

УДК 577.12:612.067/616.34:616-098

## АЛКИЛРЕЗОРЦИНОЛЫ – НОВЫЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БИОРЕГУЛЯТОРЫ В СИСТЕМЕ СУПЕРОРГАНИЗМА (ЧЕЛОВЕК-МИКРОБИОТА)

© 2022 г. А. В. Шестопапов\*, \*\*, @, А. М. Гапонов\*, А. А. Заболотнева\*\*\*, С. А. Апполонова\*\*\*\*, П. А. Маркин\*\*\*\*, О. В. Борисенко\*\*\*, А. В. Тутельян\*, А. Г. Румянцев\*, Е. Д. Теплякова\*\*, \*\*\*\*\*, В. Ф. Шин\*\*, \*\*\*\*\*, Д. В. Савчук\*\*, \*\*\*\*\*, Н. И. Волкова\*\*\*\*\*, Л. А. Ганенко\*\*\*\*\*, В. В. Макаров\*\*\*\*\*, С. М. Юдин\*\*\*\*\*, С. А. Румянцев\*\*, \*\*\*

\*ФГБУ НМИЦ “Детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева” Минздрава РФ, ул. Саморы Машела, д. 1, Москва 117997 Россия

\*\*Институт цифровой и трансляционной биомедицины ООО “Центр молекулярного здоровья”, Нахимовский проспект, д. 32, Москва, 117218 Россия

\*\*\*ФГАОУ ВО РНИУ им. Н.И. Пирогова, Минздрава РФ, ул. Островитянова, д. 1, Москва, 117997 Россия

\*\*\*\*ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, ул. Большая Пироговская, д. 2, Москва, 119991 Россия

\*\*\*\*\*Ростовский государственный медицинский университет, пер. Нахичеванский, д. 29, Ростов-на-Дону, 344022 Россия

\*\*\*\*\*МБУЗ “Детская городская больница № 1”, ул. Верхненьольная, д. 6, Ростов-на-Дону, 344019 Россия

\*\*\*\*\*Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью, Погодинская, 10, Москва, 119121 Россия

@E-mail: Al-shest@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.09.2020 г.

После доработки 27.04.2021 г.

Принята к публикации 27.04.2021 г.

На основании результатов качественного и количественного состава кишечного и кровяного пулов алкилрезорцинолов, а также их корреляции с уровнем метаболитов триптофана в кале, показателями разнообразия микробиоты кишечника и клинико-лабораторными данными, предложена новая концепция значения алкилрезорцинолов как медиаторов в регуляторной оси “микробиота–жировая ткань”. Показано изменение содержания изучаемых алкилрезорцинолов при ожирении, что, вероятно, отражает взаимосвязь состояния микробиоты и метаболических особенностей макроорганизма.

**Ключевые слова:** алкилрезорцинолы, ожирение, микробиота

**DOI:** 10.31857/S1026347022030155

В настоящее время человеческий организм принято рассматривать как результат длительно-го взаимодействия в ходе эволюции макроорганизма и микробиоты, его населяющей, вследствие чего метаболические процессы симбионтов становятся неразрывно связанными (Salvucci, 2019). Микробиота имеет решающее значение для функционирования пищеварительной, иммунной, нервной и других систем человека, поэтому ее дисбаланс или частичная потеря ассоциированы со многими инфекционными, аутоиммунными, нервными и различными хроническими метаболическими расстройствами (Sidhu *et al.*, 2017; Schmidt *et al.*, 2018). Существование человеческого организма и его полноценное функционирование

невозможно представить без участия симбиотических микроорганизмов, в связи с чем появился термин “сверхорганизм” (“superorganism”), описывающий интеграцию клеток эукариотов с микробиомом и виромом (Goodacre *et al.*, 2007).

Более того, в последние годы начала формироваться концепция существования филогенетического ядра микробиоты кишечника, представленного доминирующими микроорганизмами и встречающимися у большинства индивидуумов (не менее, чем в 50%) (Sitkin *et al.*, 2015). Филогенетическое ядро микробиоты на видовом уровне может быть представлено, по разным данным, всего лишь 40–80 видами микроорганизмов (из более чем тысячи выявленных), которые, тем не

менее количественно могут составлять большинство (>75%) микробного сообщества кишечника (Jalanka-Tuovinen *et al.*, 2011). При этом в зависимости от патологических процессов, происходящих в организме, ядро микробиоты кишечника может значительно меняться: например, при избыточном весе и ожирении, наблюдается уменьшение доли филума *Bacteroidetes* и увеличение доли *Actinobacteria* (Turnbaugh *et al.*, 2009). С другой стороны, присутствие бактерий *Akkermansia muciniphila* и *Lactobacillus plantarum* обратно коррелирует с массой тела как у человека, так и у мышей (Million *et al.*, 2012; Depommier *et al.*, 2019).

В системе сверхорганизма описано существование нескольких регуляторных осей: “микробиота – иммунная система” (Lambring *et al.*, 2019), “микробиота – мозг” (Galland, 2014), “микробиота – жировая ткань” (Lundgren, Thaiss, 2020) и т.д. Медиаторами взаимодействия этих систем являются, прежде всего, метаболиты бактериального происхождения. Например, известно, что метаболит триптофана (индол-3-ацетат), образуемый кишечной микробиотой, попадает в системный кровоток и индуцирует экспрессию микроРНК-181 в адипоцитах, что увеличивает расход энергии и чувствительность адипоцитов к инсулину (Lundgren, Thaiss, 2020). При этом у больных с ожирением наблюдается повышение экспрессии микроРНК-181, что связывают с иным составом микробиоты. Другими примерами регуляторов системы “микробиота–макроорганизм”, осуществляющими “молекулярный диалог” между ее участниками, являются кинуренины, индолы, вторичные желчные кислоты, короткоцепочечные органические кислоты, полифенолы, пропионат (van Duynhoven *et al.*, 2011; Cani *et al.*, 2019; Tirosh *et al.*, 2019). Также на роль потенциальных регуляторных сигнальных молекул претендуют алкилрезорцинолы.

Алкилрезорцинолы (АР) – группа фенольных липидов растительного и микробного происхождения, обладающих биологической активностью (Ross *et al.*, 2004). Они обнаружены у высших растений, грибов, водорослей, слизевых грибов, мхов и бактерий и выполняют структурную функцию, а также проявляют разнообразную биологическую активность – антиоксидантную, бактерицидную, цитотоксическую, генотоксическую, сигнальную и противовоспалительную (Bartłomiej *et al.*, 2012). Человек не способен продуцировать АР, поэтому в организме они появляются, поступая с пищей (прежде всего, из пшеницы, ржи и ячменя) (Ross *et al.*, 2004) или как метаболиты кишечной микробиоты –цианобактерий, актинобактерий, галобактерий (Martins *et al.*, 2019). Синтез АР происходит из ацил-КоА и малонил-КоА под действием ферментативного комплекса поликетидсинтазы III типа (алкилрезорцинолсинтазы ARSs) в несколько стадий: путем конденсации и циклиза-

ции до 5-(2-гидрокси)-алкилрезорцинолов (Martins *et al.*, 2019, Sun *et al.*, 2020).

Известно, что АР являются микробными ауторегуляторами перехода метаболически активных вегетативных форм в метаболически неактивные дормантные формы (Ильинская и др., 2002). Было показано, что усиление синтеза гексилрезорцина (ГР) у спорообразующих бактерий способствовало их переходу в гипометаболическое состояние и образованию спор. В то же время у неспорообразующих грамположительных бактерий не было выявлено синтеза ГР, однако добавление экзогенного ГР также вызывало их переход в дормантное состояние, что позволяет считать ГР универсальной сигнальной молекулой, способствующей переходу бактерий в метаболически неактивное состояние (Маргулис и др., 2005).

