

ПРОГНОЗИРУЕМАЯ ПРЕДСТАВЛЕННОСТЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПУТЕЙ СИНТЕЗА ВИТАМИНОВ И КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ПРИ ОЖИРЕНИИ У ВЗРОСЛЫХ

© 2023 г. А. В. Шестопапов^{1,2,3,4}, Л. А. Ганенко^{5,*}, И. М. Колесникова^{1,2}, Т. В. Григорьева⁶, И. Ю. Васильев⁶, Ю. Л. Набока⁵, Н. И. Волкова⁵, О. В. Борисенко¹, С. А. Румянцев^{1,2,4}

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

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

³Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии
и иммунологии имени Дмитрия Рогачева Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Москва, Россия

⁴Центр Молекулярного Здоровья, Москва, Россия

⁵Ростовский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Ростов-на-Дону, Россия

⁶Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*e-mail: ganenko.lilia@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.02.2023 г.

После доработки 30.06.2023 г.

Принята к публикации 27.07.2023 г.

Кишечная микробиота и ее метаболиты, такие как короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) и витамины, участвуют в поддержании энергетического гомеостаза, что актуально в контексте ожирения. Целью работы стало проведение скрининга прогнозируемой представленности путей биосинтеза витаминов и КЦЖК на основании данных метагеномного секвенирования микробиоты больных с метаболически здоровым ожирением (МЗО) и метаболически нездоровым ожирением (МНЗО). Все участники исследования ($n = 263$) были разделены на две группы: контрольная группа ($n = 130$) и пациенты с ожирением ($n = 133$), которая в свою очередь была разделена по метаболическому фенотипу ожирения на подгруппы с МЗО ($n = 38$) и МНЗО, ($n = 55$). У пациентов проводилась оценка представленности метаболических путей образования витаминов и КЦЖК в фекалиях (PICRUSt2). У пациентов с ожирением наблюдалось увеличение представленности путей синтеза витаминов В1, В2, В5, В6, В7, В9 и витамина К, а также угнетение основных путей синтеза витамина В12. При этом характер изменений определялся метаболическим фенотипом ожирения. МЗО сопровождалось развитием дисбаланса в путях синтеза В1 и увеличенной представленностью путей образования витамина К. Тогда как МНЗО приводило к большим метаболическим возможностям микробиоты продуцировать витамины В1, В2, В5, В6, В7, В9 и К, а также к депрессии В12-синтезирующих путей. Кроме того, при МНЗО отмечалось увеличение представленности путей синтеза таких КЦЖК, как ацетат, пропионат и бутират, что не было характерно для лиц с МЗО. В целом изменение представленности метаболических путей у кишечной микрофлоры на фоне ожирения является результатом “селекции” микроорганизмов под действием специфических факторов, более выраженных при МНЗО. Таким образом, дисбаланс в путях синтеза витаминов и короткоцепочечных жирных кислот кишечной флоры отражает нарушение метаболического симбиоза в рамках суперорганизма (“микробиота-макроорганизм”).

Ключевые слова: кишечный микробиом, ожирение, PICRUSt2, метаболически здоровое ожирение, метаболически нездоровое ожирение, короткоцепочечные жирные кислоты, витамины

DOI: 10.31857/S0044452923050078, **EDN:** KPNYNI

ВВЕДЕНИЕ

Осложнения, ассоциированные с ожирением, такие как сахарный диабет II типа (СДII) и сердечно-сосудистые заболевания являются одной из ведущих причин смертности во всем мире [1]. Сообщается, что в настоящее время примерно 2.1 мил-

лиарда (30%) человек в мире страдают ожирением [2]. Тренд на снижение этой доли отсутствует, и по прогнозам на 2030 г., проблема охватит до 50% взрослого населения [3]. Из потенциальных этиологических факторов ни один не может полностью объяснить столь стремительное распространение

ожирения во всем мире [4]. Помимо этого, оказалось, что ожирение является гетерогенным заболеванием, включающим в себя несколько фенотипов в зависимости от наличия метаболических нарушений, а именно, выделяют фенотип метаболически здорового ожирения (МЗО) и метаболически нездорового ожирения (МНЗО) [5].

