), մեղիանա (միջ.)	172 [141 – 199]	-
Եռզվիցերիդներ (մգ/դլ), մեղիանա (միջ.)	91[65 – 117]	-
Կրեատինին կլիրենս (մլ/ր.), մեղիանա (միջ.)	113[91 – 133]	-

Բացառությամբ գլյուկոզայի և գլիկոզիլացված հեմոգլոբինի ցուցանիշների, որոնք Տ1ՇԴ-ով հիվանդների մոտ եղել են նշանակալիորեն բարձր, մնացյալ պարամետրերում խմբերի միջև վիճակագրորեն հավաստի տարբերություններ չեն հայտնաբերվել (բնակության վայր՝ $X^2 = 0.088$, $p = 0.765$, սեռ՝ $X^2 = 0.92$, $p = 0.339$, ծննդաբերության կենսամեխանիզմ՝ $X^2 = 0.294$, $p = 0.588$, կրծքով կերակրման տևողություն՝ $p = 0.77$, տարիք՝ $p = 0.13$, կյանքի առաջին վեց ամիսներին կովի կաթի օգտագործում՝ $X^2 = 0.133$, $p = 0.715$, HbA1C՝ $p < 0.0001$):

Աղյուսակ 2

Հետազոտության՝ S1ՇԴ-ով մասնակիցների նկարագրական ցուցանիշներ

Փոփոխական	S1ՇԴ - առաջնային	S1ՇԴ - տևական
Մասնակիցների թիվ	55	53
Տղա/աղջիկ	29 / 26	30 / 20
Բնակության վայր՝ քաղաք / գյուղ	41 / 14	36 / 17
Ծննդաբերության կենսամեխանիզմ՝ բնական / կեսարյան	47 / 8	44 / 9
Կրծքով կերակ. տևող. (ամիս) մեղիանա (միջ.)	12.0 [0 – 50.0]	12.3 [0 – 30.0]
Կովի կաթի օգտագործում՝ այո / ոչ	44 / 11	45 / 8
HbA1C (%), մեղիանա (միջ.)	8.9 [5.6 – 16 .0]	8.1 [5.7 - 13.7]
Կոմպենսացված / դեկոմպենսացված	23/32	24/29
Տարիք (տ.), մեղիանա (միջակայք)	10.3 [4.3 - 21.1]	13.0 [5.5 - 21.7]
Դիաբետի տևողություն (տ.), մեղ. (միջ.)	0.6 [0.01 - 1.0]	5.7 [1.6 – 14.9]
ՄՋԻ (կգ/մ2), մեղիանա (միջ.)	17.7 [14.7-23.7]	18.3 [15.1-23.8]

Մեր կողմից հայտնաբերվել են աղիքային միկրոֆլորայի բաղադրության քանակական և որակական տեղաշարժեր S1ՇԴ-ով հիվանդների շրջանում, որոնք ցուցադրված են աղյուսակ 3-ում: Ինչպես երևում է աղյուսակից, S1ՇԴ-ով հիվանդների մոտ նվազում են աղիքային ֆլորայի օրիգատ (պարտադիր) ներկայացուցիչների՝ *E. coli*-ի (8.4 ընդդեմ 7.5, $p<0,001$), *Lactobacillus spp.*-ի (7.0 ընդդեմ 5.95, $p=0,0002$), *Bifidobacterium spp.*-ի (7.2 ընդդեմ 6.4, $p=0,002$), քանակները՝ համեմատած առողջների հետ: Հայտնի է, որ *E. coli*-ի վաղ գաղութացումը աղիներում խթանում է լորձաթաղանթի իմունային համակարգը՝ սպեցիֆիկ հակամարմինների և ոչ սպեցիֆիկ սեկրետոր իմունոգլոբուլինների արտադրությամբ [19]: Այս տվյալները չեն համընկնում այլ հեղինակների կողմից ստացված տվյալների հետ, որոնք նմանատիպ դիզայնով հետազոտության արդյունքում արձանագրվել են *E. coli*-ի քանակների վիճակագրորեն ոչ հավաստի աճ S1ՇԴ-ով հիվանդ 35 երեխաների և երիտասարդների շրջանում [28]: Մեր կողմից հայտնա-

