



Усова Н.Н.<sup>1</sup>✉, Стома И.О.<sup>1</sup>, Лихачев С.А.<sup>2</sup>, Осипкина О.В.<sup>1</sup>, Зятьков А.А.<sup>1</sup>, Шафорост А.С.<sup>1</sup>, Ковалев А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

<sup>2</sup> Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь

## Постинсультный болевой синдром: особенности кишечной микробиоты

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста – Усова Н.Н.; концепция и дизайн исследования, редактирование – Стома И.О.; концепция исследования, редактирование – Лихачев С.А.; проведение лабораторных исследований – Осипкина О.В., Зятьков А.А., Шафорост А.С.; статистическая обработка материалов – Ковалев А.А.

Подана: 30.11.2022

Принята: 19.12.2022

Контакты: nata\_usova@mail.ru

### Резюме

**Цель.** Изучить особенности состава кишечной микробиоты у пациентов с постинсультным болевым синдромом.

**Материалы и методы.** Обследовано 27 пациентов (60,5±8,9 года), которые были распределены на две группы: основная – с наличием постинсультного болевого синдрома (16 пациентов, 62,2±9,03 года) и сравнения – без постинсультного болевого синдрома (11 пациентов, 58,0±8,44 года). Для изучения особенностей кишечной микробиоты и оценки ее значения в развитии связанных с ней заболеваний выполнено высокопроизводительное секвенирование по протоколу 16S с использованием платформы Illumina MiSeq. Анализ данных проводили с использованием программного обеспечения BaseSpace Sequence Hub (Illumina, США), приложение 16S Metagenomics и приложение DRAGEN Metagenomics.

**Результаты.** При изучении микробного представительства у пациентов с постинсультной болью и без нее наиболее распространенными таксонами на уровне типа явились Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, значимой разницы между группами на этом уровне установлено не было. Показана разница в доле таксонов Chlamydiae и Fusobacteria с преобладанием указанных микроорганизмов у пациентов с постинсультной болью. При анализе представительства Proteobacteria в выделенных группах установлено преобладание данного микроорганизма у пациентов в группе сравнения без болевого синдрома. Также были уточнены видовые категории указанных микроорганизмов в обследованных подгруппах. Различий по альфа-разнообразию микроорганизмов в группах пациентов с постинсультной болью и без нее получено не было. Установленные различия требуют дальнейшего уточнения и продолжения проведения исследований.

**Заключение.** Впервые в Республике Беларусь проведено пилотное исследование по изучению особенностей кишечного микробиома у пациентов с постинсультным болевым синдромом. Установлены особенности видового состава микробного



представительства кишечника, что может указывать на возможные новые механизмы патогенеза возникновения указанной разновидности боли.

**Ключевые слова:** микробиом, боль, инсульт, ось микробиом – кишечник – мозг, постинсультный болевой синдром

Natallia N. Usava<sup>1</sup>✉, Igor O. Stoma<sup>1</sup>, Sergey A. Likhachev<sup>2</sup>, Ol'ga V. Osipkina<sup>1</sup>, Aleksey A. Zyat'kov<sup>1</sup>, Aleksandr S. Shaforost<sup>1</sup>, Aleksey A. Kovalev<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

<sup>2</sup> Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Belarus

## Post-Stroke Pain Syndrome: Features of the Gut Microbiota

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** the concept and design of the study, the collection of material, processing, writing the text – Natallia N. Usava; concept and design of the study, editing – Igor O. Stoma; research concept, editing – Sergey A. Likhachev; carrying out laboratory studies – Ol'ga V. Osipkina, Aleksey A. Zyat'kov, Aleksandr S. Shaforost; statistical processing of materials – Aleksey A. Kovalev.

Submitted: 30.11.2022

Accepted: 19.12.2022

Contacts: nata\_usova@mail.ru

### Abstract

**Purpose.** To study the composition of the gut microbiota in patients with post-stroke pain syndrome.

**Materials and methods.** 27 patients ( $60.5 \pm 8.9$  years old) were examined, which were divided into two groups: the main group with the presence of post-stroke pain syndrome (16 patients,  $62.2 \pm 9.03$  years old) and the comparison group without post-stroke pain syndrome (11 patients,  $58.0 \pm 8.44$  years). To study the characteristics of the gut microbiota and assess its significance in the development of associated diseases, high-throughput sequencing was performed according to the 16S protocol using the Illumina MiSeq platform. Data analysis was performed using the BaseSpace Sequence Hub software (Illumina, USA), the 16S Metagenomics application, and the DRAGEN Metagenomics application.

**Results.** When studying the microbial representation in patients with and without post-stroke pain, the most common taxa at the type level were Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria; no significant difference between groups at this level was found. The difference in the proportion of taxa Chlamydiae and Fusobacteria was shown, with the predominance of these microorganisms in patients with post-stroke pain. When analyzing the representation of Proteobacteria in the selected groups, the predominance of this microorganism in patients in the comparison group without pain syndrome was established. The species categories of these microorganisms in the examined subgroups were also specified. There were no differences in the alpha diversity of microorganisms in the groups of patients with and without post-stroke pain. The established differences require further clarification and continuation of research.

**Conclusion.** For the first time in the Republic Belarus, a pilot study was conducted to study the characteristics of the gut microbiota in patients with post-stroke pain syndrome. The features of the species composition of the intestinal microbial representation have been established, which may indicate possible new mechanisms of the pathogenesis of the occurrence of this type of pain.

