

РЕКОНСТРУКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ ПРИ ОЖИРЕНИИ И ЕЕ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ПРЕДСТАВЛЕННОСТЬЮ АЛКИЛРЕЗОРЦИНОЛОВ В КАЛЕ

© 2023 г. А. А. Заболотнева^{1,2,*}, А. Б. Итов^{1,3}, Т. В. Григорьева⁴, И. Ю. Васильев⁴,
С. А. Румянцев^{1,2,5}, А. М. Гапонов⁵, А. В. Шестопалов^{1,2,3}

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

³Национальный медицинский исследовательский центр Детской гематологии, онкологии и иммунологии
имени Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

⁴Казанский Федеральный Университет, Казань, Россия

⁵Центр цифровой и трансляционной биомедицины ООО “Центр молекулярного здоровья”, Москва, Россия

*e-mail: a.zabolotneva@gmail.com

Поступила в редакцию 10.01.2023 г.

После доработки 27.04.2023 г.

Принята к публикации 06.06.2023 г.

Тело человека представляет собой суперорганизм, работа которого напрямую зависит от триллионов микробных клеток, населяющих его. Развиваясь вместе с хозяином в процессе эволюции, микробиота формировала фенотипы наших предков. Возникавшие в процессе естественного отбора мутации приводили к совместной эволюционной адаптации организма хозяина и микробных клеток к условиям окружающей среды и повышению приспособленности к этой среде. Состав и метаболическая активность микробиоты кишечника влияют на различные физиологические процессы, а также развитие патологических состояний и дисметаболических расстройств, включая ожирение. Алкилрезорцинолы (АР) — биологически активные полифенольные соединения преимущественно растительного и микробного происхождения, обладающие различными биологическими свойствами, в том числе способностью в высокой степени влиять на метаболизм хозяина и состав его микробиоты. В настоящем исследовании нами было проведено метагеномное секвенирование микробной ДНК, выделенной из 401 образца фекалий детей и взрослых с нормальным индексом массы тела (ИМТ) и с ожирением, а также определено содержание различных гомологов АР в этих образцах. На основе данных высокопроизводительного секвенирования нами была проведена реконструкция метаболического потенциала кишечной микробиоты и оценены корреляции между содержанием различных гомологов АР и представленностью бактериальных генов, кодирующих различные ферменты, заявленные в базе данных генных ортологов Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). На основании полученных результатов нами были отмечены особенности функциональных изменений кишечной микробиоты, наблюдаемые у взрослых и детей при ожирении.

Ключевые слова: алкилрезорцинолы, микробиота кишечника, реконструкция метаболической активности микробиоты, ожирение

DOI: 10.31857/S0044452923040095, **EDN:** YWRZVC

ВВЕДЕНИЕ

Тело человека представляет собой суперорганизм, населенный триллионами микробных клеток, скоординированная работа которых является обязательной и необходимой для жизни человека [1]. Наибольшей плотности популяции микробных клеток достигают в кишечнике, где они вместе образуют сложное сообщество, известное как кишечная микробиота (КМ) [2]. КМ возникает и разви-

вается в период младенчества хозяина и в дальнейшем достигает своей устойчивой взрослой формы [3]. В последние десятилетия мы видим все больше доказательств в пользу того, что эволюция звеньев суперорганизма “хозяин-микробиота” осуществлялась совместно. Развиваясь вместе с хозяином в процессе эволюции, микробиота формировала фенотипы наших предков [4]. Возникавшие в процессе естественного отбора мутации приводили к сов-

местной эволюционной адаптации организма хозяина и микробных клеток к условиям окружающей среды. Сформировавшийся в процессе эволюции симбиоз микро- и макроорганизмов привел к перераспределению метаболических функций и метаболических возможностей [5]. Можно предположить, что такие функции, как синтез короткоцепочечных жирных кислот, витаминов, ароматических аминокислот и др., утратились у организма хозяина и стали ответственностью микробиоты, в то время как функции синтеза холестерина и производных стероидных молекул, напротив, стали прерогативой клеток хозяина.

Однако в последнее столетие окружающая среда человека резко изменилась: сегодня модернизация и урбанизация, смена рациона питания в пользу высокоуглеводной/высококалорийной пищи, а также значительное снижение двигательной активности способствуют *дезадаптации* (нарушению приспособляемости организма к меняющимся условиям окружающей среды). В связи с этим мы наблюдаем разбалансировку в сложной системе “хозяин–микробиота” — так называемое явление *дисбиоза*, когда соотношение и разнообразие представителей микробиоты изменяется таким образом, что не позволяет компонентам суперорганизма реализовывать свои функции в полной мере и подстраиваться под условия среды или патологические изменения в организме хозяина. Микробиота — “двуликий Янус”: с одной стороны, она является неотъемлемой частью нашего организма, состоит из довольно устойчивых энтеротипов [6], но с другой — может быстро реагировать в физиологических, экологических и эволюционных масштабах на внешние воздействия таким образом, что это влияет на фенотип. Так, было показано, что микробиота кишечника вовлечена как в различные физиологические (контроль энергетического обмена, артериального давления, уровня глюкозы в крови, гемостаз, поведения и др.), так и патологические процессы (различные нарушения метаболизма, канцерогенез) [5]. В каждом случае существуют функциональные связи между кишечными микробами, метаболитами, которые они генерируют, и рецепторами на клетках организма-хозяина, а также ответными реакциями, влияющими на формирование фенотипа хозяина.

Алкилрезорцинолы (АР) — представляют собой липофильные полифенольные соединения, синтезируемые растениями (главным образом, злаками — рожью, пшеницей и ячменем), грибами и бактериями, и обладают многими биологическими активностями [7]. У бактерий АР могут быть ассоциированы с мембранами, что влияет на их свойства или свойства связанных с ними структур [8]. Помимо этого, показана ауторегуляторная и антимикробная роль АР. Например, 4-гексилрезорцинол в сочетании с антибиотиками резко снижает количество прорастающих спор *Bacillus cereus* как в

жидкой среде, так и на чашках с агаром по сравнению с обработкой одними антибиотиками [9]. АР проявляют антимикробную активность путем включения в клеточные стенки микроорганизмов. Биологическая активность АР, вероятно, определяется их способностью действовать в качестве структурных модификаторов биополимеров и надмолекулярных структур, таких как мембраны [10–13]. Предположительно, АР изменяют свойства мембран за счет ассоциации с липидными молекулами и макромолекулами внутри мембран, ингибируя их функциональную активность [13].

В исследованиях на животных и у человека продемонстрировано наличие сильной корреляции между изменением микробного состава в кишечнике, проявляющемся в сдвиге в сторону увеличения аккумуляции энергии, и фенотипом ожирения [14, 15]. Кроме того, увеличивающееся соотношение *Firmicutes* (таких как *Clostridium coccoides*, *Clostridium leptum* и *Enterococcus spp.*) к *Bacteroidota* (таких как *Bacteroides spp.* и *Prevotella spp.*) в микробном сообществе кишечника связано с ожирением и нарушениями обмена веществ [16]. В исследовании Oishi и др. удалось показать, что АР, поступающие с пищей, значительно влияли на увеличение количества *Prevotella* и снижение количества *Enterococcus* в фекалиях мышей [17]. Кроме того, количество *Enterococcus* в фекалиях положительно коррелировало с массой тела и содержанием желчных кислот в кале, но отрицательно коррелировало с количеством общих липидов в кале. Было высказано предположение, что положительные метаболические изменения, продемонстрированные в этом исследовании, стимулировались потреблением АР, что указывает на их пребиотические эффекты [17]. Эти данные согласуются с результатами исследования эффектов пребиотиков против ожирения у людей и животных [18]. Также сообщается, что полифенолы из фруктов и овощей оказывают стимулирующее или ингибирующее влияние на рост бактерий в кишечнике [19].

В культуре клеток 3T3-L1 АР предотвращали накопление триглицеридов в цитоплазме, вероятно, за счет сиртуин-зависимого ингибирования синтеза триглицеридов [20]. Кроме того, было показано, что АР ингибируют липолиз, осуществляемый гормоночувствительной липазой [21], и блокируют активность глицерол-3-фосфатдегидрогеназы, отвечающей за накопление триглицеридов [22]. Добавление АР к диете с высоким содержанием жиров и сахарозы позволило не только подавить накопление триглицеридов в печени мышей, но и преодолеть гиперинсулинемию и гиперлептинемия в данной группе животных [17]. Помимо этого, в данном эксперименте были показаны заметное АР-зависимое снижение концентрации глюкозы в крови натощак и подавление как интолерантности глюкозы, так и резистентности к инсулину, вызванных высоколипидной/высокоуглеводной диетой.

Таблица 1. Характеристики исследованных групп

Показатели	Дети ($n = 189$)		Взрослые ($n = 212$)	
	Группа 1 (без ожирения)	Группа 2 (с ожирением)	Группа 3 (без ожирения)	Группа 4 (с ожирением)
Пол женский	39 (39%)	42 (47%)	98 (84.6%)	79 (73.1%)
Пол мужской	60 (61%)	48 (53%)	16 (15.4%)	29 (26.9%)
Возраст, лет	13 ± 4.6	12 ± 5.3	47.1 ± 4.8	54.6 ± 4.7
ИМТ, $\text{кг}/\text{м}^2$	20.3 ± 2.6	27.7 ± 6.3	20.8 ± 2.1	33.8 ± 3.36

той. Oishi и соавт. также обнаружили, что АР значительно усиливают стимулированное инсулином фосфорилирование Akt в печени, что может быть связано с повышением экспрессии генов *IRS* в печени [17]. Таким образом, АР успешно предотвращали вызванное диетой ожирение у мышей, и это подтверждается тем фактом, что, несмотря на одинаковое суточное потребление калорий, мыши, которых содержали на высоколипидной/высокоуглеводной диете, набирали больший вес по сравнению с группой, получавшей АР вместе с высоколипидным/высокоуглеводным рационом. Согласно исследованию, АР значительно подавляли индуцированное диетой повышение концентрации лептина в плазме и сопутствующую экспрессию лептиновой мРНК в жировой ткани. Таким образом, АР могут подавлять резистентность к лептину — важнейшему фактору, сигнализирующему о насыщении [23].

Потребление АР может снизить массу тела за счет ингибирования всасывания питательных веществ. АР содержат гидрофобные алкильные цепи, способные реагировать с пищеварительными ферментами человека, такими как α -глюкозидаза, трипсин и альдозоредуктаза, влияя таким образом на переваривание углеводов [24]. Кроме того, Song и соавт. в исследованиях кинетики реакции, катализируемой α -глюкозидазой, удалось продемонстрировать потенциал 4-гексилрезорцинола как неконкурентного обратимого ингибитора фермента. Тестируемое вещество также обладало способностью вмешиваться в неферментативные реакции гликирования, тем самым снижая образование фруктозаминов и конечных продуктов гликирования (AGEs, Advanced Glycation End products) [25]. Исследования *in vitro* подтвердили ингибирующее действие АР на ферментативную активность α -глюкозидазы [26].