բերվել է վիճակագրորեն հավաստի թույլ բացասական կորելյացիոն կապ *E. coli*-ի քանակների և գլիկոզիլացված հեմոգլոբինի մակարդակների միջև ($r=-0.151$, $p=0.03$): S1ՇԴ-ով հիվանդների ֆեկալ նմուշներում դիտվել է նաև *Lactobacillus spp.*-ի և *Bifidobacterium spp.*-ի քանակների վիճակագրորեն հավաստի անկում: Վերջինս համընկնում է այլ հեղինակների կողմից ստացված արդյունքների հետ, որոնք ցուցադրել են *Clostridium*-ի, *Bactereoidetes*-ի և *Veillonella*-ի քանակների վիճակագրորեն հավաստի աճ, իսկ *Lactobacillus*-ի, *Bifidobacterium*-ի և *Prevotella*-ի քանակների անկում S1ՇԴ-ով հիվանդների շրջանում, ընդ որում բիֆիդո- և լակտոբակտերիաների քանակների անկումը հիմնավորվել է հիվանդների շրջանում գլյուկոզայի բարձր ցուցանիշներով և բացասական կորելյացիոն կապով՝ արձանագրված այս պարամետրերի միջև [23]:

Աղյուսակ 3

Աղիքային միկրոֆլորայի քանակական բաղադրության տեղաշարժերը տիպ 1 շաքարային դիաբետով հիվանդների շրջանում

Միկրոֆլորա	Մանրէների քանակը մեկ գրամ կղանքում	
	Հսկիչ խումբ	Տիպ 1 շաքարային դիաբետ
<i>Bifidobacterium spp.</i>	7.2 ± 0.12	$6.4 \pm 0.19^{***}$
<i>Lactobacillus spp.</i>	7.0 ± 0.13	$5.95 \pm 0.23^{***}$
<i>E. coli</i>	8.4 ± 0.06	$7.55 \pm 0.19^{***}$
<i>S. aureus</i>	0 ± 0	$0.32 \pm 0.1^{**}$
<i>C. albicans</i>	0.17 ± 0.07	$0.72 \pm 0.17^{**}$
<i>Clostridium spp.</i>	1.1 ± 0.18	$2.0 \pm 0.21^{**}$
<i>Enterococcus</i>	6.21 ± 0.09	$6.32 \pm 0.09^{\#}$
<i>Anaerobic bact.</i>	0.93 ± 0.16	$1.83 \pm 0.17^{\#}$
<i>Proteus</i>	0.11 ± 0.05	$0.06 \pm 0.02^{\#}$

Արդյունքները ներկայացված են տասի հիմքով լոգարիթմներով: Այստեղ և ստորև արդյունքների տարբերության հավաստիությունը (p) ներկայացված է ստուգիչի համեմատ՝ $M \pm SEM$, ($n=108$): Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$: $\# p > 0.05$, $* p < 0.05$, $** p < 0.01$, $*** p < 0.001$:

Հատկանշական է, որ մեր կողմից ևս արձանագրվել է վիճակագրորեն հավաստի թույլ բացասական կորելյացիոն կապ լակտո- և բիֆիդոբակտերիաների քանակների և հիվանդների գլիկոզիլացված հեմոգլոբինի (ցույց է տալիս հիվանդի արյան մեջ գլյուկոզայի միջին մակարդակը վերջին երեք ամիսների ընթացքում) ցուցանիշների միջև՝ *Lactobacillus spp.* $r = -0,198$ ($p = 0.003$), *Bifidobacterium spp.* $r = -0,154$ ($p = 0.02$): Հայտնի է, որ բիֆիդոբակտերիաների երկու ամենահաճախ հանդիպող տեսակների՝ *Bifidobacterium adolescentis* և *Bifidobacterium pseudocatenulatum* ցածր քանակներն ասոցացվում են β -բջջային աուտոփմունիզացիայի հետ [29]: Վերջին տարիներին ԱՄ-ին նվիրված այլ գիտական հետազոտություններում ևս արձանագրվել է վերոնշյալ օգտակար բակտերիաների քանակների անկում S1ՇԴ-ով հիվանդ երեխաների, դեռահասների և երիտասարդների շրջանում՝ համեմատած առողջ տարեկիցների հետ [28,29]:

Ի դեպ, *Clostridium spp.*-ի քանակների վիճակագրորեն հավաստի աճ (2.0 ընդդեմ 1.1, $p=0,002$) դիաբետով հիվանդների շրջանում նույնպես գրանցվել է մեր դիտարկումներում: Ընդ որում առկա է թույլ դրական կորելյացիոն կապ այս հարուցիչների քանակի և հիվանդների գլյուկոզայի միջին ցուցանիշների միջև ($r = +0,185$ $p = 0,006$): Հատկանշական է, որ *Clostridium*-ի որոշ (բութիրատ արտադրող) շտամներ պաշտպանական նշանակություն ունեն օրգանիզմի համար, մինչդեռ մյուս շտամները նպաստում են աղիներում այլ կարճ-շրթա հազեցած ճարպաթթուների սինթեզին (ացետատ, պրոպիոնատ, սուկցինատ և այլն)՝ այդ կերպ նպաստելով «սերտ կոնտակտների» վնասմանն ու աղիքի լորձաթաղանթի փխրունությանը [6]:

Միաժամանակ հիվանդների աղիքային ֆլորայի նմուշներում արձանագրվել է *C.albicans*-ի քանակի աճ (0.72 ընդդեմ 0.17, $p=0.003$), և ի հայտ է եկել պաթոգեն *S. aureus*-ը (0 ընդդեմ 0.32, $p=0.003$): Հայտնի է, որ *S. aureus*-ը և *C. albicans*-ը մրցակցում են ինդիգեն ֆլորայի հետ և կարող են նպաստել աղիներում օգտակար բակտերիաների քանակների նվազմանը [22]: *C. albicans*-ի կլինիկական կուլտուրաները բերում են լակտոբակտերիաների բջջապատի պեպտիդոգլիկանի շերտերի փոքր ֆրագմենտների դեսկվամացիայի, ցիտոպլազմատիկ բաղադրիչների ամբողջական դեստրուկցիայի, ուստի և վերոհիշյալ բակտերիաների քանակների նվազման [5]:

Աղյուսակ 4-ում ներկայացված են ԱՄ-ի քանակական տեղաշարժերը S1ՇԴ-ով հիվանդների շրջանում՝ ըստ հիվանդության (ինսուլինաթերապիայի) տևականության: Ինչպես երևում է աղյուսակից, տևական ինսուլինաթերապիա ստացող հիվանդների շրջանում արձանագրվել է աղիքային օբլիգատ ֆլորայի ներկայացուցիչների քանակ-

ների որոշակի աճ (*Bifidobacterium spp.*, *E. coli*), ինչը սակայն շարունակել է մնալ էականորեն ցածր ՀԽ-ից: Տեսական ինսուլինաթերապիա ստացող հիվանդների շրջանում միաժամանակ արձանագրվել է պայմանական պաթոգեն հարուցիչների՝ *S. aureus*-ի և *C. albicans*-ի քանակների անկում, ինչը վերջինի դեպքում մնացել է նշանակալիորեն բարձր՝ համեմատած ՀԽ-ի հետ:

Աղյուսակ 4

Աղիքային միկրոֆլորայի քանակական տեղաշարժերը ՏԼՇԴ-ով հիվանդների շրջանում՝ ըստ հիվանդության (ինսուլինաթերապիայի) տևականության

Միկրոֆլորա	Մանրէների քանակը մեկ գրամ կղանքում		
	Հսկիչ խումբ	Դիաբետը՝ առաջնային	Դիաբետը՝ տևական
<i>Bifidobacterium spp.</i>	7.2 ± 0.12	$6.33 \pm 0.27^{***}$	$6.5 \pm 0.24^{**}$
<i>Lactobacillus spp.</i>	7.0 ± 0.13	$6.0 \pm 0.3^{**}$	$5.9 \pm 0.34^{**}$
<i>E. coli</i>	8.4 ± 0.06	$7.36 \pm 0.28^{***}$	$7.74 \pm 0.27^*$
<i>S. aureus</i>	0 ± 0	$0.38 \pm 0.16^*$	$0.26 \pm 0.14^{\#}$
<i>C. albicans</i>	0.17 ± 0.07	$0.76 \pm 0.23^{***}$	$0.68 \pm 0.24^{***}$
<i>Clostridium spp.</i>	1.1 ± 0.18	$1.96 \pm 0.29^{**}$	$2.0 \pm 0.3^*$
<i>Enterococcus</i>	6.21 ± 0.09	$6.31 \pm 0.15^{\#}$	$6.34 \pm 0.11^{\#}$
<i>Anaerobic bact.</i>	0.93 ± 0.16	$1.78 \pm 0.26^{\#}$	$1.89 \pm 0.24^{\#}$
<i>Proteus</i>	0.11 ± 0.05	$0.11 \pm 0.04^{\#}$	$0 \pm 0^{\#}$

Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$: $\#$ $p > 0.05$, $*$ $p < 0.05$, $**$ $p < 0.01$, $***$ $p < 0.001$:

Հատկանշական է, որ հիվանդության տևական անամնեզով հիվանդների և առաջնային հայտնաբերվածների միկրոֆլորայի ցուցանիշների համեմատությունից չեն հայտնաբերվել վիճակագրորեն հավաստի տեղաշարժեր:

ԱՄ-ի պայմանական պաթոգեն ներկայացուցիչների քանակների առավել ակնառու տեղաշարժեր են արձանագրվել՝ կախված դիաբետի կոմպենսացիայի աստիճանից: Այսպես, դեկոմպենսացված հիվանդների ($HbA1C > 7,5\%$) աղիքային ֆլորայի նմուշներում դիտվել է *C. albicans*-ի (0.52 ընդդեմ 0.06 $p = 0.016$) և *S.aureus*-ի (1.2 ընդդեմ 0.06, $p = 0.0001$) քանակների վիճակագրորեն հավաստի աճ՝ կոմպենսացված հիվանդների համեմատ ($HbA1C < 7,5\%$): Մեր կողմից հայտնաբերվել է դրական կորելյացիոն կապ վերոնշյալ պայմանական պաթոգենների և գլյուկոզայի միջին ցուցանիշների միջև (*C. albicans*, $r = +0.375$, $p < 0.0001$,

S.aureus, $r = +0.232$, $p=0.0006$): Հիվանդների այս ենթախմբում միկրոֆլորայի այլ հարուցիչների քանակների վիճակագրորեն հավաստի տեղաշարժեր չեն արձանագրվել (աղյուսակ 5):

Աղյուսակ 5

Աղիքային միկրոֆլորայի քանակական տեղաշարժերը S1ՇԴ-ով հիվանդների շրջանում՝ ըստ դիաբետի կոմպենսացիայի աստիճանի

Միկրոֆլորա	Մանրէների քանակը մեկ գրամ կղանքում	
	Դիաբետը՝ կոմպենսացված	Դիաբետը՝ դեկոմպենսացված
<i>Bifidobacterium</i>	6.21 ± 0.29	$6.52 \pm 0.23^{\#}$
<i>Lactobacillus spp.</i>	5.74 ± 0.35	$6.1 \pm 0.29^{\#}$
<i>E. coli</i>	7.34 ± 0.29	$7.71 \pm 0.26^{\#}$
<i>S. aureus</i>	0.06 ± 0.02	$0.52 \pm 0.18^{*}$
<i>C. albicans</i>	0.06 ± 0.03	$1.2 \pm 0.28^{***}$
<i>Clostridium spp.</i>	1.68 ± 0.31	$2.2 \pm 0.28^{\#}$
<i>Enterococcus</i>	6.3 ± 0.15	$6.34 \pm 0.12^{\#}$
<i>Anaerobic bact.</i>	1.87 ± 0.26	$1.8 \pm 0.24^{\#}$
<i>Proteus</i>	0 ± 0	$0.1 \pm 0.04^{\#}$

Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$: $\# p > 0.05$, $* p < 0.05$, $** p < 0.01$, $*** p < 0.001$: Կոմպենսացիայի չափանիշ է ընդունվել գլիկոզիլացված հեմոգլոբինը՝ $HbA1C < 7.5$:

Հետաքրքրական է, որ արտահիվանդանոցային *S. aureus*-բակտերիայի զարգացման ռիսկը էականորեն բարձր է S1ՇԴ-ով հիվանդների մոտ, հատկապես դեկոմպենսացված հիվանդների, հիվանդության տևական անամնեզ և բարդություններ ունեցողների մոտ [27]:

Աուտոիմուն դիաբետի զարգացման հարցում աղիքային միկրոֆլորայի մասնակցության մասին առաջին ենթադրությունից (1987թ.) անցել է շուրջ երեք տասնամյակ: Այս ընթացքում կատարված բազմաթիվ գիտական աշխատանքներն ու գրված բազում գիտական հոդվածներն անշեղորեն փաստում են. աղիքային միկրոֆլորան օրգանիզմի իմուն պատասխանի «դիրքիծորն» է, «գորշ կարդինալը»:

S1ՇԴ-ով հիվանդների շրջանում հայտնաբերվել է աղիքային օբլիգատ ֆլորայի ներկայացուցիչների՝ *E. coli* –ի, *Lactobacillus spp.*–ի, *Bifidobacterium spp.*–ի քանակների վիճակագրորեն հավաստի անկում:

Նշենք, որ *E. coli*-ն պահպանում է աղիքային ինդիգեն միկրոֆլորայի մակարդակը, քանի որ աղիների պայմանական-ախտածին մանրէների հիմնական մրցակիցն է, բացի այդ, կլանելով միկրոմիջավայրի թթվածինը, ապահովում է խիստ անաէրոբ՝ լակտո- և բիֆիդոբակտերիաների կենսունակությունը [14], որոնց քանակները ևս նվազել են հիվանդների շրջանում: Բիֆիդո- և լակտոբակտերիաների քանակների և գլյուկոզայի միջին ցուցանիշների միջև գրանցված թույլ նեգատիվ կորելյացիոն կապը, ինչպես նաև առաջնային հիվանդների և հիվանդության տևական անամնեզով պացիենտների մոտ այս հարուցիչների քանակների նշանակալի տարբերությունների բացակայությունը, թույլ են տալիս (որոշակի վերապահումներով) բացառել ստացված արդյունքներում արյան մեջ գլյուկոզայի բարձր ցուցանիշների հնարավոր «մասնակցության» մասին ենթադրությունը: Այսօր լակտո- բիֆիդոբակտերիաների տարբեր շտամներ պարունակող պրոբիոտիկներ կիրառվում են կենդանիների և մարդկանց վրա կատարվող հետազոտություններում՝ ուղղված տիպ 1 շաքարային դիաբետի կանխարգելմանը կամ մանիֆեստացիայի հետաձգմանը, ինչպես նաև գլյուկոզայի ցուցանիշների բարելավմանը [21]: Գլյուկոզայի բարձր ցուցանիշների՝ ԱՄ-ի վրա հնարավոր ազդեցության մասին վստահաբար կարելի կլինե՞ր խոսել նույն հիվանդների ԱՄ-ի տարածամասնակյա (օրինակ՝ ախտորոշման պահին և հիվանդության մանիֆեստից մեկերկու տարի անց) կրկնակի քննության արդյունքների վերլուծության հիման վրա միայն, ինչը չի կատարվել մեր հետազոտության շրջանակներում:

Հակասական են ստացված տվյալները *Clostridium spp.*-ի վերաբերյալ. հիվանդների շրջանում դիտվել է նրանց քանակների նշանակալի աճ առողջ երեխաների և երիտասարդների համեմատությամբ: Հայտնի է, որ *Clostridium*-ի որոշ շտամների (*cluster IV* և *cluster XIV*) առատությունն աղիներում նպաստում է բուլբիբատի սինթեզին և T reg. բջիջների դիֆերենցիացիային, ուստի և պաշտպանական նշանակություն ունեն օրգանիզմի համար (այս շտամների ցածր քանակներ հայտնաբերվել են β -բջջային աուտոիմունիզացիայով հիվանդների մոտ) [4], մինչդեռ մյուս շտամների ավելացումը (հատկապես գլյուկոզայի բարձր ցուցանիշների պարագայում, ինչն առկա է S1ՇԴ-ով հիվանդների մոտ) նպաստում է լակտատից և բուլբիբատից ագետատի և պրոպիոնատի սինթեզին [23]: Վերջիններս էլ, ինչպես հայտնի է, ընկճում են մուցինի սինթեզը և նպաստում աղիքի լորձաթաղանթի փխրունությանն ու հնարավոր բակտերիալ տրանսլոկացիաներին՝ պրոբոբիոտիկ իմուն պատասխանի գործարկմամբ [6]: Ենթադրում

ենք, որ հիվանդների շրջանում *Clostridium*-ի քանակների աճը տեղի ունի նրա՝ «վնասակար» տեսակների հաշվին:

Հայտնի է, որ աղիքային միկրոֆլորայի լակտատ և բուրբրատ «արտադրող» բակտերիաները (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium cluster IV* և *cluster XIV*) մասնակցում են աղիքային էպիթելիումի հասունացմանը և նրանց միջև սերտ կոնտակտների ձևավորմանը (բուրբրատը նպաստում է մուցինի սինթեզին և էպիթելյալ «սերտ կոնտակտների» կայունացմանը), որոնք լորձաթաղանթի ֆիզիկական պատնեշն են և կանխում են ախտածին անտիգենների մուտքն օրգանիզմ [11,24]: Էպիթելյալ բջիջները միակցված են կառուցվածքային սպիտակուցների՝ զոնուլինի, կլաուդինի, ակտինի միջոցով, որոնք դեստրոկցիայի են ենթարկվում միկրոֆլորայի բաղադրության փոփոխության արդյունքում (ինչի արդյունքում դիտվում է այլ կարճ-շրթա հագեցած ճարպաթթուների սինթեզ՝ բուրբրատ, ագետատ, պրոպիոնատ, որոնք ընկճում են մուցինի սինթեզն ու վնասում սերտ կոնտակտները) և, որպես հետևանք, բարձրացնում աղիքային լորձաթաղանթի թափանցելիությունն ու նպաստում սննդային-բակտերիալ անտիգենների ներթափանցմանը և աուտոդիմուն մեխանիզմների գործարկմանը [20]: Այսպիսով, աղիքային միկրոֆլորան օրգանիզմի հիմնական պատնեշն է, իսկ նրա բաղադրության խախտումը նպաստում է օտար ազնոսների՝ օրգանիզմ ներթափանցմանը և հետագայում աուտոդիմուն մեխանիզմների գործարկմանը:

Միաժամանակ հիվանդների աղիքային ֆլորայի նմուշներում մոտ 3 անգամ աճել է պայմանական պաթոգեն կանդիդա խմբի սնկերի (ենթադրաբար նաև *C. albicans*-ի) քանակը, և ի հայտ է եկել պաթոգեն *S. aureus*-ը: Հատկանշական է, որ այս հարուցիչների քանակների վիճակագրորեն հավաստի աճ արձանագրվել է նաև դեկոմպենսացված հիվանդների շրջանում, բացի այդ հայտնաբերվել է դրական կորելյացիոն կապ այս հարուցիչների քանակների և արյան մեջ գլյուկոզայի միջին ցուցանիշների միջև: Այս տվյալները թերևս թույլ են տալիս ենթադրել գլյուկոզայի բարձր ցուցանիշների անհերքելի դերի մասին նկարագրվածում:

Եզրակացություն

Աշխատանքում ցուցադրված է, որ S1ՇԴ-ն ասոցացվում է աղիքային միկրոֆլորայի քանակական և որակական տեղաշարժերի հետ: Ստացված տվյալները փաստում են, աղիքային միկրոֆլորայի շտկման ճանապարհով գուցե ապագայում հնարավոր կլինի հասնել S1ՇԴ-ի զարգացման կանխմանը կամ հետաձգմանը:

Ընդունված է 28.10.19

Количественные и качественные изменения кишечной микрофлоры у детей и молодых с сахарным диабетом 1 типа

**А. М. Мелконян, З. Г. Геворкян, А. А. Мнацаканян, Г. М. Байбурдян,
Л. В. Навасардян, Е. М. Агаджанова**

Сахарный диабет 1 типа (СД1Т) является одним из наиболее частых аутоиммунных и метаболических нарушений в детском, подростковом и юношеском возрасте, развивающихся вследствие аутоиммунного разрушения β -клеток поджелудочной железы, что приводит к абсолютному дефициту инсулина. Накопленные данные свидетельствуют о том, что кишечная микробиота (КМ) может быть вовлечена в патогенез диабета, влияя на иммунный ответ, но точные механизмы, с помощью которых КМ участвует в СД1Т, до сих пор неизвестны. Наша цель состояла в том, чтобы количественно и качественно оценить разницу в составе кишечной микробиоты у детей с диабетом 1 типа и здоровых детей и определить возможную связь кишечной микробиоты детей с диабетом 1 типа с гликемическим уровнем и продолжительностью диабета.

Исследование «случай-контроль» было проведено на 108 детях и молодых в возрасте от 4 до 24 лет с впервые диагностированным СД1Т (длительность до одного года с момента первого проявления) и длительным СД1Т (от одного года до 10 лет) и 108 здоровых добровольцах, сравниваемых по возрасту и полу. Исследования проводились на базе клиники эндокринологии Университетской больницы «Мурацан» (Ереван, Армения). HbA1C в плазме измеряли в клинической лаборатории больницы «Мурацан» с помощью турбидиметрического анализа и выражали в процентах (%). Микробиота исследована в лаборатории инфекционной клинической больницы «Норк».

У пациентов с СД1Т мы наблюдали уменьшение числа представителей облигатной кишечной флоры (*E. coli*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*), что было связано с увеличением количества условных патогенов (*Clostridium spp.*, *C. albicans*, *S. aureus*). В последнем случае наблюдалась положительная корреляция между количеством условных патогенов и средним уровнем глюкозы (HbA1C). Статистически значимых сдвигов в показателях микрофлоры пациентов с длительным анамнезом и первичным диабетом не обнаружено.

Это исследование показывает, что диабет 1 типа связан с изменениями состава микробиоты кишечника. Существенные различия в количестве *C. albicans* и *S. aureus*, наблюдаемые между двумя группами, могут быть связаны с гликемическим уровнем в группе с диабетом. Более того, количество бактерий, необходимых для поддержания целостности кишечника, было значительно ниже у детей с диабетом, чем у здоровых детей.

Эти результаты могут быть полезны для разработки стратегий контроля развития диабета 1 типа путем изменения кишечной микробиоты.

Quantitative and Qualitative Changes of Intestinal Microflora Among Children and Young People with Type 1 Diabetes

**A. M. Melqonyan, Z. H. Gevorkyan, A. A. Mnatsakanyan,
G. M. Bayburdyan, L.V. Navasardyan, E.M. Aghajanova**

Type 1 diabetes mellitus (T1DM) is one of the most frequent autoimmune and metabolic disorders in childhood, adolescence and youth, developing due to autoimmune destruction of pancreatic β -cells, which leads to an absolute insulin deficiency. Accumulated data suggest that gut microbiota (GM) may contribute to the pathogenesis of diabetes influencing the immune response, but exact mechanisms by which GM is involved in the T1DM are still unknown. Our aim was to quantify and evaluate the difference in the composition of gut microbiota between children with type 1 diabetes and healthy children and to determinate possible relationship of the gut microbiota of children with type 1 diabetes with the glycemic level and diabetes duration.

