

© Коллектив авторов, 2019
УДК 616-056.25:612.33-093/-098
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14071>
ISSN – 2073-8137

РОЛЬ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА В РАЗВИТИИ ОЖИРЕНИЯ И ЕГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ (ЧАСТЬ I)

Н. И. Волкова¹, Л. А. Ганенко¹, С. Н. Головин², Е. А. Березняк²

¹ Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

² Ростовский противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия

THE ROLE OF GUT MICROBIOTA IN THE DEVELOPMENT OF OBESITY AND ITS METABOLIC PROFILE (PART 1)

Volkova N. I.¹, Ganenko L. A.¹, Golovin S. N.², Beresniak E. A.²

¹ Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

² Rostov Antiplague Institute, Rostov-on-Don, Russia

Описаны этапы изучения микробиоты организма человека. Обобщены современные экспериментальные и клинические данные о формировании кишечной микробиоты у человека, ее составе, роли в обменных процессах и взаимосвязи с развитием ожирения. Молекулярно-генетические исследования показывают, что развитие ожирения коррелирует с качественным изменением состава кишечной микробиоты. Экспериментальные данные, полученные на животных-гнотобионтах, раскрыли некоторые механизмы, опосредующие это явление, в частности участие микробиоты в энергетическом обмене и активации ферментов, ответственных за липогенез и депонирование жира в адипоцитах, гормональную регуляцию. Расширено представление о хроническом воспалении жировой ткани, наблюдаемое при ожирении, которое обусловлено нарушением гемато-интестинального барьера и взаимодействием бактериальных эффекторов с иммунокомпетентными клетками.

Ключевые слова: микробиота, микробиом, метаболизм, ожирение

The review article describes the stages of studying the microbiota of the human body. Modern experimental and clinical data on the formation of the intestinal microbiota in man, its composition, role in metabolic processes and the relationship with the development of obesity are summarized. Molecular genetic studies show that the development of obesity correlates with a qualitative change in the composition of the intestinal microbiota. Experimental data obtained on gnotobiont animals revealed some mechanisms that mediate this phenomenon, in particular, the participation of a microbiota in energy metabolism, and the activation of hormones responsible for lipogenesis and fat deposition in adipocytes, hormonal regulation. Our understanding of the chronic inflammation of adipose tissue, observed with obesity, is widened due to the violation of the hemato-intestinal barrier and the interaction of bacterial effectors with immunocompetent cells.

Keywords: microbiota, microbiom, fatty acid metabolism, obesity

Для цитирования: Волкова Н. И., Ганенко Л. А., Головин С. Н., Березняк Е. А. РОЛЬ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА В РАЗВИТИИ ОЖИРЕНИЯ И ЕГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ (ЧАСТЬ I). *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2019;14(1.1):141-144. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14071>

For citation: Volkova N. I., Ganenko L. A., Golovin S. N., Beresniak E. A. THE ROLE OF GUT MICROBIOTA IN THE DEVELOPMENT OF OBESITY AND ITS METABOLIC PROFILE (PART 1). *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(1.1):141-144. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14071> (In Russ.)

ИМТ – индекс массы тела
КЖК – короткоцепочечные желчные кислоты
КОЕ – колониобразующая единица
ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота
NLR – nod-подобные рецепторы
TLR – toll-подобные рецепторы

Последние годы отмечены существенным интересом к микробиоте и микробиому человека, их влиянию на макроорганизм. Открытие Т. Эшерихом в 1885 году кишечной палочки можно условно считать началом изучения кишечной микробиоты человека. И хотя сам Т. Эшерих считал, что заселение кишечника бактериями

происходит в случайном порядке, довольно быстро была продемонстрирована роль бактерий не только как патогенов, но и как важных участников метаболических процессов в организме. И. И. Мечников писал о возможной роли кишечной микробиоты в развитии различных заболеваний, а также о полезных свойствах молочнокислых

бактерий [1]. В 1962 году Т. Розбери издал первую монографию, подробно описывавшую микробиоту человека. Новая эпоха в изучении кишечной микробиоты началась в XXI веке. Активное внедрение молекулярно-генетических методов исследования, таких как ПЦР и секвенирование генов 16S-рибосомальной РНК, открыло новые возможности для исследователей.

