

На правах рукописи

Колесникова Ирина Максимовна

**ОСОБЕННОСТИ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ
ПРИНАДЛЕЖНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ДНК КРОВИ И
СОДЕРЖАНИЯ НЕЙРОТРОФИНОВ У БОЛЬНЫХ С
ОЖИРЕНИЕМ**

1.5.4 – Биохимия

1.5.3 – Молекулярная биология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор медицинских наук,
профессор

Шестопалов Александр Вячеславович

доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН

Румянцев Сергей Александрович

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук,
профессор

Лукашева Елена Васильевна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», Медицинский институт, кафедра биохимии им. академика Т.Т. Берёзова, профессор

доктор биологических наук

Буддин Антон Александрович

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Центр «Цифрового биодизайна и персонализированного здравоохранения», Институт персонализированной онкологии, главный научный сотрудник

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи

Защита диссертации состоится «__» _____ 202__ г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.058.07 при ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, по адресу 117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1) и на сайте rsmu.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

Кягова Алла Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Ожирение представляет собой состояние, с одной стороны, снижающее качество жизни пациентов в краткосрочной перспективе и, с другой стороны, значительно повышающее риск развития ряда патологий в долгосрочной перспективе. Сердечно-сосудистые заболевания, метаболический синдром, сахарный диабет II типа (СДII), некоторые виды рака и ряд других заболеваний выявляются при ожирении в несколько раз чаще, что значительно повышает риск инвалидизации и смерти таких пациентов (Василювский и др., 2019; Piché, Tchernof, Després, 2020). Учитывая, что распространенность ожирения растет с каждым годом, а терапия ожирения и ассоциированных с ним патологий затрачивает миллиарды долларов/евро государственного бюджета, ожирение является социально значимой проблемой (NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC), 2016; Lorenzo De et al., 2020).

Поражение центральной и периферической нервных систем крайне распространено у пациентов с ожирением (O'Brien et al., 2017). В свете негативного влияния ожирения на нервную систему интерес представляют нейротрофины – ростовые факторы, вовлеченные в процессы дифференцировки, функционирования и выживания нейронов, и которые также способны регулировать энергетический гомеостаз (Rios, 2014). В литературе присутствуют противоречивые данные о содержании нейротрофинов: фактора роста нервов (nerve growth factor, NGF) и нейротрофического (нейротропного) фактора мозга (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) в крови у пациентов с ожирением и СДII (Faradji, Sotelo, 1990; Ordoñez et al., 1994; Hristova, Aloe, 2006; Bulló et al., 2007; Sandrini et al., 2018). К стимулам, способным регулировать синтез и секрецию нейротрофинов, относятся провоспалительные цитокины, уровень которых может повышаться при ожирении (Monteiro, Azevedo, 2010; West, Pruunsild, Timmusk, 2014). Кроме того, исследования на животных показали, что изменения в кишечном микробиоме также способны оказывать влияние на уровни NGF и BDNF (Schéle et al., 2013; Stilling et al., 2015; Aygun et al., 2022).

В целом, ожирение представляет собой патологию тесно взаимосвязанную с изменениями кишечного микробиома. Последние десятилетия уделяется пристальное внимание роли кишечной микробиоты в развитие ожирения и предпринимаются попытки модуляции микробного сообщества кишечника, в рамках терапии ожирения (Cuevas-Sierra et al., 2019). Значимым компонентом в формировании системного воспаления при ожирении признается усиленная транслокация компонентов бактериальных клеток из кишечника (Sanz, Moya-Pérez, 2014). Одним из таких компонентов является микробная ДНК, формирующая микробиом крови (Potgieter et al.,

2015). Транслокация бактериальной ДНК в кровь при ожирении связана с инсулинорезистентностью, поддержанием системного воспаления, а также с развитием и поддержанием местного воспаления в жировой ткани при СДII (Ortiz et al., 2014; Massier et al., 2020).

Однако, наличие вялотекущего системного воспаления и метаболических нарушений характерно не для всех пациентов с ожирением. Инсулинорезистентность, гипергликемия, дислипидемия и активация системного воспаления – отличительные особенности метаболически нездорового фенотипа ожирения (МНЗО) и не характерны для метаболически здорового фенотипа (МЗО) (Iacobini et al., 2019). Кроме того, для пациентов с МНЗО характерен высокий риск развития осложнений, тогда как у лиц с МЗО подобный риск относительно невысок (Iacobini et al., 2019).

Исходя из вышесказанного мы предполагаем, что ожирение разных метаболических фенотипов может по-разному влиять на таксономический состав бактериальной ДНК крови и на содержание нейротрофинов в сыворотке.

Степень разработанности темы

Впервые бактериальная ДНК была выявлена из крови здоровых доноров Nikkari S. и соавт. (2001) (Nikkari et al., 2001). С тех пор изменения в составе микробиома крови были отмечены для таких патологий как ожирение, СДII, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, сердечно-сосудистые заболевания, астма, цирроз печени, острый панкреатит, шизофрения и др. (Castillo et al., 2019; Velmurugan et al., 2020; Goraya et al., 2022). Появляются данные, что микробиом крови и его отдельные таксоны ассоциированы с риском развития ожирения и СДII. Так Jing Qiu и соавт. (2019) обнаружили, что содержание ДНК рода *Bacteroides* в крови ассоциировано со сниженным риском развития СДII, тогда как содержание *Sediminibacterium* – с повышенным риском СДII. Ghaemi F. и соавт. (2021) показали, что снижение *Akkermansia*, *Faecalibacterium* и *Bifidobacterium* в крови может быть предрасполагающим фактором риска развития СДII. Исследование DESIR за период 9-летнего наблюдения выявило, что у пациентов с исходно высокими уровнями бактериальной ДНК крови выше риск развития абдоминального ожирения и СДII (Amar et al., 2011). Другой проект MARK-AGE (2021) показал наличие тесной связи между количеством копий бактериальной ДНК и уровнями лейкоцитов, свободных жирных кислот, глюкозы и инсулина (D'Aquila et al., 2021). Также транслокация бактериальной ДНК в кровь при ожирении связана с инсулинорезистентностью, поддержанием системного воспаления, формированием и поддержанием местного воспаления в жировой ткани при СДII (Ortiz et al., 2014; Massier et al., 2020). При этом, развитие системного воспаления, инсулинорезистентности, гипергликемии и дислипидемии

характерно для пациентов с МНЗО, но не с МЗО (Iacobini et al., 2019). На основании этого можно предполагать, что профиль микробиома крови отличается у пациентов с МЗО и МНЗО, однако на сегодняшний день отсутствуют работы, демонстрирующие влияния метаболического фенотипа ожирения на таксономический состав бактериальной ДНК крови.

Микробная ДНК представляет собой один из патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), способных стимулировать продукцию провоспалительных цитокинов (Cheng et al., 2020). В свою очередь, было показано, что провоспалительные цитокины участвуют в регуляции синтеза и секреции NGF и BDNF (West, Pruunsild, Timmusk, 2014; Papathanassoglou, Miltiadous, Karanikola, 2015; Minnone, Benedetti De, Bracci-Laudiero, 2017). Наличие пресекающихся сигнальных путей теоретически позволяет рассматривать микробную ДНК крови в качестве медиатора оси «микробиота – кишечник – мозг», а нейротрофины – в качестве индукторов.