Исследования содержания АР у человека и их влияние на организм крайне фрагментарны. В частности, показано, что комбинация АР С21 и бутирата подавляет рост и индуцирует апоптоз и аутофагию клеток колоректального рака (Zhao *et al.*, 2019). Найдена обратная корреляция между риском развития ишемического инсульта и уровнем 3-(3,5-дигидроксифенил)-1-пропионата, маркера цельнозерновой пшеницы и ржи (Sun T. *et al.*, 2019). Установлено, что АР накапливаются в жировой ткани в зависимости от пола и содержания в диете продуктов из цельнозерновой ржи (Wu *et al.*, 2018). Была найдена ассоциация между уровнем АР и снижением окружности груди у женщин (Kuro *et al.*, 2017).

В исследованиях на мышах было показано, что АР повышают толерантность к глюкозе и чувствительность к инсулину за счет подавления накопления липидов в печени и снижении абсорбции холестерина энтероцитами, что впоследствии подавляло развитие ожирения, ассоциированного с диетой (Oishi *et al.*, 2015).

Однако складывается впечатление, что качественный и количественный состав АР зависит не только от характера питания, но и от метаболического состояния микробиоты. В последнее время в развитии ожирения большое значение уделяют нарушению регуляторной оси “микробиота – жировая ткань”. Учитывая способность АР накапливаться в жировой ткани (Ross *et al.*, 2004) и, вместе с тем, выступать ауторегуляторами бактерий, можно предположить, что они являются одними из медиаторов системы “микробиота – адипоцит”. В связи с этим, целью данной работы явилось исследование уровня АР в сыворотке крови у детей и взрослых при ожирении, а также выявление корреляционных связей с диапазоном разнообразия микробиоты кишечника и клинико-лабораторными показателями пациентов для определения возможных физиологических функций АР.

**Таблица 1.** Характеристика когорт исследованных пациентов

Показатели	Дети		Взрослые	
	Группа 1 (без ожирения)	Группа 2 (с ожирением)	Группа 3 (без ожирения)	Группа 4 (с ожирением)
Пол женский	39 (39%)	52 (52%)	124 (88.6%)	109 (79.6%)
Пол мужской	61 (61%)	48 (48%)	16 (11.4%)	29 (20.4%)
Возраст, лет	13 ± 4.6	12 ± 5.3	47.1 ± 4.8	54.6 ± 4.7
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	20.3 ± 2.6	27.7 ± 6.3	20.8 ± 2.1	33.8 ± 3.36

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Отбор пациентов для исследования.** Количественный состав АР был исследован в нескольких группах пациентов.

Первую группу составили здоровые дети без метаболических нарушений ( $n = 100$ ), во вторую группу вошли дети с экзогенно-конституциональным ожирением I–III степени ( $n = 100$ ), в третью группу – здоровые взрослые без ожирения и метаболических нарушений ( $n = 140$ ), в четвертую группу – взрослые с ожирением и метаболическими нарушениями ( $n = 137$ ). Характеристика когорт исследуемых пациентов приведена в табл. 1.

Критериями включения пациентов в исследование было отсутствие приема антибиотиков, пре- и пробиотических препаратов в течение 3 мес. до начала исследования и подписанное информированное согласие на участие в обследовании. Критериями исключения для всех участников явились тяжелые соматические заболевания, любые заболевания желудочно-кишечного тракта, любые острые состояния, депрессия, алкоголизм, беременность. Всем включенным в исследование был проведен клинический опрос и осмотр, оценены антропометрические показатели, проведено анкетирование, взяты образцы крови и кала для проведения лабораторных исследований.

**Определение количественного состава АР.** Количественный состав АР в сыворотке крови и в кале определяли методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС). Для количественного определения соединений строили калибровочную зависимость с использованием искусственной матрицы, содержащей бычий сывороточный альбумин и натрия хлорид, в которую добавляли известные количества анализируемых соединений. Построение калибровочной зависимости основывалось на отклике внутреннего стандарта (4-(бензилокси)-фенол), вводимого в исследуемые образцы с целью нормализации процессов дериватизации и сглаживания погрешности определения концентраций исследуемых веществ. Исследование проводили с использованием газового хроматографа Agilent 6890 (Agilent Inc., США) с системой автоматического ввода образцов, сопряженного с

масс-спектрометрическим детектором Agilent 5850 (Agilent Inc., США) с ионизацией электронным ударом. Параметры хроматографии: колонка Restek Rtx5Sil-MS (Restek Corporation, Беллефонте, США); параметры колонки: длина – 30 м, диаметр сечения – 250 мкм, размер частиц неподвижной фазы – 0.25 мкм; параметры хроматографии: введение пробы с делением потока 5 : 1, газ-носитель – гелий, режим подачи газа – постоянный поток, скорость потока – 1 мл/мин, температура узла ввода – 290°C; установки параметров термостата: начальная температура – 80°C, время выдержки – 1 мин, далее – подъем температуры до 320°C со скоростью 25°C/мин, время выдержки – 4 мин.

**Пробоподготовка.** Для подготовки проб сыворотки крови к 100 мкл сыворотки добавляли внутренний стандарт (4-(бензилокси)-фенол) и 200 мкл диэтилового эфира, смесь перемешивали на встряхивателе и затем центрифугировали при 2000 об./мин. Органический слой переносили в одноразовые пробирки (жидкость-жидкостную экстракцию повторяли дважды) и упаривали досуха в токе азота, после чего проводили стадию дериватизации силилирующим агентом – метил-силил-трифторацетамидом (МТСФА) в течение 30 мин при 60°C.

Пробы кала лиофилизировали до сухого остатка, далее к навескам ~5 мг добавляли внутренний стандарт (4-(бензилокси)-фенол) и 300 мкл диэтилового эфира, смесь перемешивали на встряхивателе и затем центрифугировали при 2000 об./мин. Органический слой переносили в одноразовые пробирки (жидкость-жидкостную экстракцию повторяли дважды) и упаривали досуха в токе азота, после чего проводили стадию дериватизации силилирующим агентом – метил-силил-трифторацетамидом (МТСФА) в течение 30 мин при 60°C. После процедуры дериватизации образец анализировали методом ГХ-МС.

Методика была валидирована по показателям селективности, линейности, точности, воспроизводимости, матричному эффекту и стабильности анализа. Валидаци. проводили в соответствии с руководством по валидации биоаналитических методик FDA.

**Таблица 2.** Ген-специфичные праймеры на v3-v4 регион 16S рРНК

Название праймера	Последовательность (дополнительная последовательность адаптера выделена курсивом)
337F	5'- <i>TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG</i> CCTACGGGNGGCWGCAG-3'
805R	5'- <i>GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG</i> GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'

**Количественный анализ метаболитов обмена триптофана.** Количественный анализ метаболитов обмена триптофана в сыворотке крови и 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. Хроматографическое разделение проводили с использованием аналитической колонки Discovery PFP HS F5 (2.1 \* 150 мм; 3 мкм). Для детектирования использован масс-спектрометрический детектор на основе тройного квадрупольного Agilent 6460 (Agilent inc., США) MRM и электрораспылительной ионизацией. Характеристические для каждого соединения родительские и дочерние ионы для режима MRM, а также параметры ионизации и диссоциации оптимизированы с использованием стандартов исследуемых метаболитов. Полученный сигнал обрабатывали с помощью программного обеспечения Masshunter (Agilent inc., США).

Расчет концентраций метаболитов проводили методом внутреннего стандарта (2-гидроксиникотиновая кислота). Стандарты определяемых соединений готовили с использованием искусственной матрицы, содержащей бычий сывороточный альбумин и хлорид натрия. В матрицу добавляли исследуемые метаболиты и проводили подготовку согласно методике анализа.

