

ВЗАИМОСВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ НЕЙРОТРОФИНОВ И КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ТИПАХ ОЖИРЕНИЯ

© 2022 г. И. М. Колесникова^{1,*}, А. М. Гапонов^{2,3}, С. А. Румянцев^{1,2},
Л. А. Ганенко⁴, Н. И. Волкова⁴, Т. В. Григорьева⁵, А. В. Лайков⁵,
В. В. Макаров⁶, С. М. Юдин⁶, А. В. Шестопалов^{1,2,7}

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

² Центр цифровой и трансляционной биомедицины “Центр Молекулярного Здоровья”, Москва, Россия

³ НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР, Москва, Россия

⁴ Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

⁵ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

⁶ “Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью”
Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

⁷ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии
им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

*e-mail: ir.max.kolesnikova@gmail.com

Поступила в редакцию 22.03.2022 г.

После доработки 28.04.2022 г.

Принята к публикации 04.05.2022 г.

Ожирение ассоциировано с дисбалансом кишечного микробиома и риском поражения нервной системы, при этом риск развития осложнений определяется метаболическим типом ожирения. Целью работы стало изучение взаимосвязи кишечного микробиома и содержания нейротрофинов (BDNF и NGF) при различных метаболических типах ожирения. Обследовано 130 здоровых доноров без ожирения и 104 пациента с ожирением, которые были разделены по метаболическому типу ожирения на подгруппы с метаболически здоровым (МЗО, $n = 40$) и метаболически нездоровым типом (МНЗО, $n = 55$). У пациентов проводились измерение сывороточной концентрации нейротрофинов и определение таксономического состава микробиома кишечника методом секвенирования вариабельного участка гена 16S рРНК. Таксоны, положительно коррелировавшие с концентрацией BDNF, в основном были представлены бутират и/или ГАМК-продуцирующими микроорганизмами, способными деградировать муцин. Среди здоровых доноров, наиболее распространенным подобным таксоном, было семейство *S24-7*. При МЗО спектр таких таксонов включал *Bacteroides spp.*, *Rikenellaceae*, *Oscillospira spp.*, [*Barnesiellaceae*], *B. ovatus* и *Anaerostipes spp.*, а при МНЗО – *Bifidobacterium spp.* и *Coprococcus spp.* Также был выявлен спектр таксонов, негативно коррелировавших с уровнем BDNF, большая часть которых при ожирении принадлежала к грамположительной флоре. Спектр таксонов, коррелировавших с уровнем BDNF, был уникален для каждой группы пациентов, что предполагает значительную роль межвидового взаимодействия микроорганизмов. Содержание NGF при ожирении было ассоциировано с рядом таксонов, тогда как у здоровых лиц подобная связь практически отсутствовала. Позитивные ассоциации с уровнем NGF были отмечены для *Odoribacter spp.* при МЗО и *Slackia spp.* при МНЗО. Негативную взаимосвязь с концентрацией NGF при МЗО проявляли *H. parainfluenzae*, *Erysipelotrichaceae*, *Megamonas spp.* и *Clostridiaceae*, а при МНЗО – *ML615J-287* и *Clostridiales*. Таким образом, ожирение связано с появлением взаимосвязи “кишечный микробиом – NGF”, что не характерно для здоровых доноров, и, по-видимому, является следствием усиления кишечной проницаемости.

Ключевые слова: кишечный микробиом, микробиота кишечника, альфа-разнообразие, нейротрофины, фактор роста нервов, NGF, нейротропный фактор мозга, нейротрофический фактор мозга, BDNF, ожирение, метаболически здоровое ожирение, метаболически нездоровое ожирение

DOI: 10.31857/S0044452922040076

Количество публикаций, демонстрирующих многочисленные взаимодействия макроорганизма и кишечной микробиоты, неуклонно растет с каждым годом. Ожирение представляет собой одну из патологий, тесно связанных с кишечным микро-

биомом [1]. Микробиом кишечника при ожирении, с одной стороны, претерпевает существенные изменения, с другой стороны, является непосредственным участником патогенеза в формировании инсулинорезистентности, метаболического син-

дрома и диабета [2]. Некоторые таксоны микробного сообщества кишечника демонстрируют прямую взаимосвязь с индексом массы тела (ИМТ) при ожирении [3]. Для ожирения характерно снижение микробного разнообразия кишечника, а также значительные изменения в таксономическом составе микробиома уже на уровне филумов [4].

Представители микробного сообщества кишечника вовлечены в энергетический обмен макроорганизма. Они способны переваривать углеводы, не гидролизуемые ферментами человека, и производить из них короткоцепочечные жирные кислоты (short-chain fatty acids, SCFAs), такие как ацетат, пропионат и бутират. SCFAs перекрывают до 10% суточной потребности в энергии и являются одним из основных энергетических субстратов для эпителия толстого кишечника и печени [5]. Помимо энергетической роли SCFAs являются и сигнальными молекулами. SCFAs, взаимодействуя с рецепторами GPR41 и GPR43, регулируют выработку гормонов кишечника (глюкагоноподобных пептидов 1-го и 2-го типов, пептида YY) и оказывают модулирующее влияние на иммунную систему [6]. Также SCFAs вовлечены в регуляцию энергетического гомеостаза. Было показано, что SCFAs способны подавлять липолиз в жировой ткани, усиливать окисление жирных кислот в печени, стимулировать термогенную дифференцировку адипоцитов, а также улучшать чувствительность к инсулину у здоровых лиц, но не у пациентов с метаболическими нарушениями [7].

Взаимодействие микробиома и иммунной системы не ограничивается SCFAs. Повышение кишечной проницаемости, характерное для ожирения, способствует проникновению бактериальных компонентов под слизистую оболочку кишечника [1]. Бактериальные липополисахариды (LPS) и флагеллин, взаимодействуя с толл-подобными рецепторами (toll-like receptors, TLRs), способствуют развитию воспаления, а также тесно связаны с увеличением массы тела и формированием инсулинорезистентности [2].

Исследования в последние годы показали, что кишечный микробиом модулирует развитие и функционирование центральной и энтеральной нервных систем (ЦНС и ЭНС соответственно), включая нейрогенез, миелинизацию, синаптическую обрезку, активность микроглии и астроцитов, проницаемость гематоэнцефалического барьера и т.д. [8, 9]. Было показано, что диета с высоким содержанием жиров приводит к изменению микробиома кишечника, нейропатии ЭНС и снижению чувствительности к глюкагоноподобному пептиду 1 типа [10]. Подобные результаты предполагают, что кишечные бактерии способны влиять на гомеостаз глюкозы, что особенно важно для пациентов с ожирением. Для лиц с избыточной массой тела также характерно формирование нейровоспаления, которое приводит к таким распространенным

осложнениям ожирения, как поражение ЦНС и периферической нервной системы [11].

Однако не все пациенты с ожирением имеют одинаковый риск развития осложнений. Принято выделять метаболически здоровый и метаболически нездоровый типы ожирения (МЗО и МНЗО соответственно). Пациенты с МЗО имеют низкий риск развития осложнений, ассоциированных с ожирением, тогда как у лиц с МНЗО существенно выше [12].

Учитывая негативное влияние ожирения и изменений в кишечном микробиоме на нервную систему, интересным представляется изучение влияния бактериального сообщества кишечника на содержание нейротрофинов у пациентов с ожирением. Нейротрофины представляют собой белки, способствующие дифференцировке, функционированию и выживанию нейронов. К семейству нейротрофинов относят: фактор роста нервов (Nerve Growth Factor, NGF), нейротрофический фактор мозга (Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF), а также нейротрофин 3 и нейротрофин 4 (также называемый нейротрофин 4/5 или нейротрофин 5).

Данные о влиянии микробиома на уровень BDNF порой противоречивы. Например, показано, что у мышей-гнотобионтов (Germ-free mice, GF мыши) или у мышей после использования антибиотиков наблюдается увеличение экспрессии BDNF в головном мозге [13, 14]. Другие исследования, напротив, указывают на то, что у GF мышей или у животных после применения противомикробных средств наблюдается снижение экспрессии этого нейротрофина в ЦНС [15–17]. Также снижение экспрессии гена BDNF в гиппокампе наблюдалось у мышей после тотального облучения брюшной полости [18]. Подобные различия могут быть объяснены тем, что BDNF имеет несколько альтернативных стартовых сайтов, которые подвержены разным регуляторным механизмам, а также следует учитывать возможное разнонаправленное влияние на экспрессию BDNF различных штаммов кишечных бактерий [19].