Следует отметить, что на сегодняшний день остается открытым вопрос о влиянии ожирения на содержание нейротрофинов в сыворотке. Так ряд работ показал отрицательную корреляцию между BDNF плазмы крови и ожирением, другие исследования показали, напротив, что у пациентов с ожирением плазменная концентрация BDNF повышается или же корреляция между ожирением и содержанием BDNF вообще отсутствует (Slusher et al., 2015; Lee et al., 2016; Motamedi, Karimi, Jafari, 2017). Повышение уровня NGF в плазме при ожирении отмечен в работах Hristova M. и Aloe L. (2006) и Bulló M. и соавт. (2007). Однако ряд работ выявил снижение концентрации сывороточного NGF на фоне сахарного диабета (Faradji, Sotelo, 1990; Ordoñez et al., 1994). Учитывая влияние провоспалительных цитокинов на синтез и секрецию нейротрофинов, а также разный «уровень» системного воспаления и риска осложнений у пациентов с МЗО и МНЗО, представляется важным учитывать влияние метаболического фенотипа ожирения при изучении его влияния на содержание NGF и BDNF. Кроме того, так как была описана взаимосвязь бактериальной ДНК крови с воспалением, следует исследовать возможную связь между микробиомом крови и нейротрофинами.

Целью исследования является установление особенностей таксономического состава бактериальной ДНК крови и содержания нейротрофинов, а также выявление возможной взаимосвязи между ними у здоровых доноров и пациентов с различными метаболическими фенотипами ожирения.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности таксономической принадлежности бактериальной ДНК крови у пациентов с различными метаболическими фенотипами ожирения;
2. Установить взаимосвязь между микробиотой кала и бактериальной ДНК крови у пациентов с различными метаболическими фенотипами ожирения;
3. Исследовать содержание нейротрофинов NGF и BDNF в сыворотке крови у пациентов с различными метаболическими фенотипами ожирения;
4. Исследовать взаимосвязь таксономического состава микробиоты кала и содержания NGF и BDNF в сыворотке у здоровых доноров и пациентов с ожирением, а также влияние метаболического фенотипа ожирения на эту взаимосвязь;
5. Исследовать взаимосвязь таксономического состава бактериальной ДНК крови и содержания NGF и BDNF в сыворотке у здоровых доноров и пациентов с ожирением, а также влияние метаболического фенотипа ожирения на эту взаимосвязь.

Научная новизна

Впервые подробно описан таксономический состав бактериальной ДНК крови не только у здоровых доноров и пациентов с ожирением, но и у пациентов с МЗО и МНЗО, с выявлением особенностей микробиома каждой из групп.

Впервые продемонстрировано различное влияние разнообразия кишечной микробиоты на разнообразие микробиома крови при разных метаболических фенотипах ожирения. У пациентов с МЗО высокое разнообразие микробиома кишечника ассоциировано с низким разнообразием микробиома крови. Тогда как при МНЗО у пациентов увеличение разнообразия кишечной микробиоты напротив сопровождается увеличением разнообразия бактериальной ДНК крови.

Впервые показано, что содержание BDNF и NGF в сыворотке крови не зависит от метаболического фенотипа ожирения. Снижение сывороточного NGF в целом характерно для пациентов с ожирением, тогда как концентрация BDNF схожа со здоровыми донорами.

Впервые изучены взаимосвязи «микробиом кишечника – нейротрофины» и «бактериальная ДНК крови – нейротрофины» у пациентов с различными метаболическими фенотипами ожирения. Показано, что содержание основных, конститутивных таксонов микробиоты кишечника или микробиома крови не оказывает влияние на содержание нейротрофинов вне зависимости от наличия или отсутствия ожирения. Однако, доли ряда минорных таксонов как микробиома кала, так и микробиома крови коррелируют с содержанием BDNF и NGF. При этом

спектр таких таксонов зависит от наличия или отсутствия ожирения, а также его метаболического фенотипа.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные сведения позволяют углубить имеющиеся данные о микробиоме крови и его изменениях при ожирении, а также расширяют наши представления о регуляторной роли бактериальной ДНК крови, включая ее роль в формировании сывороточного пула нейротрофинов.

Проведенное исследование позволило выявить еще один параметр, отличающий метаболически здоровый фенотип ожирения от метаболически нездорового фенотипа – разнообразие микробиома крови.

Так как ожирение сопровождается появлением взаимосвязи «кишечная микробиота – NGF», перспективным представляется модуляция кишечной микробиоты с целью влияния на синтез и секрецию NGF именно у пациентов с ожирением, учитывая сложности с применением рекомбинантного NGF, связанные с активацией ноцицептивной системы.

Кроме того, полученные данные, указывающие на усиление бактериальной транслокации у пациентов с метаболически нездоровым ожирением, могут служить теоретическими предпосылками для разработки новых подходов в диагностике и лечении ожирения.

Методология и методы исследования

Проведено когортное одномоментное исследование. Сбор данных и образцов проводился в соответствии с протоколом НИР «Создание банка биообразцов сыворотки крови и фекалий от здоровых доноров и пациентов с ожирением, метаболическим синдромом, сахарным диабетом II типа, нарушением мукозального барьера желудочно-кишечного тракта с целью выявления кандидатных видонеспецифических медиаторов системы quorum sensing микробиоты человека, модулирующих эндокринную и метаболическую функцию жировой ткани» (одобрено ЛЭК ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, протокол №186 от 26.06.2019). Лабораторные методы включали в себя спектрофотометрию, иммуноферментный анализ и полимеразную цепную реакцию. Используемые статистические методы в основном были направлены на выявление различий (сравнительный анализ) и взаимосвязей между изучаемыми параметрами (корреляционный и регрессионный анализы).

Положения выносимые на защиту

1. Разнообразие бактериальной ДНК крови определяется содержанием таких семейств как *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* и *Prevotellaceae*, которые являются основными таксонами кишечной микробиоты, вне зависимости от наличия или отсутствия ожирения.

2. Метаболически нездоровое ожирением сопровождается увеличением разнообразия микробиома крови, по-видимому, вследствие усиления транслокации бактериальной ДНК из кишечника и внекишечных ареалов, чего не наблюдается при метаболически здоровом фенотипе.

3. Для пациентов с ожирением характерно снижение концентрации NGF сыворотки, тогда как содержание BDNF схоже со здоровыми донорами, при этом уровень нейротрофинов не зависит от разнообразия микробиома крови и его основных таксонов, однако содержание бактериальной ДНК некоторых минорных таксонов ассоциировано с концентрациями NGF и BDNF.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность полученных результатов обеспечена репрезентативной выборкой исследования, наличием контрольной группы, использованием современных методик, включая полимеразную цепную реакцию с обязательным проведением контроля качества результатов секвенирования, и статистических инструментов, выбор которых зависел от распределения массивов данных и поставленных задач.

Основные результаты настоящей работы были представлены на российских и международных конференциях: 48-я научная сессия ЦНИИ гастроэнтерологии «Детские корни взрослых проблем», 3–4 марта 2022 г., Москва, Россия; ICOE 2022: 16. International Conference on Obesity and Endocrinology, April 25-26, 2022, Tokyo, Japan; VIII Российский конгресс лабораторной медицины и Российский диагностический саммит, 6–8 сентября 2022 г., Москва, Россия; IV Национальный конгресс с международным участием Лабораторные Технологии в Репродуктивной Медицине и Неонатологии: «Цифровая трансформация: современный тренд в лабораторной диагностике» (ЛАБРИН2022), 28–30 сентября 2022 г., Москва, Россия; XII Съезд Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, 26–28 октября 2022 г., Москва, Россия.

Апробация результатов исследования проведена на заседании кафедры биохимии и молекулярной биологии ЛФ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Протокол №4 от 22.11.2022).

Внедрение результатов исследования

Полученные результаты, характеризующие таксономический состав микробной ДНК крови у здоровых доноров, пациентов с ожирением, в том числе при его различных метаболических фенотипах, внедрены в научно-практическую деятельность лаборатории «Мультимиксные технологии живых систем» Института фундаментальной медицины и биологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; лаборатории молекулярных механизмов

клеточного гемостаза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук и научно-исследовательские лаборатории Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова».

Личный вклад автора

Вклад автора заключается в разработке подхода к анализу массива данных таксономического состава бактериальной ДНК крови, проведение статистического анализа с учетом особенностей полученной выборки, адекватное описание полученных результатов, их интерпретация и формирование выводов, подготовка и публикация статей в научно-практических журналах, представление результатов на научно-практических конференциях.