**Keywords:** microbiome, pain, stroke, microbiome-gut-brain axis, poststroke pain syndrome

---

## ■ ВВЕДЕНИЕ

Последние два десятилетия развития медицины ознаменовались рядом прорывных исследований в области микробного состава организма человека. Число совокупных генов микробиома превосходит человеческий геном и составляет около 3 млрд генов [1]. Микробиота выполняет ряд важнейших для организма хозяина функций, например, синтез незаменимых аминокислот и витаминов, детоксикация ксенобиотиков, переваривание полисахаридов и другие [2, 3]. Согласно оценкам американских исследователей, соотношение микробных и человеческих клеток в теле составляет 1:1, причем микроорганизмы обладают значительной вариативностью (до 53%) [4]. Микробиота человека отличается разнообразием видов, однако большинство микроорганизмов принадлежат к четырем систематическим типам: Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria и Proteobacteria. Наиболее плотное бактериальное сообщество организма представлено в толстом кишечнике и в основном состоит из типов Firmicutes и Bacteroidetes (более 90%) [3].

Многие десятилетия дополняются данные о существовании тесной связи между кишечником и мозгом в виде взаимовлияний иммунной системы кишечника, энтеральной нервной системы, эндокринными клетками кишечника, которые в настоящее время дополнены еще одним компонентом в виде кишечной микробиоты. Это позволило сформировать понятие об оси «микробиота – кишечник – мозг» [5]. Влияние микробиоты на развитие патологии нервной системы показано при следующих заболеваниях: болезни Паркинсона и Альцгеймера, рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз, цереброваскулярные заболевания, артериовенозные мальформации, стресс, депрессия, мигрень, боли различной локализации, аутизм [6].

Рядом исследований была показана связь между микробиотой кишечника и наличием висцеральной боли. Так, синдром раздраженного кишечника, который относят к разновидностям дисфункциональной боли, обусловленной центральной сенситизацией, ассоциирован с дисгомеостазом кишечной микробиоты [7–9]. Влияние микробиома на возникновение периферической невропатической боли было показано у пациентов с химиоиндуцированной периферической невропатией, возникшей на фоне лечения онкологических заболеваний [10]. Важен тот факт, что химиоиндуцированная невропатическая боль, вызванная паклитакселином, была уменьшена использованием пробиотиков, которые выступили в качестве адъювантного противоболевого средства [11]. Исследованиями последних лет установлено влияние по оси «микробиота – кишечник – мозг» при развитии мигрени [12].



Особая роль в возникновении хронического болевого синдрома принадлежит центральной сенситизации, которая развивается при вовлечении в патологический процесс восходящих и нисходящих соматосенсорных путей, а также дисбалансе соотношений функционирования болевой и противоболевой систем головного мозга. Состав микробиоты влияет на возникновение центральной сенситизации у пациентов с фибромиалгией, которые характеризуются специфическим микробным набором, характерным только для указанных лиц [13].

Учитывая механизмы влияния микробиоты на развитие центральной сенситизации, представляет интерес его изучение у пациентов с постинсультным болевым синдромом. Установлено, что у пациентов, перенесших инфаркт мозга или транзиторную ишемическую атаку, увеличено количество условно-патогенных микроорганизмов кишечного происхождения, таких как *Enterobacter*, *Megasphaera*, *Oscillibacter* и *Desulfovibrio*, а полезные роды, включая *Bacteroides*, *Prevotella* и *Faecalibacterium*, были менее распространены. При этом системное воздействие *Porphyromonas gingivalis* было связано с повышенным риском развития инфаркта мозга [14].

Учитывая перечисленные механизмы, возможно влияние кишечной микробиоты на возникновение болевого синдрома у пациентов после мозгового инсульта, что является актуальным и представляет научный интерес.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить особенности состава кишечной микробиоты у пациентов с постинсультным болевым синдромом.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследование проводилось на базе УЗ «Гомельская университетская клиника – областной госпиталь инвалидов ВОВ» и научно-исследовательской лаборатории УО «Гомельский государственный медицинский университет».

Для выполнения работы были установлены следующие критерии включения пациентов в исследование и исключения из него.

Критерии включения: установленные диагнозы «инфаркт мозга» (I63) и «внутри-мозговое кровоизлияние» (I61) вне зависимости от периода; подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: дегенеративные и воспалительные заболевания нервной системы, травмы центральной нервной системы в анамнезе, наличие у пациента выраженных когнитивных (балл по шкале MMSE ниже 10) и речевых нарушений, которые препятствуют заполнению тестов.

Критериями диагностики постинсультного болевого синдрома являлись [15]:

- обязательные: боль в области тела, соответствующей поражению ЦНС; развитие боли после подтвержденного перенесенного инсульта, подтверждение поражения ЦНС данными нейровизуализации, негативными или позитивными сенсорными феноменами в области тела, соответствующей поражению ЦНС, исключение ноцицептивной или периферической невропатической природы боли;
- дополнительные: отсутствие первичной связи с моторными нарушениями, воспалением или локальным поражением тканей, описательные характеристики: жгучая, холодящая, подобная удару электрического тока, ноющая, давящая, колющая и другие, аллодиния или дизестезия на прикосновение или холоде.