Было показано, что положительное влияние на экспрессию BDNF оказывают как пробиотики, так и пребиотики. Исследование Savignac и соавт. [20] выявило, что опосредованная пребиотиками пролиферация кишечной микрофлоры увеличивает экспрессию BDNF в головном мозге крыс. O'Sullivan и соавт. [21] продемонстрировали, что использование *Bifidobacterium breve* 6330 способствовало увеличению экспрессии BDNF в головном мозге крыс, не подвергавшихся действию стрессового фактора в раннем возрасте. Аналогичное влияние на усиление синтеза BDNF оказало применение *Clostridium butyricum* у крыс с депрессивно-подобным поведением [22]. Работа, проведенная на модели рыбок данио (*Danio rerio*), показала, что использование пробиотика *Lactobacillus rhamnosus* привело к почти двукратному увеличению экспрессии гена BDNF в мозге, однако не повлияло на

синтез этого нейротрофина в кишечнике [23]. Причем подобные изменения в экспрессии BDNF были связаны с изменением профиля метилирования гена данного нейротрофина, что демонстрирует влияние кишечной микробиоты на эпигенетический ландшафт [24]. Недавнее исследование Hwang и соавт. [25] показало, что использование добавки сои, ферментированной *Lactobacillus plantarum* C29, у людей способствовало улучшению когнитивных функций и увеличению сывороточной концентрации BDNF.

Следует отметить, что взаимосвязь “кишечный микробиом – BDNF” является двусторонней. Исследование Li и соавт. [26] показало, что у BDNF-нокаутных мышей наблюдаются изменения в ультраструктуре толстого кишечника и снижение экспрессии белков плотных контактов в этой части желудочно-кишечного тракта. Таким образом, BDNF регулирует барьерную функцию слизистой оболочки кишечника и оказывает влияние на кишечный микробиом [26]. Кроме этого, BDNF подавляет апоптоз клеток кишечной глии, что также вносит свой вклад в поддержание кишечного барьера [27].

Синтез и секреция NGF также могут зависеть от представителей кишечной микробиоты. Ряд работ выявили влияние бактерий на образование этого нейротрофина в клеточных моделях [28, 29]. При этом Sudo и соавт. [15] показали, что у GF мышей и мышей, выращенных классическим способом, не различаются уровни NGF в мозге. У пациентов с рассеянным склерозом полугодовой прием пробиотиков не привел к изменению плазменной концентрации NGF, тогда как содержание BDNF в плазме увеличилось [30]. Однако было показано, что у крыс усиливается экспрессия NGF в ЦНС на фоне применения пробиотиков в модели эпилепсии, стимулированной пентилентетразолом [31].

В настоящее время совершаются попытки коррекции ожирения и его метаболических нарушений с использованием про- и пребиотиков, однако полученные данные пока еще не убедительны [32]. Остается неясным, как влияет кишечный микробиом и его отдельные таксоны на уровень нейротрофинов у пациентов с нормальной массой тела и при ожирении, а также играет ли роль в данном взаимодействии метаболический тип ожирения, что и стало целью нашей работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было проведено когортное одномоментное исследование на базе центра цифровой и трансляционной биомедицины ООО “Центр молекулярного здоровья”, кафедры внутренних болезней № 3, ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России и ФГАОУ ВО “Казанский (Приволжский) федеральный университет” в период 2018–2020 гг. Было обследовано 233 человека, из которых впоследствии было сформировано две группы испытуемых: Группа 1 (контрольная группа, контроль) и Группа 2 (пациенты с

ожирением). В Группу 1 были включены 130 пациентов без ожирения с ИМТ от 18.5 до 24.9 кг/м², при отсутствии метаболических нарушений (дислипидемия, гипергликемия, гиперурикемия) и без признаков артериальной гипертензии. Группа 2 была сформирована из 103 пациентов с ожирением (ИМТ ≥ 30 кг/м²) и с окружностью талии более 102 см у мужчин или 88 см у женщин. Исследуемые группы были сопоставимы по гендерному составу: Группу 1 составили 21 мужчина и 109 женщин, а Группу 2 – 21 мужчина и 82 женщины ($p > 0.05$).

Также пациенты Группы 2 были разделены на две подгруппы: пациенты с МЗО ($n = 40$) и пациенты с МНЗО ($n = 55$) в соответствии с критериями NCEP-АТР III (табл. 1) [33]. Полученные подгруппы также были сопоставимы по гендерному составу ($p > 0.05$). Для 8 пациентов с ожирением не было получено убедительных данных для включения их в одну из подгрупп, поэтому результаты их исследований не были включены в анализ влияния микробиома кишечника на сывороточную концентрацию нейротрофинов при различных метаболических типах ожирения.

У всех пациентов проводили сбор образцов фекалий и отбор венозной крови, в образцах сыворотки которой проводилось определение концентрации нейротрофинов BDNF и NGF методом мультиплексного иммуноферментного анализа на анализаторе Magpix (BioRad, США) с использованием наборов Milliplex: Human Adipokine Magnetic Bead Panel 2 и Human Myokine Magnetic Bead Panel (Merck, Германия). Выделение ДНК из образцов кала проводилось при помощи набора QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Нидерланды) в соответствии с рекомендациями производителя. Секвенирование переменного участка v3-v4 гена 16S рРНК проводили на платформе “Illumina MiSeq” на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования Казанского федерального университета. Полученные последовательности генов были проанализированы с помощью программы “QIIME v.1.9.1” с использованием референсной базы данных “Greengenes v.13.8” с 97%-ным порогом сходства между последовательностями. Данные представленности бактериальных таксонов в общем пуле ридов были получены в долях (от 0 до 1), которые были рассчитаны на основе количества картированных ридов для каждого таксона. Особенности кишечного микробиома, характерные для этих пациентов, отражены в работе Гапонова и соавт. [4]. Для характеристики альфа-разнообразия кишечного микробиома были рассчитаны:

- Общее количество наблюдаемых операционных таксономических единиц (Observed OTUs). Операционная таксономическая единица – суррогатный таксономический уровень, результат кластерного объединения результатов секвенирования генов 16S РНК бактерий с 97%-ной идентичностью;

Таблица 1. Критерии NCEP-АТР III, использованные для определения метаболического типа ожирения [33]

Критерий	Значение критерия
Объем талии	
мужчины	>102 см
женщины	>88 см
Триглицериды	≥1.7 ммоль/л (150 мг/дл)
Холестерол ЛПВП	
мужчины	<1.03 ммоль/л (40 мг/дл)
женщины	<1.29 ммоль/л (50 мг/дл)
Артериальное давление	
систолическое	≥130 мм. рт.ст.
диастолическое	≥85 мм. рт.ст.
Глюкоза натощак	≥5.6 ммоль/л (110 мг/дл)
Метаболически здоровое ожирение	<3 критериев
Метаболически нездоровое ожирение	≥3 критериев

• Индекс Chao1 — мера скрытого разнообразия, прогнозирует количество таксонов в выборке путем экстраполяции редких микроорганизмов, которые могли быть упущены из-за недостаточной выборки;

• Филогенетическое разнообразие (Phylogenetic diversity whole tree, PD whole tree), демонстрирующее удаленность таксонов на филогенетическом древе;

• Индекс Shannon — мера разнообразия и равномерности таксонов в выборке;

• Индекс Simpson — индекс разнообразия, демонстрирующий вероятность того, что две случайно выбранные особи принадлежат к разным видам.

Статистический анализ проводился с помощью программного обеспечения MedCalc (MedCalc Software Ltd, Бельгия). Все полученные массивы данных были проверены на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро—Уилка. Содержание нейротрофинов в Группе 1 и 2 соответствовало нормальному распределению, однако в подгруппах, ввиду меньшей выборки, распределение данных содержания нейротрофинов и показателей альфа-разнообразия не всегда носило нормальный характер, поэтому полученные данные были представлены в виде медианы и ее 95%-ного доверительного интервала, а сравнение групп/подгрупп между собой проводили с использованием критерия Манна—Уитни. Для установления наличия или отсутствия влияния разнообразия кишечного микробиома на содержание нейротрофинов пациенты Группы 1 и Группы 2, а также пациенты с МЗО и МНЗО были разделены на три подгруппы: с высокими, средними и низкими показателями α -разнообразия. Разделение по каждому из показателей альфа-разнообразия на подгруппы проводилось по квантилям. Для выявления различий между содержанием нейротрофинов в сформированных подгруппах использовался однофакторный дисперсион-

ный анализ (ANOVA) при условии нормального распределения и равенства дисперсий в подгруппах. В случае отсутствия нормального распределения и/или равенства дисперсий в сформированных подгруппах для выявления различий использовался непараметрический критерий Краскела—Уоллиса. Различия между группами и подгруппами считались достоверными при уровне значимости $p < 0.05$. Для многих таксонов не было характерно нормальное распределение, поэтому для установления взаимосвязи между содержанием отдельных таксонов кишечного микробиома и концентрацией нейротрофинов был проведен корреляционный анализ с расчетом коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Коэффициенты корреляции (ρ) принимались во внимание если они по модулю были более 0.3 (умеренная сила связи в соответствии со шкалой Чеддока) при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для пациентов с ожирением, вне зависимости от его метаболического типа, оказалось характерно снижение сывороточной концентрации NGF, при этом содержание BDNF не отличалось от здоровых доноров (табл. 2). Микробное разнообразие кишечного сообщества было более разнообразным у лиц с МЗО по сравнению с контрольной группой. Напротив, МНЗО было ассоциировано со сниженными показателями α -разнообразия.