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертационной работы опубликовано 16 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах, их них: 1 статья в журнале, входящем в перечень ВАК, и 3 статьи в журналах, индексируемых в Web of Science, и 12 тезисов на научно-практических конференциях.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 132 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 2 глав результатов собственных исследований, главы обсуждения результатов, выводов, списка использованных сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 22 рисунками и 24 таблицами. Список использованной литературы содержит 188 источников, из них 7 русскоязычных и 181 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Проведено когортное одномоментное исследование в период 2018-2022 гг. на базе ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, ООО «ЦМЗ» и ФГАОУ ВО КФУ. Для минимизации влияния климатических условий, характера питания и этнических факторов на кишечный микробиом и, как следствие на микробиом крови, в исследование были включены люди, проживающие на одной территории (Ростовская область и город Ростов-на-Дону) в осенне-летний период.

В исследовании приняли участие 243 человека. Критериями включения были: возраст старше 18 лет и отсутствие приема антибиотиков, пре- и пробиотиков в течение 3-х месяцев до момента включения в исследование и подписанное добровольное информированное согласие. Критериями исключения были: тяжелые соматические заболевания; любые заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ); любое острое заболевание; алкоголизм; беременность; депрессия.

Из участников исследования было сформировано две группы: Группа 1, включавшая 136 здоровых доноров, и Группа 2, сформированная из 107 пациентов с ожирением. Дополнительными критериями включения в Группу 1 были: ИМТ от 18,5 до 24,9 кг/м², отсутствие метаболических нарушений (гипергликемия, дислипидемия, гиперурикемия) и отсутствие артериальной гипертензии, а в Группу 2 – ИМТ свыше 30 кг/м² и окружность талии у мужчин свыше 102 см и свыше 88 см у женщин. В соответствии с критериями NCEP АТPIII пациенты Группы 2 были разделены на подгруппы с МЗО (n=40) и МНЗО (n=55) (Expert panel on detection evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults, 2001). Ожирение считалось метаболически нездоровым, если для пациента были характерны три и более критериев: 1) объем талии (♂>102 см; ♀>88 см); 2) триглицериды сыворотки (≥1,7 ммоль/л); 3) холестерол ЛПВП (♂<1,03 ммоль/л; ♀<1,29 ммоль/л); 4) артериальное давление (Sys≥130 мм рт. ст.; Dia≥85 мм рт. ст.); 5) глюкоза натощак (≥5.6 ммоль/л).

У участников исследования проводили отбор цельной венозной крови и образцов фекалий. Из полученных образцов цельной крови и фекалий выделяли бактериальную ДНК с использованием наборов QIAamp BiOstic Bacterimia DNA Kit и QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN GmbH, Германия) с последующим секвенированием вариабельного участка v3-v4 гена 16S рPHK на платформе MiSeq (Illumina, Inc., США). Полученные риды были проанализированы программой QIIME v.1.9.1 (Knight and Caporaso labs., США) с использованием референсной базы данных Greengenes v.13.8 (Second Genome, Inc., США) с 97% порогом сходства между последовательностями. Относительная представленность бактериальных таксонов в общем пуле ридов была получена долями (от 0 до 1), которые рассчитывались на основе количества картированных ридов для каждого таксона. Таким образом, при анализе таксономической принадлежности бактериальной ДНК крови/кала анализировались доли отдельных таксонов в общем пуле бактериальной ДНК крови/кала (от 0 до 1) и частота выделения таксонов у разных исследуемых групп. Для оценки α-разнообразия микробиомов крови и кала были рассчитаны: общее количество наблюдаемых операционных таксономических единиц (operational taxonomic units, OTUs); индекс Chao1; филогенетическое разнообразие (phylogenetic diversity, PD); индекс Shannon; индекс Simpson.

Из образцов крови также получали сыворотку, в образцах которой проводилось исследование концентрации нейротрофинов (BDNF и NGF) методом мультиплексного иммуноферментного анализа (ИФА) на анализаторе Magpix (Bio-Rad Laboratories, США) с использованием коммерческих наборов Milliplex: Human Adipokine Magnetic Bead Panel 1, Human Adipokine Magnetic Bead Panel 2 и Human Myokine Magnetic Bead Panel (Merck, Германия).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения MedCalc (MedCalc Software Ltd, Бельгия). Для выявления различий использовались параметрические (t-критерия Стьюдента, t-критерий Уэлча, ANOVA) и непараметрические (критерий Манна-Уитни, критерий Краскела-Уоллиса) методы в зависимости от типа распределения данных. Для сравнения частоты выделения отдельных таксонов использовался критерий Пирсона (Хи-квадрат). Для выявления взаимосвязи между исследуемыми параметрами применяли метод корреляционного анализа с расчетом коэффициента корреляции Спирмена (ρ). Коэффициенты корреляции принимались во внимания, если они по модулю были более 0,3 при уровне значимости $p < 0,05$. Также в работе использовались методы регрессионного анализа.

Результаты и обсуждение

Бактериальная ДНК крови при ожирении

Сравнение характеристик α -разнообразия микробиома крови показало, что для Группы 2 характерны большие значения индексов Chao1 и PD, по сравнению с Группой 1 ($p \leq 0,05$) (рис. 1). Однако, после разделения пациентов Группы 2 по метаболическому фенотипу ожирения показало, что увеличение разнообразия бактериальной ДНК крови характерно только для пациентов с МНЗО, но не для пациентов с МЗО (рис. 2).

Таксономический состав бактериальной ДНК крови был преимущественно представлен филумами *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* и *Actinobacteria*. Реже из образцов крови выделялась ДНК *Cyanobacteria*, [*Thermi*], *Verrucomicrobia*, *TM7*, *Chloroflexi*, *Tenericutes*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Gemmatimonadetes*, а также неидентифицированных филумов (Unassigned). В целом, состав микробиома крови на уровне филумов был схож между исследуемыми группами (рис. 3), однако у пациентов с ожирением чаще выделялась ДНК *TM-7* и *Acidobacteria*. ДНК последнего, чаще выделялась у пациентов с МНЗО, но не с МЗО. Кроме того, для пациентов с МНЗО была отмечена большая частота выделения ДНК *Verrucomicrobia*.

Однако, на уровне классов, порядков и семейств наблюдались значительные отличия, зависящие от наличия или отсутствия ожирения и его метаболического фенотипа (рис. 4).

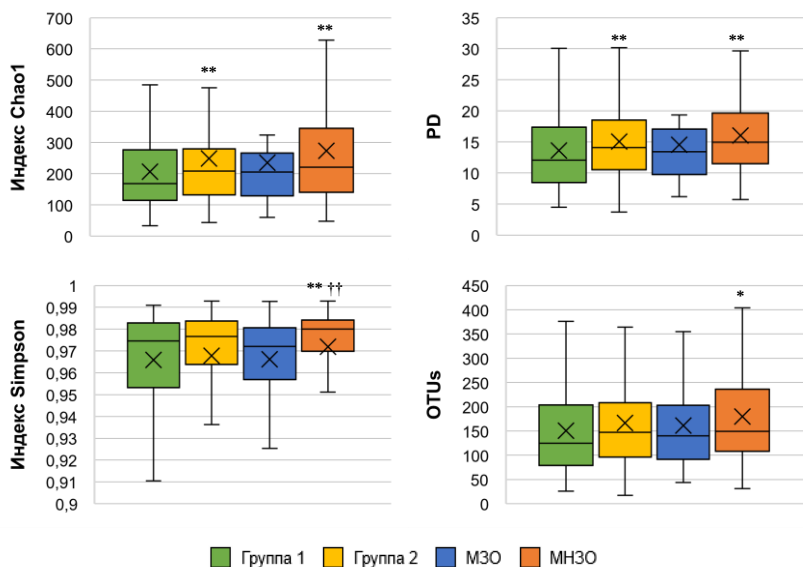


Рис. 1. Индексы α -разнообразия у исследуемых групп пациентов. * – различия достоверны по сравнению с Группой 1 ($p < 0,1$), ** – различия достоверны по сравнению с Группой 1 ($p \leq 0,05$), † – различия достоверны по сравнению с подгруппой с МЗО ($p \leq 0,05$).