Однако фактические функции АР, а также механизмы их действия еще предстоит выяснить, и в настоящее время они активно исследуются.

В настоящей работе мы задались целью выяснить, существует ли корреляция между содержанием различных АР в кале метаболически здоровых (без ожирения) и страдающих ожирением детей и

взрослых и представленностью бактериальных генов, кодирующих ферменты, отвечающие за основной метаболизм, тем самым проследив функциональные изменения КМ при развитии ожирения и вовлеченность АР в этот процесс. Для реализации поставленной цели нами было проведено метагеномное секвенирование микробной ДНК, выделенной из образцов кала исследуемых индивидуумов, и с помощью подхода реконструкции ненаблюдаемых событий (“Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States”, PICRUSt2 [27]) была описана потенциальная метаболическая активность идентифицированных микробных сообществ.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Группы исследования. Проведено одноцентровое одномоментное исследование, в которое были включены 189 детей в возрасте от 9 до 18 лет и 212 взрослых в возрасте от 42 до 60 лет, проходящие медицинский осмотр в рамках диспансерного наблюдения (табл. 1).

Критерием включения в исследование было отсутствие приема антибиотиков, про- и пребиотических препаратов в течение 3 мес до включения в исследование. Критериями исключения были тяжелые соматические заболевания (хроническая почечная недостаточность, хроническая сердечная недостаточность, хроническая печеночная недостаточность); любые заболевания желудочно-кишечного тракта, в том числе язвенный колит, синдром раздраженного кишечника, болезнь Крона; любое острое заболевание; алкоголизм; беременность; депрессия. Для всех детей и взрослых, включенных в исследование, были проведены анкетирование и оценка антропометрических показателей. Исследование одобрено Локальным независимым этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (протокол № 186 от 26.06.2019 г.). Все участники исследования или их законные представители подписали информированное добровольное согласие на использование биологического материала в научных целях.

От всех участников исследования были получены образцы кала согласно протоколу исследова-

ния. Транспортировка и хранение образцов осуществлялись с соблюдением холодовой цепи при температуре не выше -40°C .

Количественная оценка представленности АР в кале. Количественный анализ АР в кале проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Анализ проводили при помощи жидкостного хроматографа Agilent 1200 (Agilent inc., США) с системой автоматического ввода образцов, термостатом колонки и дегазатором. Пробы кала лиофилизировали до сухого остатка, далее навеску около 5 мг экстрагировали 50%-ным метанолом в воде с добавлением внутреннего стандарта и аскорбиновой кислоты.

Хроматографическое разделение проводили с использованием аналитической колонки Discovery PFP HS F5 (2.1×150 мм; 3 мкм). Для детектирования использован масс-спектрометрический детектор Agilent 6460 (Agilent inc., США). Полученный сигнал обрабатывали при помощи программного обеспечения Masshunter (Agilent inc., США). Расчет концентраций метаболитов проводили методом внутреннего стандарта (2-гидроксиникотиновая кислота).

Методика была валидирована по показателям селективности, линейности, точности, воспроизводимости, матричному эффекту и стабильности анализа. Валидация проводилась в соответствии с руководством по валидации биоаналитических методик FDA (U.S. Food and Drug Administration).

Метагеномное секвенирование. Из образцов фекалий проводили выделение бактериальной ДНК с использованием наборов QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN GmbH, Германия). Выделенную ДНК амплифицировали с использованием праймеров, специфичных к варибельному участку v3-v4 гена 16S рРНК. После очистки смеси с использованием магнитных частиц AMPure XP (Beckman Coulter, США) ПЦР-продукты индексировали с помощью уникальных коммерческих индексов-праймеров Nextera XT Index Kit (Illumina, Inc., США). По окончании амплификации ПЦР-смеси очищали с помощью магнитных частиц AMPure XP beads согласно протоколу производителя. Концентрации очищенных библиотек оценивали с помощью наборов Qubit HS Assay Kit на флуориметре Qubit 2.0 (Invitrogen). Библиотеки смешивали в эквимольном соотношении и проводили оценку качества и размера полученного пула с помощью прибора 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies). При необходимости проводили дополнительную очистку с помощью магнитных частиц AMPure XP beads согласно рекомендациям производителя. Готовый пул библиотек секвенировали на платформе MiSeq (Illumina, Inc., США) согласно протоколу производителя.

Техническая обработка результатов секвенирования. Полученные риды анализировали с помо-

щью программы QIIME v.1.9.1 (Knight and Caporaso labs., США) с использованием эталонной базы данных Greengenes v.13.8 (Second Genome, Inc., США) с порогом сходства между последовательностями 97% [28]. Относительную представленность бактериальных таксонов в общем пуле прочтений получали в пропорциях (от 0 до 1), которые рассчитывали исходя из количества картированных прочтений для каждого таксона. Для определения принадлежности ДНК, обнаруженной в фекалиях, бактериям использовались такие данные, как доля отдельных бактериальных таксонов в общем пуле ДНК (от 0 до 1), а также частота выявления таксонов у индивидуумов различных групп исследования.

Для полученных ридов был проведен контроль качества с помощью программы fastQC по следующим критериям: 1) распределение качества оснований — минимум 90% с качеством > 25 ; 2) распределение длины ридов — минимум 90% прочтений достигают длины в 300 нуклеотидов; 3) максимальный процент неопределенных оснований — 1.

Биоинформатический анализ. Первичная обработка данных секвенирования и получение списка OTUs (operating taxonomic units) осуществлялись с использованием биоинформатического инструмента с открытым исходным кодом "QIIME v.1.9.1" [28]. Далее был проведен анализ предполагаемой метаболической роли компонентов микробиоты методом реконструкции ненаблюдаемых состояний с помощью PICRUST2 — программы для оценки функционального потенциала бактериального сообщества на основе профилей секвенирования маркерных генов [27]. Необработанные метагеномные данные были переведены в ферментативное представление [29].

Статистический анализ. Статистическую обработку результатов исследования проводили в программе STATISTICA 12.0 (StatSoft Inc, США), а также с помощью библиотеки SciPy [30]. Для определения медианы и сигмы был проведен Т-тест. В табл. 2–5, а также в Приложении (1–4)¹, представлен ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Все обнаруженные корреляции между содержанием алкилрезорцинолов в образцах кала и представленностью генов бактериальных ферментов были ранжированы на три категории (1, 2 и 3) в соответствии со значением p -value ($p > 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.01$ соответственно). Для дальнейшего анализа были отобраны только корреляции с уровнем значимости 3 ($p < 0.01$). Конкретные значения p -value для всех отобранных корреляций представлены в табл. 2–5, а также в Приложении (1–4).

¹ Примечание: Приложение 1–4 доступно на сайте журнала в электронном виде.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции Спирмена, рассчитанные для бактериальных генов, кодирующих ферменты (согласно результатам метагеномного секвенирования кишечного микробиома) и представленные одновременно у взрослых с нормальным ИМТ и ожирением (признак 1), и количества АР в фекалиях этих же доноров (признак 2). Статистически значимые корреляции отмечены звездочкой

Признак 1	Признак 2	Нормальный ИМТ		Ожирение	
		Корреляция Спирмена	p-value	Корреляция Спирмена	p-value
Желчная кислота-КоА гидролаза (ЕС:3.1.2.26)	C12	0.11	0.29	0.32*	0.003
4,4'-диапофитоен десату- раза (4,4'-диаполикопен образующая) (ЕС:1.3.8.2)	C12	0.028	0.80	0.30*	0.01
Ликопен бета-циклаза (ЕС:5.5.1.19)	C0	0.014	0.90	0.33*	0.003
Целлюлаза (ЕС:3.2.1.4)	C0	-0.017	0.90	0.29*	0.01
3-гидроксibuтират дегидрогеназа (ЕС:1.1.1.30)	C15	-0.14	0.20	0.34*	0.002
3-оксоксилота КоА-трансфераза (ЕС:2.8.3.5)	C15	-0.065	0.55	0.39*	0.001
L-лактат дегидрогеназа (ЕС:1.1.1.27)	C3	-0.014	0.90	0.30*	0.01
3-метил-2-оксобутаноат дегидрогеназа (ЕС:1.2.4.4)	C0	-0.084	0.44	0.32*	0.004
Дигидролипоиллизин (2-метилпропаноил) трансфераза (ЕС:2.3.1.168)	C6	-0.098	0.36	0.37*	0.001
Гистонацетилтрансфераза (ЕС:2.3.1.48)	C3	-0.22*	0.04	0.31*	0.004
Моноаминоксидаза (ЕС:1.4.3.4)	C1	-0.21*	0.04	0.32*	0.003
Нитрилгидратаза (ЕС:4.2.1.84)	C15	0.0013	0.99	0.29*	0.01
Пантоат-бета-аланин лигаза (АМФ-образую- щая) (ЕС:6.3.2.1)	C6	0.28*	0.01	0.007	0.95

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ корреляционных связей АР с представителями микробиоты больных ожирением и здоровых взрослых и детей

После получения данных метагеномного секвенирования и определения таксономической принадлежности представителей микробиоты доноров

кала, нами был проведен корреляционный анализ между содержанием различных гомологов АР (резорцинол, C0; метилрезорцинол, C1; этилрезорцинол, C2; пропилрезорцинол, C3, пентилрезорцинол, C5; гексилрезорцинол, C6; додецилрезорцинол, C12; пентадецилрезорцинол, C15) в кале и представленностью обнаруженных микробных

Таблица 3. Коэффициенты корреляции Спирмена, рассчитанные для бактериальных генов, кодирующих ферменты (согласно результатам метагеномного секвенирования кишечного микробиома) и представленные одновременно у детей с нормальным ИМТ и ожирением (feature 1), и количества АР в фекалиях этих же доноров (feature 2). Статистически значимые корреляции отмечены звездочкой