Структура кишечной микробиоты у пациентов с ожирением отличается от таковой у здоровых лиц [4]. По данным литературы, ожирение связано с обилием *Firmicutes* и *Bacteroidetes* и соотношением *Firmicutes/Bacteroidetes*, но их изменения противоречивы в различных исследованиях [6]. Проведенное ранее нами исследование выявило как количественные, так и качественные изменения в микробиоме кишечника не только у пациентов с ожирением по сравнению со здоровыми лицами, но и между пациентами с разными фенотипами ожирения [7]. В частности, при сравнении количественных показателей изучаемых филоотипов микроорганизмов толстой кишки у здоровых лиц и пациентов с ожирением были выявлены статистически значимые отличия для 7 филоотипов: повышение *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Cyanobacteria* и снижение — *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *TM7 (Saccharibacteria)* и *Fusobacteria*. В то же время в группе пациентов с ожирением достоверно чаще ($p < 0.05$) верифицировали *Tenericutes*, *Planctomycetes* и *Lentisphaerae*. При МЗО встречаемость филоотипа *Lentisphaerae* была статистически значимо выше при сравнении с МНЗО. Количество *Bacteroidetes* было выше, а *Firmicutes* ниже при МНЗО, по сравнению с МЗО. В настоящее время микробиота кишечника рассматривается в качестве самостоятельного органа с собственным метаболизмом, который не только потребляет питательные вещества, но и производит их, являясь важной или неотъемлемой частью таких процессов, как энергетический обмен, модуляция гомеостаза глюкозы и липидов, а также синтез витаминов [8]. Связь между ожирением и микробиомом кишечника является двунаправленной, поскольку изменения микробного сообщества тесно связаны с развитием ожирения, а роль самого заболевания может рассматриваться и как их причина, и как следствие [9].

Взаимодействие микроорганизмов с макроорганизмом может проявляться в различных формах симбиоза, включая мутуализм, комменсализм и паразитизм. Симбиотические взаимодействия позволяют макроорганизму и/или бактериям использовать недоступные питательные вещества [9, 10]. Наиболее яркой иллюстрацией “метаболического мутуализма” является витамин-синтетическая функция микроорганизмов.

Недавние исследования показали, что кишечная микробиота и ее метаболиты, такие как короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) и витамины могут участвовать в развитии ожирения и метаболиче-

ских нарушений [11]. В контексте изучения проблем ожирения наиболее интересны прототрофные микробы, синтезирующие витамин К и витамины группы В [9], которые могут иметь отношение к возникновению чувства голода, стимулировать чрезмерное потребление энергии, а в случае с ниацином (витамин В3) — провоцировать непереносимость глюкозы, резистентность к инсулину и повреждение печени [12].

Особая роль метаболической функции симбиотической микробиоты в поддержании гомеостаза макроорганизма принадлежит КЦЖК. Они являются продуктом бактериальной ферментации сложных полисахаридов. Более 95% КЦЖК, вырабатываемых в кишечнике, представляют собой ацетат, пропионат и бутират [13]. Ацетат способен проникать через гематоэнцефалический барьер и участвует в подавлении аппетита [14], принимает участие в липогенезе и является важным энергетическим субстратом для сердца, мозга, почек, мышц и других периферических тканей. Пропионат является второй КЦЖК по распространенности после ацетата, подобно ему также влияет на чувство голода и насыщение, возможно, повышая уровень лептина, что приводит к снижению потребления энергии [14]. Помимо этого, пропионат в гепатоцитах участвует в глюконеогенезе и липидном обмене. КЦЖК, в первую очередь бутират, улучшает кишечный барьер, предотвращая транслокацию бактерий и липополисахаридов из просвета кишечника в кровяное русло путем стимулирования синтеза муцина, секретиции слизи, а также индукции у колоноцитов и фагоцитов продукции антимикробных пептидов, которые препятствуют прикреплению и инвазии бактерий через слизистую оболочку кишечника. Также установлено, что бутират обратно снижает проницаемость слизистой оболочки кишки за счет активации в клетках АМФ-протеинкиназы, сопровождающейся усилением связи между колоноцитами. Бутират меньше всего всасывается из кишечника, он действует в основном локально и является основным энергетическим субстратом для колоноцитов [13, 14].

Таким образом, метаболизм микробиоты кишечника тесно вплетается в метаболические пути человека и имеет возможность непосредственно влиять на общий баланс энергии, витаминов и питательных веществ, а также на саму способность к их усвоению посредством регуляции проницаемости мукозального барьера кишечника [8, 14].