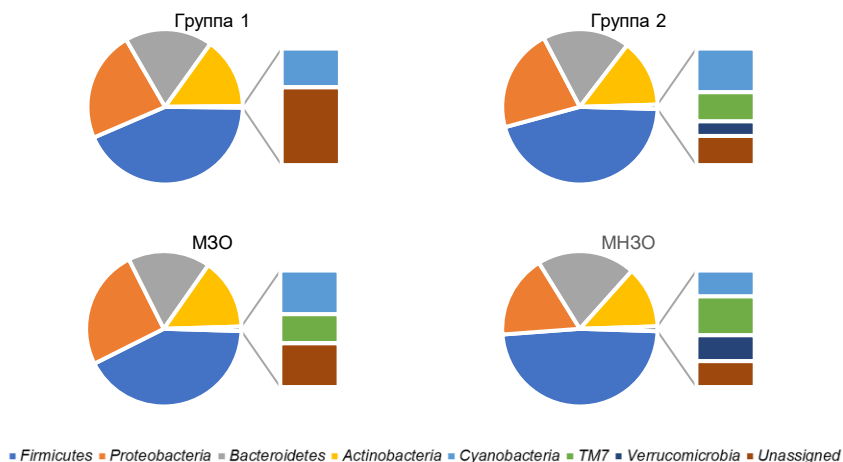


Рис 3. Таксономический состав бактериальной ДНК крови у исследуемых групп на уровне филумов.

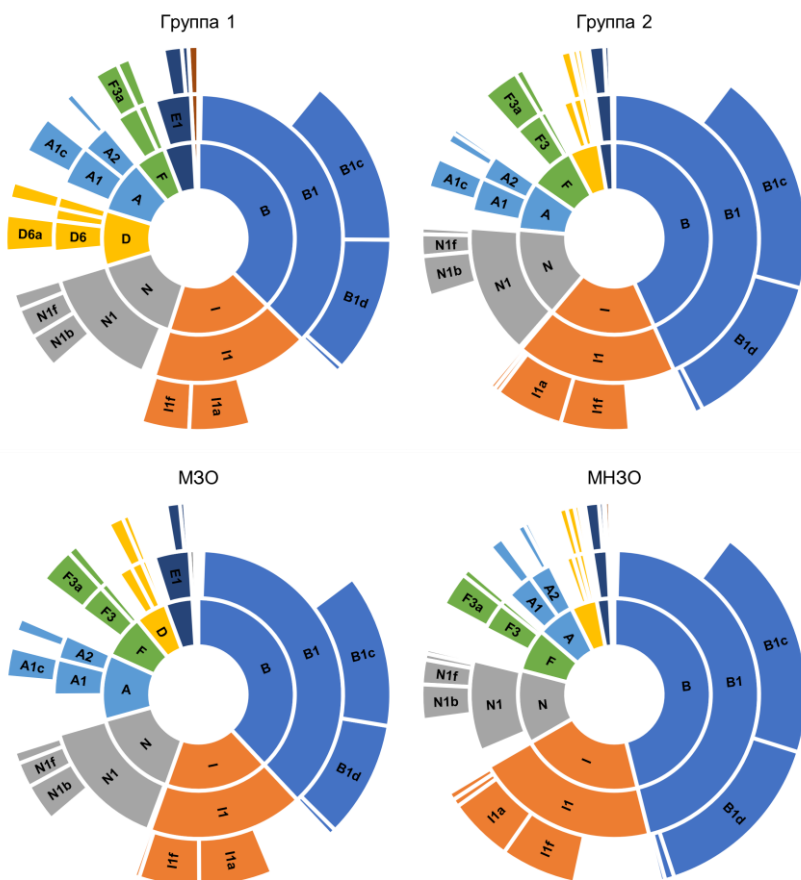


Рис. 4. Основные классы, порядки и семейства, формирующие микробиом крови. A – Bacilli, A1 – Bacillales, A1c – Staphylococcaceae, A2 – Lactobacillales, B – Clostridia, B1 – Clostridiales, B1c – Lachnospiraceae, B1d – Ruminococcaceae, D – Alphaproteobacteria, D6 – Sphingomonadales, D6a – Sphingomonadaceae, E – Betaproteobacteria, E1 – Burkholderiales, E1c – Comamonadaceae, F – Gammaproteobacteria, F3 – Pseudomonadales, F3a – Moraxellaceae, I – Bacteroidia, I1 – Bacteroidales, I1a – Bacteroidaceae, I1f – Prevotellaceae, N – Actinobacteria, N1 – Actinomycetales, N1b – Intrasporangiaceae, N1f – Micrococcaceae.

У пациентов Группы 2 было отмечено увеличение доли, приходящейся на семейства *Lachnospiraceae* и *Prevotellaceae* по сравнению с Группой 1 ($p < 0,05$). После разделения по метаболическому фенотипу было выявлено, что подобная динамика характерна только для пациентов с

МНЗО, но не для пациентов с МЗО. Также при МНЗО доля *Ruminococcaceae* в общем пуле бактериальной ДНК крови была выше, чем при МЗО (рис. 5). Следует отметить, что представители данных семейств являются облигатными анаэробами и на их долю приходится более половины бактериальной ДНК кишечника. Подобные результаты предполагают, что при МНЗО, но не при МЗО, у пациентов усиливается транслокация бактериальной ДНК из кишечника, что может являться следствием увеличения кишечной проницаемости, характерной для таких пациентов (Portincasa et al., 2022).

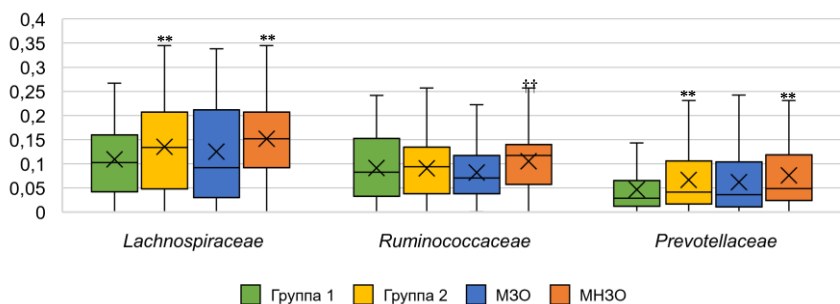


Рис. 5. Сравнение доли семейств *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* и *Prevotellaceae*. ** – различия достоверны по сравнению с Группой 1 ($p \leq 0,05$), †† – различия достоверны по сравнению с подгруппой с МЗО ($p \leq 0,05$).