Разделение исследуемых групп пациентов на подгруппы в зависимости от величины индексов Shannon, PD whole tree и количества observed OTUs не выявило взаимосвязи данных показателей альфа-разнообразия с содержанием BDNF ни в одной из исследуемых групп. Однако у пациентов Группы 1 и пациентов с МЗО разделение на подгруппы по

Таблица 2. Содержание нейротрофинов в сыворотке и характеристики α -разнообразия микробиома кала у исследуемых групп пациентов

	Группа 1	Группа 2	МЗО	МНЗО
BDNF, нг/мл	7208.3 [6567.3–7952.3]	8063.4 [7087.5–8758.8]	8109.4 [6790.3–8827.4]	8017.0 [6538.2–8898.2]
NGF, нг/мл	0.56 [0.52–0.70]	0.46* [0.37–0.52]	0.45* [0.34–0.52]	0.52* [†] [0.38–0.54]
Индекс Simpson	0.981 [0.979–0.982]	0.977 [0.975–0.981]	0.978 [0.971–0.986]	0.976 [0.973–0.981]
Индекс Shannon	7.80 [7.71–7.90]	7.82 [7.63–8.11]	8.28* [7.67–8.76]	7.63 [†] [7.46–7.90]
Индекс Chao1	4010.16 [3871.53–4256.37]	4018.56*[3647.52–4492.64]	4899.13*[4139.88–5384.25]	3631.75 [†] [3214.01–4118.26]
Observed OTUs	1974.50[1865.86–2060.00]	2015.00[1930.17–2285.94]	2479.00*[1982.88–2727.61]	1930.00 [†] [1743.64–2125.33]
PD whole tree	43.52 [42.76–45.16]	41.09* [38.33–42.32]	41.44 [38.12–44.70]	38.90* [36.11–42.37]

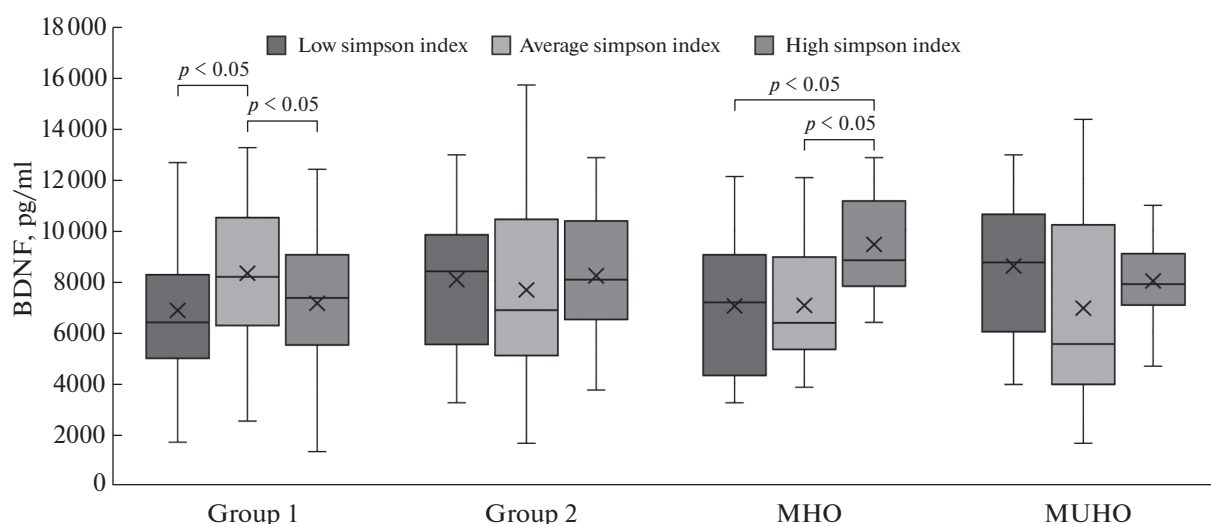
Примечание: данные представлены в виде медианы и ее 95%-ного доверительного интервала; * – различия достоверны по сравнению с Группой 1 ($p < 0.05$); [†] – различия достоверны по сравнению с МЗО ($p < 0.05$).

величине индекса Simpson привело к появлению достоверных различий между подгруппами в содержании BDNF (рис. 1). При этом для пациентов Группы 2 и пациентов с МНЗО подобной взаимосвязи выделено не было. По-видимому, наличие взаимосвязи между сывороточной концентрацией BDNF и индексом Simpson у пациентов Группы 1 и пациентов с МЗО является показателем “здорового” взаимодействия микробиома и макроорганизма. При этом в Группе 1 максимальное содержание BDNF в плазме наблюдалось у пациентов со средними значениями индекса Simpson. У пациентов с МЗО, напротив, наибольшее содержание BDNF было выявлено среди пациентов с высокими значениями индекса Simpson.

Для пациентов с МНЗО была характерна ассоциация содержания BDNF и индекса Chao1, тогда как у других исследуемых групп подобной взаимосвязи не наблюдалось (рис. 2). При этом у пациентов с МНЗО с низкими значениями индекса Chao1 наблюдалось максимальное содержание BDNF,

тогда как при высоких значениях индекса Chao1 концентрация BDNF в сыворотке была ниже. В отличие от индекса Simpson, индекс Chao1 – мера скрытого разнообразия, полученная путем экстраполяции редких микроорганизмов, которые могли быть упущены из-за недостаточной выборки. По-видимому, увеличение содержания редких микроорганизмов в кишечном микробиоме ассоциировано с негативным влиянием на уровень BDNF крови при данном типе ожирения. Подобное предположение подтверждают и результаты корреляционного анализа. Для пациентов с МНЗО была выявлена обратно пропорциональная связь между содержанием BDNF и такими показателями альфа-разнообразия, как индекс Chao1 ($\rho = -0.317$, $p < 0.05$) и Observed OTUs ($\rho = -0.331$, $p < 0.05$).

Мы не обнаружили взаимосвязи характеристик α -разнообразия с содержанием NGF в сыворотке крови у пациентов Группы 1 и пациентов с МЗО. Однако для общей группы пациентов с ожирением (Группа 2) и пациентов с МНЗО распределение на

**Рис. 1.** Содержание BDNF в сыворотке крови у исследуемых групп в зависимости от величины индекса Simpson.

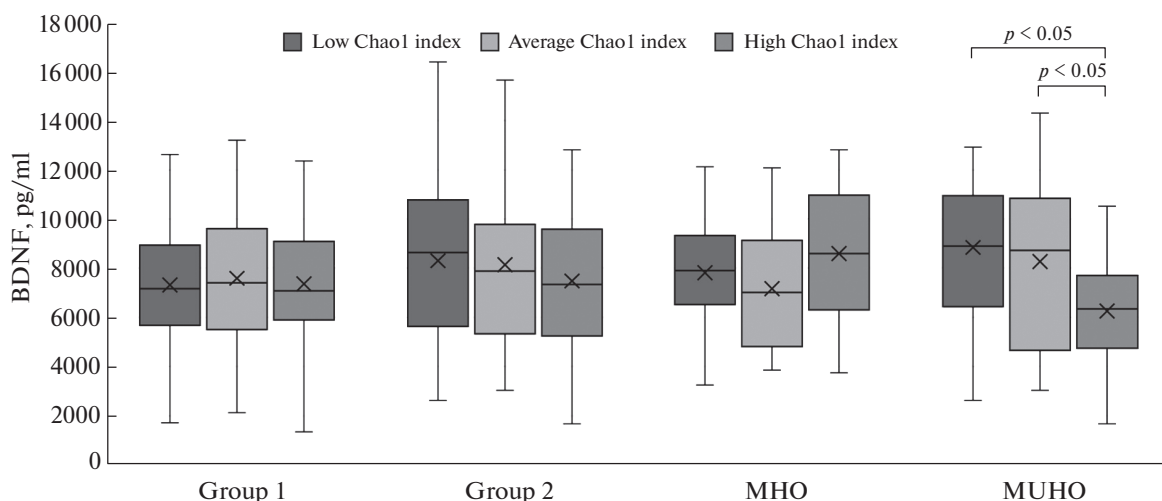


Рис. 2. Содержание BDNF в сыворотке крови у исследуемых групп в зависимости от величины индекса Chao1.