Для подготовки пробы сыворотки крови, к 100 мкл сыворотки добавляли внутренний стандарт (2-гидроксиникотиновую кислоту), осаждали белки ацетонитрилом, супернатант упаривали и перерастворяли в 10%-ном метаноле в воде с добавлением аскорбиновой кислоты для предотвращения окисления аналитов.

Для подготовки пробы кала, его лиофилизировали до сухого остатка, далее навеску ~5 мг экстрагировали 50%-ном метанолом в воде с добавлением внутреннего стандарта и аскорбиновой кислоты. После центрифугирования образец анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС.

**Секвенирование 16S РНК для определения разнообразия микробиоты.** Выделение ДНК микробиоты из кала и крови проводилось в соответствии с разработанными стандартными процедурами. Подготовка библиотек для секвенирования проводили согласно протоколу производителя

“16S Metagenomic Sequencing Library Preparation” (Part #15044223 Rev. B).

ПЦР на v3-v4 регион 16S рРНК проводили с помощью ген-специфичных праймеров с дополнительной последовательностью адаптера (табл. 2)

Аmplification осуществляли с помощью набора с высокоточной полимеразой Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (NEB) при следующем режиме:

- 1) 98°C – 30 с; 2) 25 циклов: 98°C – 30 с; 55°C – 20 с; 72°C – 20 с;
- 3) 72°C – 2 мин; 4) удержание при 4°C.

ПЦР-продукты детектировали в 1%-ном агарозном геле, после чего проводили очистку реакционных смесей с помощью магнитных частиц AMPure XP beads (Beckman Coulter) согласно протоколу подготовки библиотек. Далее осуществляли индексирование полученных ПЦР-продуктов путем амплификации с помощью полимеразы Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (NEB) и уникальных индекс-праймеров из коммерческого набора Nextera XT Index Kit при следующем режиме: 1) 98°C – 30 с; 2) 8 циклов: 98°C – 15 с; 55°C – 30 с; 72°C – 30 с; 3) 72°C – 2 мин; 4) удержание при 4°C.

По окончании амплификации ПЦР-смеси очищали с помощью магнитных частиц AMPure XP beads согласно протоколу. Концентрации очищенных библиотек оценивали с помощью наборов Qubit HS Assay Kit на флуориметре Qubit 2.0 (Invitrogen). Библиотеки смешивали в эквимолярном 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 разводили и денатурировали с помощью реагентов набора MiSeq Reagent kit v3 и секвенировали на приборе MiSeq (Illumina) согласно протоколу производителя.

По результатам секвенирования 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.

**Определение показателей крови.** Биохимические показатели (глюкоза плазмы крови натощак (ммоль/л), ЛПВП (ммоль/л), ЛПНП (ммоль/л), ТГ (ммоль/л), общий холестерин (ммоль/л)) исследовали фотометрическим методом на спектрофотометре Hitachi U-2900 (Япония) наборами реагентов “Ольвекс Диагностикум” (Россия). Количественный анализ адипонектина (нг/мл), лептина (нг/мл), резистина (нг/мл), аспрасина (нг/мл), VEGF (нг/мл), ирисина (нг/мл), миостатина (нг/мл), FGF21 (нг/мл), остеокина (нг/мл) и инсулина (нг/мл) выполняли методом мультиплексного ИФА на анализаторе Magpix (“BioRad”, США), согласно рекомендациям фирмы производителя с использованием наборов фирмы “Milliplex”: Human Adipokine Magnetic Bead Panel 1, содержащей аналиты: Adiponectin, Resistin; набором Human Adipokine Magnetic Bead Panel 2, содержащей аналиты: VEGF, Insulin, Leptin; и набором Human Myokine Magnetic Bead Panel 3, имеющей аналиты Irisin, Myostatin, FGF21, Osteonectin. Концентрацию аспрасина определяли методом ИФА с помощью тест-системы ELISA Kit For Asprosin (“Cloud-Clone”, США). Количественный анализ зонулина (нг/мл), липополисахаридов крови (нг/мл) выполняли методом мультиплексного ИФА с использованием тест-систем Cloud Clone. Общий белок крови, АЛТ и АСТ определяли общепринятыми методами.

Атерогенность сыворотки крови оценивалась согласно рекомендациям Национальной программы по холестерину NCEP ATP III.

**Статистический анализ данных.** Статистическую обработку данных проводили методами непараметрической статистики с использованием пакета программы STATISTICA 12.0. Статистическую значимость различий средних величин независимых выборок оценивали с помощью параметрического анализа после проверки распределения данных на нормальность. Корреляционный анализ по Спирмену проведен с оценкой статистической значимости коэффициента корреляции.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

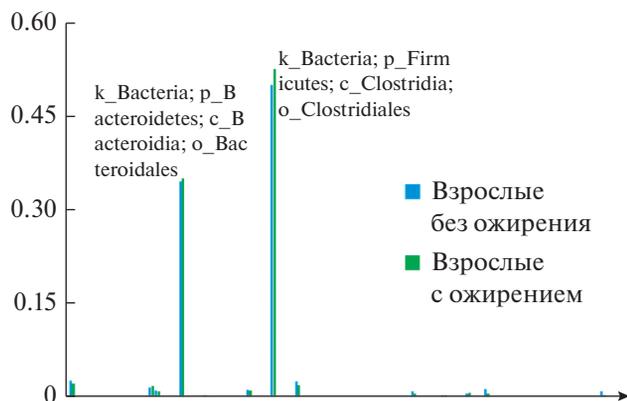
**Анализ разнообразия микробиоты кишечника взрослых и детей с ожирением и без метаболических нарушений.** В результате проведенного метагеномного секвенирования микробиоты кишечника от здоровых и с нарушением метаболизма (с ожирением) доноров были обнаружены определенные закономерности в представленности филогенетического ядра микробиоты у детей и взрослых, а также изменения относительной представленности AP-продуцирующих бактерий при ожирении. Так, ядро микробиоты (~80% относи-

тельно всех исследованных бактерий) составили представители бактериальных типов *Firmicutes* и *Bacteroidetes* (рис. 1, 2), что хорошо согласуется с литературными данными, указывающими на доминирование этих бактерий в микробиоме и представленности у 100% индивидуумов (Tap *et al.*, 2009). Среди представителей микробиоты, продуцирующих AP, нами были обнаружены *Actinobacteria* (их представленность составила ~0.5% от всех исследованных бактерий) и *Cyanobacteria* (представленность, в среднем, ~0.3%). В то же время представителей типа *Halobacteria* обнаружено не было. Важно отметить, что состав микробиоты, являющейся продуцентами AP, статистически значимо различался как в группах детей с метаболическими нарушениями и без них, так и в группах взрослых. Так, у детей с ожирением происходит снижение содержания представителей типа *Cyanobacteria* (порядок YS2) на  $58.016 \pm 27.17\%$  по сравнению со здоровыми детьми (рис. 3) и представителей типа *Actinobacteria* (порядка *Coriobacteriales*) на  $37.58 \pm 22.7\%$  (рис. 4). Среди взрослых с ожирением наблюдалось увеличение числа бактерий типа *Actinobacteria* (порядка *Actinomycetales*) на  $41.28 \pm 13.24\%$  по сравнению со взрослыми без ожирения (рис. 5). Данные наблюдения указывают на наличие качественного и количественного изменения состава микробиоты у детей и взрослых при ожирении, в том числе микроорганизмов, участвующих в продукции AP.