В настоящее время понятия «микробиом» и «микробиота» постепенно вытесняют логически устаревшие термины «микробиота» и «дисбактериоз». Впервые термин микробиота появляется в связи с введением новой экспериментальной модели – животных-гнотобионтов (безмикробные животные) и выявлением корреляции между состоянием их здоровья и наличием микроорганизмов. В 1998 году был введен термин «метагеномика» как анализ совокупности генов в определенной среде. С активным развитием этой области исследований связана трансформация термина «микробиом», который теперь понимается как совокупность генов микроорганизмов, обитающих в организме человека. А термин «микробиота» стал использоваться несколько шире – как совокупность микроорганизмов, обитающих в организме человека.

Первая работа, описавшая микробиоту человека с применением молекулярно-генетических методов, была представлена в 1999 году [2]. Развитие технологии секвенирования, в частности разработка методики *shotgun sequencing*, позволило определять таксономическую принадлежность представителей микробиоты не только по генам 16S рРНК, но и по генам, определяющим реализацию того или иного метаболического пути и даже по некодирующим участкам.

Было запущено несколько крупных проектов исследования микробиома человеческого организма, которые во многом пересекаются: Human Microbiome Project в США, Metagenomics of the Human Intestinal Tract в Великобритании, MetaGut projects во Франции и Китае, Canadian Human Microbiome Initiative в Канаде и проект «Метагеном» в России.

Human Microbiome Project, стартовавший в 2008 году, включал исследование микробиома пяти биотопов организма человека: полости рта, кожи, влагалища, кишечника и дыхательных путей. У 300 здоровых американских добровольцев 18–40 лет были отобраны в общей сложности 10 000 проб из разных биотопов и исследованы методом метагеномного секвенирования 16S рРНК. Полученные данные о составе микробиоты как целого организма, так и отдельных биотопов были охарактеризованы по двухпараметрической системе «количество – встречаемость». Для кишечной микробиоты оказалось характерно преобладание представителей 2 типов бактерий: Firmicutes и Bacteroidetes, формирующих «ядро» кишечного микробиома. Среди представителей типа Bacteroidetes доминировал класс Bacteroidia, сохраняющий преобладание до рода Bacteroides. Тип Firmicutes представлен тремя таксонами класса Clostridia, два из которых являются представителями семейств Lachnospiraceae и Ruminococcaceae, третий пока не идентифицирован [3].

В проекте Metagenomics of the Human Intestinal Tract, стартовавшем также в 2008 году, была выявлена корреляция между составом микробиоты кишечника человека и развитием его воспалительных заболеваний (язвенного колита, болезни Крона), а также ожирения. Используя базы данных, предоставленные HMP и аналогичным японским проектом, и данные

секвенирования образцов от европейцев, все совокупности генов были разделены по принципу «количество – встречаемость» на 3 энтеротипа, различающихся соотношением представителей 3 основных родов: Bacteroides (энтеротип 1), Prevotella (энтеротип 2) и Ruminococcus (энтеротип 3). Родовой анализ энтеротипов показал, что они сформированы по принципу преимущественного метаболизма тех или иных субстратов в толстой кишке. Так, представители энтеротипа 1 получают энергию в основном из белковых и углеводных субстратов, так как имеют обилие генов, кодирующих соответствующие ферменты. Представители энтеротипа 2 преимущественно ферментируют гликопротеины. Наиболее частый энтеротип 3 включает виды, ферментирующие моносахариды [4]. Установлено, что энтеротип в той или иной степени коррелирует с национально-географической принадлежностью индивида. Также были выявлены 3 функциональные группы, значительно коррелирующие с ИМТ, определяющие способность микробиоты к выработке энергетических субстратов и способствующие развитию ожирения [4].

Таким образом, данные, полученные в результате исследования микробиома, заставили по-новому оценить значение микробиоты для здоровья человека.

По данным метагеномных исследований, микробиота кишечника человека представлена бактериями двух основных типов: Firmicutes и Bacteroidetes. Минорными представителями являются типы Actinobacteria, Fusobacteria, Proteobacteria, Cyanobacteria и Verrucomicrobia. Около 1 % представителей микробиоты составляют археи, преимущественно рода Methanobrevibacter.