У Группы 2 из образцов крови чаще выделялась ДНК *Leuconostocaceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Rhodobacteraceae*, *Burkholderiaceae*, *Pseudomonadales*, *Xanthomonadales*, *Acidobacteria*, TM7-3, *Acidimicrobiales*, *Gaiellaceae*, *Streptomyetaceae*, *Nocardiodaceae*, *Nocardiaceae* и S24-7 по сравнению с Группой 1 ($p < 0,05$). У пациентов с МЗО чаще выделялась ДНК *Leuconostocaceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Rhodobacteraceae*, *Burkholderiaceae*, *Bacteroidaceae*, TM7-3, *Acidimicrobiales*, *Solirubrobacterales*, *Gaiellaceae*, *Streptomyetaceae*, *Nocardiodaceae* и *Flavobacteriaceae*, а при МНЗО *Leuconostocaceae*, *Rhodobacteraceae*, *Burkholderiaceae*, *Helicobacteraceae*, *Acidobacteria*, TM7-3, *Streptomyetaceae*, *Nocardiaceae* и S24-7. Интересно, что представители большей части этих таксонов в основном являются обитателями почв и вод (*Hyphomicrobiaceae*, *Rhodobacteraceae*, *Burkholderiaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Nocardiodaceae*, *Streptomyetaceae*, *Gaiellaceae*, *Solirubrobacterales*, *Nocardiaceae*), а не ЖКТ. Такая среда обитания предполагает, что транслокация ДНК этих таксонов в кровь происходит с поверхности кожи или дыхательных путей. Ожирение сопровождается увеличением площади поверхности кожи, а также приводит к повышенной проницаемости кожного барьера (Hirt et al., 2019).

По-видимому, ожирение, вне зависимости метаболического фенотипа, сопровождается усилением транслокации бактериальной ДНК с поверхности кожи. Для пациентов с МНЗО было характерно увеличение частоты выявления ДНК семейства *Helicobacteraceae*. Так как основным представителем этого семейства является *Helicobacter pylori*, что дает основания предполагать, что МНЗО также связано с увеличением проницаемости стенки желудка для бактериальной ДНК.

С целью установления, транслокация каких семейств обеспечивает формирование разнообразия микробиома крови, был проведен корреляционный анализ между характеристиками α -разнообразия микробиома крови и долями, приходящимися на отдельные семейства в общем пуле бактериальной ДНК крови. Наибольший интерес представляли положительные коэффициенты корреляции, так как они свидетельствовали о прямой взаимосвязи между исследуемыми параметрами. Позитивные корреляции были получены для всех характеристик разнообразия микробиома крови (рис. 6).

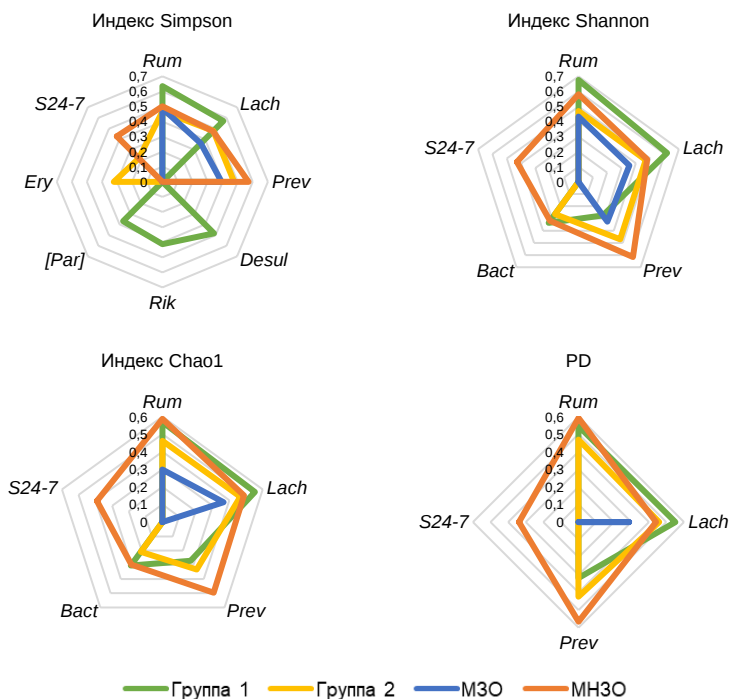


Рис. 6. Позитивные корреляции между характеристиками α -разнообразия микробиома крови и его отдельными семействами. Rum – Ruminococcaceae, Lach – Lachnospiraceae, Prev – Prevotellaceae, Desul – Desulfovibrionaceae, Rik –

Rikenellaceae, [Par] – [Paraprevotellaceae], *Ery* – *Erysipelotrichaceae*, *Bact* – *Bacteroidaceae*.

Обращает внимание, что практически в каждой из исследуемых групп индексы α -разнообразия были положительно ассоциированы с долями таких семейств как *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* и *Prevotellaceae*. Как отмечено выше, представители данных семейств представляют основную часть микробиоты кишечника. Таким образом полученные данные подтверждают, что транслокация бактериальной ДНК из кишечника является основным источником, формирующим микробиом крови. Для пациентов с МНЗО характерно как увеличение разнообразия микробиома крови, так и доли приходящейся на *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* и *Prevotellaceae*, можно предполагать, что у таких пациентов более разнообразный микробиом крови является следствием большей проницаемости кишечника для бактериальной ДНК.

Чтобы оценить, как влияет разнообразие кишечного микробиома на разнообразие микробиома крови был проведен линейный регрессионный анализ (табл. 1). В Группе 1 и у пациентов с МЗО разнообразие кишечной микробиоты обладало негативной предиктивной силой в отношении разнообразия бактериальной ДНК крови (отрицательный угловой коэффициент X), тогда как в Группе 2 и у пациентов с МНЗО – позитивной (положительны угловой коэффициент X). Таким образом, высокое разнообразие кишечной микробиоты у здоровых доноров и пациентов с МЗО ассоциировано с низким разнообразием микробиома крови, а у пациентов с МНЗО – с высоким разнообразием бактериальной ДНК крови. Результаты регрессионного анализа подтверждают, что МНЗО сопровождается увеличением проницаемости кишечной стенки для бактериальной ДНК, тогда как МЗО не приводит к подобным изменениям.

Табл. 1. Регрессионная зависимость показателей характеристик альфа-разнообразия микробиома крови от разнообразия микробиома кала.

	Y (МБ крови)	X (МБ кала)	Уравнение регрессии $Y=f(X)$	r^2	p
Гр. 1	Shannon	PD	$Y=6,880-0,0217X$	0,039	<0,05
	PD	PD	$Y=20,876-0,168X$	0,045	<0,05
	OTUs	PD	$Y=250,796-2,314X$	0,038	<0,05
Гр.2	Shannon	PD	$Y=5,179+0,0238X$	0,039	<0,05
	Simpson	Simpson	$Y=0,626+0,353X$	0,106	0,001
	Simpson	Shannon	$Y=0,923+0,00582X$	0,040	<0,05
	Simpson	PD	$Y=0,923+0,00114X$	0,084	<0,005

МЗО	Simpson	Shannon	$Y=1,019-0,00649X$	0,090	<0,1
	Simpson	Chao1	$Y=0,984-0,00000388X$	0,080	<0,1
	Simpson	OTUs	$Y=0,988-0,00000918X$	0,085	<0,1
МНЗО	Shannon	PD	$Y=4,685+0,0410X$	0,126	<0,01
	Shannon	Shannon	$Y=3,578+0,354X$	0,131	<0,01
	Shannon	Chao1	$Y=5,493+0,000201X$	0,108	<0,05
	Shannon	OTUs	$Y=5,447+0,000422X$	0,088	<0,05
	Simpson	PD	$Y=0,923+0,00127X$	0,156	<0,005
	Simpson	Shannon	$Y=0,877+0,0125X$	0,210	0,0005
	Simpson	Simpson	$Y=0,647+0,335X$	0,100	<0,05
	Simpson	Chao1	$Y=0,947+0,00000638X$	0,140	<0,01
	Simpson	OTUs	$Y=0,943+0,0000147X$	0,137	<0,01

МБ крови – микробиом крови, МБ кала – микробиом кала.