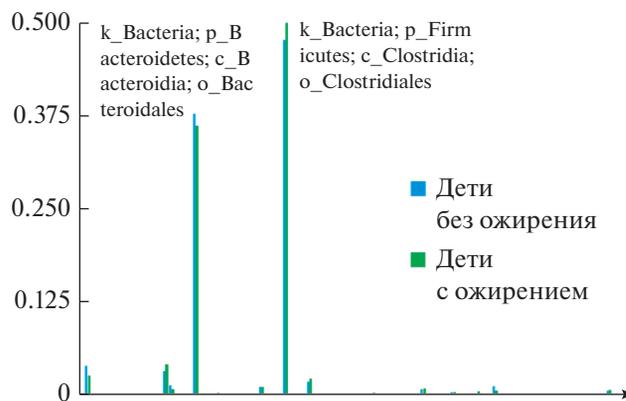
**Исследование содержания AP в кале и крови пациентов.** Результаты исследования содержания AP представлены в табл. 3. В сыворотке крови здоровых взрослых добровольцев содержание отдельных представителей гомологического ряда резорцинола варьировало в диапазоне 0.39–5.1 нмоль/л, в наименьшей концентрации был обнаружен пентадецилрезорцинол ( $0.396 \pm 0.047$  нмоль/л), в максимальной – метилрезорцинол ( $5.043 \pm 0.842$  нмоль/л). В сыворотке крови здоровых детей уровни AP были несколько ниже по сравнению с группой здоровых взрослых (концентрация метилрезорцинола была на 23.5% меньше и составила  $3.860 \pm 0.32$  нмоль/л), однако различия не носили статистически значимого характера.

В сыворотке крови взрослых пациентов, страдающих ожирением, отмечается статистически значимое возрастание на 36.8% содержания короткоцепочечного гомолога резорцинола – пропилрезорцинола. Уровни других представителей гомологического ряда AP не претерпевали значимых изменений относительно группы здоровых взрослых (табл. 3).

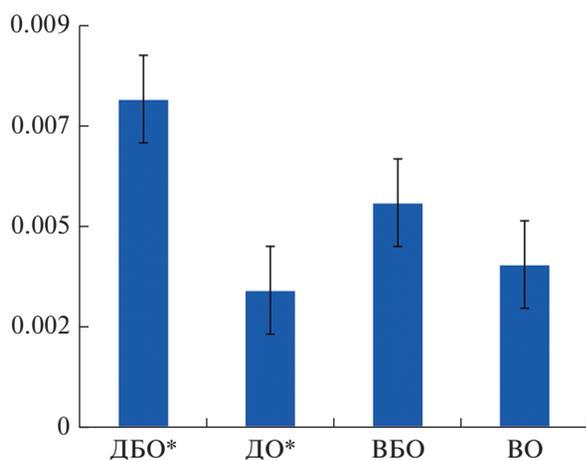
В группе детей с ожирением не отмечено статистически значимых изменений в содержании исследуемых аналитов.



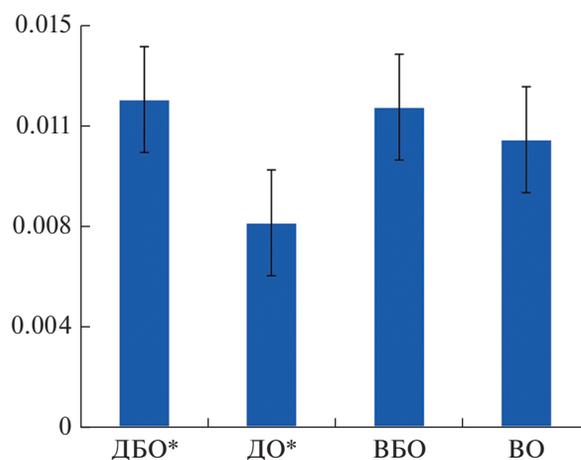
**Рис. 1.** Относительная частота встречаемости представителей различных порядков бактерий, относящихся к микробиоте кала взрослых пациентов с ожирением и без метаболических нарушений, исследованная с помощью методов метагеномного секвенирования с последующей нормализацией и статистической обработкой данных. На гистограмме распределения видно доминирование представителей порядков Clostridiales и Bacteroidales, составляющих филотематическое ядро микробиоты изучаемой выборки.



**Рис. 2.** Относительная частота встречаемости представителей различных порядков бактерий, относящихся к микробиоте кала детей с ожирением и без метаболических нарушений, исследованная с помощью методов метагеномного секвенирования с последующей нормализацией и статистической обработкой данных. На гистограмме распределения видно доминирование представителей порядков Clostridiales и Bacteroidales, составляющих филотематическое ядро микробиоты изучаемой выборки.



**Рис. 3.** Относительная частота встречаемости бактерий типа *Cyanobacteria* (порядок YS2) в микробиоте кала исследованных когорт пациентов. ДБО – дети без ожирения, ДО – дети с ожирением, ВБО – взрослые без ожирения, ВО – взрослые с ожирением, \* достоверные различия между группами пациентов (снижение содержания представителей типа *Cyanobacteria* (порядок YS2) на  $58.016 \pm 27.17\%$  по сравнению с ДБО).



**Рис. 4.** Относительная частота встречаемости бактерий типа *Actinobacteria* (порядка Coriobacteriales) в микробиоте кала исследованных когорт пациентов. ДБО – дети без ожирения, ДО – дети с ожирением, ВБО – взрослые без ожирения, ВО – взрослые с ожирением, \* достоверные различия между группами пациентов (снижение содержания представителей типа *Actinobacteria* (порядка Coriobacteriales) на  $37.58 \pm 22.7\%$  по сравнению с группой ДБО).

Таким образом, ожирение у взрослых сопровождается увеличением содержания коротко- и среднецепочечных резорцинолов в сыворотке крови.

Результаты исследования содержания АР в кале представлены в табл. 4.

Содержание различных гомологов АР в кале варьирует в широком диапазоне – от 1 до 503 нмоль/г. В максимальной концентрации содержатся ко-

роткоцепочечные гомологи – резорцинол и метилрезорцинол, в минимальном – среднецепочечные гомологи – пентил- и гексилрезорцинол.

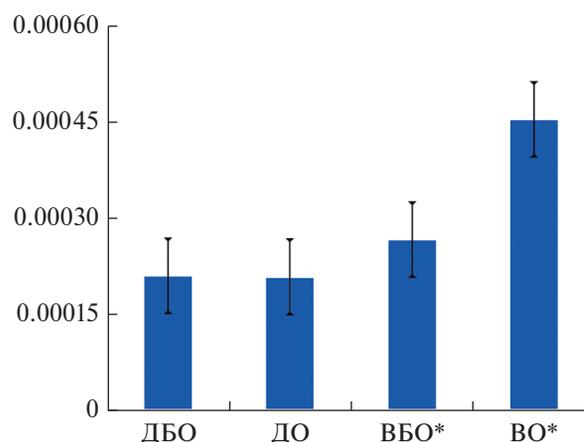
В группе взрослых с ожирением статистически значимых изменений в содержании АР не обнаружено. В группе детей с ожирением отмечается статистически значимое возрастание содержания пентил- и додецилрезорцинола.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Дать однозначную интерпретацию данных изменений не представляется возможным. С одной стороны, содержание АР может быть связано с потреблением пищевых продуктов из цельнозерновых злаков (рожь, пшеница). Однако в доступных источниках отсутствуют данные о количестве алкилрезорцинолов в кале, а об их содержании в сыворотке крови судят по их общему содержанию или по концентрации только одного метаболита резорцинола — 3-(3,5-дигидроксифенил)-1-пропановой кислоты (ДНРРА), в то время как сведения об уровне отдельных гомологов алкилрезорцинолов отсутствуют (Choung *et al.*, 2017; Кугø *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2019). Поэтому сложно соотнести полученные нами результаты с данными литературы. И даже одно исследование китайских коллег (Sun *et al.*, 2019), установившее статистически значимое снижение содержания 3-(3,5-дигидроксифенил)-1-пропановой кислоты (ДНРРА) в сыворотке крови больных сахарным диабетом 2 типа и нарушением углеводного обмена, которое авторы связывают с ограничением потребления цельнозерновых злаковых, не позволяет нам объяснить разнонаправленные изменения концентраций коротко- и длинноцепочечных гомологов резорцинола в группе детей с ожирением.