Признак 1	Признак 2	Нормальный ИМТ		Ожирение	
		Корреляция Спирмена	p-value	Корреляция Спирмена	p-value
Тетрагидрофолатсинтаза (ЕС:6.3.2.17)	С6	0.36*	0.002	−0.14	0.24
5-формилтетрагидрофолат цикло-лигаза (ЕС:6.3.3.2)	С6	0.37*	0.002	−0.14	0.26
Формат-тетрагидрофолат лигаза (ЕС:6.3.4.3)	С6	0.36*	0.002	−0.1	0.41
Дигидрофолат редуктаза (ЕС:1.5.1.3)	С6	0.37*	0.002	−0.13	0.28
Фосфометилпиримидинкиназа (ЕС:2.7.4.7)	С6	0.37*	0.002	−0.11	0.36
Фосфопантотенат-цистеин лигаза (ЕС:6.3.2.5)	С6	0.35*	0.002	−0.14	0.24
Фосфопантотеноил-цистеин декарбоксилаза (ЕС:4.1.1.36)	С6	0.35*	0.002	−0.14	0.23
Пантетеин-фосфат аденилилтрансфераза (ЕС:2.7.7.3)	С6	0.36*	0.002	−0.14	0.25
Дефосфо-КоА киназа (ЕС:2.7.1.24)	С6	0.37*	0.002	−0.11	0.36
L-аспартат оксидаза (ЕС:1.4.3.16)	С6	0.35*	0.003	−0.14	0.26
Никотинат-нуклеотид дифосфорилаза (карбоксилирующая) (ЕС:2.4.2.19)	С6	0.36*	0.003	−0.15	0.22
Никотинат-нуклеотид аденилилтрансфераза (ЕС:2.7.7.18)	С6	0.36*	0.003	−0.14	0.26
Никотинамид-нуклеотид амидаза (ЕС:3.5.1.42)	С6	0.36*	0.002	−0.14	0.27
Биотин-[ацетил-КоА-карбоксилаза] лигаза (ЕС:6.3.4.15)	С6	0.36*	0.002	−0.14	0.26
Пиридоксаль киназа (ЕС:2.7.1.35)	С6	0.34*	0.004	−0.14	0.27
ФАД синтаза (ЕС:2.7.7.2)	С6	0.34*	0.004	−0.11	0.35
Аденозилкобинамид киназа (ЕС:2.7.1.156)	С6	0.34*	0.004	−0.14	0.27
Кобальт-прекоррин-8 метилмутаза (ЕС:5.4.99.60)	С6	0.34*	0.004	−0.09	0.49
Аденозилкобаламин/альфа-рибазол фосфатаза (ЕС:3.1.3.73)	С6	0.31*	0.01	−0.15	0.23

Таблица 3. Окончание

Признак 1	Признак 2	Нормальный ИМТ		Ожирение	
		Корреляция Спирмена	p-value	Корреляция Спирмена	p-value
Никотинат-нуклеотид—диметилбен- зимидазол фосфорибизтрансфераза (ЕС:2.4.2.21)	С6	0.34*	0.004	−0.15	0.22
Аденозилкобинамид-ГДФ риб- золтрансфераза (ЕС:2.7.8.26)	С6	0.34*	0.004	−0.13	0.28
Триацилглицерол липаза (ЕС:3.1.1.3)	С6	0.46*	8.52e−05	−0.18	0.14
Глицерол дегидрогеноза (ЕС:1.1.1.6)	С6	0.42*	0.001	−0.08	0.52
7-альфа-гидроксистероид дегидроге- наза (ЕС:1.1.1.159)	С6	0.35*	0.003	−0.05	0.67
Ацетолактат синтаза (ЕС:2.2.1.6)	С6	0.35*	0.003	−0.18	0.14
Триптофан синтаза (ЕС:4.2.1.20)	С6	0.35*	0.003	−0.15	0.19
Префенат дегидратаза (ЕС:4.2.1.51)	С6	0.36*	0.002	−0.14	0.26
7,8-диметил-8-гидрокси-5-деазари- бофлавин синтаза (ЕС:2.5.1.77)	С15	−0.12	0.3	−0.32*	0.01
5,6,7,8-тетрагидрометаноптерин гидро-лиаза (ЕС:4.2.1.147)	С15	−0.05	0.7	−0.34*	0.005
формилметанофуран—тетаргидроме- таноптерин N-формилтрансфераза (ЕС:2.3.1.101)	С15	−0.04	0.7	−0.34*	0.005
Коэнзим F420-0:L-глутамат лигаза (ЕС:6.3.2.31)	С15	0.033	0.7	−0.35*	0.004
Коэнзим F420-1:гамма-L- глутамат лигаза (ЕС:6.3.2.34)	С15	0.033	0.7	−0.35*	0.004
[Триметиламин—корриноид про- теин] Ко-метилтрансфераза (ЕС:2.1.1.250)	С3	0.09	0.5	−0.32*	0.01
Сквален синтаза (ЕС:2.5.1.21)	С6	0.22	0.07	−0.33*	0.01

таксонов. Наиболее статистически значимые корреляции представлены в Приложении 1–4. Концентрации АР в кале различных доноров были определены нами ранее и представлены в работе [31].

Положительные корреляции с АР имели представители пяти фил нормальной микробиоты кишечника: *Firmicutes*, *Bacteroidota*, *Actinobacteriota*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobiota*. Наибольшее число корреляционных связей с АР имели представители

Firmicutes и *Bacteroidota*, что обусловлено их доминированием в микробном сообществе. Однако число корреляций значимо менялось в зависимости от индекса массы тела (ИМТ) исследуемого пациента. Так, у взрослых с ожирением число корреляций между представленностью фил *Firmicutes*, *Bacteroidota*, *Actinobacteriota*, *Proteobacteria* и различными АР было выше, чем у взрослых с нормальным ИМТ, в то время как у детей, напротив, для фил

Firmicutes, *Actinobacteriota*, *Proteobacteria* наблюдалось увеличение числа корреляций при нормальном фенотипе (без ожирения) (рис. 1). Это указывает на различия в метаболической активности микробиоты у больных ожирением и здоровых взрослых и детей и различном ответе организма хозяина на действие сигнальных молекул бактериального происхождения.

Среди представителей *Firmicutes* наибольшее количество корреляций с содержанием АР в кале у взрослых и детей без метаболических нарушений и с ожирением отмечались для бактерий классов *Clostridia*, *Bacilli*, *Negativicutes* (рис. 1).

Реконструкция потенциала метаболической активности микробиоты на основе данных высокопроизводительного секвенирования

Связанные с человеком микробные сообщества напрямую взаимодействуют с организмом хозяина посредством продуктов метаболизма, которые выступают в качестве сигнальных или иммуномодулирующих молекул [32]. Исследования человеческого микробиома показывают важность и необходимость оценки метаболического и функционального потенциала микробного сообщества и его влияния на организм человека-хозяина. На основании результатов секвенирования микробных генов, кодирующих 16S рРНК, нами была проведена реконструкция функционального потенциала микробных сообществ. Для этого полученные метагеномные данные с помощью биоинформатического инструмента PICRUSt2 были ассоциированы с базой генных ортологов KEGG для оценки представленности генов, кодирующих бактериальные ферменты. Таким образом, мы смогли рассчитать разницу в относительной представленности более 1700 микробных генов, кодирующих ферменты, участвующие в различных биохимических реакциях (рис. 2).

Затем, исходя из систематических номеров ферментов, представленных в Приложении 1–4, нами был проведен анализ по базе данных BRENDA [33], в которой было аннотировано наличие искомого фермента у тех или иных микроорганизмов, а также указаны его функции.

Далее из списка отобранных ферментов мы искали только те, которые были представлены как у здоровых, так и у больных ожирением (табл. 2 и 3) для того, чтобы оценить, изменяется ли корреляция для данного фермента (а точнее представленности кодирующего его гена) при ожирении по сравнению с нормой. В итоге была обнаружена группа генов, для которых в случае ожирения (или нормы) корреляции с АР достоверно менялись в противоположную сторону (с положительных на отрицательные) или исчезали вовсе (становились недостоверными), что и отражено в представленных табл. 2 и 3.

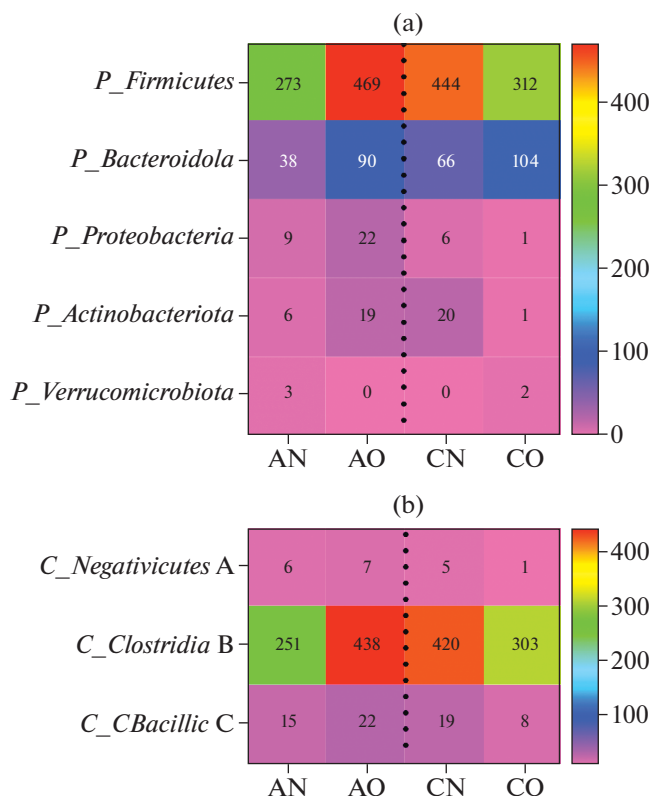


Рис. 1. Число корреляций между содержанием АР в кале и представленностью (а) — различных фил микробного сообщества у взрослых с ожирением (АО) и нормальным ИМТ (АН) и детей с ожирением (СО) и нормальным ИМТ (СН), (б) — различных классов фила *Firmicutes* у взрослых с ожирением (АО) и нормальным ИМТ (АН) и детей с ожирением (СО) и нормальным ИМТ (СН). Заметна зеркальная направленность изменений числа корреляций у детей и взрослых в зависимости от фенотипа.

Однако оказалось, что при таком “наложении” данных корреляции сохранялись только для определенных АР (см. ниже, а также табл. 4).