Содержание нейротрофинов в сыворотке при ожирении и их взаимосвязь с бактериальной ДНК крови и кала

Содержание BDNF в сыворотке крови не различалось у здоровых доноров и пациентов с ожирением, однако концентрация NGF была снижена у всех пациентов с ожирением, вне зависимости от его метаболического фенотипа (рис. 7)

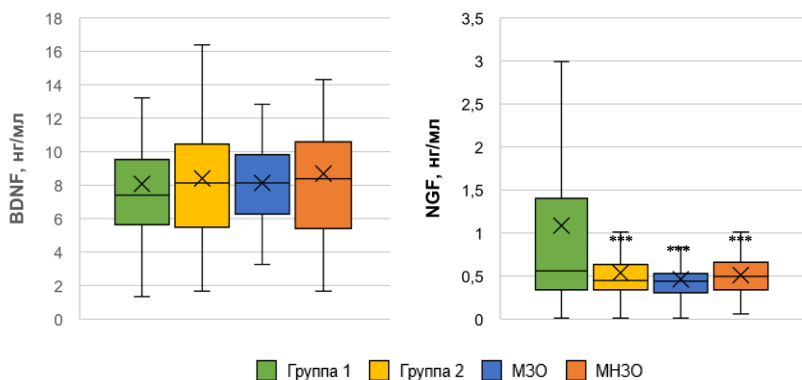


Рис. 7. Содержание нейротрофинов в сыворотке крови. *** – различия достоверны по сравнению с Группой 1 ($p<0,005$).

Корреляционный анализ выявил спектр таксонов кишечной микробиоты, как позитивно, так и негативно взаимосвязанных с содержанием BDNF (табл. 2). Спектр таких таксонов был уникален для здоровых доноров и пациентов с ожирением, а также зависел от метаболического фенотипа ожирения. Обращает внимание, что у Группы 1

доля таксонов микробиома кала, ассоциированных с BDNF, в основном выделялась не более чем у трети здоровых доноров. Однако при МЗО и МНЗО, множество корреляций было отмечено с таксонами, выделенными более чем из половины из образцов кала.

Табл. 2. Таксоны микробиома кала, коррелировавшие с сывороточной концентрацией BDNF

Позитивная корреляция	
Группа 1	<i>Peptostreptococcaceae</i> $\rho=0,408$, $p<0,05$, $n=24$ <i>S24-7 (Muribaculaceae)</i> $\rho=0,317$, $p<0,005$, $n=86$
Группа 2	Не выявлено значимых таксонов ($\rho > 0,3$)
МЗО	<i>R. torques</i> $\rho=0,618$, $p<0,05$, $n=11$ <i>Bacteroides spp.</i> $\rho=0,408$, $p<0,01$, $n=40$ <i>Rikenellaceae</i> $\rho=0,407$, $p<0,01$, $n=39$ <i>Oscillospira spp.</i> $\rho=0,341$, $p<0,05$, $n=40$ [<i>Barnesiellaceae</i>] $\rho=0,325$, $p<0,05$, $n=39$ <i>B. ovatus</i> $\rho=0,311$, $p=0,06$, $n=38$ <i>Anaerostipes spp.</i> $\rho=0,307$, $p=0,06$, $n=38$
МНЗО	<i>Bifidobacterium spp.</i> $\rho=0,437$, $p<0,005$, $n=45$ <i>Collinsella spp.</i> $\rho=0,432$, $p<0,05$, $n=27$ <i>Coproccoccus spp.</i> $\rho=0,317$, $p=0,056$, $n=37$
Негативная корреляция	
Группа 1	<i>Parvimonas spp.</i> $\rho=-0,600$, $p<0,01$, $n=18$ <i>Succinivibrio spp.</i> $\rho=-0,408$, $p=0,01$, $n=38$ <i>L. garvieae</i> $\rho=-0,403$, $p=0,06$, $n=23$ <i>Gemellaceae</i> $\rho=-0,398$, $p<0,005$, $n=25$ <i>Prevotella spp.</i> $\rho=-0,375$, $p=0,065$, $n=25$ <i>B. barnesiae</i> $\rho=-0,371$, $p<0,05$, $n=36$ <i>Bulleidia spp.</i> $\rho=-0,365$, $p=0,0565$, $n=28$
Группа 2	<i>Coprobacillus spp.</i> $\rho=-0,337$, $p<0,05$, $n=36$
МЗО	<i>Enterococcaceae</i> $\rho=-0,857$, $p<0,05$, $n=7$ <i>B. obeum</i> $\rho=-0,833$, $p=0,01$, $n=8$ <i>Mitsuokella spp.</i> $\rho=-0,734$, $p<0,01$, $n=12$ <i>Leuconostocaceae</i> $\rho=-0,621$, $p<0,05$, $n=13$
МНЗО	<i>F. prausnitzii</i> $\rho=-0,321$, $p<0,05$, $n=53$

У пациентов с ожирением любого метаболического фенотипа также наблюдались множественные ассоциации между таксонами кишечного микробиома и NFG, тогда как у Группы 1 практически отсутствовала подобная взаимосвязь (табл. 3).

Табл. 3. Таксоны микробиома кала, коррелировавшие с сывороточной концентрацией NGF

Позитивная корреляция	
Группа 1	Не выявлено значимых таксонов (с $\rho > 0,3$)
Группа 2	<i>Fusobacterium spp.</i> $\rho = 0,469$, $p < 0,05$, $n = 20$
МЗО	<i>Peptococcus spp.</i> $\rho = 0,821$, $p < 0,005$, $n = 10$ <i>Alcaligenaceae</i> $\rho = 0,806$, $p < 0,005$, $n = 11$ <i>L. ruminis</i> $\rho = 0,564$, $p = 0,005$, $n = 23$ <i>Ruminococcus spp.</i> $\rho = 0,468$, $p < 0,05$, $n = 24$ <i>Odoribacter spp.</i> $\rho = 0,338$, $p = 0,05$, $n = 34$
МНЗО	<i>Fusobacterium spp.</i> $\rho = 0,537$, $p = 0,06$, $n = 13$ <i>Slackia spp.</i> $\rho = 0,360$, $p < 0,05$, $n = 36$
Негативная корреляция	
Группа 1	<i>Mitsuokella spp.</i> $\rho = -0,606$, $p < 0,05$, $n = 11$
Группа 2	Не выявлено значимых таксонов (с $\rho > 0,3$)
МЗО	<i>Mitsuokella spp.</i> $\rho = -0,632$, $p = 0,05$, $n = 10$ <i>Lactococcus spp.</i> $\rho = -0,524$, $p < 0,05$, $n = 19$ <i>H. parainfluenzae</i> $\rho = -0,456$, $p = 0,01$, $n = 30$ <i>Erysipelotrichaceae</i> $\rho = -0,403$, $p < 0,05$, $n = 32$ <i>Megamonas spp.</i> $\rho = -0,398$, $p < 0,05$, $n = 29$ <i>Clostridiaceae</i> $\rho = -0,396$, $p < 0,05$, $n = 35$
МНЗО	<i>S. anginosus</i> $\rho = -0,730$, $p < 0,005$, $n = 16$ <i>Gemellaceae</i> $\rho = -0,581$, $p < 0,05$, $n = 13$ <i>Alcaligenaceae</i> $\rho = -0,528$, $p = 0,06$, $n = 13$ <i>ML615J-28</i> $\rho = -0,404$, $p < 0,05$, $n = 37$ <i>Clostridiales</i> $\rho = -0,347$, $p < 0,05$, $n = 51$

Корреляционный анализ также выявил множественные ассоциации между содержанием нейротрофинов и таксонами микробиома крови, причем спектр таких таксонов был уникален для каждой группы (табл. 4, табл. 5). Интересно, что большая часть корреляций была отмечена для таксонов, выделенных не более чем у половины лиц каждой из групп и являющихся минорными таксонами микробиома крови. Конститутивные таксоны, ДНК которых выделялось из большей части образцов крови и которые вносили значительный вклад в формирование микробиома крови, не продемонстрировали значимых взаимосвязей с содержанием BDNF и NGF.