На наш взгляд, данное обстоятельство свидетельствует о высокой метаболической активности кишечной микробиоты, избыточной продукции ауторегуляторов, поддерживающих вегетативное состояние бактериальных клеток, и дефиците ауторегуляторных молекул, индуцирующих dormant состояние микробиоты.

Обращает внимание отсутствие корреляции и согласованности изменений в содержании АР в сыворотке крови и кале у пациентов с ожирением. Во-первых, диапазон концентраций отдельных АР в сыворотке крови на несколько порядков



**Рис. 5.** Относительная частота встречаемости бактерий типа Actinobacteria (порядка Actinomycetales) в микробиоме кала исследованных когорт пациентов. ДБО — дети без ожирения, ДО — дети с ожирением, ВБО — взрослые без ожирения, ВО — взрослые с ожирением. \* достоверные различия между группами пациентов (увеличение числа бактерий типа Actinobacteria (порядка Actinomycetales) на  $41.28 \pm 13.24\%$  по сравнению с группой ВБО).

меньше, чем в кале, а содержание коротко- средне- и длинноцепочечных резорцинолов находится примерно на одном уровне. Совершенно иное распределение наблюдалось в образцах кала: содержание короткоцепочечных гомологов в 3–5 раз превышало таковое для среднецепочечных и в 20–100 раз — для длинноцепочечных гомологов.

Во-вторых, при ожирении происходят статистически значимые изменения в содержании разных гомологов в сыворотке крови и кале. В группе взрослых с ожирением в сыворотке крови значимо повышается уровень пропилрезорцинола, в то время как в кале этих больных уровень этого анализа не изменяется. У детей с ожирением в сыво-

**Таблица 3.** Содержание алкилрезорцинолов в сыворотке крови ( $M \pm m$ )

Группа Метаболиты:	Здоровые взрослые ( $n = 131$ )	Взрослые с ожирением ( $n = 120$ )	Здоровые дети ( $n = 79$ )	Дети с ожирением ( $n = 80$ )
Резорцинол, нмоль/л	$4.087 \pm 0.489$	$3.834 \pm 0.298$	$3.467 \pm 0.379$	$3.503 \pm 0.298$
Метилрезорцинол, нмоль/л	$5.043 \pm 0.842$	$4.329 \pm 0.263$	$3.860 \pm 0.321$	$4.04 \pm 0.368$
Этилрезорцинол, нмоль/л	$3.102 \pm 1.261$	$2.61 \pm 0.228$	$2.367 \pm 0.409$	$1.944 \pm 0.264$
Пропилрезорцинол, нмоль/л	$3.864 \pm 0.313$	$5.287 \pm 0.436$	$3.328 \pm 0.269$	$3.483 \pm 0.349$
		$p_1 < 0.01$		
Пентилрезорцинол, нмоль/л	$0.396 \pm 0.047$	$0.363 \pm 0.043$	$0.350 \pm 0.041$	$0.405 \pm 0.047$
Гексилрезорцинол, нмоль/л	$1.778 \pm 0.27$	$1.758 \pm 0.087$	$1.769 \pm 0.096$	$1.861 \pm 0.116$
Додecilрезорцинол, нмоль/л	$3.498 \pm 0.254$	$3.581 \pm 0.19$	$3.338 \pm 0.275$	$3.589 \pm 0.294$
Пентадецилрезорцинол, нмоль/л	$3.931 \pm 0.518$	$3.234 \pm 0.223$	$3.307 \pm 0.386$	$3.248 \pm 0.290$

Примечание.  $p_1$  — в сравнении с группой здоровых соответствующей возрастной группы.

**Таблица 4.** Содержание алкилрезорцинолов в кале ( $M \pm m$ )

Группа Метаболиты	Здоровые взрослые ( $n = 104$ )	Взрослые с ожирением ( $n = 108$ )	Здоровые дети ( $n = 99$ )	Дети с ожирением ( $n = 90$ )
Резорцинол, нмоль/г	502.122 ± 70.87	363.94 ± 55.46	428.64 ± 47.39	361.59 ± 36.86
Метилрезорцинол, нмоль/г	102.09 ± 10.29	80.04 ± 7.07	116.59 ± 14.16	123.48 ± 11.72
Этилрезорцинол, нмоль/г	40.25 ± 5.50	37.31 ± 5.29	42.01 ± 4.82	40.44 ± 4.98
Пропилрезорцинол, нмоль/г	47.87 ± 4.27	40.77 ± 4.58	57.58 ± 4.37	55.87 ± 6.65
Пентилрезорцинол, нмоль/г	1.22 ± 0.09	1.30 ± 0.11	1.33 ± 0.17	3.12 ± 1.03
Гексилрезорцинол, нмоль/г	2.72 ± 0.19	2.31 ± 0.17	2.32 ± 0.24	3.55 ± 0.69
Додецилрезорцинол, нмоль/г	6.33 ± 0.47	5.41 ± 0.42	5.18 ± 0.49	7.0 ± 0.63
Пентадецилрезорцинол, нмоль/г	7.37 ± 1.03	7.57 ± 0.89	7.59 ± 0.93	10.51 ± 1.70

Примечание.  $p_1$  – в сравнении с группой здоровых соответствующей возрастной гAlkylresorcinols – new potential bioregulators in the superorganism system (human-microbiota).

ротке крови значимых изменений в содержании АР не наблюдается, в то время как в кале регистрируется значительное снижение количества резорцинола и метилрезорцинола и увеличение додецилрезорцинола.

В-третьих, это можно объяснить барьерной ролью печени, которая осуществляет биотрансформацию АР, тем самым нивелируя различия в содержании отдельных представителей резорцинолов.

Наконец, вероятно, резорцинолы в сыворотке крови и в кале принадлежат к разным пулам алкилрезорцинолов и имеют разное происхождение. В исследованиях по фармакокинетике с радиоактивно мечеными АР у животных (свиней) и людей с илеостомой было показано, что АР, поступающие из пищи, всасываются преимущественно в верхних отделах кишечника, при этом длинноцепочечные АР (С23-С25) всасываются хуже короткоцепочечных (Ross *et al.*, 2004). Можно предположить, что сывороточные алкилрезорцинолы поступают в организм в составе пищи или же являются продуктами жизнедеятельности микробиоты заселяющей проксимальные отделы кишечника, в то время как алкилрезорцинолы кала, по-видимому, являются продуктами микробиоты дистальных отделов кишечника. Однако исследований, подтверждающих различное происхождение АР и их соотношение в разных источниках, по имеющимся у нас данным, нет.

Анализ корреляционных связей содержания алкилрезорцинолов с уровнем метаболитов триптофана в кале, показателями разнообразия микробиоты кишечника и клинико-лабораторными данными выявил некоторые зависимости. В группе здоровых детей АР в кале положительно коррелировали с показателями разнообразия его микробиоты. Так, гексилрезорцинол кала положительно коррелировал с индексами разнообразия микробиоты кала Chao1 ( $r = 0.225$ ;  $p < 0.05$ ) и observed otus ( $r = 0.208$ ;  $p < 0.05$ ); пентадецилрезорцинол – с индексами разнообразия микробиоты кала Chao1 ( $r = 0.208$ ;  $p < 0.05$ ), observed otus ( $r = 0.208$ ;  $p < 0.05$ ), Шеннона ( $r = 0.215$ ;  $p < 0.05$ ), Симпсона ( $r = 0.212$ ;  $p < 0.05$ ).