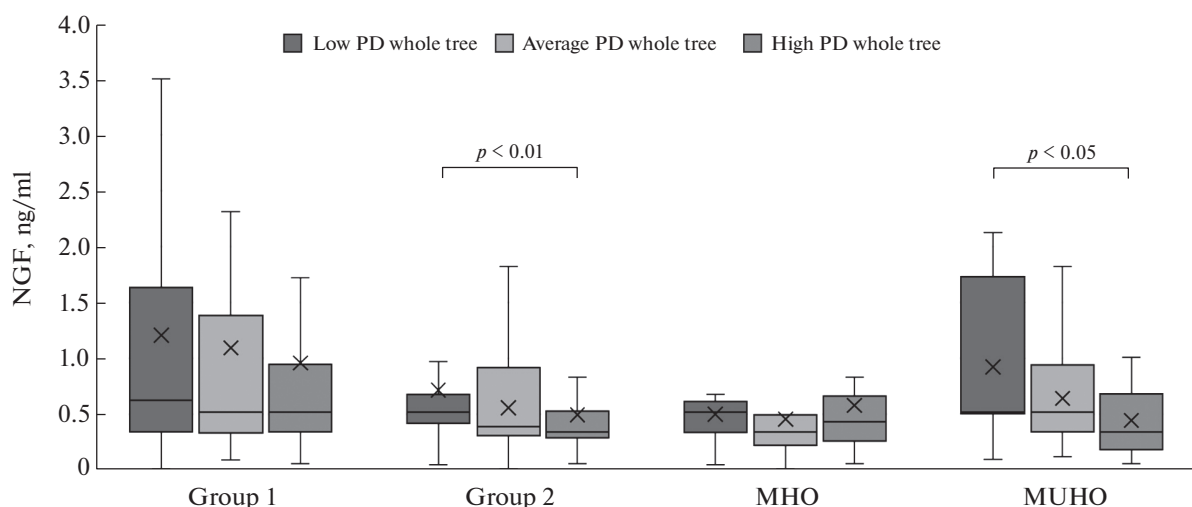


Рис. 3. Содержание NGF в сыворотке крови у исследуемых групп в зависимости величины PD whole tree.

подгруппы по величине индекса филогенетического разнообразия (PD whole tree) показало, что у пациентов этих групп максимальное содержание NGF наблюдается у лиц с низкими показателями филогенетического разнообразия (рис. 3). Корреляционный анализ также показал, что сывороточная концентрация NGF обратно пропорциональна PD whole tree у пациентов Группы 2 ($\rho = -0.3$, $p < 0.01$) и МНЗО ($\rho = -0.353$, $p = 0.01$). Таким образом, отрицательная корреляция филогенетического разнообразия микробиома кишечника и концентрации NGF является характерной чертой метаболически нездорового ожирения. Возможно, увеличение филогенетического разнообразия у таких пациентов наблюдается за счет отдельных таксонов, оказывающих неблагоприятное воздействие на продукцию данного нейротрофина.

Учитывая выявленную негативную взаимосвязь между содержанием нейротрофинов и показателями альфа-разнообразия, отражающими влияние

отдельных и редких таксонов, у пациентов с МНЗО особый интерес представляет влияние конкретных таксономических единиц на содержание BDNF и NGF сыворотки. Были проанализированы таксоны, выявленные более чем у 15% пациентов каждой группы с глубиной до вида.

Экспрессия BDNF может регулироваться продуктами кишечной микробиоты. Несколько работ на грызунах продемонстрировали, что одна из SCFAs – бутират – способствует ингибированию гистон-деацетилазы и повышает экспрессию BDNF в астроцитах [34, 35]. Другим стимулом для синтеза BDNF является гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) [36]. ГАМК образуется не только в нервной системе, но и продуцируется рядом бактерий, например, представителями рода *Bacteroides* [37]. Кроме того, кишечная микробиота способна регулировать кишечную проницаемость, в том числе за счет деградации муцина [38].

Таблица 3. Таксоны, положительно коррелировавшие с сывороточной концентрацией BDNF, и ферменты, характерные для данных таксонов

	Таксоны	Окраска по Граму	I		II	III						
			2.8.3.8	2.7.2.7	4.1.1.15	3.2.1.18	3.1.1.53	4.1.3.3	3.2.1.51	3.2.1.96	3.2.1.97	3.1.1.2
Группа 1	<i>Peptostreptococcaceae</i> ¹ rho = 0.408, p < 0.05, n = 24	+	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>S24-7 (Muribaculaceae)</i> ² rho = 0.317, p < 0.005, n = 86	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Группа 2	Не выявлено значимых таксонов (rho > 0.3)											
МЗО	<i>[Ruminococcus] torques</i> rho = 0.618, p < 0.05, n = 11	+	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Bacteroides spp.</i> ³ rho = 0.408, p < 0.01, n = 40	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Rikenellaceae</i> ⁴ rho = 0.407, p < 0.01, n = 39	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Oscillospira spp.</i> rho = 0.341, p < 0.05, n = 40	+	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>[Barnesiellaceae]</i> ⁵ rho = 0.325, p < 0.05, n = 39	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Bacteroides ovatus</i> rho = 0.311, p = 0.06, n = 38	-	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Anaerostipes spp.</i> rho = 0.307, p = 0.06, n = 38	+	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
МНЗО	<i>Bifidobacterium spp.</i> ⁶ rho = 0.437, p < 0.005, n = 45	+	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Collinsella spp.</i> ⁷ rho = 0.432, p < 0.05, n = 27	+	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Coprococcus spp.</i> ⁸ rho = 0.317, p = 0.056, n = 37	+	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

Примечание: нет заливки – нет данных, что фермент характерен для данного таксона, серая заливка – фермент характерен для других видов (родов) данного рода (семейства), черная заливка – фермент характерен для данного таксона; I – ферменты синтеза бутирата, II – фермент синтеза ГАМК, III – ферменты, участвующие в деградации муцина; ¹ неидентифицированные таксоны семейства, не принадлежащие к роду *Peptostreptococcus*; ² неидентифицированные таксоны семейства; ³ неидентифицированные виды, не принадлежащие к видам *B. acidifaciens*, *B. barnesiae*, *B. caccae*, *B. coprophilus*, *B. eggerthii*, *B. fragilis*, *B. ovatus*, *B. plebeius* и *B. uniformis*; ⁴ неидентифицированные таксоны семейства, не принадлежащие к роду *Alistipes*; ⁵ неидентифицированные таксоны семейства; ⁶ неидентифицированные виды, не принадлежащие к видам *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. longum* и *B. pseudolongum*; ⁷ неидентифицированные виды, не принадлежащие к видам *C. aerofaciens* и *C. stercoris*; ⁸ неидентифицированные виды, не принадлежащие к виду *C. eutactus*.

Чтобы выявить, способны ли выявленные таксоны участвовать в синтезе бутирата, ГАМК или в деградации муцина, мы проанализировали наличие или отсутствие специфических ферментов у этих таксонов в соотвествии с комплексной информационной системой по ферментам BRENDA [39]. Ключевым ферментом синтеза ГАМК является глутамат декарбоксилаза (4.1.1.15), а образование бутирата может происходить под действием бутираткиназы (2.7.2.7) и бутирил-КоА: ацетат КоА-трансферазы (2.8.3.8) [40, 41]. Деградация муцина представляет собой сложный и многоэтапный процесс, с вовлечением различных ферментов [42, 43]. Среди них мы анализировали наличие α -сиалидазы (3.2.1.18), O-ацетилэстеразы (3.1.1.53), N-ацетилнейраминатлиазы (4.1.3.3), α -L-фруктозидазы (3.2.1.51), β -N-ацетилглюкозаминидаза (3.2.1.96), α -N-ацетилгалактозаминидазы (3.2.1.97) и арилэстеразы (3.1.1.2).