Было обследовано 27 пациентов, средний возраст  $60,5 \pm 8,9$  года, из них 18 мужчин (66,7%) и 9 женщин (33,3%). Инфаркт головного мозга (ИГМ) был установлен в 22 случаях (81,5%), 5 пациентов (18,5%) перенесли внутримозговое кровоизлияние (ВМК).

Обследованные пациенты были распределены на две группы: основная – с наличием постинсультного болевого синдрома и сравнения – без постинсультного болевого синдрома. В основную группу вошли 16 пациентов (средний возраст –  $62,2 \pm 9,03$  года), из них 10 мужчин (62,5%) и 6 женщин (37,5%). Группу сравнения без постинсультной боли составили 11 пациентов (средний возраст –  $58,0 \pm 8,44$  года), из них 8 мужчин (72,7%) и 3 женщины (27,3%).

Среди пациентов с постинсультным болевым синдромом наблюдались следующие фенотипы боли: скелетно-мышечная и боль в плече – по 3 случая (18,7%), центральная боль – 8 пациентов (50%) и головная боль – 2 пациента (12,5%).

Повреждение правого каротидного бассейна (ПКБ) наблюдалось у 11 (40,7%) пациентов, левого (ЛКБ) – в 10 (37,03%) случаях, а в вертебробазилярном (ВББ) – 6 (22,2%) случаев.

В табл. 1 приведены сопутствующие заболевания, которые являлись факторами риска острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК), а также отягощали течение основного заболевания.

Таким образом, артериальная гипертензия, встречающаяся у 21 (77,7%) пациента, а также ишемическая болезнь сердца (18 (66,6%)) и атеросклеротический кардиосклероз (8 (29,6%)) являются самыми распространенными сопутствующими заболеваниями при ОНМК.

Для изучения особенностей кишечной микробиоты и оценки ее значения в развитии связанных с ней заболеваний выбран метод высокопроизводительного секвенирования по протоколу 16S с использованием платформы Illumina MiSeq. Сбор кала осуществляли одноразовыми стерильными лопатками в специальные сухие стерильные флаконы. Биологический материал транспортировали в лабораторию в специальных термоконтейнерах с хладоэлементами. Время транспортировки в лабораторию было минимальным, последующее хранение осуществляли в низкотемпературных морозильниках при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ . Проведение высокопроизводительного секвенирования включало несколько этапов пробоподготовки: экстракция и очистка нуклеиновых кислот, спектрофотометрия (флуорометрия),

**Таблица 1**  
**Факторы риска ОНМК и сопутствующие заболевания**  
**Table 1**  
**Risk factors for stroke and comorbidities**

| Сопутствующая патология           | Число пациентов (n=27) |      |
|-----------------------------------|------------------------|------|
|                                   | абс.                   | %    |
| Ишемическая болезнь сердца        | 18                     | 66,6 |
| Артериальная гипертензия          | 21                     | 77,7 |
| Сахарный диабет 2-го типа         | 4                      | 14,8 |
| Дисциркуляторная энцефалопатия    | 2                      | 7,4  |
| Атеросклеротический кардиосклероз | 8                      | 29,6 |
| Пиелонефрит, мочекаменная болезнь | 2                      | 7,4  |



проведение таргетной ПЦР, очистка продуктов таргетной ПЦР, измерение концентрации ампликонов, выравнивание концентраций ампликонов, проведение индексной ПЦР (получение библиотек), очистка продуктов индексной ПЦР, проверка качества полученных библиотек, измерение и выравнивание концентраций библиотек, получение общей библиотеки 4 нМ, денатурация библиотек, запуск протокола секвенирования. Высокопроизводительное секвенирование проводилось с использованием генетического анализатора MiSeq (Illumina, США) с использованием протокола, основанного на анализе переменных регионов гена 16S рРНК. Анализ данных проводили с использованием программного обеспечения BaseSpace Sequence Hub (Illumina, США), приложение 16S Metagenomics и приложение DRAGEN Metagenomics (с использованием алгоритма Kraken2 (<https://ccb.jhu.edu/software/kraken2>). Удаление последовательностей праймеров производилось на основании использования сервиса Preprocess 16S (<https://github.com/masikol/preprocess16S>), низкокачественных прочтений – Trimmomatic [16]. Расчет статистических показателей осуществлялся с помощью среды программирования для статистической обработки данных R: version 4.1.1, пакеты Phyloseq 1.36.0 [17], Ggstatsplot\_0.9.1 [18], Tidyverse\_1.3.1 [19]. Сравнение несвязанных групп осуществлялось при помощи критерия Краскела – Уоллиса с последующим апостериорным попарным сравнением в качестве метода контроля ожидаемой доли ложных отклонений.

При анализе микробиомов для всех групп пациентов определялось общее количество родов микроорганизмов, оценивались медианные значения относительного количества определенного таксона в соответствующей группе на уровне рода как наиболее информативного показателя, используемого при оценке микробиомов.

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе микробного состава полученных образцов отобран для дальнейшего секвенирования материал 15 пациентов основной группы и 9 пациентов группы сравнения. Соотношение состава микробиома для каждого образца группы представлено на рис. 1.

Наиболее распространенными таксонами на уровне типа явились Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria. Представленность указанных таксонов в выделенных группах приведена в табл. 2.

Значимой разницы по наиболее распространенным таксонам в группах с постинсультной болью и без нее не выявлено.