Анализ корреляций концентраций АР с представленностью генов, кодирующих бактериальные ферменты, участвующие в синтезе АР

Для того, чтобы оценить возможность бактериального происхождения АР, мы провели корреляционный анализ между представленностью генов, кодирующих субъединицы поликетидсинтаз различного типа (ферментов, участвующих в синтезе полифенольных молекул), и содержанием различных гомологов АР в исследуемых образцах. В результате проведенного анализа мы не обнаружили корреляций, обладающих высоким уровнем достоверности. Однако это не исключает возможности синтеза АР кишечной микробиотой, поскольку анализ проводился только по базе данных KEGG и

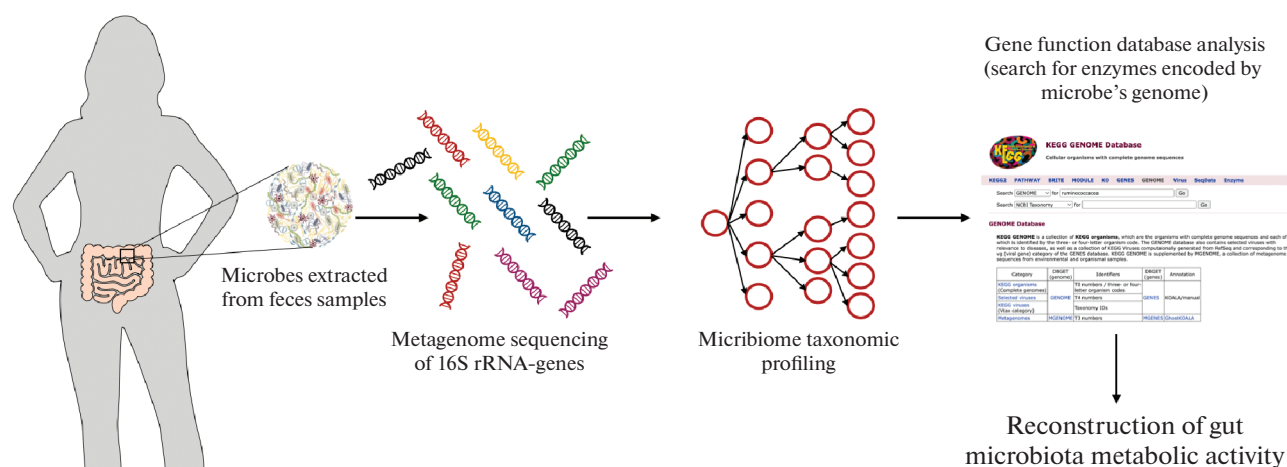


Рис. 2. Алгоритм реконструкции метаболической активности микробиоты на основе результатов метагеномного секвенирования.

включал поиск только по известным генам с описанными функциями. С другой стороны, это может говорить о влиянии пищевых АР, которые также могут выступать в качестве регуляторов микробного сообщества или регуляторов метаболизма хозяина в целом.

*Анализ корреляций концентраций АР
с представленностью бактериальных генов,
кодирующих ферменты, у здоровых и больных
ожирением взрослых*

В результате проведенного анализа нами было обнаружено, что у взрослых с ожирением алкилрезорцинолы кала были представлены резорцинолом (C0), метилрезорцинолом (C1), пропилрезорцинолом (C3), гексилрезорцинолом (C6), додецилрезорцинолом (C12) и пентадецилрезорцинолом (C15). Для данных АР были выявлены наиболее сильные корреляции с представленностью бактериальных генов, кодирующих ферменты нормальной КМ, принимающими участие в жировом обмене, работе иммунной и антиоксидантной систем, обмене короткоцепочечных жирных кислот, метаболизме витаминов, белковом обмене, пролиферации и апоптозе клеток (см. Приложение 2).

Так, с представленностью бактериальных генов, кодирующих ферменты липидного обмена, наблюдалась корреляция с содержанием C12. В частности, содержание C12 в кале у больных ожирением положительно коррелировало ($r = 0.318$) с представленностью гена фермента гидролазы желчных кислот (EC 3.1.2.26), который обеспечивает $7\alpha/7\beta$ -дегидроксилирование желчных кислот, с образованием вторичных желчных кислот. Согласно литературным

данным этот фермент в основном встречается у представителей рода *Clostridium* [34]; с активностью этой гидролазы связано нарушение образования мицелл и всасывания через слизистую тонкого кишечника холестерина и липидов, что ведет к снижению уровня ЛПНП и триглицеридов в сыворотке крови. Помимо этого, с активностью данного фермента связано повышенное выведение с фекалиями вторичных желчных кислот [35]. Вторичные желчные кислоты являются важнейшими молекулами *quorum sensing* и регуляторами состояния микробиоты [36]. При этом надо учитывать, что большинство бактерий не способны синтезировать холестерин и зависят от поступления желчных кислот хозяина [37]. У взрослых с нормальным ИМТ корреляция была статистически незначимой.

Содержание C0 и C12 в кале коррелировало с представленностью генов, отвечающих за метаболизм каротиноидов, важнейшей функцией которых является защита организма от действия активных форм кислорода и регуляция генной экспрессии [38]. Так, у взрослых с ожирением содержание C12 положительно коррелировало ($r = 0.3$) с представленностью бактериальных генов, кодирующих 4,4'-диапофитоендесатуразу (EC 1.3.8.2), которая участвует в образовании 4,4'-диаполикопена, из которого синтезируется каротиноид C30. Данный фермент встречается у представителей рода *Bacillus* (*Helioibacillus mobilis* и др.). Для C0 наблюдалась корреляция ($r = 0.326$) с ликопен-бета-циклазой (EC 5.5.1.19), катализирующей процессы образования альфа- и бета-каротинов. Фермент характерен, в основном, для цианобактерий (*Synechococcus sp.*, *Arthrospira sp.* и др.). У взрослых с нормальным

Таблица 4. Корреляционные зависимости между представленностью различных бактериальных ферментов и содержанием АР в кале детей с ожирением и нормальным ИМТ

Название фермента	Классификационный номер фермента (EC)	Представители микробиоты, продуцирующие фермент (согласно базе данных BRENDA)	Роль фермента в метаболизме (согласно базе данных BRENDA)	Коэффициент корреляции (r) при $p < 0.01$ у здоровых детей	Коэффициент корреляции (r) при $p < 0.01$ у детей с ожирением
Гексилрезорцинол (C6)					
Тетрагидрофолатсинтаза	6.3.2.17	<i>Enterococcaceae</i> , <i>Lactobacillaceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>	Синтез фолатов, участвующих в процессах клеточной пролиферации и дифференцировке, синтезе пуриновых и пиримидиновых оснований, регуляции экспрессии генов и т.д.	0.36	–
Дигидрофолатредуктаза	1.5.1.3	<i>Proteobacteria</i> (<i>Escherichia coli</i>), <i>Firmicutes</i> (представители семейств <i>Lactobacillaceae</i> , <i>Streptococcaceae</i> и <i>Enterococcaceae</i>)		0.37	–
5-Формилтетрагидрофолатциклолигаза	6.3.3.2	<i>Lactobacillaceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>		0.37	–
Форматетрагидрофолатлигаза	6.3.4.3	представители класса <i>Clostridia</i> – <i>Lachnospiraceae</i> , <i>Clostridiaceae</i>		0.36	–
Гидроксиметилпиримидин/ фосфометилпиримидин киназа	2.7.4.7	представители семейств <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Escherichia coli</i>), <i>Bacillaceae</i> (<i>Bacillus subtilis</i>)	Образование 4-амино-2метил-5-дифосфооксиметилпиримидина (токсопиримидина) – предшественника тиамина-пирофосфата	0.36	–
Фосфопантотенат-цистеин лигаза	6.3.2.5	бактерии семейства <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Escherichia coli</i>)	Образование кофермента А из пантотеновой кислоты	0.35	–
Фосфопантотеноилцистеин декарбоксилаза	4.1.1.36			0.35	–
Пантетеинфосфат аденилтрансфераза	2.7.7.3			0.36	–
Дефосфо-Кофермент А киназа	2.7.1.24			0.37	–

Таблица 4. Продолжение

Название фермента	Классификационный номер фермента (EC)	Представители микробиоты, продуцирующие фермент (согласно базе данных BRENDA)	Роль фермента в метаболизме (согласно базе данных BRENDA)	Коэффициент корреляции (r) при $p < 0.01$ у здоровых детей	Коэффициент корреляции (r) при $p < 0.01$ у детей с ожирением
L-аспартат оксидаза	1.4.3.16	<i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Escherichia coli</i>), <i>Bacillaceae</i> (<i>Bacillus subtilis</i>), <i>Burkholderia</i>	Синтез НАД+	0.35	—
Никотинат-нуклеотид дифосфорилаза	2.4.2.19			0.35	—
Никотинат-нуклеотид аденилтрансфераза	2.7.7.18			0.36	—
Никотинамид-нуклеотид амидаза	3.5.1.42	<i>Escherichia coli</i>		0.36	—
Биотин-[ацетил-КоА-карбоксилаза]-лигаза	6.3.4.15	<i>Lactobacillaceae</i> (<i>Leuconostoc mesenteroides</i>), <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Escherichia coli</i>), <i>Bacillaceae</i> (<i>Bacillus subtilis</i>)	Образование биотинил-5'-АМФ, необходимой для образования биотинкарбоксилазы	0.36	—
Пиридоксалькиназа	2.7.1.35	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcaceae</i> , <i>Lactobacillaceae</i>	Образование коферментных форм витамина В6- пиридоксамин-5-фосфата из пиридоксальмина, пиридоксаль-5-фосфата из пиридоксала и пиридоксин-5-фосфата из пиридоксина	0.34	—
Рибофлавинкиназа	2.7.1.26	<i>Bacillus subtilis</i>	Образование флавиномононуклеотида из рибофлавина	0.34	—
ФАД-синтетаза	2.7.7.2	<i>Actinobacteria</i> (<i>Corynebacterium ammoniagenes</i>), <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , некоторые археи (<i>Methanocaldococcus jannaschii</i>)	Синтез флавинадениндинуклеотида из FMN	0.34	—

Таблица 4. Продолжение

Название фермента	Классификационный номер фермента (EC)	Представители микробы, продуцирующие фермент (согласно базе данных BRENDA)	Роль фермента в метаболизме (согласно базе данных BRENDA)	Коэффициент корреляции (r) при $p < 0.01$ у здоровых детей	Коэффициент корреляции (r) при $p < 0.01$ у детей с ожирением
Аденозилкобинамидкиназа	2.7.1.156	бактерии филума <i>Actinobacteria</i> (<i>Propionibacterium freudenreichii</i>), <i>Escherichia coli</i>	Синтез активной формы витамина B12 - дезоксиаденозилкобаламина	0.34	—
Кобальт-прекоррин-8-метилмутаза	5.4.99.60	бактерии семейства <i>Bacillaceae</i> (<i>Priestia megaterium</i>)		0.34	—
Аденозилкобаламин/альфа-рибазол фосфатаза	3.1.3.73	бактерии семейства <i>Methanosarcinaceae</i>		0.31	—
Никотинат-нуклеотиддиметилбензимидазолфосфорибозилтрансфераза	2.4.2.21	бактерии филума <i>Actinobacteria</i> (<i>Propionibacterium freudenreichii</i>), филума <i>Proteobacteria</i> (<i>Sinorhizobium meliloti</i>), рода <i>Geobacillus</i> (<i>Geobacillus kaustophilus</i>)		0.34	—
Аденозилкобинамид-ГДФ-рибазолтрансфераза	2.7.8.26	бактерии <i>Pseudomonas</i> (<i>Pseudomonas denitrificans</i>), некоторые археи (<i>Pyrococcus</i> sp., <i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i>)		0.34	—
Триацилглицероллипаза	3.1.1.3	<i>Acinetobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Staphylococcus</i> (<i>Staphylococcus saprophyticus</i>), <i>Streptomyces</i>	Гидролиз ТАГ до глицерина и жирных кислот	0.47	—
Глицеролдегидрогеназа	1.1.1.6	бактерии семейства <i>Lachnospiraceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Escherichia coli</i>), <i>Arthrobacter</i> , <i>Clostridiaceae</i> , <i>Bacillaceae</i>	Образование из глицерола диоксиацетон, который фосфорилируется и вступает в гликолиз	0.42	—