Мы обнаружили значительное количество таксонов, положительно коррелировавших с сывороточным содержанием BDNF у исследуемых групп (табл. 3). Наибольшее число значимых таксонов было отмечено у пациентов с МЗО, что, по-видимому, связано с большим разнообразием кишечного микробиома, характерного для таких пациентов. А также это объясняет, почему максимальное со-

держание BDNF наблюдалось у пациентов с высокими значениями индекса Simpson (рис. 1). Интересным наблюдением стало, что разные представители одной и той же таксономической группы могут по-разному коррелировать с концентрацией BDNF. У пациентов с МЗО представители рода *Bacteroides* были позитивно ассоциированы с уровнем BDNF, тогда как в группе 1 *Bacteroides barnesiae*, напротив, демонстрировали негативную корреляцию. Подобное наблюдение подтверждает предположение Stilling и соавт. [19], которые высказали гипотезу о разнонаправленном влиянии отдельных таксонов на экспрессию BDNF. Также можно предполагать, что действие на макроорганизм того или иного таксона связано не только с метаболическими возможностями бактерии, но и с влиянием ее микроокружения на экспрессию тех или иных бактериальных белков.

В каждой исследуемой группе пациентов среди таксонов, положительно взаимосвязанных с содержанием BDNF, присутствовали микроорганизмы, способные к синтезу бутирата. У пациентов Группы 1 и пациентов с МЗО была также отмечена позитивная ассоциация содержания BDNF с ГАМК-продуцирующими бактериями. При этом у лиц с МНЗО доля бактерий-продуцентов ГАМК практически не коррелировала с содержанием BDNF.

Таблица 4. Таксоны, отрицательно коррелировавшие с сывороточной концентрацией BDNF, и ферменты, характерные для данных таксонов

	Таксоны	Окраска по Граму	I		II	III							
			2.8.3.8	2.7.2.7	4.1.1.15	3.2.1.18	3.1.1.53	4.1.3.3	3.2.1.51	3.2.1.96	3.2.1.97	3.1.1.2	
Группа 1	<i>Parvimonas spp.</i> rho = -0.600, p < 0.01, n = 18	+											
	<i>Succinivibrio spp.</i> rho = -0.408, p = 0.01, n = 38	-											
	<i>Lactococcus garvieae</i> rho = -0.403, p = 0.06, n = 23	+											
	<i>Gemellaceae</i> ¹ rho = -0.398, p < 0.005, n = 25	+											
	<i>Prevotella spp.</i> ² rho = -0.375, p = 0.065, n = 25	-											
	<i>Bacteroides barnesi</i> rho = -0.371, p < 0.05, n = 36	-											
	<i>Bulleidia spp.</i> ³ rho = -0.365, p = 0.0565, n = 28	+											
Группа 2	<i>Coprobacillus spp.</i> rho = -0.337, p < 0.05, n = 36	+											
МЗО	<i>Enterococcaceae</i> ⁵ rho = -0.857, p < 0.05, n = 7	+											
	<i>Blautia obeum</i> rho = -0.833, p = 0.01, n = 8	+											
	<i>Mitsuokella spp.</i> ⁶ rho = -0.734, p < 0.01, n = 12	-											
	<i>Leuconostocaceae</i> ⁷ rho = -0.621, p < 0.05, n = 13	+											
МНЗО	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> rho = -0.321, p < 0.05, n = 53	+											

Примечание: нет заливки – нет данных, что фермент характерен для данного таксона, серая заливка – фермент характерен для других видов (родов) данного рода (семейства), черная заливка – фермент характерен для данного таксона; I – ферменты синтеза бутирата, II – фермент синтеза ГАМК, III – ферменты, участвующие в деградации муцина; ¹ неидентифицированные таксоны семейства, не принадлежащие к роду *Gemella*; ² неидентифицированные виды рода, не принадлежащие к видам *P. copri* и *P. stercorea*; ³ неидентифицированные виды рода, не принадлежащие к виду *B. p-1630-c5*; ⁴ неидентифицированные таксоны семейства, не принадлежащие к родам *Enterococcus* и *Vagococcus*; ⁵ неидентифицированные виды рода, не принадлежащие к виду *M. multacida*; ⁶ неидентифицированные таксоны семейства, не принадлежащие к родам *Fructobacillus*, *Leuconostoc* и *Weissella*.

Также многие из выделенных таксонов, продуцирующих бутират и/или ГАМК, были способны к деградации муцина, что, по-видимому, усиливает влияние продуктов бактериального метаболизма на макроорганизм.

Кроме того, ряд таксонов был негативно ассоциирован с концентрацией BDNF (табл. 4). Максимальное количество таксономических единиц с отрицательными корреляциями “BDNF – таксон” наблюдалось у пациентов с МЗО, что также очевидно связано с большим микробным разнообразием. Важно отметить, что большая часть этих таксонов принадлежала к грамположительным бактериям, важным компонентом клеточной стенки которых являются тейхоевые кислоты. Было показано, что действие липотейхоевой кислоты стимулирует экспрессию рецепторов к белку системы комплемента C5a – C5aR и C5L2 в фибробластах [44]. В свою очередь стимуляция C5L2 приводит к торможению секреции BDNF фибробластами, что позволяет рассматривать липотейхоевую кислоту как негативный регулятор секреции BDNF [44]. Подобный эффект тейхоевых кислот может объяснить негативное влияние грамположительных бактерий на содержание BDNF сыворотки. Возможно, именно различия в спектре антибиотической активности в отношении грамположительной и грамотрицательной флоры позволяют объяснить

диаметрально противоположные результаты изменения концентрации BDNF при использовании противомикробных средств [13, 16]. Однако остается неясным, с чем связана негативная взаимосвязь ряда грамотрицательных таксонов на уровень сывороточного BDNF. Появление подобной связи подразумевает наличие дополнительных взаимодействий “кишечная микробиота – BDNF”.

Несмотря на более чем полувековую историю изучения NGF и открытия его многочисленных эффектов, нам относительно немного известно о регуляции синтеза этого нейротрофина. Усиление экспрессии NGF наблюдается в ответ на глутамат, ацетилхолин, под действием глюкокортикоидов и интерлейкина 1 [45, 46]. Так как в литературе мы не обнаружили описания влияния микробных метаболитов на синтез и секрецию NGF, мы проанализировали представленность муцин-деградирующих ферментов у выделенных таксонов (табл. 5, 6). Было обнаружено, что подобные ферменты характерны для многих из таксонов, как положительно, так и отрицательно коррелировавших с содержанием NGF. Позитивная взаимосвязь содержания представителей микробиома кишечника с концентрацией NGF объяснима тем, что увеличение кишечной проницаемости, опосредованное этими таксонами, способствует лучшему проникновению ряда патоген-ассоциированных молекулярных

Таблица 5. Таксоны, положительно коррелировавшие с сывороточной концентрацией NGF, и ферменты, характерные для данных таксонов

	Таксоны	Окраска по Граму	3.2.1.18	3.1.1.53	4.1.3.3	3.2.1.51	3.2.1.96	3.2.1.97	3.1.1.2
Группа 1	Не выявлено значимых таксонов ($\rho > 0.3$)								
Группа 2	<i>Fusobacterium spp.</i> $\rho = 0.469, p < 0.05, n = 20$	–							
МЗО	<i>Peptococcus spp.</i> $\rho = 0.821, p < 0.005, n = 10$	+							
	<i>Alcaligenaceae</i> ³ $\rho = 0.806, p < 0.005, n = 11$	–							
	<i>Lactobacillus ruminis</i> $\rho = 0.564, p = 0.005, n = 23$	+							
	<i>Ruminococcus spp.</i> ⁴ $\rho = 0.468, p < 0.05, n = 24$	+							
	<i>Odoribacter spp.</i> $\rho = 0.338, p = 0.05, n = 34$	–							
МНЗО	<i>Fusobacterium spp.</i> $\rho = 0.537, p = 0.06, n = 13$	–							
	<i>Slackia spp.</i> $\rho = 0.360, p < 0.05, n = 36$	+							

Примечание: нет заливки – нет данных, что фермент характерен для данного таксона, серая заливка – фермент характерен для других видов (родов) данного рода (семейства), черная заливка – фермент характерен для данного таксона; ¹ неидентифицированные таксоны семейства, не принадлежащие к родам *Achromobacter* и *Sutterella*; ² неидентифицированные виды рода, не принадлежащие к видам *R. bromii*, *R. callidus* и *R. flavefaciens*.