При этом была установлена значимая разница между представительством в разных группах таксонов Chlamydiae и Fusobacteria. Так, в основной группе доля Chlamydiae составила  $1,17 \times 10^{-5}$  (0,00;  $1,8 \times 10^{-5}$ ) и в группе сравнения – 0 (0,00; 0,00),  $p=0,022$ . Таксон Fusobacteria в основной группе равнялся  $5,2 \times 10^{-5}$  ( $3,22 \times 10^{-5}$ ;  $1,27 \times 10^{-4}$ ), а в группе сравнения составил  $1,05 \times 10^{-5}$  (0,00;  $2,35 \times 10^{-5}$ ),  $p=0,046$ , что показано на рис. 2.

Таким образом, у пациентов с постинсультным болевым синдромом наблюдалось присутствие в кишечном микробиоме таксонов Chlamydiae и Fusobacteria, что, возможно, вносило вклад в формирование болевого синдрома.

При анализе различий таксонов с небольшой долей представительства в кишечном микробиоме у пациентов выделенных групп установлено значимое различие в количестве таксона Proteobacteria согласно DESeq2-анализу ( $p=0,00008$ ) (рис. 3).

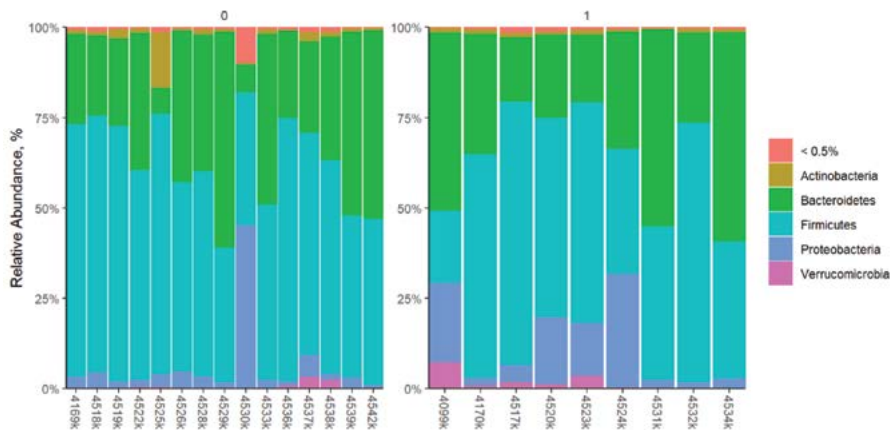


Рис. 1. Соотношение состава микробиома на уровне типа пациентов выделенных групп (0 – основная группа; 1 – группа сравнения)  
Fig. 1. The ratio of the composition of the microbiome at the Phylum level of patients of selected groups (0 – main group; 1 – comparison group)

Таблица 2  
Доля наиболее распространенных таксонов на уровне типа в выделенных группах  
Table 2  
The proportion of the most common taxa at the phylum level in the distinguished groups

| Таксоны        | Основная группа, Med (LQ; UQ) | Группа сравнения, Med (LQ; UQ) | p при сравнении групп тестом Wilcoxon |
|----------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| Actinobacteria | 0,01 (5,88e-03; 0,01)         | 9,64e-03 (6,81e-03; 0,01)      | 0,5195                                |
| Bacteroidetes  | 0,34 (0,24; 0,45)             | 0,33 (0,23; 0,5)               | 0,9534                                |
| Firmicutes     | 0,58 (0,48; 0,71)             | 0,55 (0,38; 0,62)              | 0,1383                                |
| Proteobacteria | 0,03 (0,02; 0,04)             | 0,05 (0,04; 0,19)              | 0,7259                                |

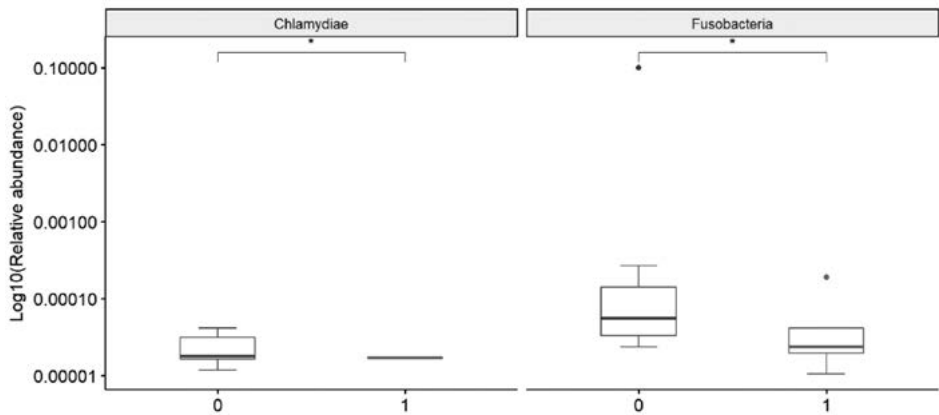
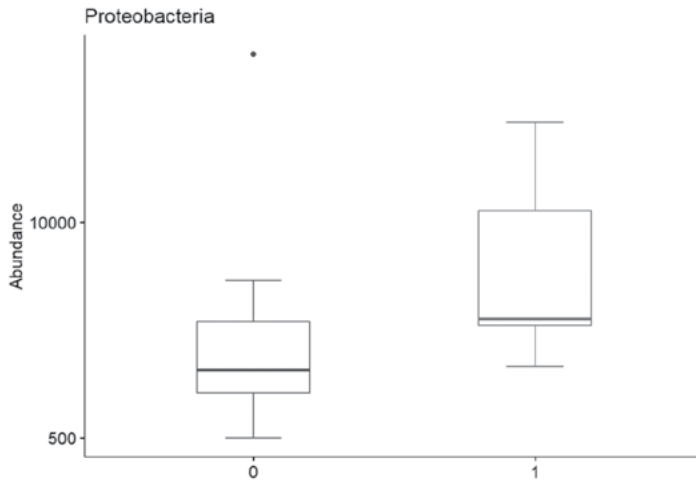