Таблица 4. Продолжение

Название фермента	Классификационный номер фермента (EC)	Представители микробиоты, продуцирующие фермент (согласно базе данных BRENDA)	Роль фермента в метаболизме (согласно базе данных BRENDA)	Коэффициент корреляции (r) при $p < 0.01$ у здоровых детей	Коэффициент корреляции (r) при $p < 0.01$ у детей с ожирением
7-альфа-гидроксистероиддегидрогеназа	1.1.1.159	бактерии рода <i>Bacteroides</i> (<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides intestinalis</i>), <i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridium</i> (<i>Clostridium sardiniense</i>), <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Escherichia coli</i>)	Синтез вторичных желчных кислот (ВЖК) - активирующих лигандов фарнезопидных рецепторов X (FXR) (повышают синтез фактора роста фибробластов (FGF) и поддерживают нормальный уровень липидов и глюкозы в крови). Также ВЖК обладают противовоспалительными свойствами (урсодезоксихолевая кислота)	0.35	—
Ацетолактатсинтаза	2.2.1.6	бактерии рода <i>Corynebacterium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lactococcus</i> , семейства <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Escherichia coli</i>), некоторые цианобактерии	Превращает пируват в ацетолактат и 2-оксобутанат в 2-ацето-2-оксипируват, которые необходимы для синтеза незаменимых аминокислот с разветвленной цепью (лейцин, изолейцин, валин), обладающих помимо структурной функции, способностью усиливать действие инсулина, улучшать транспортировку глюкозы в ткани	0.35	—

Таблица 4. Окончание

Название фермента	Классификационный номер фермента (EC)	Представители микробиоты, продуцирующие фермент (согласно базе данных BRENDA)	Роль фермента в метаболизме (согласно базе данных BRENDA)	Коэффициент корреляции (r) при $p < 0.01$ у здоровых детей	Коэффициент корреляции (r) при $p < 0.01$ у детей с ожирением
Триптофансинтаза	4.2.1.20	бактерии рода <i>Corynebacterium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i>	Синтез индола и глицеральдегид-3-фосфата из индол-3-глицеролфосфата и образование триптофана	0.35	—
Префенат дегидратаза	4.2.1.51		Синтез фенилаланина	0.36	—
Пентадецилрезорцинол (C15)					
7,8-лидеметил-8-гидрокси-5-деазарибофлавин синтаза	2.5.1.77	<i>Methanobacteriaceae</i>	Синтез кофермента F420 (участвует в восстановительных реакциях метанпродуцирующих бактерий)	—	—0.32
	4.2.1.147		Синтез метана из углекислого газа	—	—0.34
	2.3.1.101			—	—0.34
Кофермент F420-0: L-глутамат лигаза	6.3.2.31		Образование кофермента F420-1	—	—0.35
Кофермент F420-1: гамма-L-глутамат лигаза	6.3.2.34		Образование кофермента F420	—	—0.35

ИМТ корреляционные связи с данными ферментами были статистически незначимы.

У взрослых с ожирением наибольшие взаимосвязи наблюдались между АР и ферментами, участвующими в метаболизме короткоцепочечных жирных кислот (бутирата, пропионата, ацетата). В частности, содержание С0 коррелировало ($r = 0.3$) с представленностью гена, кодирующего целлюлазу (ЕС 3.2.1.4) — фермента, который принимает участие в метаболизме сложных углеводов (расщепляет целлюлозу путем эндогидролиза (1->4)-бета-D-гликозидных связей). Результатом расщепления и последующего окисления продуктов служит образование короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) [39, 40]. У доноров с нормальным ИМТ данная связь не прослеживается ($r = -0.02$). Целлюлаза встречается у протеобактерий (*Rhizobium leguminosarum* *bv. trifolii*, *Komagataeibacter xylinus*, *Marinobacter* *sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudalteromonas haloplanktis*), бацилл (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Geobacillus* *sp.*, *Paenibacillus* *sp.*, *Alicyclobacillus vulcanalis*, *Bacillus circulans*, *Bacillus licheniformis*, *Brevibacillus* *sp.*), актинобактерий (*Streptomyces* *sp.*, *Cellulomonas fimi*), фирмикут класса *Clostridia*: *Oscillospiraceae* (*Hungateiclostridium thermocellum*, *Ruminiclostridium cellulolyticum*), *Clostridiaceae* (*Clostridium cellulovorans*), *Lachnospiraceae* (*Lachnoclostridium phytofermentans*), *Ruminococcaceae* (*Ruminococcus albus*).

Согласно данным литературы [41], бутират оказывает стимулирующее влияние на выработку лептина в адипоцитах и глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1), который синтезируется в эндокринных клетках тонкого кишечника. Воздействуя на рецепторы GPR41, он усиливает чувствительность к инсулину, активирует симпатическую нервную систему, что ингибирует липогенез в жировой ткани и увеличивает расход энергии в других тканях (печень и мышцы). Через GPR41 бутират также стимулирует экспрессию пептида YY (PYY), который имеет свойство снижать перистальтику желудочно-кишечного тракта и всасывание в кровь триациглицеролов и холестерина [42, 43].

С представленностью генов, кодирующих ферменты, участвующие в метаболизме бутирата, коррелирует также и содержание в кале С15. Положительные корреляции прослеживаются для 3-гидроксибутиратдегидрогеназы (ЕС 1.1.1.30) ($r = 0.336$), превращающей ацетоацетат в гидроксибутират и встречающейся в основном у представителей фила *Proteobacteria*, и 3-оксокислота-КоА-трансферазы (ЕС 2.8.3.5) ($r = 0.394$), катализирующей процесс образования ацетоацетил-КоА и специфичной для бактерий филума *Proteobacteria* и филума *Firmicutes* (рода *Bacilli*). При этом опять же у взрослых с нормальным ИМТ данные корреляционные связи теряются.

С представленностью генов, кодирующих ферменты, участвующие в метаболизме пропионата,

положительную корреляцию имели С0, С3, С6 и С12. Так, С3 коррелирует с представленностью *L*-лактатдегидрогеназы (ЕС 1.1.1.27) ($r = 0.3$), катализирующей процесс образования 2-оксибутирата, из которого, в последующем, образуется пропанонат. Данный фермент содержат бактерии филума *Proteobacteria*, семейств *Lactobacillaceae*, *Bifidobacteriaceae*. Для С0 наблюдались корреляции с 3-метил-2-оксобутаноатдегидрогеназой (ЕС 1.2.4.4) ($r = 0.317$), участвующей в синтезе S-пропилдигидролипоамида-Е из 2-(альфа-гидроксипропил)тиаминдифосфата, а для С6 — с дигидролипоиллизин-(2-метилпропаноил)-трансферазой (ЕС 2.3.1.168) ($r = 0.368$), образующей пропаноил-КоА из S-пропилдигидролипоамида-Е. Оба фермента встречаются в основном у бактерий филума *Bacteroidota*.

Пропионат, воздействуя через рецепторы GPR43, обладает антилиполитическим эффектом за счет ослабления работы гормон-чувствительной липазы (снижает процесс ее фосфорилирования) [44]. Помимо этого, он, так же, как и бутират, повышает инсулиносенситивность и, через активацию симпатической нервной системы, предотвращает избыточное отложение триацглицеридов (ТАГ) в жировой ткани [45]. Помимо этого, пропионат и его производные оказывают противовоспалительное действие [46], вместе с бутиратом обеспечивают иммунную защиту (за счет увеличения выработки ИЛ-18), регулируют функции нейтрофилов, макрофагов, моноцитов [47], нормальное функционирование остеокластов [48].

Таким образом, у взрослых с ожирением в основном наблюдались положительные корреляции АР с представленностью генов ферментов, отвечающих за синтез КЦЖК, в то время как у детей с ожирением, равно как и у здоровых детей и взрослых, не было обнаружено статистически значимых корреляций АР с аналогичными ферментами.

У взрослых с ожирением для С3 наблюдалась положительная корреляция ($r = 0.314$) с представленностью гена, кодирующего гистонацетилтрансферазу (ЕС 2.3.1.48). Известно, что данный фермент участвует в регуляции экспрессии генов, хемотаксисе, дифференцировке, пролиферации и апоптозе клеток и встречается у бактерий филумов *Actinobacteria* (*Actinosynnema* *sp.*), *Proteobacteria* (*Acinetobacter* *sp.*), *Firmicutes* (*Bacillus subtilis*). У взрослых с нормальным ИМТ корреляционная связь С3 с гистонацетилтрансферазой имеет отрицательное значение ($r = -0.216$).

У взрослых с ожирением С1 и С15 положительно коррелировали с представленностью генов, кодирующих ферменты, принимающие участие в аминокислотном (в частности, триптофановом) обмене. Так, для С1 наблюдалась связь ($r = 0.324$) с моноаминоксидазой (ЕС 1.4.3.4), которая принимает участие в образовании 3-индолацетальдегида (с последующим образованием 3-индолацетата) и

5-гидроксиацетальдегида (с последующим синтезом 5-гидроксииндолацетата) из триптофана [49]. Данный фермент представлен у актинобактерий (*Mycolicibacterium gilvum*, *Sphaerisporangium krabien-sis*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Corynebacterium sp.*, *Rhodococcus*), протеобактерий (*Pseudomonas sp.*, *Sphingobium sp.*, *Rhizobium sp.*, *Burkholderia sp.*, *Paraburkholderia sp.*), фирмикутов (*Bacillus cereus*, *Paenibacillus* и др.), цианобактерий (род *Oscillatoria*), бактерий филума *Bacteroidota*. У взрослых с нормальным ИМТ данная корреляция приобретает отрицательное значение ($r = -0.214$).

Нитрилгидратаза (ЕС 4.2.1.84), имеющая положительную корреляционную связь с С15 ($r = 0.3$), принимает участие в образовании индол-3-ацетамида, из которого, через каскад реакций, синтезируется индол-3-ацетат. У взрослых с нормальным ИМТ данная корреляция отсутствует ($r = 0.0001$). Нитрилгидратаза специфична для *Actinobacteriota* (*Arthrobacter sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Streptomyces sp.* и др.), *Proteobacteria* (*Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Comamonas sp.*, *Alcaligenes sp.* и др.) и большинства *Bacillus*. Как известно, индол-3-ацетат ингибирует экспрессию микроРНК-181 в адипоцитах, повышая их чувствительность к инсулину [50].