Попытки выделить в кишечном микробиоме человеческой популяции какие-либо группы основывались на разных подходах. Уже упоминавшиеся энтеротипы, в основу которых положен принцип преобладания тех или иных таксономических единиц, показывают либо слабую корреляцию с особенностями макроорганизма, либо не коррелируют вовсе. В связи с размытостью критериев понятия «энтеротип» в настоящее время отдается предпочтение концепции «градиента состава микробиоты» [5], также основанной на количественном преобладании представителей микробиоты, но оперирующей комбинациями из нескольких групп микроорганизмов, связанных общим механизмом колонизации, типом метаболизма и колониальной резистентностью. Эти комбинации микроорганизмов подвержены влиянию состава диеты и не коррелируют с возрастом, полом и национальной принадлежностью, а выявляемая корреляция с климато-географическими особенностями, вероятно, объясняется преимущественным типом диеты, особенностями питания населения.

К вопросу о количественной характеристике микробиоты. До сих пор во многих источниках фигурирует ставшее «классическим» соотношение микробных клеток, населяющих организм человека, к его собственным как 10:1. Впервые эту пропорцию ввел Т. Лаки, опубликовав расчеты КОЕ в 1 грамме кала в пересчете на 1 кг (средняя масса химуса). Таким образом, на 1 клетку нашего тела приходится 10 бактерий. Однако последние данные о количестве клеток в организме человека дают цифру около 39×10^{12} , а не 10×10^{12} , исходя из чего соотношение клеток организма человека к микробиоте составляет 1,3:1. При этом наибольшая часть в составе микробиоты – микробиота кишечника. Хотя она претерпевает суточные количественные колебания, связанные с питанием и

дефекацией, концентрация бактерий в кишечнике составляет в среднем 10^{12} мк. кл/мл.

Соотношение генетического разнообразия в системе «человек – микробиота» также внушительно. По данным проекта MetaHIT, каталог выявленных генов бактерий составил $3,3 \times 10^6$ генов [6] против примерно 22×10^3 генов в геноме человека [7]. При этом если геномы разных людей идентичны на 99,9 % [8], то геномные вариации микробиома кишечника разных людей разнообразны, различия могут составлять до 80–90 % [9].

Одна из главных функций микробиоты в организме человека – деградация неперевариваемых компонентов химуса до короткоцепочечных жирных кислот, которые являются энергетическими субстратами, но могут выполнять функцию мессенджеров, участвуя в иммунных реакциях [10], влияя на моторику кишечника, тонус сосудов, течение системных воспалительных реакций. В настоящее время существует мало работ, описывающих функциональные типы микробиоты по пулу продуцируемых КЖК. Имеются данные, полученные на гнотобионтах, но модель применима лишь к конкретной ситуации, так как оперирует ограниченным числом бактерий [11]. Так, на мышах-гнотобионтах показано развитие ожирения при совместной колонизации их кишечника *Bacteroides thetaiotaomicron* и *Methanobrevibacter smithii* по сравнению с мышами, колонизированными только *B. thetaiotaomicron*. При пересадке микробиоты от тучных мышей мышам-гнотобионтам, получающим корм с высоким содержанием жиров, ожирение развивается быстро, чем при пересадке микробиоты от худых мышей. Исследование уровней КЖК у 98 добровольцев показало увеличение их содержания с 84,6 ммоль/л у людей без ожирения до 103,9 ммоль/л у людей с ожирением [12]. Качественное соотношение КЖК при этом сдвигалось в сторону увеличения доли пропионата (на 41 %) и значительно меньшим – ацетата (на 18 %) у людей с ожирением. Эти данные свидетельствуют об увеличении способности микробиоты к извлечению энергии из химуса. При исследовании состава микробиоты в данной группе добровольцев отмечено увеличение количества *Bacteroidetes* и уменьшение *Methanobrevibacter* у людей с ожирением [12].

Точкой взаимодействия микробиоты и организма человека являются толл-подобные рецепторы [13]. Активация этих рецепторов бактериальными эффекторами при избыточном микробном росте индуцирует воспаление. Еще одной точкой взаимодействия являются NOD-подобные рецепторы (NLR), активация которых формирует сигналы, способствующие синтезу цитокинов в макрофагах [18]. Иными словами, микробиота через TLR и NLR участвует, как минимум, во врожденном иммунитете.

Интересной моделью, характеризующей двусторонность связи «микробиота – хозяин», являются мыши с мутантным геном *ob/ob*. Данная мутация приводит к отсутствию выработки в жировой ткани гормона лептина, регулирующего чувство насыщения. Отсутствие данного гормона приводит к гиперфагии и ожирению у мышей. Исследование микробиоты таких животных выявило повышение доли бактерий типа *Firmicutes* и снижение доли типа *Bacteroidetes* по сравнению с худыми мышами.