В этой же группе здоровых детей АР кала положительно коррелировали с содержанием в нем индола, индоллактата, индолпропионата и антралиновой кислоты, но отрицательно с уровнем хинолиновой кислоты. Так, с содержанием индола в кале коррелировали резорцинол ( $r = 0.446$ ;  $p < 0.001$ ), метилрезорцинол ( $r = 0.392$ ;  $p < 0.001$ ), пропилрезорцинол ( $r = 0.294$ ;  $p < 0.005$ ), гексилрезорцинол ( $r = 0.342$ ;  $p < 0.001$ ). С содержанием индоллактата в кале коррелировали резорцинол ( $r = 0.225$ ;  $p < 0.05$ ), метилрезорцинол ( $r = 0.215$ ;  $p < 0.05$ ). С содержанием индолпропионата коррелировали резорцинол ( $r = 0.299$ ;  $p < 0.005$ ), метилрезорцинол ( $r = 0.287$ ;  $p < 0.005$ ), пропилрезорцинол ( $r = 0.225$ ;  $p < 0.05$ ). С содержанием антралиновой кислоты коррелировал пропилрезорцинол ( $r =$

= 0.232;  $p < 0.05$ ). Отрицательная корреляция с содержанием хинолиновой кислоты в кале была выявлена для гексилрезорцинола ( $r = -0.227$ ;  $p < 0.05$ ) и пентадецилрезорцинола ( $r = -0.213$ ;  $p < 0.05$ ).

Учитывая, что и анраниловая кислота, и перечисленные индолы не синтезируются в энтероцитах, а имеют микробиотическое происхождение, эти корреляции позволяют предположить, что АР выполняют роль регуляторов разнообразия микробиоты кишечника и ее метаболической активности, повышая продукцию индолов и снижая уровень хинолиновой кислоты — предшественника хинолиновых регуляторов QS.

Уровень АР в крови у здоровых детей положительно коррелировал с уровнем адипокинов: апелином (резорцинол  $r = 0.248$ ;  $p < 0.05$ ), лептином (метилрезорцинол  $r = 0.244$ ;  $p < 0.05$ ), резистином (гексилрезорцинол  $r = 0.370$ ;  $p < 0.005$ , пентадецилрезорцинол  $r = 0.259$ ;  $p < 0.05$ ), с общим белком крови (пентилрезорцинол  $r = 0.234$ ;  $p < 0.05$ , пентадецилрезорцинол  $r = 0.258$ ;  $p < 0.05$ ) и отрицательно с АЛТ и АСТ (резорцинол  $r = -0.232$ ;  $p < 0.05$ ), ИМТ (пропилрезорцинол  $r = -0.294$ ;  $p < 0.05$ ), индексом атерогенности (этилрезорцинол  $r = -0.235$ ;  $p < 0.05$ , пропилрезорцинол  $r = -0.243$ ;  $p < 0.05$ ).

Также у здоровых детей наблюдалась положительная корреляция уровня резорцинолов в крови с показателями кишечной проницаемости — липополисахаридом крови (пропилрезорцинол  $r = 0.295$ ;  $p < 0.05$ , додецилрезорцинол  $r = 0.293$ ;  $p < 0.05$ , пентадецилрезорцинол  $r = 0.243$ ;  $p < 0.05$ ) и зонулином (метилрезорцинол  $r = 0.234$ ;  $p < 0.05$ ), что свидетельствует об их кишечном происхождении и их возможной регуляторной роли эндокринной функции жировой ткани и инсулиносенситивности и, как следствие, ассоциация с низким ИМТ и индексом атерогенности.

Таким образом, у детей без ожирения микробиота кишечника характеризуется определенным состоянием метаболической активности, которая сопровождается продукцией АР, поскольку их уровень ассоциирован с микробным разнообразием и активностью индольного метаболизма. Вероятно, всасываясь в кровь, бактериальные АР выполняют роль медиаторов регуляторных осей “микробиота — кишечник — жировая ткань”.

У детей с ожирением обращает внимание исчезновение положительных корреляций содержания гексил- и пентадецилалкилрезорцинолов в кале с индексами разнообразия микробиоты, но сохранение положительных корреляции с содержанием индола (резорцинол  $r = 0.227$ ;  $p < 0.05$ , метилрезорцинол  $r = 0.265$ ;  $p < 0.05$ , пентилрезорцинол  $r = 0.242$ ;  $p < 0.05$ ) при их отсутствии с индоллактатом и индолпропионатом. Примеча-

тельно, что гексил- и пентадецилрезорцинолы утрачивают свои многочисленные корреляционные связи с показателями метаболизма триптофана и индексами разнообразия микробиоты кишечника, в то время как у додецилрезорцинола появляется положительная связь с хинолиновой кислотой ( $r = 0.218$ ;  $p < 0.05$ ).

Вероятно, эти изменения тесно ассоциированы с развитием ожирения и, возможно, являются одним из его патогенетических звеньев, так как наблюдается положительная корреляция массы тела с резорцинолом ( $r = 0.234$ ;  $p < 0.05$ ), метилрезорцинолом ( $r = 0.241$ ;  $p < 0.05$ ), пентадецилрезорцинолом ( $r = 0.210$ ;  $p < 0.05$ ); ИМТ с метилрезорцинолом ( $r = 0.217$ ;  $p < 0.05$ ); уровня лептина с этилрезорцинолом ( $r = 0.224$ ;  $p < 0.05$ ); концентрации глюкозы ( $r = 0.277$ ;  $p < 0.05$ ), триацилглицеридов ( $r = 0.230$ ;  $p < 0.05$ ), холестерина и ЛПОНП крови ( $r = 0.228$ ;  $p < 0.05$ ) с резорцинолом. Вместе с тем, содержание пропил- и пентилрезорцинолов в кале отрицательно коррелирует с показателями общего холестерина крови ( $r = -0.249$ ;  $p < 0.05$  и  $r = -0.309$ ;  $p < 0.005$  соответственно).

Также при ожирении у детей кардинальным образом меняются корреляционные связи АР крови. Исчезают характерные для здоровых детей положительные связи с адипокинами (лептин, апелин, резистин), положительная связь с общим белком крови меняется на отрицательную (резорцинол  $r = -0.230$ ;  $p < 0.05$ , метилрезорцинол  $r = -0.250$ ;  $p < 0.05$ ).

Наблюдается отрицательная корреляция пропилрезорцинола с холестерином ЛПНП крови ( $r = -0.221$ ;  $p < 0.05$ ) и коэффициентом атерогенности ( $r = -0.253$ ;  $p < 0.05$ ), а пентилрезорцинола с уровнем глюкозы ( $r = -0.224$ ;  $p < 0.05$ ) и ФНО в крови ( $r = -0.276$ ;  $p < 0.05$ ).

Таким образом, вследствие изменения таксономического состава микробиоты, и, возможно, ее филометаболического ядра происходит разобщение сочетанности метаболизма АР и триптофана кишечной микробиоты, что сопровождается нарушениями в регуляторной оси “микробиота-кишечник-жировая ткань”.

Обращает внимание, что у здоровых взрослых, в отличие от здоровых детей, отсутствует положительная корреляция содержания АР в кале с индексами разнообразия его микробиоты, но сохраняются положительные корреляции с индолами. В группе здоровых взрослых в кале резорцинол коррелировал с содержанием индола ( $r = 0.229$ ;  $p < 0.05$ ), пропилрезорцинол коррелировал с содержанием индоллактата ( $r = 0.218$ ;  $p < 0.05$ ). С содержанием индолпропионата коррелировали резорцинол ( $r = 0.477$ ;  $p < 0.001$ ), метилрезорцинол

( $r = 0.418$ ;  $p < 0.001$ ), этилрезорцинол ( $r = 0.311$ ;  $p < 0.005$ ), пропилизорцинол ( $r = 0.339$ ;  $p < 0.001$ ) и гексилрезорцинол ( $r = 0.230$ ;  $p < 0.05$ ). Вместе с тем, появляются отрицательные корреляции с уровнем VEGF и TFF3 в крови (резорцинол: VEGF ( $r = -0.297$ ;  $p < 0.005$ ), TFF3 ( $r = -0.219$ ;  $p < 0.05$ ), метилрезорцинол: VEGF ( $r = -0.308$ ;  $p < 0.005$ ), TFF3 ( $r = -0.198$ ;  $p < 0.05$ )) не характерные для детей.