Рис. 2. Представительство таксонов Chlamydiae и Fusobacteria в выделенных группах (0 – основная группа; 1 – группа сравнения)  
Fig. 2. Representation of Chlamydiae and Fusobacteria taxa in selected groups (0 – main group; 1 – comparison group)

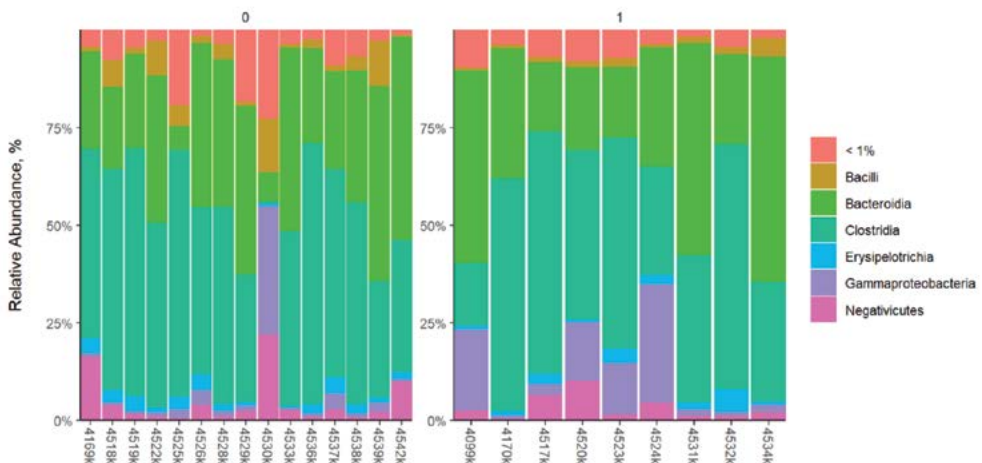


**Рис. 3. Представительство таксонов Proteobacteria в выделенных группах (0 – основная группа; 1 – группа сравнения)**

**Fig. 3. Representation of Proteobacteria taxa in selected groups (0 – main group; 1 – comparison group)**

У лиц с постинсультным болевым синдромом доля Proteobacteria значимо меньше, чем в группе сравнения.

Был проведен анализ состава микробиома на уровне классов в выделенных группах (рис. 4).



**Рис. 4. Соотношение состава микробиома на уровне классов выделенных групп (0 – основная группа; 1 – группа сравнения)**

**Fig. 4. The ratio of the composition of the microbiome at the level of classes of selected groups (0 – main group; 1 – comparison group)**



Таблица 3  
Доля наиболее распространенных таксонов на уровне классов в выделенных группах  
Table 3  
The proportion of the most common taxa at the class level in the selected groups

| Таксоны             | Основная группа, Med (LQ; UQ) | Группа сравнения, Med (LQ; UQ) | p при сравнении групп тестом Wilcoxon |
|---------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| Clostridia          | 0,49 (0,39; 0,55)             | 0,44 (0,31; 0,60)              | 0,6824                                |
| Bacteroidia         | 0,34 (0,24; 0,43)             | 0,31 (0,21; 0,50)              | 1                                     |
| Gammaproteobacteria | 0,01 (4,37e-03; 0,02)         | 0,02 (0,01; 0,15)              | 0,06368                               |
| Negativicutes       | 0,03 (9,89e-03; 0,04)         | 0,02 (0,01; 0,04)              | 0,907                                 |
| Bacilli             | 0,02 (9,96e-03; 0,06)         | 0,01 (6,19e-03; 0,02)          | 0,1085                                |

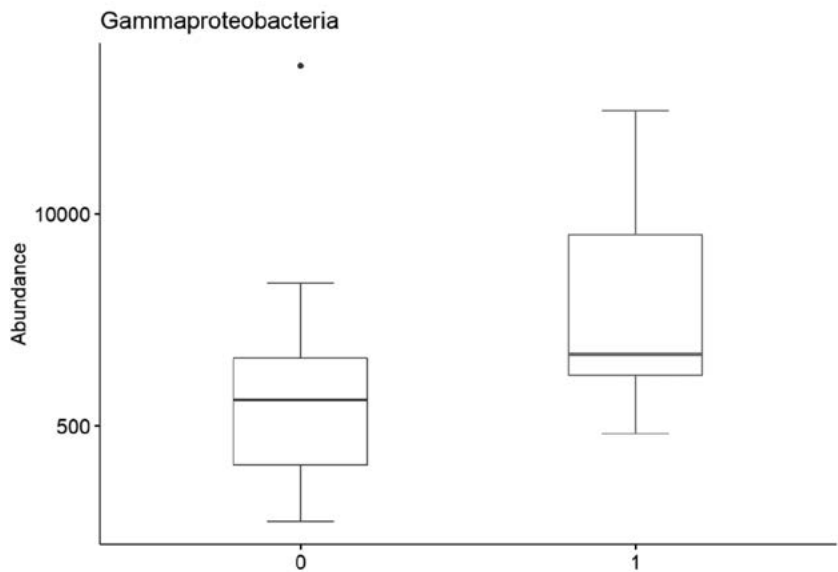


Рис. 5. Соотношение Gammaproteobacteria в выделенных группах (0 – основная группа; 1 – группа сравнения)  
Fig. 5. The ratio of Gammaproteobacteria in selected groups (0 – main group; 1 – comparison group)