Данный феномен согласуется с результатами, полученными при исследовании микробиоты людей с ожирением: у 16 добровольцев, страдающих ожирением, выявлено повышение доли бактерий типа *Firmicutes* и снижение доли типа *Bacteroidetes* по сравнению с худыми людьми. При смене типа диеты

на низкокалорийную в течение года у добровольцев с ожирением наблюдалось изменение бактериального баланса микробиоты [14]. Эти данные свидетельствуют о том, что ожирение является причиной изменения состава микробиоты. Изучение метаболической активности микробиоты у мышей с мутацией *ob/ob* в сравнении с таковой у худых мышей выявило повышенное количество КЖК – бутирата и ацетата у мышей с ожирением вследствие преобладания в составе их микробиоты бактерий типа *Firmicutes*. У мышей с ожирением было повышено содержание метаногенных архей. Утилизируя молекулярный водород, производимый бактериями брожения и оказывающий негативное влияние на другие бактерии, археи повышают общий уровень метаболической активности всей микробиоты. Это доказывает и более низкая калорийность кала мышей с ожирением по сравнению с худыми мышами. Пересадка микробиоты от худых мышей и мышей с ожирением мышам-гнотобионтам привела к быстрому набору массы у опытных мышей, которым была пересажена микробиота мышей с ожирением. Вес мышей, которым была пересажена микробиота от худых мышей, не изменялся. При этом количество и калорийность пищи, получаемой мышами обеих групп, были одинаковыми.

Важный аспект обсуждаемой проблемы – зависимость состава микробиоты от условий ее закладки и формирования в детском возрасте.

Первый контакт организма человека с микроорганизмами происходит в процессе родов. Уже на этом этапе возможно развитие двух вариантов закладки микробиоты. При родах через естественные родовые пути, населенные преимущественно *Lactobacillus* spp., *Prevotella* spp., *Atopobium* spp. и *Sneathia* spp., ребенок получает данный набор микроорганизмов, и они преобладают в первые месяцы жизни. При родах путем кесарева сечения первый контакт ребенка происходит с микробиотой кожи, оборудованием родильного отделения, и его первоначальный набор микроорганизмов будет представлен *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp. и *Propionibacterium* spp. [7].

Фактором, влияющим на формирование микробиоты, является характер вскармливания. При грудном вскармливании в фекалиях младенцев преобладают *Bifidobacterium* spp., в отличие от детей, находящихся на искусственном вскармливании.

Среди факторов, влияющих на микробиоту, следует выделить также противомикробные химиотерапевтические средства. В исследовании на мышах было показано, что употребление молодыми животными даже минорных доз антибактериальных препаратов вызывает значительное изменение состава микробиоты и ее метаболической активности, приводит к увеличению веса как у опытной группы, так и у мышей-гнотобионтов, которым был пересажен микробиота опытной группы [15]. Было показано влияние на микробиоту еще одного распространенного экзогенного фактора – курения [16]. Исследование динамических изменений микробиома бросающих курить показало значительное увеличение микробного разнообразия и увеличение метаболической активности микробиоты, что сочеталось с увеличением массы тела обследуемых людей.

Заключение. Интерес исследователей к изучению микробиоты человеческого организма, выявлению корреляций ее состава с различными патологическими состояниями показывает роль бактериального сообщества в жизни человека. Взаимодействие микробиоты и макроорганизма

осуществляется по принципу обратной связи, следовательно нарушение одного из звеньев вызовет ответные изменения, что в конечном счете разными путями приведет к развитию патологического процесса. Ожирение, воспалительные заболевания кишечника, диабет 2 типа, атеросклероз, злокачественные новообразования – лишь малая часть списка патологий с выявленной ассоциацией с составом микробиоты. Все это приводит к пересмотру этиологии, патогенеза и, как следствие, тактики лечения большого числа патологических состояний. При этом нельзя не отметить тревожную тенденцию

к переоценке имеющихся порой противоречивых данных, полученных на гнотобионтах. Несомненно, отличие микробиоты людей с ожирением от таковой у худых имеет место и в разных исследованиях оно широко варьирует. Значительной проблемой является внутрилабораторная перекрестная контаминация проб и оборудования при выполнении молекулярно-генетических исследований, что приводит к ложноположительным результатам, особенно в кратковременных исследованиях с малой выборкой [17].