Также в отличие от детей, для здоровых взрослых характерно отсутствие корреляции уровня АР крови с адипокинами, но бросается в глаза наличие отрицательной корреляции с уровнем серотонина (резорцинол ( $r = -0.236$ ;  $p < 0.05$ ), этилрезорцинол ( $r = -0.173$ ;  $p < 0.05$ ), пропилизорцинол ( $r = -0.224$ ;  $p < 0.05$ ), пентилрезорцинол ( $r = -0.262$ ;  $p < 0.005$ ), пентадецилрезорцинол ( $r = -0.178$ ;  $p < 0.05$ )). Вероятно, филометаболическое ядро микробиоты у взрослых несколько отличается от детей и характеризуется отсутствием сочетанности метаболизма индолов и АР и разными метаболическими эффектами оси “микробиота–кишечник–жировая ткань”.

У взрослых с ожирением обращает внимание наличие отрицательной корреляции содержания АР в кале с индексами разнообразия микробиоты кишечника, которая характерна для пропилизорцинола (для кала: observed\_otus ( $r = -0.239$ ;  $p < 0.05$ ), Chao1 ( $r = -0.248$ ;  $p < 0.05$ ), Simpson ( $r = -0.205$ ;  $p < 0.05$ ), Shannon ( $r = -0.289$ ;  $p < 0.005$ )), пентилрезорцинола (для кала: observed\_otus ( $r = -0.292$ ;  $p < 0.005$ ), Chao1 ( $r = -0.302$ ;  $p < 0.005$ )) и додецилрезорцинола (для кала: observed\_otus ( $r = -0.353$ ;  $p < 0.001$ ), Chao1 ( $r = -0.326$ ;  $p < 0.005$ ), Shannon ( $r = -0.229$ ;  $p < 0.05$ )). Кроме того, для этой группы пациентов характерна положительная корреляция алкилрезорцинолов с хинолиновой кислотой (резорцинол  $r = 0.222$ ;  $p < 0.05$ , метил-  $r = 0.275$ ;  $p < 0.005$ , пропилизорцинол  $r = 0.213$ ;  $p < 0.05$ , додецилрезорцинолы  $r = 0.221$ ;  $p < 0.05$ ). Появляется положительная связь с лептином (метилрезорцинол  $r = 0.251$ ;  $p < 0.05$ , этилрезорцинол  $r = 0.336$ ;  $p < 0.005$ , додецилрезорцинол  $r = 0.321$ ;  $p < 0.05$ ), с ФНО у пропилизорцинола ( $r = 0.252$ ;  $p < 0.05$ ) и отрицательная с аспросином у пентилрезорцинола ( $r = -0.247$ ;  $p < 0.05$ ) и с адипонектином у гексилрезорцинола ( $r = -0.277$ ;  $p < 0.05$ ).

У взрослых при ожирении появляется отрицательная корреляция алкилрезорцинолов крови с аполипопротеином (резорцинол  $r = -0.330$ ;  $p < 0.05$ , метилрезорцинол  $r = -0.269$ ;  $p < 0.05$ , этилрезорцинол  $r = -0.275$ ;  $p < 0.05$ , пропилизорцинол  $r = -0.277$ ;  $p < 0.05$ , пентилрезорцинол  $r = -0.278$ ;  $p < 0.05$ , гексилрезорцинол  $r = -0.272$ ;  $p < 0.05$ ), ряд резорцинолов отрицательно коррелирует с VEGF (резорцинол  $r = -0.240$ ;  $p < 0.05$ , пентилрезорцинол  $r = -0.303$ ;  $p < 0.05$ , гексилрезорцинол  $r = -0.274$ ;

$p < 0.05$ , додецилрезорцинол  $r = -0.286$ ;  $p < 0.05$ ) и с ФНО (гексилрезорцинол  $r = -0.347$ ;  $p < 0.005$ , додецилрезорцинол  $r = -0.285$ ;  $p < 0.05$ ). По-видимому, у взрослых вследствие значительных изменений таксономического состава при ожирении происходит и изменение филометаболического ядра микробиоты, что сопровождается нарушениями функционирования регуляторной оси “микробиота–кишечник–жировая ткань”.

Таким образом, содержание АР изменяется при ожирении и коррелирует с изменением ряда метаболических показателей. Изменение содержания АР при ожирении также согласуется с изменением состава микробиоты их продуцирующей. Результаты, полученные в данном исследовании, позволяют рассматривать АР как кандидатные регуляторные молекулы в оси “микробиота–макроорганизм”.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках договора (0373100122119000041) по проекту “Создание банка биообразцов сыворотки крови и фекалий от здоровых доноров и пациентов с ожирением, метаболическим синдромом, сахарным диабетом 2 типа, нарушением мукозального барьера желудочно-кишечного тракта с целью выявления кандидатных видонеспецифических медиаторов систем quorum sensing микробиоты человека, модулирующих эндокринную и метаболическую функцию жировой ткани”.

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование одобрено Локальным независимым этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. Все больные подписали информированное добровольное согласие на использование биологического материала в научных целях.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ильинская О.Н., Колпаков А.И., Зеленихин П.В., Круглова З.Ф., Чойдаш Б., Дорошенко Е.В., Мулюкин А.Л., Эль-Регистан Г.И. Влияние аутоиндукторов анабиоза бактерий на геном микробной клетки // Микробиология. 2002. Т. 71. № 2. С. 164–168.
- Маргулис А.Б., Ильинская О.Н., Колпаков А.И., Муффер К. Индукция гипометаболических форм у неспорообразующих грамположительных бактерий // Уч. зап. Казан. ун-та. Сер. Естест. Науки. 2005. Т. 147. Кн. 2. С. 108–114.
- Bartłomiej S., Justyna R.K., Ewa N. Bioactive compounds in cereal grains – occurrence, structure, technological significance and nutritional benefits – a review // Food Sci Technol. Int. 2012. V. 18(6). P. 559–568.
- Cani P.D., Van Hul M., Lefort C., Depommier C., Rastelli M., Everard A. Microbial regulation of organismal energy homeostasis // Nat. Metab. 2019. V. 1(1). P. 34–46.
- Choung R.S., Murray J.A., Marietta E.V., Van Dyke C.T., Ross A.B. Serum alkylresorcinols as biomarkers of de-