Таким образом, на уровне классов значимых различий в представленности микроорганизмов получено не было, однако обращает на себя внимание тенденция к отличию в доле Gammaproteobacteria с увеличением их числа в группе сравнения, которая подтверждается результатами сравнения классов с помощью DESeq2-анализа ( $p=0,000107$ ) и Wilcoxon test ( $p=0,045$ ) (рис. 5).

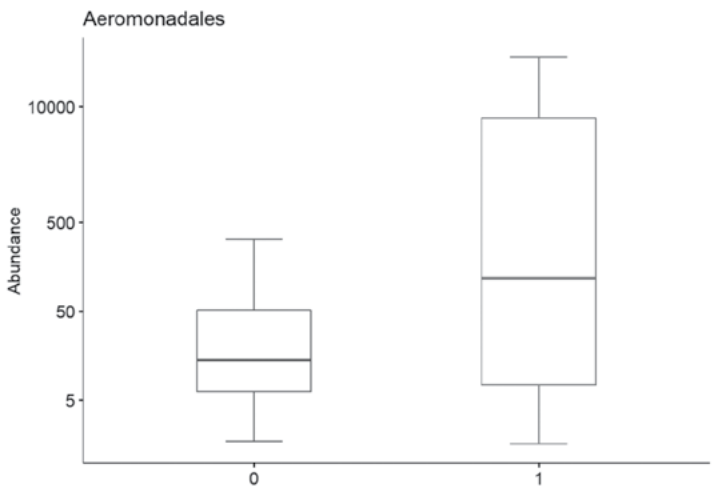
На уровне порядков также были выделены таксоны, значимо отличающиеся в группах с постинсультной болью и без нее (табл. 4).

Также была установлена разница в представленности Gammaproteobacteria класса Aeromonadales со значимым увеличением их числа у пациентов без постинсультного болевого синдрома ( $p<0,0001$ ), что видно на рис. 6.



**Таблица 4**  
**Доля таксонов на уровне порядка в выделенных группах (при сравнении групп тестом Wilcoxon)**  
**Table 4**  
**The proportion of taxa at the level of order in the selected groups (when comparing groups using the Wilcoxon test)**

| Тип            | Класс               | Порядок            | Основная группа, Med (LQ; UQ) | Группа сравнения, Med (LQ; UQ) | p       |
|----------------|---------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------|
| Proteobacteria | Alphaproteobacteria | Magnetococcales    | -1,62<br>(-2,08; -1,08)       | -2,18<br>(-2,39; -2,02)        | 0,01334 |
| Spirochaetes   | Spirochaetia        | Spirochaetales     | -0,61<br>(-1,31; -0,47)       | -2,02<br>(-2,18; -1,23)        | 0,01334 |
| Actinobacteria | Actinomycetia       | Geodermatophilales | -2,13<br>(-2,28; -1,31)       | -0,46<br>(-1,05; -0,32)        | 0,02952 |
| Fusobacteria   | Fusobacteriia       | Fusobacteriales    | 0,44<br>(-0,29; 1,27)         | -0,68<br>(-2,15; -0,29)        | 0,02952 |



**Рис. 6. Соотношение Gammaproteobacteria класса Aeromonadales в выделенных группах (0 – основная группа; 1 – группа сравнения)**  
**Fig. 6. The ratio of Gammaproteobacteria class Aeromonadales in selected groups (0 – main group; 1 – comparison group)**

Анализ результатов на уровне семейств показал значимые отличия в составе микроорганизмов у лиц с постинсультной болью и без нее в следующих таксонах (табл. 5).  
Анализ DESeq2 на уровне видов показал наибольшую разницу в следующих таксономических единицах: Veillonella, Ligilactobacillus, Cupriavidus, Succinivibrio ( $p<0,0001$ ), что представлено на рис. 7.  
При анализе альфа-разнообразия микробного представительства между обследованными группами значимой разницы получено не было (рис. 8).  
Установленные различия требуют дальнейшего уточнения и продолжения проведения исследований.