Конфликт интересов отсутствует.

Литература/References

1. Мечников И. И. Этюды о природе человека. 4-е изд. Москва, 1913. [Mechnikov I. I. Etyudy o prirode cheloveka. 4-e izd. Moskva; 1913. (In Russ.)].
2. Kroes I., Lepp P. W., Relman D. A. Bacterial diversity within the human subgingival crevice. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 1999;96(25):14547-14552.
3. Kelvin Li, Monika Bihan, Shibu Yooseph, Barbara A. Methe. Analyses of the Microbial Diversity across the Human Microbiome. *PLoS One*, Published: 2012. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0032118>
4. Antolin M., Artiguenave F., Blottiere H. M., Almeida M., Brechot C. [et al.]. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473:174-180. <http://doi.org/10.1038/nature09944>
5. Jeffery I. B., Claesson M. J., O'Toole P. W., Shanahan F. Categorization of the gut microbiota: enterotypes or gradients? *Nature Reviews Microbiology*. 2012;10(9):591-592.
6. Qin J., Li R., Raes J., Arumugam M., Burgdorf K. S. [et al.]. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464:59-65. <http://doi.org/10.1038/nature08821>
7. Dominguez-Bello M. G., Costello E. K., Contreras M., Magris M., Hidalgo G. [et al.]. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2010;107(26):11971-11975. <http://doi.org/10.1073/pnas.1002601107>
8. Wheeler D. A., Srinivasan M., Egholm M., Shen Y., Chen L. [et al.]. The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature*. 2008;452:872-876. <http://doi.org/10.1038/nature06884>
9. Turnbaugh P. J., Hamady M., Yatsunenko T., Cantarel B. L., Duncan A. [et al.]. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*. 2009;457:480-484. <http://doi.org/10.1038/nature07540>
10. Lin H. V., Frassetto A., Kowalik E. J. Jr., Nawrocki A. R., Lu M. M. [et al.]. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. *PLoS One*. 2012;7(4):e35240. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0035240>
11. Shoaie S., Karlsson F., Mardinoglu A., Nookaew I., Bordel S. [et al.]. Understanding the interactions between bacteria in the human gut through metabolic modeling. *Sci Rep*. 2013;3:25-32. <http://doi.org/10.1038/srep02532>
12. Schwiertz A., Taras D., Schafer K., Schwiertz A., Beijer S. [et al.]. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity*. 2010;18(1):190-195. <http://doi.org/10.1038/oby.2009.167>
13. Pott J. and Hornef M. Innate immune signalling at the intestinal epithelium in homeostasis and disease. *EMBO*. 2012;13:684-698. <http://doi.org/10.1038/embor.2012.96>
14. Rouh E. Ley, Turnbaugh P. J., Klein S., Gordon J. I. Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444:1022-1023. <http://doi.org/10.1038/4441022a>
15. Cox L. M., Yamanishi S., Sohn J., Alekseyenko A. V., Leung J. M. [et al.]. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell*. 2014;158(4):705-721. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.052>
16. Biedermann L., Zeitz J., Mwinyi J., Sutter-Minder E., Rehman A. [et al.]. Smoking Cessation Induces Profound Changes in the Composition of the Intestinal Microbiota in Humans. *PLoS One*. 2013;8(3):e59260. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0059260>
17. Salter S. J., Cox M. J., Turek E. M., Calus S. T., Cookson W. O. [et al.]. Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. *BMC Biol*. 2014;12:87. <http://doi.org/10.1186/s12915-014-0087-z>

Сведения об авторах:

Волкова Наталья Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, проректор по научной работе, заведующая кафедрой внутренних болезней № 3; тел.: 89185553069; e-mail: n_i_volkova@mail.ru

Ганенко Лилия Александровна, ассистент кафедры внутренних болезней № 3; тел.: 89094219960; e-mail: ganenko.lilia@yandex.ru

Головин Сергей Николаевич, лаборант группы электронной микроскопии лаборатории биологической безопасности и лечения особо опасных инфекций; тел.: 89185261591; e-mail: labbiobez@yandex.ru

Березняк Елена Николаевна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией биологической безопасности и лечения особо опасных инфекций; тел.: 89185303976; e-mail: labbiobez@yandex.ru