- tary gluten exposure in coeliac disease // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2017. V. 45(5). P. 643–652.
- Depommier C., Everard A., Duart C., Plovier H., Van Hul M., Vieira-Silva S., Falony G., Raes J., 419 Maiter D., Delzenne N.M., de Barse M., Loumaye A., Hermans M.P., Thissen J.-P., de Vos W.M., Cani P.D.* Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study // *Nat. Med.* 2019. V. 25. P. 1096–1103.
- van Duynhoven J., Vaughan E.E., Jacobs D.M., A. Kemperman R., van Velzen E.J.J., Gross G., Roger L.C., Possemiers S., Smilde A.K., Doré J., Westerhuis J.A., Van de Wiele T.* Metabolic fate of polyphenols in the human superorganism // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. P. 4531–4538.
- Galland L.* The gut microbiome and the brain // *J. Med. Food.* 2014. V. 17(12). P. 1261–1272.
- Goodacre R.* Metabolomics of a superorganism // *J. Nutr.* 2007. V. 137(1 Suppl). P. 259–266.
- Jalanka-Tuovinen J., Salonen A., Nikkilä J., Immonen O., Kekkonen R., Lahti L., Palva A., de Vos W.M.* Intestinal microbiota in healthy adults: temporal analysis reveals individual and common core and relation to intestinal symptoms // *PLoS One.* 2011. V. 6(7). P. 23035.
- Kyø C., Kristensen M., Jakobsen M.U., Halkjær J., Landberg R., Bueno-de-Mesquita H.A., Christensen J., Romieu I., Tjønneland A., Olsen A.* Dietary intake of whole grains and plasma alkylresorcinol concentrations in relation to changes in anthropometry: the Danish diet, cancer and health cohort study // *Comp. Study Eur. J. Clin. Nutr.* 2017. V. 71(8). P. 944–952.
- Lambring C.B., Siraj S., Patel K., Sankpal U.T., Mathew S., Basha R.* Impact of the microbiome on the immune system // *Crit. Rev. Immunol.* 2019. V. 39(5). P. 313–328.
- Lundgren P., Thaïss C.A.* The microbiome-adipose tissue axis in systemic metabolism // *Am. J. Physiol. Gastroin. Liver Physiol.* 2020. V. 318(4). P. 717–724.
- Martins T.P., Rouger C., Glasser N.R., Freitas S., de Fraissinette N.B., Balskus E.P., Tasdemir D., Leão P.N.* Chemistry, bioactivity and biosynthesis of cyanobacterial alkylresorcinols // *Nat. Product Rep.* 2019. V. 36(10). P. 1437–1461.
- Million M., Angelakis E., Paul M., Armougom F., Leibovici L., Raoult D.* Comparative meta-analysis of the effect of *Lactobacillus* species on weight gain in humans and animals // *Microb. Pathog.* 2012. V. 53. P. 100–108.
- Oishi K., Yamamoto S., Itoh N., Nakao R., Yasumoto Y., Tanaka K., Kikuchi Y., Fukudome S., Okita K., Takano-Ishikawa Y.* 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.* 2015. V. 145(2). P. 199–206.
- Ross A.B., Aman P., Andersson R., Kamal-Eldin A.* Chromatographic analysis of alkylresorcinols and their metabolites // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1054. P. 157–164.
- Salvucci E.* The human-microbiome superorganism and its modulation to restore health // *Intern. J. Food Scie. Nutrit.* 2019. V. 70(7). P. 781–795.
- Schmidt T.S.B., Raes J., Bork P.* The human gut microbiome: from association to modulation // *Cell.* 2018. V. 172(6). P. 1198–1215.
- Sidhu M., van der Poorten D.* The gut microbiome // *Aust. Fam. Physician.* 2017. V. 46(4). P. 206–211.
- Sitkin S., Tkachenko E.I., Vakhitov T.* Phylometabolic core of intestinal microbiota // *Alm. Clin. Med.* 2015. V. 12. P. 34.
- Sun T., Zhang Y., Huang H., Wang X., Zhou Li, Li Sh., Huang S., Xie Ch., Wen Y., Zhu Y., Hu X., Chen L., Li P., Chen S., Yang W., Bao W., Hu F.B., Cheng J., Sun L.L.* Plasma alkylresorcinol metabolite, a biomarker of whole-grain wheat and rye intake, and risk of ischemic stroke: a case-control study // *Amer. J. Clin. Nutrition.* 2019. V. 109(2). P. 1–7.
- Sun Y., Yao R., Ji X., Wu H., Luna A., Zhonghua Wang Zh., Jetter R.* Characterization of an alkylresorcinol synthase that forms phenolics accumulating in the cuticular wax on various organs of rye (*Secale cereale*) // *The plant J.* 2020. V. 102(6). P. 1294–1312.
- Tap J., Mondot S., Levenez F., Pelletier E., Caron C., Furet J.P., Ugarte E., Muñoz-Tamayo R., Paslier D.L., Nalin R., Dore J., Leclerc M.* Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core // *Env. Microbiol.* 2009. V. 11(10). P. 2574–2584.
- Tirosh A., Calay E.S., Tuncman G., Claiborn K.C., Inouye K.E., Eguchi K., Alcalá M., Rathaus M., Hollander K.S., Ron I., Livne R., Heianza Y., Qi L., Shai I., Garg R., Hotamisligil G.S.* The short-chain fatty acid propionate increases glucagon and FABP4 production, impairing insulin action in mice and humans // *Sci. Transl. Med.* 2019. V. 11. P. 120.
- Turnbaugh P.J., Hamady M., Yatsunenko T., Cantarel B.L., Duncan A., Ley R.E., Sogin M.L., Jones W.J., Roe B.A., Affourtit J.P., Egholm M., Henrissat B., Heath A.C., Knight R., Gordon J.I.* A core gut microbiome in obese and lean twins // *Nature.* 2009. V. 457(7228). P. 480–484.
- Wu H., Omar N.A.M., Håkansson N., Wolk A., Michaëlsson K., Landberg R.* Evaluation of alkylresorcinols in adipose tissue biopsies as a long-term biomarker of whole-grain wheat and rye intake in free-living Swedish men and women // *Public Health Nutr.* 2018. V. 21(10). P. 1933–1942.
- Zhao Y., Shi L., Hu Ch., Sang Sh.* Wheat bran for colon cancer prevention: the synergy between phytochemical alkylresorcinol C21 and intestinal microbial metabolite Butyrate // *J Agric Food Chem.* 2019. V. 67(46). P. 12761–12769.

## Alkylresorcinols – New Potential Bioregulators in the Superorganism System (Human-microbiota)

A. V. Shestopalov<sup>1, 2, #</sup>, A. M. Gaponov<sup>1</sup>, A. A. Zabolotneva<sup>3</sup>, S. A. Appolonova<sup>4</sup>, P. A. Markin<sup>4</sup>,  
O. V. Borisenko<sup>3</sup>, A. V. Tutelyan<sup>1</sup>, A. G. Rummyantsev<sup>1</sup>, E. D. Teplyakova<sup>2, 5</sup>, V. F. Shin<sup>2, 5</sup>,  
D. V. Savchuk<sup>2, 6</sup>, N. I. Volkova<sup>5</sup>, L. A. Ganenko<sup>5</sup>, V. V. Makarov<sup>7</sup>, S. M. Yudin<sup>7</sup>, and S. A. Rummyantsev<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup> Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,  
Samory Mashela str., 1, Moscow, 117997 Russia

<sup>2</sup> Center of Digital and Translational Biomedicine, LLC “Center for Molecular Health”,  
Nakhimovsky prospect, 32, Moscow, 117218 Russia

<sup>3</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovityanova str., 1, Moscow, 117997 Russia

<sup>4</sup> Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya str., 8-2, Moscow, 119991 Russia

<sup>5</sup> Rostov State Medical University, Nakhichevanskiy per., 29, Rostov-on-Don, 344022 Russia

<sup>6</sup> Municipal Children’s Hospital No. 1, Verhnenolnaya str., 6, Rostov-on-Don, 344019 Russia

<sup>7</sup> Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Pogodinskaya str., 10, Moscow, 119121 Russia

#e-mail: Al-shest@yandex.ru

Based on the results of the qualitative and quantitative analysis of alkylresorcinols pools in the intestine and in the blood, as well as their correlations with the level of tryptophan metabolites in feces, indicators of the intestinal microbiota diversity, and clinical and laboratory data, the role of alkylresorcinols as regulatory mediators in the axis “microbiota – adipose tissue” was proposed. Changes in the content of alkylresorcinols in obesity have been shown, which probably reflects the relationship between the state of the microbiota and the metabolic characteristics of the macroorganism.

*Keywords:* alkylresorcinols, obesity, microbiota