Таблица 5  
Доля таксонов на уровне семейств в выделенных группах (при сравнении групп тестом Wilcoxon)  
Table 5  
The proportion of taxa at the family level in the selected groups (when comparing groups using the Wilcoxon test)

| Тип – класс – порядок – семейство                                                                    | Основная группа, Med (LQ; UQ) | Группа сравнения, Med (LQ; UQ) | p        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|----------|
| Proteobacteria – Alphaproteobacteria – Magnetococcales – Magnetococcaceae                            | -1,26<br>(-1,58; -0,54)       | -1,67<br>(-1,80; -1,57)        | 0,006666 |
| Proteobacteria – Alphaproteobacteria – Hyphomicrobiales – Rhizobiaceae                               | 0,05<br>(-1,30; 0,69)         | -1,57<br>(-1,67; -1,37)        | 0,01127  |
| Proteobacteria – Betaproteobacteria – Burkholderiales – Burkholderiaceae                             | 1,12<br>(0,61; 1,99)          | 2,92<br>(2,16; 3,44)           | 0,01334  |
| Spirochaetes – Spirochaetia – Spirochaetales – Spirochaetaceae                                       | -0,09<br>(-0,90; 0,03)        | -1,55<br>(-1,65; -0,68)        | 0,01851  |
| Fusobacteria – Fusobacteriia – Fusobacteriales – Leptotrichiaceae                                    | 0,43<br>(-0,25; 1,38)         | -1,37<br>(-1,65; 0,14)         | 0,02952  |
| Firmicutes – Clostridia – Thermoanaerobacterales – Thermoanaerobacterales Family III. Incertae Sedis | 1,15<br>(0,55; 1,44)          | 1,69<br>(1,11; 2,35)           | 0,03428  |
| Chlamydiae – Chlamydiia – Chlamydiales – Chlamydiaceae                                               | -0,61<br>(-1,50; -0,14)       | -1,67<br>(-1,80; -1,57)        | 0,03428  |
| Proteobacteria – Betaproteobacteria – Burkholderiales – Alcaligenaceae                               | 1,27<br>(0,94; 1,56)          | 2,24<br>(1,90; 2,36)           | 0,03967  |
| Actinobacteria – Actinomycetia – Geodermatophilales – Geodermatophilaceae                            | -1,68<br>(-1,74; -0,90)       | 0,04<br>(-0,68; 0,14)          | 0,03967  |
| Bacteroidetes – Flavobacteriia – Flavobacteriales – Weeksellaceae                                    | -0,06<br>(-1,54; 2,55)        | 3,23<br>(0,65; 5,37)           | 0,03967  |

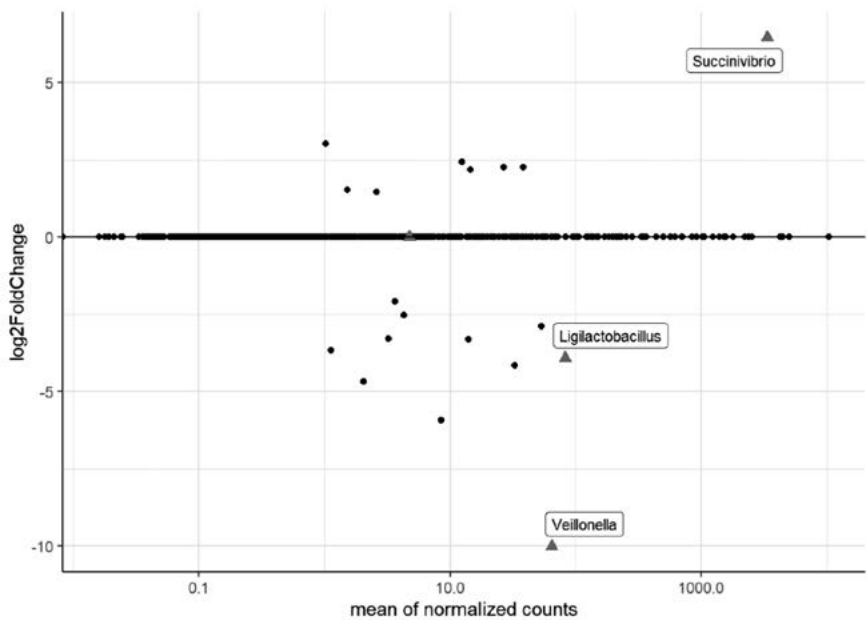
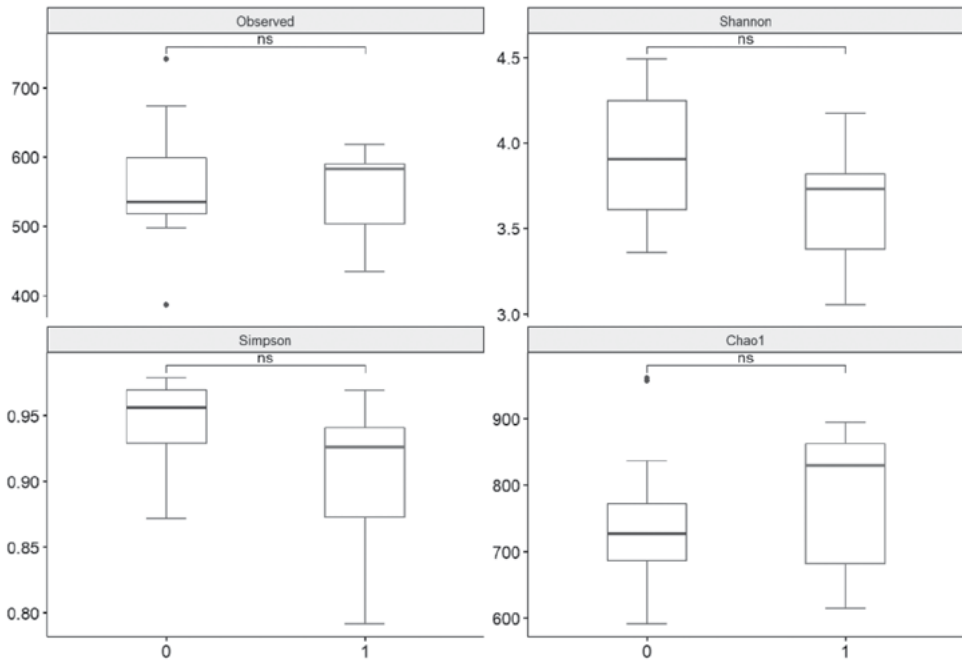