Таблица 6. Таксоны, отрицательно коррелировавшие с сывороточной концентрацией NGF, и ферменты, характерные для данных таксонов

	Таксоны	Окраска по Граму	3.2.1.18	3.1.1.53	4.1.3.3	3.2.1.51	3.2.1.96	3.2.1.97	3.1.1.2
Группа 1	<i>Mitsuokella spp.</i> ¹ $\rho = -0.606, p < 0.05, n = 11$	–							
Группа 2	Не выявлено значимых таксонов ($\rho > 0.3$)								
МЗО	<i>Mitsuokella spp.</i> ¹ $\rho = -0.632, p = 0.05, n = 10$	–							
	<i>Lactococcus spp.</i> ² $\rho = -0.524, p < 0.05, n = 19$	+							
	<i>Haemophilus parainfluenzae</i> $\rho = -0.456, p = 0.01, n = 30$	–							
	<i>Erysipelotrichaceae</i> ³ $\rho = -0.403, p < 0.05, n = 32$	+							
	<i>Megamonas spp.</i> $\rho = -0.398, p < 0.05, n = 29$	–							
	<i>Clostridiaceae</i> ⁴ $\rho = -0.396, p < 0.05, n = 35$	–							
МНЗО	<i>Streptococcus anginosus</i> $\rho = -0.730, p < 0.005, n = 16$	+							
	<i>Gemellaceae</i> ⁵ $\rho = -0.581, p < 0.05, n = 13$	+							
	<i>Alcaligenaceae</i> ⁶ $\rho = -0.528, p = 0.06, n = 13$	–							
	<i>ML615J-28</i> ⁷ $\rho = -0.404, p < 0.05, n = 37$	–							
	<i>Clostridiales</i> ⁸ $\rho = -0.347, p < 0.05, n = 51$	–							

Примечание: нет заливки – нет данных, что фермент характерен для данного таксона, серая заливка – фермент характерен для других видов (родов) данного рода (семейства), черная заливка – фермент характерен для данного таксона; ¹ неидентифицированные виды рода, не принадлежащие к виду *M. multacida*; ² неидентифицированные виды рода, не принадлежащие к виду *L. garvieae*; ³ неидентифицированные таксоны семейства, не принадлежащие к родам [*Eubacterium*], *Asteroleplasma*, *Bulleidia*, *Catenibacterium*, *cc_115*, *Clostridium*, *Coprobacillus*, *Holdemania*, *p-75-a5* и *RFN20*; ⁴ неидентифицированные таксоны семейства, не принадлежащие к родам *02d06*, *Caloramator*, *Clostridium*, *Sarcina* и *SMB53*; ⁵ неидентифицированные таксоны семейства, не принадлежащие к роду *Gemella*; ⁶ неидентифицированные таксоны семейства, не принадлежащие к родам *Achromobacter* и *Sutterella*; ⁷ неидентифицированные таксоны порядка; ⁸ неидентифицированные таксоны порядка, не принадлежащие к семействам [*Mogibacteriaceae*], [*Tissierellaceae*], *Christensenellaceae*, *Clostridiaceae*, *Dehalobacteriaceae*, *EtOH8*, *Eubacteriaceae*, *Lachnospiraceae*, *Peptococcaceae*, *Peptostreptococcaceae*, *Ruminococcaceae* и *Veillonellaceae*.

паттернов (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), в частности LPS. В свою очередь, PAMPs взаимодействуя с образ-распознающими рецепторами, такими как TLRs, потенцируют развитие воспаления и секрецию провоспалительных цитокинов, в том числе интерлейкина 1 β (IL1 β) [47].

Было показано, что IL1 β стимулирует секрецию NGF, что может объяснять положительную взаимосвязь между муцин-деградирующими бактериями и содержанием этого нейротрофина [48]. Однако выявление таксонов, отрицательно коррелирующих с содержанием NGF, подразумевает наличие

дополнительных взаимодействий “кишечный микробиом – NGF”.

Интересно, что у пациентов Группы 1 практически отсутствовали представители, содержание которых в микробиоме было значимо связано с содержанием NGF. По-видимому, это свидетельствует о том, что в условиях нормальной кишечной проницаемости, характерной для здоровых доноров, деятельность кишечного микробиома не является значительным фактором для формирования пула сывороточного NGF.

В общей группе пациентов с ожирением (Группа 2) состав кишечного микробиома также практически не был ассоциирован с уровнем NGF. Однако после разделения по метаболическому типу ожирения обнаружился целый спектр таксонов, коррелировавших с концентрацией этого нейротрофина. Причем эти таксоны были уникальны для каждой из подгрупп (МЗО и МНЗО). Появление более тесной связи “кишечный микробиом – NGF” при ожирении (любого метаболического типа) может быть следствием увеличения кишечной проницаемости, характерной для лиц с избыточной массой тела [49]. Возможно, именно подобная связь является одной из причин, почему сывороточная концентрация NGF значительно ниже при ожирении (табл. 2).

У пациентов с МЗО было выявлено значительное количество таксонов, как положительно, так и отрицательно коррелировавших с уровнем NGF. У пациентов с МНЗО, напротив, большая часть корреляций носила отрицательный характер и только *Fusobacterium spp.* и *Slackia spp.* позитивно ассоциировались с содержанием NGF. Учитывая преобладание негативного влияния на уровень NGF у пациентов с МНЗО, становится понятно, почему максимальное содержание данного нейротрофина наблюдалось у пациентов с низкими показателями микробного разнообразия (рис. 3). А поскольку для пациентов с МНЗО характерно более значительное увеличение кишечной проницаемости по сравнению с МЗО, появление тесной связи “NGF – разнообразие кишечного микробиома” не является удивительным [50].

ВЫВОДЫ

Содержание BDNF сыворотки тесно взаимосвязано с микробным сообществом кишечника вне зависимости от наличия или отсутствия ожирения. Большая часть выделенных таксонов, положительно коррелировавших с содержанием этого нейротрофина, были представлены бутират и/или ГАМК-продуцирующими микроорганизмами, способными к деградации муцина. Также был выделен спектр таксонов, негативно взаимосвязанных с уровнем BDNF, большая часть которых принадлежала к грамположительной флоре.

У здоровых доноров практически отсутствует взаимосвязь “кишечный микробиом – NGF”, тогда как у лиц с ожирением характерно появление подобной ассоциации. Данная взаимосвязь отмечена как для лиц с метаболически здоровым типом ожирения, так и для пациентов с метаболически нездоровым типом, что, по-видимому, является следствием усиления кишечной проницаемости.

Спектр таксонов, коррелирующих с содержанием нейротрофинов, зависит от наличия или отсутствия ожирения, а также его метаболического типа. Можно предполагать, что влияние микробиома кишечника на уровни BDNF и NGF определяется не столько отдельными таксонами и/или экспрессируемыми ими ферментами, сколько взаимодействием внутри микробного сообщества и проницаемостью кишечного барьера.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

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 II 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 НОРМ

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. Проведение научно-исследовательской работы одобрено ЛЭК ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (протокол № 186 от 26.06.2019) и ЛНЭК ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России (протокол № 20/19 от 12.12.2019). От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ВКЛАД АВТОРОВ

И.М.К. – обработка данных, написание манускрипта; А.М.Г. – идея работы, планирование эксперимента, редактирование манускрипта; С.А.Р. – идея работы, планирование эксперимента, редактирование манускрипта; Л.А.Г. – сбор данных, обработка данных;