Табл. 4. Таксоны микробиома крови, коррелировавшие с сывороточной концентрацией BDNF

Позитивная корреляция	
Группа 1	<i>Micrococcus spp.</i> $\rho = 0,692$, $p < 0,01$, $n = 13$

	<i>L. iners</i> rho=0,551, p<0,005, n=26 <i>H. parainfluenzae</i> rho=0,463, p=0,05, n=18 <i>Clostridium spp.</i> rho=0,334, p<0,06, n=33 <i>Gemellaceae</i> rho=0,622, p<0,05, n=12
Группа 2	<i>R. f. mitochondria</i> rho=0,709, p<0,005, n=16 <i>Rhizobiales</i> rho=0,537, p<0,05, n=17 <i>Coriobacteriaceae</i> rho=0,636, p<0,005, n=20 <i>Providencia spp.</i> rho=0,503, p<0,05, n=18 <i>Nocardoidaceae</i> rho=0,327, p<0,05, n=42 <i>Rhodococcus spp.</i> rho=0,436, p<0,005, n=48 <i>Paracoccus spp.</i> rho=0,455, p<0,005, n=40 <i>Lachnospira spp.</i> rho=0,369, p<0,05, n=36 <i>Chitinophagaceae</i> rho=0,369, p<0,05, n=36
МЗО	<i>Micrococcus spp.</i> rho=0,457, p<0,05, n=22
МНЗО	<i>Rhodococcus spp.</i> rho=0,499, p<0,01, n=26 <i>Lachnospira spp.</i> rho=0,482, p<0,05, n=23 <i>Providencia spp.</i> rho=0,794, p<0,01, n=10 <i>Streptophyta</i> rho=0,565, p<0,01, n=20 <i>Paracoccus spp.</i> rho=0,509, p<0,05, n=23 <i>Rhizobiales</i> rho=0,721, p<0,05, n=10 <i>R. f. mitochondria</i> rho=0,673, p<0,05, n=10 <i>Nocardoidaceae</i> rho=0,499, p<0,01, n=26
Негативная корреляция	
Группа 1	<i>Hymenobacter spp.</i> rho=0,636, p<0,05, n=11 <i>Micrococcaceae</i> rho=-0,441, p<0,01, n=34 <i>Dorea spp.</i> rho=-0,392, p<0,05, n=35 <i>Chryseobacterium spp.</i> rho=-0,366, p<0,05, n=30 <i>Geodermatophilaceae</i> rho=-0,437, p<0,05, n=27
Группа 2	<i>Microbacterium spp.</i> rho=-0,756, p<0,001, n=16 <i>Thermus spp.</i> rho=-0,608, p<0,01, n=17 <i>H. pylori</i> rho=-0,587, p<0,05, n=12 <i>Solirubrobacterales</i> rho=-0,523, p<0,05, n=20 <i>Sutterella spp.</i> rho=-0,330, p=0,05, n=35
МЗО	<i>Pseudomonas spp.</i> rho=-0,709, p<0,05, n=10 <i>[Eubacterium] spp.</i> rho=-0,697, p<0,05, n=10 <i>B. uniformis</i> rho=-0,566, p=0,05, n=12 <i>Leuconostocaceae</i> rho=-0,624, p=0,05, n=10
МНЗО	<i>Microbacterium spp.</i> rho=-0,714, p<0,05, n=8 <i>Clostridium spp.</i> rho=-0,521, p<0,05, n=16 <i>Gaiellaceae</i> rho=-0,709, p<0,05, n=10

Табл. 5. Таксоны микробиома крови, коррелировавшие с сывороточной концентрацией NGF

Позитивная корреляция	
Группа 1	<i>A. muciniphila</i> rho=0,495, p<0,005, n=38 <i>Dorea spp.</i> rho=0,399, p<0,05, n=35 <i>Aerococcus spp.</i> rho=0,661, p<0,05, n=10
Группа 2	<i>R. bromii</i> rho=0,640, p<0,01, n=17
МЗО	[<i>Prevotella</i>] spp. rho=0,706, p<0,05, n=9
МНЗО	<i>R. bromii</i> rho=0,619, p<0,05, n=14
Негативная корреляция	
Группа 1	<i>Clostridium spp.</i> rho=-0,386, p<0,05, n=35 <i>Oxalobacteraceae</i> rho=-0,409, p<0,05, n=34 <i>Pirellulaceae</i> rho=-0,636, p<0,05, n=11 <i>Chitinophagaceae</i> rho=-0,709, p<0,01, n=13 <i>Nocardoidaceae</i> rho=-0,450, p<0,05, n=21 [<i>Eubacterium</i>] spp. rho=-0,297, p<0,05, n=49 <i>Hyphomicrobiaceae</i> rho=-0,548, p<0,05, n=17
Группа 2	Не выявлено значимых таксонов (с rho>0,3)
МЗО	<i>Christensenellaceae</i> rho=-0,929, p<0,001, n=8
МНЗО	<i>Bacteroides spp.</i> rho=-0,446, p<0,005, n=46 <i>Thermus spp.</i> rho=-0,756, p<0,05, n=8 [<i>Barnesiellaceae</i>] rho=-0,492, p<0,05, n=19 <i>B. adolescentis</i> rho=-0,490, p<0,05, n=19 <i>Roseburia spp.</i> rho=-0,479, p<0,05, n=26 <i>Oxalobacteraceae</i> rho=-0,433, p<0,05, n=26

Заключение

Последнее десятилетие была значительно пересмотрена роль микробиома в функционировании макроорганизма. Изменения в составе микробного сообщества кишечника признаются одними из ключевых аспектов развития ряда патологий, включая ожирение. Однако, роль бактериальной ДНК крови, формирующей микробиом крови, в патогенезе ожирения еще только начинает изучаться. Проведенное исследование не только выделило особенности таксономического состава бактериальной ДНК крови у пациентов с ожирением, но также продемонстрировало влияние метаболического фенотипа ожирения на микробиом крови. Также в рамках данной работы было изучено влияние кишечной микробиоты на формирование пула бактериальной ДНК крови при ожирении различных метаболических фенотипов.

Несмотря на отсутствие влияния метаболического фенотипа ожирения на содержание NGF и BDNF для пациентов с МЗО и МНЗО был

характерен уникальный спектр таксонов микробиомов кала и крови, ассоциированных с уровнем нейротрофинов. Полученные данные могут быть полезны при создании пробиотиков в рамках концепции персонализированной медицины.

ВЫВОДЫ

1. Доля семейств *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* и *Prevotellaceae* в общем пуле бактериальной ДНК крови определяет разнообразие микробиома крови, вне зависимости от наличия или отсутствия ожирения. Метаболически нездоровое ожирение ассоциировано с увеличением доли семейств *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* и *Prevotellaceae* в общем пуле бактериальной ДНК крови и увеличением разнообразия микробиома крови, тогда как метаболически здоровое ожирение не приводит к подобным изменениям.

2. У здоровых доноров и пациентов с метаболически здоровым фенотипом ожирения разнообразие микробиома кала негативно ассоциировано с разнообразием бактериальной ДНК крови, а у пациентов с метаболически нездоровым фенотипом ожирения подобная связь носит положительный характер.

3. Ожирение любого метаболического фенотипа сопровождается снижением сывороточной концентрации NGF, тогда как содержание BDNF у пациентов с ожирением схоже со здоровыми донорами.

4. При ожирении наблюдается влияние конститутивных таксонов кишечного микробиома на уровень BDNF, что не характерно для здоровых доноров, у которых отмечено влияние только минорных таксонов. Ожирение любого метаболического фенотипа приводит к появлению взаимосвязи «кишечный микробиом – NGF», тогда как у здоровых доноров такая связь отсутствует.

5. Концентрации сывороточных BDNF и NGF не зависят от содержания основных таксонов микробиома крови, однако для пациентов характерен уникальный спектр минорных таксонов, чье содержание взаимосвязано с уровнями сывороточных нейротрофинов. Причем спектр таких таксонов зависит от наличия или отсутствия ожирения, а также его метаболического фенотипа.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При планировании исследования, посвященного роли микробиома крови или кишечной микробиоты в патогенезе ожирения, представляется целесообразным учитывать метаболический фенотип ожирения.