Рис. 7. Виды, которые показали наибольшее различие в группах пациентов с постинсультной болью и без нее  
Fig. 7. Types that showed the greatest difference in groups of patients with and without post-stroke pain



**Рис. 8. Оценка альфа-разнообразия в обследованных группах (0 – основная группа; 1 – группа сравнения)**

**Fig. 8. Assessment of alpha diversity in the examined groups (0 – main group; 1 – comparison group)**

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые в Республике Беларусь проведено пилотное исследование по изучению особенностей кишечного микробиома у пациентов с постинсультным болевым синдромом. Установлены особенности видового состава микробного представительства кишечника, что может указывать на возможные новые механизмы патогенеза возникновения указанной разновидности боли.

При изучении микробного представительства у пациентов с постинсультной болью и без нее наиболее распространенными таксонами на уровне типа явились Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, значимой разницы между группами на этом уровне установлено не было.

Показана разница в доле таксонов Chlamydiae и Fusobacteria с преобладанием указанных микроорганизмов у пациентов с постинсультной болью.

При анализе представительства Proteobacteria в выделенных группах установлено преобладание данного микроорганизма у пациентов в группе сравнения без болевого синдрома. Также были уточнены видовые категории указанных микроорганизмов в обследованных подгруппах.

Различий по альфа-разнообразию микроорганизмов в группах пациентов с постинсультной болью и без нее получено не было. Установленные различия требуют дальнейшего уточнения и продолжения проведения исследований.

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Qin J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 2010;464(7285):59–65.
2. Stoma I.O. (2020) *Microbiome in medicine*. Moskou: GEOTAR-Media, 319 p. (in Russian).
3. Stoma I.O., Yushchuk N.D. Human microbiome at the junction of Infectology and other branches of medicine: the current state of the problem and reassessment of views on the pathogenesis of diseases. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2019;8(3):78–84. (in Russian)
4. Abbott A. (2016) Scientists bust myth that our bodies have more bacteria than human cells. *Nature News*. doi: 10.1038/nature.2016.19136.
5. Montiel-Castro A., Gonzales-Servantes R., Bravo-Ruiseco G., Pacheco-Lopez G. The microbiota-gut-brain axis: neurobehavioral correlates health and sociality. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 2013;7:70.
6. Zhu S.; Jiang Y., Xu K. et al. The progress of gut microbiome research related to brain disorders. *J Neuroinflammation*, 2020;17:25–35.
7. O'Mahony S.M., Dinan T.G., Cryan J.F. The gut microbiota as a key regulator of visceral pain. *Pain*, 2017;158:19–28.
8. Luczynski P., Tramullas M., Viola M. et al. Microbiota regulates visceral pain in the mouse. *Elife*, 2017;6:e25887.
9. Hollister E.B., Oezguen N., Chumpitazi B.P. et al. Leveraging Human Microbiome Features to Diagnose and Stratify Children with Irritable Bowel Syndrome. *J Mol Diagn*, 2019;21:449–461.
10. Shen S., Lim G., You Z. et al. Gut microbiota is critical for the induction of chemotherapy-induced pain. *Nat Neurosci*, 2017;20:1213–1216
11. Castelli V., Palumbo P., d'Angelo M. et al. Probiotic DSF counteracts chemotherapy induced neuropathic pain. *Oncotarget*, 2018;9:27998–28008.
12. Arzani M., Jahromi S.R., Ghorbani Z. et al. (2020) Gut-brain Axis and migraine headache: a comprehensive review. *Journal of Headache and Pain*, 2020;21:15.
13. Erdrich S., Hawrelak J.A., Myers S.P. et al. Determining the association between fibromyalgia, the gut microbiome and its biomarkers: A systematic review. *BMC Musculoskelet Disord*, 2020;21(1):181.
14. Yin J., Liao S.X., He Y. et al. Dysbiosis of Gut Microbiota With Reduced Trimethylamine-N-Oxide Level in Patients With Large-Artery Atherosclerotic Stroke or Transient Ischemic Attack. *J Am Heart Assoc*, 2015;4(11):381–398.
15. Xap H. Klit, Finnerup N.B., Jensen T.S. Central post-stroke pain: clinical characteristics, pathophysiology, and management. *Lancet Neurol*, 2009;8(9):857–868.
16. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics*, 2014;30(15):2114–2120.
17. McMurdie and Holmes (2013) phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE*, 8(4):e61217.
18. Patil I. Visualizations with statistical details: The 'ggstatsplot' approach. *Journal of Open Source Software*, 2021;6(61):3167. doi: 10.21105/joss.0316
19. Wickham H., Averick M., Bryan J. et al. Welcome to the tidyverse. *Journal of Open Source Software*, 2019;4(43):1686.