Таким образом, АР в большей степени положительно коррелировали с представленностью генов, кодирующих ферменты, вовлеченные в катаболизм белков/аминокислот, липидов и углеводов, что указывает на роль микробиоты в увеличении потребления энергоемких субстратов организмом хозяина, а значит — большее количество извлекаемых из пищи калорий.

У людей с нормальной конституцией С6 коррелировал с представленностью ферментов, участвующих в обмене витаминов, а именно с пантаноат-бета-аланинлигазой (АМФ-образующей) (ЕС 6.3.2.1) ($r = 0.275$), в то время как у взрослых с ожирением эта корреляционная связь исчезает (табл. 2). Данный фермент принимает участие в синтезе кофермента А, необходимого для обмена липидов, кетонных тел, ацетилирования холина, ксенобиотиков, синтеза гема [51].

Анализ корреляций концентраций АР в кале с представленностью генов, кодирующих бактериальные ферменты, у здоровых и больных ожирением детей

В отличие от взрослых у здоровых детей наибольшее число корреляций с ферментами нормальной КМ наблюдалось для С6 (табл. 3, а также Приложение 3 и 4). Спектр корреляционных связей С6 включает гены, кодирующие ферменты, участвующие в липидном, углеводном обмене, обмене аминокислот и метаболизме витаминов.

Наибольшее число корреляций для С6 обнаруживается с генами ферментов, участвующих в метаболизме водорастворимых витаминов — фолиевой кислоты, тиамина, пантотеновой кислоты, рибофлавина, никотиновой кислоты, биотина, цианкобаламина.

Так, количество С6 в кале коррелирует как с представленностью генов ферментов, участвующих в образовании активной формы фолиевой кислоты, так и в синтезе производных фолатов, необходимых для образования пуриновых и пиримидиновых оснований. Например, положительные корреляции обнаруживаются для ферментов: тетрагидрофолатсинтазы (ЕС 6.3.2.17) и ($r = 0.357$), которая встречается у бактерий семейств *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Enterobacteriaceae*; дигидрофолатредуктазы (ЕС 1.5.1.3) ($r = 0.371$), катализирующей процесс образования тетрагидрофолиевой кислоты и встречающейся у бактерий филлов *Proteobacteria* (*Escherichia coli*), *Firmicutes* (представителей семейств *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae* и *Enterococcaceae*); 5-формилтетрагидрофолатциклолигазы (ЕС 6.3.3.2) ($r = 0.368$), необходимого для образования 5',10'-метенилтетрагидрофолата (этот фермент встречается у бактерий семейств *Lactobacillaceae*, *Enterobacteriaceae*); форматетрагидрофолатлигазой (ЕС 6.3.4.3) ($r = 0.362$), катализирующей реакцию образования 10'-формилтетрагидрофолата (фермент характерен для представителей класса *Clostridia*, семейств *Lachnospiraceae*, *Clostridiaceae*). У детей с ожирением все эти корреляционные связи теряются.

Помимо ферментов, участвующих в синтезе фолатов, содержание С6 в кале здоровых детей коррелировало с представленностью генов ферментов, участвующих в синтезе активной формы витамина В1 — тиаминпирофосфата; пантотената (витамина В5), необходимого для образования кофермента А; активной формы витамина В3 — никотинамидадениндинуклеотида; биотина (витамина В7); активных форм витаминов В6, В2, В12 (см. табл. 4). При этом у детей с ожирением положительные корреляции исчезали или изменялись на отрицательные.

У детей с ожирением наибольшую концентрацию в кале имел С15. При этом его статистически значимые корреляции имели отрицательный характер и, в основном, были связаны с представленностью генов, кодирующих ферменты, участвующие в синтезе метана метанпродуцирующих микроорганизмов (табл. 4). Так, обратная корреляционная связь С15 наблюдалась по отношению к бактериям семейства *Methanobacteriaceae* ($r = -0.31$). У здоровых детей подобной статистически значимой корреляции не обнаружено. Метаногены важны для человека, потому что они отвечают за один из трех микробных механизмов удаления избытка H_2 из кишечника. Избыток H_2 ингибирует бактериаль-

ную НАДН-дегидрогеназу, что приводит к снижению продукции АТФ [52]. Поэтому удаление H_2 из кишечника является важным процессом, повышающим эффективность ферментативного брожения и позволяющим извлечь большее количество энергии из компонентов пищи. Метаногены не везде, чаще колонизируют женщин, чем мужчин, и колонизация коррелирует с возрастом — метаногены относительно редко обнаруживаются в кишечнике детей и подростков. Более того, известно, что повышенное содержание метаногенов в кишечнике хозяина ассоциировано с ожирением [53]. В этой связи полученные нами результаты представляют особый интерес: отрицательные корреляции C15 с представленностью метаногенов у детей с ожирением указывают, с одной стороны, на обогащенность микробиоты детей с ожирением метаногенами, которые увеличивают поступление энергоемких молекул в клетки хозяина, а с другой — на потерю защитных эффектов АР при таком сдвиге в микробиотическом сообществе.

Другим АР, для которого были обнаружены корреляции с представленностью ферментов, участвующих в синтезе метана, был резорцинол. Для C0 наблюдалась отрицательная связь с представленностью гена фермента триметиламинметилтрансферазой (EC 2.1.1.250) ($r = -0.315$), принимающим участие в образовании метана из триметиламина. У конституционно нормальных детей данная связь исчезает ($r = 0.06$).

У детей с ожирением прослеживается обратная связь C6 с представленностью гена скваленсинтазы (EC 2.5.1.21) ($r = -0.326$), участвующей в синтезе холестерина. Данный фермент среди представителей нормальной КМ встречается, в основном, у бактерий фила *Proteobacteria* (*Methylococcus capsulatus*). При этом у здоровых детей корреляция теряется.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате проведенного анализа нами был выявлен ряд важных тенденций в изменении корреляций между содержанием различных гомологов ряда АР в кале детей и взрослых и таксономической представленностью микробиоты кишечника, а также представленностью генов, кодирующих различные микробные ферменты, в зависимости от наличия или отсутствия ожирения (рис. 3). Во-первых, нами было обнаружено изменение числа корреляционных связей между АР и различными микробными таксонами, как у детей, так и у взрослых, причем распределение корреляций между группами детей и взрослых было практически полностью противоположным. Так, для детей с ожирением мы наблюдали увеличение числа корреляций между различными гомологами АР и филами *Bacteroidota* и *Verrucomicrobia*, в то время как у детей без метаболических нарушений росло число корреляций с филами *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmic-*

utes. При этом из данных литературы известно, что у детей снижение уровня различных представителей *Bacteroidota* и, вследствие этого, снижение соотношения *Bacteroidota*/*Firmicutes* является четким индикатором ожирения [54]. Согласно результатам реконструкции метаболической активности микробиоты у детей с нормальным ИМТ АР статистически значимо коррелировали с представленностью генов, кодирующих ферменты, участвующие в анаболических процессах — синтезе витаминов, аминокислот, вторичных желчных кислот и других биомолекул, положительно влияющих на анаболические процессы в растущем детском организме и поддержании нормальной чувствительности к инсулину. В то же время у детей с ожирением различные АР в основном отрицательно коррелировали с генами, кодирующими ферменты, отвечающие за метаногенез, абсорбцию нутриентов, проницаемость кишечного барьера. Это может свидетельствовать о таких изменениях в составе микробиоты (дисбиозе), которые приводят к снижению образования АР, обладающих позитивными эффектами для метаболизма хозяина, что, в свою очередь, предотвращает сдерживание роста бактерий, вносящих вклад в развитие ожирения.

В группе исследованных взрослых мы наблюдали иную картину: у пациентов с ожирением число корреляций АР увеличивалось для таксонов *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidota* и *Firmicutes*. При этом наибольшее число корреляций обнаруживалось между АР и генами, кодирующими ферменты, вовлеченные в катаболизм белков/аминокислот, липидов и углеводов, что указывает, с одной стороны, на роль микробиоты в увеличении потребления энергоемких субстратов организмом хозяина, а значит — большее количество извлекаемых из пищи калорий, а с другой — на изменение роли АР при нарушении метаболизма. Вероятно, изменение микробиоты, наблюдаемое при ожирении у взрослых, приводит к продукции таких АР, которые способствуют размножению обезогенной (способствующей развитию ожирения) микробиоты, в то время как при нормальном метаболизме продуцируемые микробиотой АР, наоборот, будут иметь протективный для организма хозяина эффект. Об этом говорит и изменение числа корреляций между отдельными представителями гомологического ряда АР и представленностью бактериальных генов, отвечающих за синтез ферментов (рис. 4). У детей с ожирением по сравнению с детьми с нормальной массой тела мы наблюдали значительное снижение числа статистически значимых корреляций для C6 (558 — в норме, 8 — при ожирении), а также для C3 и C12, в то время как число корреляций для C15, C5, C2 и C0, напротив, повысилось при ожирении. При этом у взрослых с ожирением значительно повышалось число значимых корреляций для C3 (32 — при ожирении, 2 — в

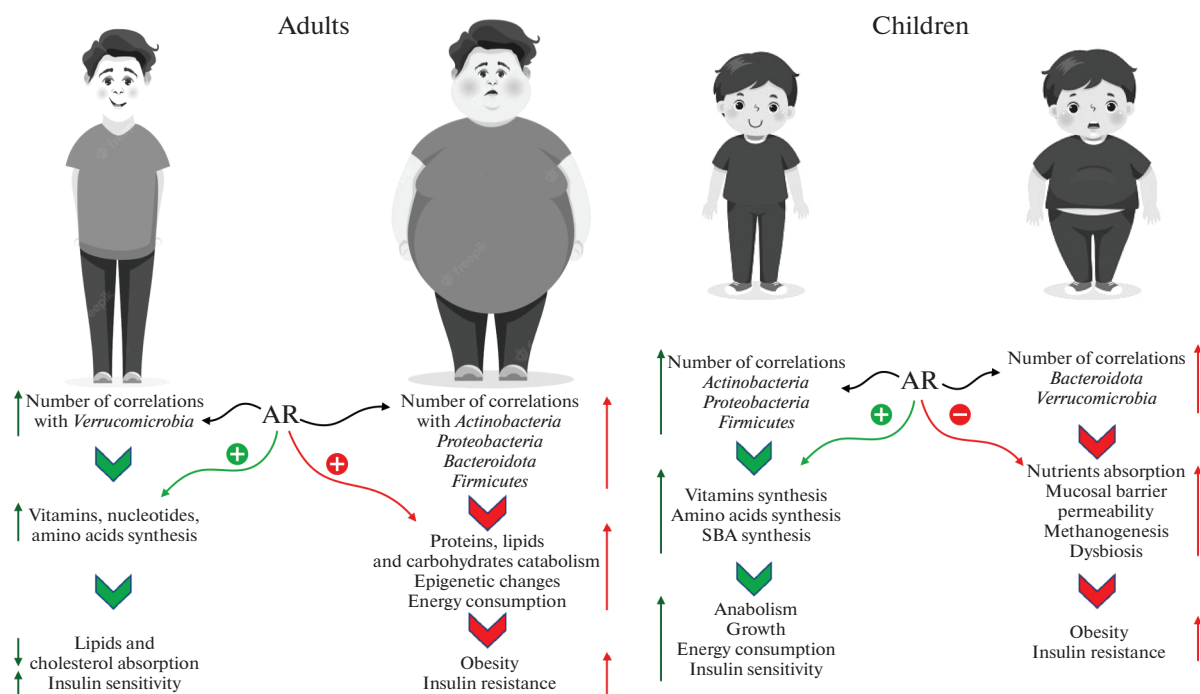


Рис. 3. Метаболические изменения, наблюдаемые у взрослых и детей с ожирением по сравнению со здоровыми индивидуумами, и коррелирующие с содержанием АР в кале, согласно реконструкции потенциальной метаболической активности микробиоты. SBA – вторичные желчные кислоты.