Case-control study was carried out with 108 patients of 4-24 years old with newly diagnosed T1DM (duration up to one year from the time of the first manifestation), and long-term T1DM (1 to 10 years) and 108 age- and sex-matched healthy volunteers. Procedures were performed at the Department of Endocrinology of "Muratsan" university hospital (Yerevan, Armenia). Plasma HbA1C was measured at "Muratsan" hospital clinical laboratory by a latex turbidimetric assay and expressed in percentages(%). Microbiota was examined in the laboratory of "Nork" infectious diseases clinical hospital.

In T1DM patients decrease in the number of obligate representatives of the intestinal flora (*E. coli*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*) was observed which was associated with an increase in the number of conditional pathogens (*Clostridium spp.*, *C. albicans*, *S. aureus*). In the latter case, a positive correlation was observed between the numbers of conditional pathogens and the mean glucose levels (HbA1C). No statistically significant shifts were found in the microflora of patients with long-term T1DM and newly diagnosed T1DM.

This study shows that type 1 diabetes is associated with compositional changes in gut microbiota. The significant differences in the number of *C. albicans* and *S. aureus* observed between the two groups could be related to the glycemic level in the group with diabetes. Moreover, the quantity of bacteria needed to maintain gut integrity was significantly lower in the children with diabetes than the healthy children. These findings could be useful for developing strategies to control the development of type 1 diabetes by modifying the gut microbiota.

Գրականություն

1. Дедов И.И., Петеркова В.А. Руководство по детской эндокринологии. М., 2006.
2. Полуэктова Е.А., Ляшенко О.С., Шифрин О.С., Шептулин А.А., Ивашкин В.Т. Современные методы изучения микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека. Национальная школа гастроэнтерологов, гепатологов, РЖГТК, 2014, 2.
3. Arpaia N., Campbell C., Fan X., Dikiy S., van der Veeke J., de Roos P., Liu H., Cross J.R., Pfeffer K., Coffey P.J., Rudenski A.Y. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature*, 2013, Dec 19, 504(7480):451-5.
4. Atarashi K., Tanoue T., Shima T., Imaoka A., Kuwahara T., Momose Y., Cheng G., Yamasaki S., Saito T., Ohba Y., Taniguchi T., Takeda K., Hori S., Ivanov I., Umesaki Y., Itoh K., Honda K. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species, *Science*, 2011, Jan 21, 331(6015):337-41.
5. Bondarenko V.M., Rybalchenko O.V. Ultrastructural change of lactobacilli during suppression of their growth by clinical strains of *Candida albicans*. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, i immunobiologii*, 01 Jul, 2009, (4):96-99.
6. Brown C.T., Davis-Richardson A.G., Giongo A., Gano K.A., Crabb D.B., Mukherjee N., Casella G., Drew J.C., Ilonen J., Knip M., Hyöty H., Veijola R., Simell T., Simell O., Neu J., Wasserfall C.H., Schatz D., Atkinson M.A., and Triplett E.W. Gut Microbiome Metagenomics Analysis Suggests a Functional Model for the Development of Autoimmunity for Type 1 Diabetes. *PLoS One*, 2011, 6(10).
7. Cardwell C.R., Stene L.C., Joner G., Cinek O., Svensson J., Goldacre M.J., Parslow R.C., Pozzilli P., Briggs G., Stoyanov D., Urbanaite B., Sipetić S., Schober E., Ionescu-Tirgoviste C., Devoti G., de Beaufort C.E., Buschard K., Patterson C.C. Caesarean section is associated with an increased risk of childhood-onset type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. *Diabetologia*, 2008, May, 51(5):726-35.
8. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes, 2019, American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 2019, 42: S13–S28.
9. Craig M.E., Jefferies C., Debelea D., Balde N., Seth A., Donaghue K.C. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014, Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes*, 2014, Sep.15, Suppl 20:4-17. doi: 10.1111/pedi.12186.
10. Dominguez-Bello M.G., Costello E.K., Contreras M., Magris M., Hidalgo G., Fierere N., Knight R. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2010, Jun 29, 107(26): 11971–11975.
11. Duncan S.H., Louis P., and Flint H.J. Lactate-Utilizing Bacteria, Isolated from Human Feces, That Produce Butyrate as a Major Fermentation Product. *Appl Environ Microbiol*, 2004, Oct, 70(10): 5810–5817.
12. Frank D.N., Zhu W., Sartor R.B., Li E. Investigating the biological and clinical significance of human dysbioses. *Trends Microbiol*, 2011, 19:427–434.
13. Hoelzel W., Weykamp C., Jeppsson J.O., Miedema K., Barr J.R., Goodal I., Hoshino T., John W.G., Kobold U., Little R., Mosca A., Mauri P., Paroni R., Susanto F., Takei I., Thienpont L., Umemoto M., Wiedmeyer H.M. IFCC Working Group on HbA1c Standardization. IFCC reference system for measurement of hemoglobin A1c in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan, and Sweden: a method-comparison study. *Clin. Chem.*, 2004, Jan, 50(1):166-74.
14. Hudault S, Guignot J, Servin A. *Escherichia coli* strains colonising the gastrointestinal tract protect germ free mice against *Salmonella typhimurium* infection. *Gut*, 2001, Jul, 49(1): 47–55.
15. IDF DIABETES ATLAS, Eight edition, 2017.