Н.И.В. — планирование эксперимента, сбор данных, обработка данных; Т.В.Г. — планирование эксперимента, сбор данных, обработка данных; А.В.Л. — сбор данных, обработка данных; В.В.М. — идея работы, редактирование манускрипта; С.М.Ю — идея работы, редактирование манускрипта; А.В.Ш. — идея работы, планирование эксперимента, написание манускрипта, редактирование манускрипта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lee CJ, Sears CL, Maruthur N (2020) Gut microbiome and its role in obesity and insulin resistance. *Ann N Y Acad Sci* 1461: 37–52. <https://doi.org/10.1111/nyas.14107>
2. Singer-Englar T, Barlow G, Mathur R (2019) Obesity, diabetes, and the gut microbiome: an updated review. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 13: 3–15. <https://doi.org/10.1080/17474124.2019.1543023>
3. Котрова АД, Шишкин АН, Воробьева ЛС, Лавренова НС, Слепых ЛА, Лукашенко МВ, Ермоленко ЕИ (2021) Гендерная оценка микробиома кишечника у больных с ожирением. *Клин гастроэнтерол* 194: 91–99. [Kotrova AD, Shishkin AN, Vorobeva LS, Lavrenova NS, Blind LA, Lukashenko MV, Ermolenko EI (2021) Gender assessment of the intestinal microbiome in obese patients. *Clinical Gastroenterology* 194: 91–99. (In Russ)]. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-194-10-91-99>
4. Гапонов АМ, Волкова НИ, Ганенко ЛА, Набока ЮЛ, Маркелова МИ, Синягина МН, Харченко АМ, Хуснутдинова ДР, Румянцев СА, Тутельян АВ, Макаров ВВ, Юдин СМ, Шестопалов АВ (2021) Особенности микробиома толстой кишки у пациентов с ожирением при его различных фенотипах (оригинальная статья). *Журн микробиол, эпидемиол и иммунобиол* 98: 144–155. [Gaponov AM, Volkova NI, Ganenko LA, Naboka YUL, Markelova MI, Sinyagina MN, Kharchenko AM, Khusnutdinova DR, Romyantsev SA, Tutelyan AV, Makarov VB, Yudin SM, Shestopalov AV (2021) Features of the colon microbiome in obese patients with its various phenotypes (original article). *J Microbiol, Epidemiol Immunobiol* 98: 144–155. (In Russ)]. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-66>
5. Rosenbaum M, Knight R, Leibel RL (2015) The gut microbiota in human energy homeostasis and obesity. *Trends Endocrinol Metab* 26:493–501. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.07.002>
6. 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.
7. Blaak EE, Canfora EE, Theis S, Frost G, Groen AK, Mithieux G, Nauta A, Scott K, Stahl B, van Harsselaar J, van Tol R, Vaughan EE, Verbeke K (2020) Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. *Benef Microbes* 11: 411–455. <https://doi.org/10.3920/BM2020.0057>
8. Heiss CN, Olofsson LE (2019) The role of the gut microbiota in development, function and disorders of the central nervous system and the enteric nervous system. *J Neuroendocrinol* 31: 1–11. <https://doi.org/10.1111/jne.12684>
9. Sharon G, Sampson TR, Geschwind DH, Mazmanian SK (2016) The Central Nervous System and the Gut Microbiome. *Cell* 167: 915–932. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.027>
10. Grasset E, Puel A, Charpentier J, Collet X, Christensen JE, Tercé F, Burcelin R (2017) A Specific Gut Microbiota Dysbiosis of Type 2 Diabetic Mice Induces GLP-1 Resistance through an Enteric NO-Dependent and Gut-Brain Axis Mechanism. *Cell Metab* 25: 1075–1090.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.04.013>
11. Guillemot-Legrès O, Muccioli GG (2017) Obesity-Induced Neuroinflammation: Beyond the Hypothalamus. *Trends Neurosci* 40:237–253. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.02.005>
12. Iacobini C, Pugliese G, Blasetti Fantauzzi C, Federici M, Menini S (2019) Metabolically healthy versus metabolically unhealthy obesity. *Metabolism* 92: 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.009>
13. Bercik P, Denou E, Collins J, Jackson W, Lu J, Jury J, Deng Y, Blennerhassett P, Macri J, McCoy KD, Verdu EF, Collins SM (2011) The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice. *Gastroenterology* 141: 599–609, 609.e1–3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.04.052>
14. Schéle E, Grahnmemo L, Anesten F, Hallén A, Bäckhed F, Jansson J-O (2013) The gut microbiota reduces leptin sensitivity and the expression of the obesity-suppressing neuropeptides proglucagon (Gcg) and brain-derived neurotrophic factor (Bdnf) in the central nervous system. *Endocrinology* 154: 3643–3651. <https://doi.org/10.1210/en.2012-2151>
15. Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu XN, Kubo C, Koga Y (2004) Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol* 558: 263–275. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063388>
16. Desbonnet L, Clarke G, Traplin A, O'Sullivan O, Crispie F, Moloney RD, Cotter PD, Dinan TG, Cryan JF (2015) Gut microbiota depletion from early adolescence in mice: Implications for brain and behaviour. *Brain Behav Immun* 48: 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.04.004>
17. Fröhlich EE, Farzi A, Mayerhofer R, Reichmann F, Jačan A, Wagner B, Zinser E, Bordag N, Magnes C, Fröhlich E, Kashofer K, Gorkiewicz G, Holzer P (2016) Cognitive impairment by antibiotic-induced gut dysbiosis: Analysis of gut microbiota-brain communication. *Brain Behav Immun* 56: 140–155. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.02.020>
18. Cui M, Xiao H, Li Y, Dong J, Luo D, Li H, Feng G, Wang H, Fan S (2017) Total abdominal irradiation exposure impairs cognitive function involving miR-34a-5p/BDNF axis. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* 1863: 2333–2341. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.06.021>
19. Stilling RM, Ryan FJ, Hoban AE, Shanahan F, Clarke G, Claesson MJ, Dinan TG, Cryan JF (2015) Microbes & neurodevelopment – Absence of microbiota during early life increases activity-related transcriptional pathways in the amygdala. *Brain Behav Immun* 50: 209–220. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.07.009>
20. Savignac HM, Corona G, Mills H, Chen L, Spencer JPE, Tzortzis G, Burnet PWJ (2013) Prebiotic feeding elevates

- central brain derived neurotrophic factor, N-methyl-d-aspartate receptor subunits and d-serine. *Neurochem Int* 63: 756–764.
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.10.006>
21. *O'Sullivan E, Barrett E, Grenham S, Fitzgerald P, Stanton C, Ross RP, Quigley EMM, Cryan JF, Dinan TG* (2011) BDNF expression in the hippocampus of maternally separated rats: Does *Bifidobacterium breve* 6330 alter BDNF levels? *Benef Microbes* 2: 199–207.
<https://doi.org/10.3920/BM2011.0015>
 22. *Sun J, Wang F, Hu X, Yang C, Xu H, Yao Y, Liu J* (2018) *Clostridium butyricum* Attenuates Chronic Unpredictable Mild Stress-Induced Depressive-Like Behavior in Mice via the Gut-Brain Axis. *J Agric Food Chem* 66: 8415–8421.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02462>
 23. *Borrelli L, Aceto S, Agnisola C, De Paolo S, Dipineto L, Stilling RM, Dinan TG, Cryan JF, Menna LF, Fioretti A* (2016) Probiotic modulation of the microbiota-gut-brain axis and behaviour in zebrafish. *Sci Rep* 6: 1–9.
<https://doi.org/10.1038/srep30046>
 24. *Cuomo M, Borrelli L, Monica R Della, Coretti L, De Riso G, Di Durazzo LDL, Fioretti A, Lembo F, Dinan TG, Cryan JF, Cocozza S, Chiariotti L* (2021) DNA methylation profiles of *Tph1a* and BDNF in gut and brain of *L. Rhamnosus*-treated Zebrafish. *Biomolecules* 11: 1–13.
<https://doi.org/10.3390/biom11020142>
 25. *Hwang YH, Park S, Paik JW, Chae SW, Kim DH, Jeong DG, Ha E, Kim M, Hong G, Park SH, Jung SJ, Lee SM, Na KH, Kim J, Chung YC* (2019) Efficacy and safety of *Lactobacillus plantarum* C29-fermented soybean (DW2009) in individuals with mild cognitive impairment: A 12-week, multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Nutrients* 11.
<https://doi.org/10.3390/nu11020305>
 26. *Li C, Cai YY, Yan ZX* (2018) Brain-derived neurotrophic factor preserves intestinal mucosal barrier function and alters gut microbiota in mice. *Kaohsiung J Med Sci* 34: 134–141.
<https://doi.org/10.1016/j.kjms.2017.11.002>
 27. *Steinkamp M, Schulte N, Spaniol U, Pflüger C, Hartmann C, Kirsch J, von Boyen GB* (2012) Brain derived neurotrophic factor inhibits apoptosis in enteric glia during gut inflammation. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res* 18: BR117–122.
<https://doi.org/10.12659/msm.882612>
 28. *Ma D, Forsythe P, Bienenstock J* (2004) Live *Lactobacillus rhamnosus* [corrected] is essential for the inhibitory effect on tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 expression. *Infect Immun* 72: 5308–5314.
<https://doi.org/10.1128/IAI.72.9.5308-5314.2004>
 29. *Ju IG, Hong SM, Yun S-W, Huh E, Kim D-H, Kim SY, Oh MS* (2021) CCL01, a novel formulation composed of *Cuscuta* seeds and *Lactobacillus paracasei* NK112, enhances memory function via nerve growth factor-mediated neurogenesis. *Food Funct* 12: 10690–10699.
<https://doi.org/10.1039/d1fo01403j>
 30. *Rahimlou M, Hosseini SA, Majdinasab N, Haghhighizadeh MH, Husain D* (2022) Effects of long-term administration of Multi-Strain Probiotic on circulating levels of BDNF, NGF, IL-6 and mental health in patients with multiple sclerosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutr Neurosci* 25: 411–422.
<https://doi.org/10.1080/1028415X.2020.1758887>
 31. *Aygun H, Akin AT, Kızılaslan N, Sumbul O, Karabulut D* (2022) Electrophysiological, histopathological and biochemical evaluation of the protective effect of probiotic supplementation against PTZ-induced seizures in rats. *Eur J Neurol*.
<https://doi.org/10.1111/ene.15359>
 32. *Abenavoli L, Scarpellini E, Colica C, Boccuto L, Salehi B, Sharifi-rad J, Aiello V, Romano B, Lorenzo A De, Izzo AA* (2019) Gut Microbiota and Obesity: A Role for Probiotics. *Nutrients* 11: 2690.
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/nu11112690>
 33. Expert panel on detection evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (2001) Executive summary of the third report (NCEP) -adult treatment panel III. *J Am Med Assoc* 285: 2486–2497.
 34. *Wu X, Chen PS, Dallas S, Wilson B, Block ML, Wang CC, Kinyamu H, Lu N, Gao X, Leng Y, Chuang DM, Zhang W, Lu RB, Hong JS* (2008) Histone deacetylase inhibitors up-regulate astrocyte GDNF and BDNF gene transcription and protect dopaminergic neurons. *Int J Neuropsychopharmacol* 11: 1123–1134.
<https://doi.org/10.1017/S1461145708009024>
 35. *Spichak S, Donoso F, Moloney GM, Gunnigle E, Brown JM, Codagnone M, Dinan TG, Cryan JF* (2021) Microbially-derived short-chain fatty acids impact astrocyte gene expression in a sex-specific manner. *Brain, Behav Immun – Heal* 16: 100318.
<https://doi.org/10.1016/j.bbih.2021.100318>
 36. *Fukuchi M, Kirikoshi Y, Mori A, Eda R, Ihara D, Takasaki I, Tabuchi A, Tsuda M* (2014) Excitatory GABA induces BDNF transcription via CRTCL1 and phosphorylated CREB-related pathways in immature cortical cells. *J Neurochem* 131: 134–146.
<https://doi.org/10.1111/jnc.12801>
 37. *Strandwitz P, Kim KH, Terekhova D, Liu JK, Sharma A, Levering J, McDonald D, Dietrich D, Ramadhar TR, Lekbua A, Mroue N, Liston C, Stewart EJ, Dubin MJ, Zengler K, Knight R, Gilbert JA, Clardy J, Lewis K* (2019) GABA Modulating Bacteria of the Human Gut Microbiota. *Nat Microbiol* 4: 396–403.
<https://doi.org/10.1038/s41564-018-0307-3>.GABA
 38. *Allam-Ndoul B, Castonguay-Paradis S, Veilleux A* (2020) Gut microbiota and intestinal trans-epithelial permeability. *Int J Mol Sci* 21: 1–14.
<https://doi.org/10.3390/ijms21176402>
 39. Enzyme Database – BRENDA. <https://www.brenda-enzymes.org/index.php>. Accessed 26 Dec 2021
 40. *Yogeswara IBA, Maneerat S, Haltrich D* (2020) Glutamate decarboxylase from lactic acid bacteria—a key enzyme in Gaba synthesis. *Microorganisms* 8: 1–24.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8121923>
 41. *Louis P, Flint HJ* (2017) Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Env Microbiol* 19: 29–41.
<https://doi.org/10.1111/1462-2920>
 42. *Corfield AP, Wagner SA, Clamp JR, Kriaris MS, Hoskins LC* (1992) Mucin degradation in the human colon: production of sialidase, sialate O-acetyltransferase, N-acetylneuraminidase, arylesterase, and glycosulfatase activities by strains of fecal bacteria. *Infect Immun*