2. Изучение таксономического состава бактериальной ДНК крови рекомендуется проводить на уровне семейств и низ лежащих таксономических уровнях, так как изменения микробиома крови могут не проявляться на уровне филумов, классов и порядков.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В настоящее время активно предпринимаются попытки коррекции ожирения и его осложнений с использованием пре- и пробиотиков. Учитывая различное влияние кишечной микробиоты на микробиом крови у пациентов с МЗО и МНЗО перспективным представляется оценка действия такой терапии на разнообразие бактериальной ДНК крови, уровень РAMPs и провоспалительных цитокинов при различных метаболических фенотипах ожирения. Подобная работа позволит подтвердить или опровергнуть протективное влияние разнообразной кишечной флоры на проницаемость кишечного барьера.

Учитывая, что ожирение было ассоциировано с появлением взаимосвязи «кишечный микробиом – NGF» перспективным представляется модуляция микробного сообщества кишечника с целью снижения рисков поражения нервной системы у пациентов с избыточной массой тела. В целом, выделенные таксоны с позитивными ассоциациями с содержанием нейротрофинов могут рассматриваться как бактерии-кандидаты для пробиотических препаратов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в рецензируемых изданиях

1. **Колесникова И.М.** Влияние метаболического типа ожирения на микробиом крови / Шестопалов А.В., **Колесникова И.М.**, Гапонов А.М. и др. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2022. – Т.25, №2. – С. 35-41.

2. **Kolesnikova I.M.** Influence of Obesity and Its Metabolic Type on the Serum Concentration of Neurotrophins / **Kolesnikova I.M.**, Rumyantsev S.A., Volkova N.I. et al. // Neurochemical Journal. – 2022. – Vol. 16, №2. – P. 200-206. [**Колесникова И.М.** Влияние ожирения и его метаболического типа на сывороточную концентрацию нейротрофинов / **Колесникова И.М.**, Румянцев С.А., Волкова Н.И. и др. // Нейрохимия. – 2022. – Т.39, №2. – С. 184-192].

3. **Kolesnikova I.M.** Relationship between Neutrophins and Gut Microbiome in Various Metabolic Types of Obesity / **Kolesnikova I.M.**, Gaponov A.M., Roumiantsev S.A. et al. // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. – 2022. – Vol. 58, №4. – P. 986-1000. [**Колесникова И.М.** Взаимосвязь содержания нейротрофинов и кишечного микробиома при

различных метаболических типах ожирения / **Колесникова И.М.**, Гапонов А.М., Румянцев С.А. и др. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2022. – Т.58, №4. – С. 298-310.].

4. **Колесникова И.М.** Взаимосвязь микробиома крови и содержания нейротрофинов при различных метаболических типах ожирения / **Колесникова И.М.**, Гапонов А.М., Румянцев С.А. и др. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2022. – Т.108, №11. – С. 1482-1496.

Тезисы научно-практических конференций

1. **Колесникова И.М.** Влияние кишечного микробиома на содержание нейротрофического фактора мозга при различных метаболических типах ожирения / **Колесникова И.М.**, Гапонов А.М., Григорьева Т.В. и др. // Терапевтический архив. Материалы 48-й научной сессии ЦНИИ гастроэнтерологии «Детские корни взрослых проблем» (Москва, 3-4 марта 2022 г. – 2022. – Т.94, №2S. – С. 320-321.

2. **Колесникова И.М.** Влияние кишечного микробиома на содержание фактора роста нервов при различных метаболических типах ожирения / **Колесникова И.М.**, Румянцев С.А., Гапонов А.М. и др. // Терапевтический архив. Материалы 48-й научной сессии ЦНИИ гастроэнтерологии «Детские корни взрослых проблем» (Москва, 3-4 марта 2022 г.). – 2022. – Т.94, №2S. – С. 321.

3. **Kolesnikova I.M.** Serum Neurotrophins in Different Metabolic Types of Obesity / **Kolesnikova I.M.**, Gaponov A.M., Roumiantsev S.A. et al. // International Journal of Medical and Health Sciences. Abstracts of ICOE 2022: International Conference on Obesity and Endocrinology (Tokyo, Japan, April 25-26, 2022). – 2022. – Vol. 16, №4.

4. **Kolesnikova I.M.** Blood Microbiome in Different Metabolic Types of Obesity / **Kolesnikova I.M.**, Gaponov A.M., Roumiantsev S.A. et al. // International Journal of Medical and Health Sciences. Abstracts of ICOE 2022: International Conference on Obesity and Endocrinology (Tokyo, Japan, April 25-26, 2022). – 2022. – Vol. 16, №4.

5. **Колесникова И.М.** Особенности содержания нейротрофинов у пациентов с различными метаболическими типами ожирения / **Колесникова И.М.**, Гапонов А.М., Румянцев С.А. и др. // Материалы научно-практических конференций в рамках VIII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2022). Сборник тезисов. (Москва, 6-8 сентября 2022 г.). – 2022. – С. 59-60.

6. **Колесникова И.М.** Особенности микробиома крови при различных метаболических типах ожирения / **Колесникова И.М.**, Румянцев С.А., Гапонов А.М. и др. // Материалы научно-практических конференций в рамках VIII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2022). Сборник тезисов. (Москва, 6-8 сентября 2022 г.). – 2022. – С. 60-61.

7. **Колесникова И.М.** Взаимосвязь «кишечный микробиом – нейротрофины» при различных метаболических типах ожирения / **Колесникова И.М.**, Гапонов А.М., Румянцев С.А. и др. // Материалы научно-практических конференций в рамках VIII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2022). Сборник тезисов. (Москва, 6-8 сентября 2022 г.). – 2022. – С. 61-62.

8. **Колесникова И.М.** Взаимосвязь «микробиом крови – нейротрофины» при различных метаболических типах ожирения / **Колесникова И.М.**, Гапонов А.М., Румянцев С.А. и др. // Материалы научно-практических конференций в рамках VIII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2022). Сборник тезисов. (Москва, 6-8 сентября 2022 г.). – 2022. – С. 62.

9. **Колесникова И.М.** Влияние кишечной микробиоты на формирование микробиома крови у пациентов с различными метаболическими фенотипами ожирения / **Колесникова И.М.**, Шестопалов А.В., Гапонов А.М., Румянцев С.А. // Сборник тезисов IV Национального конгресса с международным участием Лабораторные Технологии в Репродуктивной Медицине и Неонатологии: «Цифровая трансформация: современный тренд в лабораторной диагностике» (ЛАБРИН2022), (Москва, 28-30 сентября 2022 г.). – 2022. – С.15.

10. **Колесникова И.М.** Микробиом крови у пациентов с различными метаболическими фенотипами ожирения / **Колесникова И.М.**, Шестопалов А.В., Гапонов А.М., Румянцев С.А. // Сборник тезисов IV Национального конгресса с международным участием Лабораторные Технологии в Репродуктивной Медицине и Неонатологии: «Цифровая трансформация: современный тренд в лабораторной диагностике» (ЛАБРИН2022), (Москва, 28-30 сентября 2022 г.). – 2022. – С.48.

11. **Колесникова И.М.** Микробиом крови при ожирении / **Колесникова И.М.**, Румянцев С.А., Гапонов А.М., Шестопалов А.В. // Материалы XII Съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Москва, 26-28 октября 2022 г.). – 2022. – С.245.

12. **Колесникова И.М.** Взаимосвязь между таксономической принадлежностью бактериальной ДНК крови и содержанием нейротрофинов при ожирении / **Колесникова И.М.**, Румянцев С.А., Гапонов А.М., Шестопалов А.В. // Материалы XII Съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Москва, 26-28 октября 2022 г.). – 2022. – С.246.