норме) и C0 (42 – при ожирении и 5 – в норме) и снижалось число корреляций для C5.

Такое весомое изменение числа корреляций и их направленности, с одной стороны, может быть обусловлено различиями в возрастной и половой структуре исследуемой когорты: в разные возрастные периоды микробиота имеет различный таксономический состав и, следовательно, отличается по своей функциональности [55, 56]. С другой стороны, отличия могут быть обусловлены особенно-

стями диеты различных групп испытуемых. Необходимо учитывать тот факт, что АР являются компонентами некоторых злаков и других продуктов питания, поэтому диета, содержащая цельнозерновые продукты, также будет влиять на содержание АР в кале [7].

Тем не менее очевидным является значимое изменение генной представленности кишечной микробиоты и ассоциаций с различными АР в стуле взрослых и детей. Настоящее и другие исследования показывают, что различные гомологи АР имеют регуляторный потенциал и, вероятно, вносят вклад как в состав кишечной микробиоты человека, так и развитие метаболических нарушений, в частности, ожирения. Однако механизмы действия АР требуют дальнейшего внимательного изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время проблема ожирения является одним из ключевых вопросов медицины и системы здравоохранения. Патогенез ожирения сложен и зависит от множества факторов, как наследственных, так и воздействий внешней среды, включая образ жизни и особенности диеты. Особенно интересны исследования последних лет, показывающие значительный вклад метаболитов кишечной микробиоты в регуляцию энергетического обмена и иммунную функцию организма хозяина, непосредственно связанные с развитием ожирения

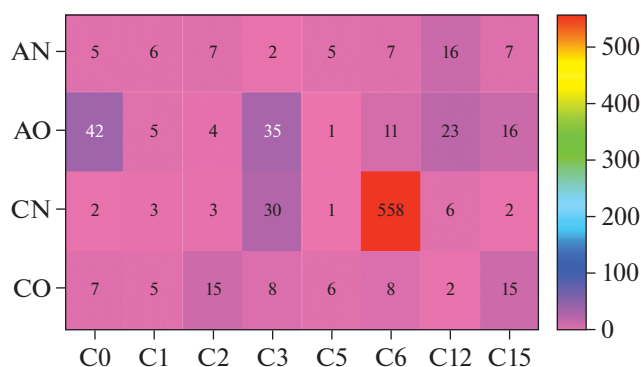


Рис. 4. Число корреляций между АР и представленностью бактериальных генов, кодирующих ферменты, у детей и взрослых с ожирением и нормальным ИМТ. AN – взрослые с нормальным ИМТ, АО – взрослые с ожирением, CN – дети с нормальным ИМТ, CO – дети с ожирением.

и вызванных им осложнений. Алкилрезорцинолы — липофильные молекулы растительного и микробного происхождения, поступающие с пищей и обладающие пребиотическими свойствами, направленными на предотвращение развития ожирения, как было показано в мышиных моделях. Однако, насколько нам известно, нет исследований, показывающих микробиотическое происхождение АР и их способность выступать в качестве молекул *quorum sensing*. В настоящем исследовании мы провели метагеномный анализ состава микробного сообщества кишечника и хроматографический анализ представленности различных гомологов АР, основываясь на образцах стула, полученного от более 400 детей и взрослых с нормальным ИМТ и ожирением. Определение таксономического состава микробного сообщества позволило нам провести реконструкцию метаболической активности микробиоты, в основе которой лежало определение относительной представленности бактериальных генов, кодирующих ферменты. Корреляционный анализ представленности АР и бактериальных генов выявил ряд важных тенденций:

- распределение корреляций содержания АР в кале как с представленностью различных бактериальных таксонов, так и представленностью бактериальных генов, между группами детей и взрослых было практически полностью противоположным (зеркальным);

- у взрослых с ожирением содержание АР в основном коррелировало с представленностью генов, отвечающих за катаболизм энергоемких субстратов и аккумуляцию энергии, в то время как у детей с ожирением содержание АР в кале коррелировало с такими функциями, как повышение проницаемости мукозального барьера, метаногенез и абсорбция нутриентов;

- изменялось не только число корреляций, но также и профиль коррелирующих АР — у взрослых спектр АР был значительно шире, чем у детей, что, вероятно, связано с особенностями состава микробиотического сообщества;

- обнаруженные изменения в таксономическом составе микробиоты, ее метаболической активности и направленности корреляций с АР, позволяют предположить, что АР влияют на метаболическую активность микробиоты и вовлечены в метаболические сдвиги в организме хозяина, приводящие к развитию ожирения.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет средств госбюджета.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (А.В.Ш. и Т.В.Г.), сбор данных (И.Ю.В., А.М.Г.), обработка данных (А.А.З., А.Б.И.), написание и редактирование манускрипта (А.А.З., С.А.Р., А.В.Ш.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Saad MJA, Santos A, Prada PO* (2016) Linking Gut Microbiota and Inflammation to Obesity and Insulin Resistance. *Physiology* 31:283–293. <https://doi.org/10.1152/physiol.00041.2015>
2. *Gomaa EZ* (2020) Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie Van Leeuwenhoek* 113:2019–2040. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01474-7>
3. *Vandenplas Y, Carnielli VP, Ksiazek J, Luna MS, Migacheva N, Mosselmans JM, Picaud JC, Possner M, Singhal A, Wabitsch M* (2020) Factors affecting early-life intestinal microbiota development. *Nutrition* 78:110812. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110812>
4. *Moeller AH, Sanders JG* (2020) Roles of the gut microbiota in the adaptive evolution of mammalian species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 375:20190597. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0597>
5. *Adak A, Khan MR* (2019) An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cel Mol Life Sci* 76:473–493. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2943-4>
6. *Arumugam M, Raes J, Pelletier E, le Paslier D, Yamada T, Mende DR, Fernandes GR, Tap J, Bruls T, Batto J-M, Bertalan M, Borruel N, Casellas F, Fernandez L, Gautier L, Hansen T, Hattori M, Hayashi T, Kleerebezem M, Kurokawa K, Leclerc M, Levenez F, Manichanh C, Nielsen HB, Nielsen T, Pons N, Poulain J, Qin J, Sicheritz-Ponten T, Tims S, Torrents D, Ugarte E, Zoetendal EG, Wang J, Guarner F, Pedersen O, de Vos WM, Brunak S, Doré J, Weissenbach J, Ehrlich SD, Bork P* (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473:174–180. <https://doi.org/10.1038/nature09944>
7. *Zabolotneva AA, Shatova OP, Sadova AA, Shestopalov AV, Roumiantsev SA* (2022) An Overview of Alkylresorcinols Biological Properties and Effects. *J Nutr Metab* 2022:1–12. <https://doi.org/10.1155/2022/4667607>
8. *Bitkov VV, Nenashev VA, Pridachina NN, Batrakov SG* (1992) Membrane-structuring properties of bacterial long-chain alkylresorcinols. *Biochim Biophys Acta (BBA). Biomembranes* 1108:224–232. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(92\)90029-L](https://doi.org/10.1016/0005-2736(92)90029-L)
9. *Nikolaev YA, Tutel'yan AV, Loiko NG, Buck J, Sidorenko SV, Lazareva I, Gostev V, Manzen'yuk OY, Shemyakin IG, Abramovich RA, Huwyler J, El'-Registan GI* (2020) The use of 4-Hexylresorcinol as antibiotic adjuvant. *PLoS One* 15:e0239147. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239147>