- 60:3971–3978.
<https://doi.org/10.1128/iai.60.10.3971-3978.1992>
43. Wright DP, Rosendale DI, Robertson AM (2000) Prevertebrale enzymes involved in mucin oligosaccharide degradation and evidence for a small operon of genes expressed during growth on mucin. *FEMS Microbiol Lett* 190: 73–79.
[https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(00\)00324-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(00)00324-4)
44. Chmielewsky F, About I, Chung SH (2017) C5L2 Receptor Represses Brain-Derived Neurotrophic Factor Secretion in Lipoteichoic Acid-Stimulated Pulp Fibroblasts. *J Dent Res* 96: 92–99.
<https://doi.org/10.1177/0022034516673832>
45. West AE, Pruunsild P, Timmusk T (2014) Neurotrophic Factors: Transcription and Translation *Handb Exp Pharmacol* 220:67–100.
46. Murata K, Sawaji Y, Alimasi W, Suzuki H, Endo K, Tanaka H, Yorifuji M, Kosaka T, Shishido T, Yamamoto K (2016) PGE1 Attenuates IL-1 β -induced NGF Expression in Human Intervertebral Disc Cells. *Spine (Phila Pa 1976)* 41: E710–E716.
<https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000001379>
47. Weigt SS, Palchevskiy V, Belperio JA (2017) Inflammasomes and IL-1 biology in the pathogenesis of allograft dysfunction. *J Clin Invest* 127: 2022–2029.
<https://doi.org/10.1172/JCI93537>
48. Nagura N, Uchida K, Kenmoku T, Inoue G, Nakawaki M, Miyagi M, Takaso M (2019) IL-1 β mediates NGF and COX-2 expression through transforming growth factor-activating kinase 1 in subacromial bursa cells derived from rotator cuff tear patients. *J Orthop Sci* 24: 925–929.
<https://doi.org/10.1016/j.jos.2019.02.006>
49. Cox AJ, West NP, Cripps AW (2015) Obesity, inflammation, and the gut microbiota. *Lancet Diabetes Endocrinol* 3: 207–215.
[https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(14\)70134-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(14)70134-2)
50. Rial SA, Karelis AD, Bergeron KF, Mounier C (2016) Gut microbiota and metabolic health: The potential beneficial effects of a medium chain triglyceride diet in obese individuals. *Nutrients* 8: 1–19.
<https://doi.org/10.3390/nu8050281>

Relationship between Neutrophins and Gut Microbiome in Various Metabolic Types of Obesity

I. M. Kolesnikova^{a, #}, A. M. Gaponov^{b, c}, S. A. Roumiantsev^{a, b},
 L. A. Ganenko^d, N. I. Volkova^c, T. V. Grigoryeva^e, A. V. Laikov^e,
 V. V. Makarov^f, S. M. Yudin^f, and A. V. Shestopalov^{a, b, g}

^a Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

^b Center for Digital and Translational Biomedicine, Center for Molecular Health, Moscow, Russia

^c Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

^d V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russia

^e Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

^f Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks, Moscow, Russia

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

[#] e-mail: ir.max.kolesnikova@gmail.com

Obesity is associated with a gut microbiome imbalance and the risk of neurological complications, while the risk of complications is determined by the metabolic type of obesity. The study aimed to explore the effect of intestinal microbiome taxa on the content of neurotrophins BDNF and NGF in different types of obesity. The study included 130 healthy non-obese donors and 104 obese patients. Depending on the metabolic type of obesity, patients were divided into subgroups with metabolically healthy obesity (MHO, $n = 40$) and metabolically unhealthy obesity (MUHO, $n = 55$). Serum neurotrophin concentrations were measured and the gut microbiome taxonomic composition was determined by the sequencing of the variable region of the 16S rRNA gene. The taxa positively correlated with concentration of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) were mainly represented by butyrate- and/or GABA-producing microorganisms able to degrade mucin; in healthy donors, the *S24-7* family was the most widespread taxon among these microorganisms. In MHO, the taxa positively correlated with BDNF included *Bacteroides spp.*, *Rikenellaceae*, *Oscillospira spp.*, [*Barnesiellaceae*], *B. ovatus* and *Anaerostipes spp.*, while in MUHO, there were *Bifidobacterium spp.* and *Coprococcus spp.* The taxa negatively correlated with BDNF were also revealed, most of which in MUHO patients belonged to the Gram-positive bacteria. Nerve growth factor (NGF) concentration was associated with the gut microbiome in MUHO, but not in MHO donors. A positive relationship with NGF was found for *Odoribacter spp.* in MHO patients and *Slackia spp.* in MUHO patients. *H. parainfluenzae*, *Erysipelotrichaceae*, *Megamonas spp.* and *Clostridiaceae* showed a negative correlation with NGF levels in MHO. In MUHO, a similar effect was shown for *ML615J-287* and *Clostridiales*. Thus, obesity, regardless of the metabolic type, is associated with the appearance of the gut microbiome–NGF relationship, which is not typical for healthy patients and may be a consequence of increased intestinal permeability. The spectrum of taxa that correlated with BDNF levels was unique for each patient group, suggesting a significant effect of interspecies microbial interaction on the neurotrophin levels.

Keywords: gut microbiome, gut microbiota, neurotrophins, nerve growth factor, NGF, brain-derived neurotrophic factor, BDNF, obesity, metabolically healthy obesity, metabolically unhealthy obesity