16. Khashan A.S., Kenny L.C., Lundholm C., Kearney P.M., Gong T., Almqvist C. Mode of obstetrical delivery and type 1 diabetes: a sibling design study. *Pediatrics*, 2014, Sep, 134(3):e806-13.
17. Knip M., Kerkblom H.K., Becker D., Dosch H.M., Dupre J., Fraser W., Howard N., Ilonen J., Krischer J.P., Kordonouri O., Lawson M.L., Palmer J.P., Savilahti E., Vaarala O., Virtanen S.M.; TRIGR Study Group. Hydrolyzed infant formula and early β -cell autoimmunity: a randomized clinical trial. *JAMA*, 2014, Jun 11, 311(22):2279-87.
18. Knip M., Virtanen S.M., Sepp K., Ilonen J., Savilahti E., Vaarala O., Reunanen A., Teramo K., Hminen A.M., Paronen J., Dosch H.M., Hakulinen T., Akerblom H.K.; Finnish TRIGR Study Group. Dietary intervention in infancy and later signs of beta-cell autoimmunity. *N Engl J Med.*, 2010, Nov 11, 363(20):1900-8.
19. Lodinová-Zádníková R., Cukrowska B., Tlaskalova-Hogenova H. Oral administration of probiotic *Escherichia coli* after birth reduces frequency of allergies and repeated infections later in life (after 10 and 20 years). *Int Arch Allergy Immunol.*, 2003, Jul, 131(3):209-11.
20. Maria E. Mejia-Leon and Ana M. Calderon de la Barca. Diet, Microbiota and Immune System in Type 1 Diabetes Development and Evolution. *Nutrients*, 2015, Nov, 7(11): 9171–9184.
21. Mishra S., Wang S., Nagpal R., Miller B., Singh R., Taraphder S., and Yadav H. Probiotics and Prebiotics for the Amelioration of Type 1 Diabetes: Present and Future Perspectives *Microorganisms*, 2019, Mar, 7(3): 67.
22. Movsesyan H.A., Alchujyan N.Kh., Aghababova A.A., Movsesyan N.H., Hovhannisyan M.R., Hakobyan A.M., Hovsepyan I.V., Khachatryan H.F., Kevorkian G.A. Effects of d-amphetamine on regional activity of arginase isoforms in rat corticolimbic brain. *Chemistry and Biology*, 2016, (3) p. 40–47.
23. Murri M., Leiva I., Gomez-Zumaquero J.M., Tinahones F.J., Cardona F., Soriguer F. and Queipo-Ortuno M.I. Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study. *BMC Medicine*, 2013, 11:46.
24. Peng L., Li Z.R., Green R.S., Holzman I.R., and Lin J. Butyrate Enhances the Intestinal Barrier by Facilitating Tight Junction Assembly via Activation of AMP-Activated Protein Kinase in Caco-2 Cell Monolayers. *J Nutr.*, 2009, Sep, 139(9): 1619–1625.
25. Peterson D.A., Frank D.N., Pace N.R., Gordon J.I. Metagenomic approaches for defining the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Cell Host Microbe*, 2008, 3:417–427.
26. Pettitt D.J., Talton J., Dabelea D., Divers J., Imperatore G., Lawrence J.M., Liese A.D., Linder B., Mayer-Davis E.J., Pihoker C. et al. Prevalence of diabetes in U.S. Youth in 2009: The search for diabetes in Youth study. *Diabetes Care*, 2014, 37.
27. Smit J. Community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremia: Studies of risk and prognosis with special attention to diabetes mellitus and chronic heart failure. *Dan Med J.*, 2017, May, 64(5).
28. Soyucen E., Gulcan A., Aktuglu-Zeybek A.C., Onal H., Kiykim E., Aydin A. Differences in the gut microbiota of healthy children and those with type 1 diabetes. *Pediatr Int.* 2014, Jun, 56(3):336-43.
29. Vaarala O. Gut microbiota and type 1 diabetes. *The Review of DIABETIC STUDIES*. 2012, Winter, 9(4):251-9.
30. Wu H. J., Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes*, 2012, Jan-Feb, 3(1):4-14.