10. Kozubek A, Tyman JHP (1999) Resorcinolic Lipids, the Natural Non-isoprenoid Phenolic Amphiphiles and Their Biological Activity. *Chem Rev* 99:1–26. <https://doi.org/10.1021/cr970464o>
11. Stasiuk M, Kozubek A (2010) Biological activity of phenolic lipids. *Cel Mol Life Sci* 67:841–860. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0193-1>
12. El'-Registan GI, Muliukin AL, Nikolaev IA, Suzina NE, Gal'chenko VF, Duda VI (2006) Adaptive functions of extracellular autoregulators of microorganisms. *Mikrobiologiya* 75:446–456.
13. Nikolaev IA, Muliukin AL, Stepanenko II, El'-Registan GI (2006) [Autoregulation of stress response in microorganisms]. *Mikrobiologiya* 75:489–496.
14. Cox LM, Blaser MJ (2013) Pathways in Microbe-Induced Obesity. *Cell Metab* 17:883–894. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.05.004>
15. Tremaroli V, Bäckhed F (2012) Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 489:242–249. <https://doi.org/10.1038/nature11552>
16. Kovatcheva-Datchary P, Arora T (2013) Nutrition, the gut microbiome and the metabolic syndrome. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 27:59–72. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2013.03.017>
17. Oishi K, Yamamoto S, Itoh N, Nakao R, Yasumoto Y, Tanaka K, Kikuchi Y, Fukudome S, Okita K, Takano-Ishikawa Y (2015) Wheat Alkylresorcinols Suppress High-Fat, High-Sucrose Diet-Induced Obesity and Glucose Intolerance by Increasing Insulin Sensitivity and Cholesterol Excretion in Male Mice. *J Nutr* 145:199–206. <https://doi.org/10.3945/jn.114.202754>
18. Costabile A, Klinder A, Fava F, Napolitano A, Fogliano V, Leonard C, Gibson GR, Tuohy KM (2008) Whole-grain wheat breakfast cereal has a prebiotic effect on the human gut microbiota: a double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Brit J Nutr* 99:110–120. <https://doi.org/10.1017/S0007114507793923>
19. Exeberria U, Fernández-Quintela A, Milagro FI, Aguirre L, Martínez JA, Portillo MP (2013) Impact of Polyphenols and Polyphenol-Rich Dietary Sources on Gut Microbiota Composition. *J Agric Food Chem* 61:9517–9533. <https://doi.org/10.1021/jf402506c>
20. Rejman J, Kozubek A (2004) Inhibitory Effect of Natural Phenolic Lipids upon NAD-Dependent Dehydrogenases and on Triglyceride Accumulation in 3T3-L1 Cells in Culture. *J Agric Food Chem* 52:246–250. <https://doi.org/10.1021/jf034745a>
21. Andersson U, Dey ES, Holm C, Degerman E (2011) Rye bran alkylresorcinols suppress adipocyte lipolysis and hormone-sensitive lipase activity. *Mol Nutr Food Res* 55:S290–S293. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100231>
22. Rejman J, Kozubek A (1997) Long-chain orcinol homologs from cereal bran are effective inhibitors of glycerophosphate dehydrogenase. *Cel Mol Biol Let* 2:411–419.
23. Horikawa K, Hashimoto C, Kikuchi Y, Makita M, Oishi K (2022) Wheat alkylresorcinol increases fecal lipid excretion and suppresses feed efficiency in mice depending on time of supplementation. *Nutrition* 103–104:111796. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2022.111796>
24. Ross AB, Chen Y, Frank J, Swanson JE, Parker RS, Kozubek A, Lundh T, Vessby B, ÅÅman P, Kamal-Eldin A (2004) Cereal Alkylresorcinols Elevate γ -Tocopherol Levels in Rats and Inhibit γ -Tocopherol Metabolism In Vitro. *J Nutr* 134:506–510. <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.506>
25. Song S, Liu Q, Chai W-M, Xia S-S, Yu Z-Y, Wei Q-M (2021) Inhibitory potential of 4-hexylresorcinol against α -glucosidase and non-enzymatic glycation: Activity and mechanism. *J Biosci Bioeng* 131:241–249. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2020.10.011>
26. Chen J, Zhu S, Zhang C, Chen H, Liu Y, Tu J (2013) Inhibition of wheat bran and its active components on α -glucosidase in vitro. *Pharmacogn Mag* 9:309. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.117826>
27. Douglas GM, Maffei VJ, Zaneveld JR, Yurgel SN, Brown JR, Taylor CM, Huttenhower C, Langille MGI (2020) PICRUST2 for prediction of metagenome functions. *Nat Biotechnol* 38:685–688. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0548-6>
28. <http://qiime.org/>
29. <https://www.genome.jp/kegg/>
30. https://github.com/ivasilyev/curated_projects/blob/a2f926539c151f4dd33b1ec9f24918315607b663/ashestopalov/nutrition/obesity_metagenomes/5_count_correlations.py#L38
31. Shestopalov AV, Gaponov AM, Zabolotneva AA, Appolonova SA, Markin PA, Borisenko OV, Tutelyan AV, Rumyantsev AG, Teplyakova ED, Shin VF, Savchuk DV, Volkova NI, Ganenko LA, Makarov VV, Yudin SM, Rumyantsev SA (2022) Alkylresorcinols: New Potential Bioregulators in the Superorganism System (Human–Microbiota). *Biol Bullet* 49:150–159. <https://doi.org/10.1134/S1062359022030153>
32. (2012) Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 486:207–214. <https://doi.org/10.1038/nature11234>
33. <https://www.brenda-enzymes.org/>
34. Ridlon JM, Hylemon PB (2012) Identification and characterization of two bile acid coenzyme A transferases from *Clostridium* scindens, a bile acid 7 α -dehydroxylating intestinal bacterium. *J Lipid Res* 53:66–76. <https://doi.org/10.1194/jlr.M020313>
35. Wells JE, Hylemon PB (2000) Identification and Characterization of a Bile Acid 7 α -Dehydroxylation Operon in *Clostridium* sp. Strain TO-931, a Highly Active 7 α -Dehydroxylating Strain Isolated from Human Feces. *Appl Environ Microbiol* 66:1107–1113. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.3.1107-1113.2000>
36. Vogt SL, Peña-Díaz J, Finlay BB (2015) Chemical communication in the gut: Effects of microbiota-generated metabolites on gastrointestinal bacterial pathogens. *Anaerobe* 34:106–115. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.05.002>
37. Bourgin M, Labarthe S, Kriaa A, Lhomme M, Gérard P, Lesnik P, Laroche B, Maguin E, Rhimi M (2020) Exploring the Bacterial Impact on Cholesterol Cycle: A Numerical Study. *Front Microbiol* 11:1121. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01121>
38. Vachali P, Bhosale P, Bernstein PS (2012) Microbial Carotenoids. 41–59.

39. Picard C, Fioramonti J, Francois A, Robinson T, Neant F, Matuchansky C (2005) Review article: bifidobacteria as probiotic agents – physiological effects and clinical benefits. *Aliment Pharmacol Ther* 22:495–512.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2005.02615.x>
40. Hu J, Lin S, Zheng B, Cheung PCK (2018) Short-chain fatty acids in control of energy metabolism. *Crit Rev Food Sci Nutr* 58:1243–1249.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1245650>
41. Karney A (2017) [Microbiota and obesity]. *Dev Period Med* 21:203–207.
<https://doi.org/10.34763/devperiod-med.20172103.203207>
42. Samuel BS, Shaito A, Motoike T, Rey FE, Backhed F, Manchester JK, Hammer RE, Williams SC, Crowley J, Yanagisawa M, Gordon JI (2008) Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:16767–16772.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0808567105>
43. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, Gibson GR, Delzenne NM (2007) Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia* 50:2374–2383.
<https://doi.org/10.1007/s00125-007-0791-0>
44. Hong Y-H, Nishimura Y, Hishikawa D, Tsuzuki H, Miyahara H, Gotoh C, Choi K-C, Feng DD, Chen C, Lee H-G, Katoh K, Roh S-G, Sasaki S (2005) Acetate and Propionate Short Chain Fatty Acids Stimulate Adipogenesis via GPCR43. *Endocrinology* 146:5092–5099.
<https://doi.org/10.1210/en.2005-0545>
45. Khan MJ, Gerasimidis K, Edwards CA, Shaikh MG (2016) Role of Gut Microbiota in the Aetiology of Obesity: Proposed Mechanisms and Review of the Literature. *J Obes* 2016:1–27.
<https://doi.org/10.1155/2016/7353642>
46. Jan G, Belzacq A-S, Haouzi D, Rouault A, Métivier D, Kroemer G, Brenner C (2002) Propionibacteria induce apoptosis of colorectal carcinoma cells via short-chain fatty acids acting on mitochondria. *Cell Death Differ* 9:179–188.
<https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400935>
47. Corrêa-Oliveira R, Fachi JL, Vieira A, Sato FT, Vinolo MAR (2016) Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clin Transl Immunology* 5:e73.
<https://doi.org/10.1038/cti.2016.17>
48. Lucas S, Omata Y, Hofmann J, Böttcher M, Iljazovic A, Sarter K, Albrecht O, Schulz O, Krishnacoumar B, Krönke G, Herrmann M, Mougiakakos D, Strowig T, Schett G, Zaiss MM (2018) Short-chain fatty acids regulate systemic bone mass and protect from pathological bone loss. *Nat Commun* 9:55.
<https://doi.org/10.1038/s41467-017-02490-4>
49. Yagodina OV, Nikol'skaya EB, Khovanskikh AE, Kormilitsyn BN (2002) Amine Oxidases of Microorganisms. *J Evol Biochem Physiol* 38:251–258.
<https://doi.org/10.1023/A:1020714607203>
50. Lundgren P, Thaïss CA (2020) The microbiome-adipose tissue axis in systemic metabolism. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 318:G717–G724.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00304.2019>
51. Cronan JE, Littel KJ, Jackowski S (1982) Genetic and biochemical analyses of pantothenate biosynthesis in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *J Bacteriol* 149:916–922.
<https://doi.org/10.1128/jb.149.3.916-922.1982>
52. Walker A (2007) Say hello to our little friends. *Nat Rev Microbiol* 5:572–573.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro1720>
53. Mathur R, Barlow GM (2015) Obesity and the microbiome. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 9:1087–1099.
<https://doi.org/10.1586/17474124.2015.1051029>
54. Indiani CM dos SP, Rizzardi KF, Castelo PM, Ferraz LFC, Darrieux M, Parisotto TM (2018) Childhood Obesity and Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Gut Microbiota: A Systematic Review. *Childhood Obesity* 14:501–509.
<https://doi.org/10.1089/chi.2018.0040>
55. Odamaki T, Kato K, Sugahara H, Hashikura N, Takahashi S, Xiao J, Abe F, Osawa R (2016) Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiol* 16:90.
<https://doi.org/10.1186/s12866-016-0708-5>
56. Yoon K, Kim N (2021) Roles of Sex Hormones and Gender in the Gut Microbiota. *J Neurogastroenterol Motil* 27:314–325.
<https://doi.org/10.5056/jnm20208>

Reconstruction of the Metabolic Activity of the Intestinal Microbiota in Children and Adults with Obesity and its Relationship with the Representation of Alkylresorcinols in Feces

A. A. Zabolotneva^{a,b#}, A. B. Itov^{a,c}, T. V. Grigorieva^d, I. Yu. Vasiliev^d,
S. A. Roumiantsev^{a,b,e}, A. M. Gaponov^e, and A. V. Shestopalov^{a,b,c}

^aPirogov Russian National Research Medical University, Academic Chair of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of General Medicine, Moscow, Russia,

^bNational Medical Research Center of Endocrinology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Laboratory of Biochemistry of Signaling Pathways, Moscow, Russia,

^cDmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia,

^dKazan Federal University, Kazan, Russia

^eCentre for Digital and Translational BIOMedicine LLC “Centre for Molecular Health”, Moscow, Russia

[#]e-mail: a.zabolotneva@gmail.com

The human body is a superorganism that depends on the trillions of microbial cells that inhabit it. Developing along with the host during evolution, the microbiota forms the phenotypes of our ancestors. Mutations that arose in the process of natural selection led to the joint evolution of the host organism and microbial cells to environmental conditions and the development of adaptability to this environment. The composition and metabolic activity of the intestinal microbiota are found in various manifestations of processes, as well as in the development of pathological conditions and dysmetabolic diseases, including obesity. Alkylresorcinols (AR) are biologically active polyphenolic compounds of microbial origin that have the ability to highly influence host metabolism and the composition of their microbiota. In the present study, we performed metagenomic sequencing of microbial DNA isolated from the stool samples of 401 metabolically healthy and obese children and adults, and also determined the content of various AR homologues in these samples. Based on high-throughput sequencing data, we reconstructed the metabolic potential of the intestinal microbiota and assessed the correlations between the content of various AR homologues and the abundance of microbial enzymes. Based on the results obtained, we observed the features of functional changes in the intestinal microbiota observed in adults and children with obesity.

Keywords: alkylresorcinols, gut microbiota, reconstruction of microbial metabolic activity, obesity