Для оценки микробиома рекомендуется использовать настолько большое число разнообразных методов, насколько это представляется возможным для создания интегральной модели, в которой каждый показатель имеет вес. Тем не менее центральное место в исследованиях такого рода всегда занимают данные о последовательностях ДНК микроорганизмов, поскольку именно по ним

проще охарактеризовать состояние микробного сообщества на уровне представленности отдельных таксонов. В то же время доля представленности каждого конкретного таксона представляет собой интерес не только для определения экологических характеристик микробиома. Современное положение дел в отрасли метагеномных исследований таково, что за каждым известным таксоном, как правило, закрепляется какой-либо метаболический профиль, который представляет собой совокупность информации о метаболических путях таксонов, полученной как прямо, на основании результатов мультиомиксных исследований, так и косвенно, путем интерполяции таких результатов для филогенетически близких таксонов. Эти данные можно использовать для реконструкции той части метаболического профиля всего микробиома, в которые данный таксон вносит свой вклад, неизбежно растущий по мере увеличения его представленности в таком микробиоме и наоборот [15]. Таким образом, целью настоящей работы стал скрининг прогнозируемой представленности путей биосинтеза витаминов и КЦЖК на основании данных метагеномного секвенирования микробиоты больных с такими фенотипами ожирения, как МЗО и МНЗО.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено одномоментное исследование в период 2018–2022 гг. на базе ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, ООО “Центр молекулярного здоровья” и ФГАОУ ВО “Казанский (Приволжский) федеральный университет”, в которое были включены 263 участника. Критериями включения в исследование были: возраст старше 18 лет, отсутствие приема антибиотиков, пробиотических и пребиотических препаратов в течение 6 мес до включения в исследование и подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Критериями исключения участников из исследования были: тяжелые соматические заболевания (хроническая почечная недостаточность, хроническая печеночная недостаточность, хроническая сердечная недостаточность), заболевания желудочно-кишечного тракта, алкоголизм, беременность, депрессия, а также любое заболевание в острой форме.

Все участники исследования были разделены на две исследуемые группы. Группа 1 ($n = 130$, контрольная группа) была сформирована из здоровых доноров с индексом массы тела (ИМТ) от 18.5 до 24.9 кг/м², без признаков метаболических нарушений и артериальной гипертензии. Группу 2 составили пациенты с ожирением ($n = 133$), имеющие ИМТ более 30 кг/м² и окружность талии более 102 см у мужчин и более 88 см у женщин. Пациенты группы 2 были разделены в зависимости от метаболического фенотипа ожирения в соответствии с

критериями NCEP-АТР III на подгруппы с метаболически здоровым ожирением (МЗО) и с метаболически нездоровым ожирением (МНЗО) [16]. Ожирение считалось метаболически нездоровым, если для пациента были характерны два и более критериев: 1) триглицериды сыворотки (≥ 1.7 ммоль/л); 2) холестерол ЛПВП ($\sigma < 1.03$ ммоль/л; $\varphi < 1.29$ ммоль/л); 3) артериальное давление ($\text{sys} \geq 130$ мм рт.ст.; $\text{dia} \geq 85$ мм рт.ст.); 4) глюкоза натощак (≥ 16.1 ммоль/л). В подгруппу пациентов с МЗО вошли 38 человек, тогда как подгруппу с МНЗО составили 55 пациентов. Для 40 пациентов не было получено убедительных данных для включения их в одну из подгрупп, поэтому их результаты не были включены в анализ метаболических возможностей кишечной микробиоты при различных метаболических фенотипах ожирения. Сбор образцов фекалий участников всех обследуемых групп проводился согласно справочному пособию под редакцией В.В. Меньшикова [17]. С целью минимизации влияния климатических условий, характера питания и этнических факторов на кишечный микробиом, в исследование были включены пациенты, проживающие на одной территории (Ростовская область и г. Ростов-на-Дону) в летнее-осенний период. Доставленные в медицинское учреждение образцы фекалий были помещены в морозильную камеру для длительного хранения. Длительное (до 30 сут) хранение осуществлялось при температуре не выше -18°C для транспортировки образцов в лабораторию. Из образцов фекалий проводили выделение бактериальной ДНК с использованием наборов QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN GmbH, Германия). Полученную бактериальную ДНК амплифицировали с использованием праймеров, специфичных к варибельному участку $v3-v4$ гена 16S рРНК. После очистки смеси парамагнитными частицами AMPure XP (Beckman Coulter, США) ПЦР-продукты индексировали с помощью использования индекс-праймеров Nextera XT Index Kit (Illumina, Inc., США). Повторно выполняли очистку смеси парамагнитными частицами и сформированные библиотеки секвенировали на платформе MiSeq (Illumina, Inc., США) согласно протоколу производителя. Полученные риды были проанализированы программой QIIME2 v.2020.8 [18] с использованием референсной базы данных последовательностей генов рРНК SILVA v.138 [19] с порогом кластеризации близких последовательностей 97%. Для предсказания метаболических возможностей кишечной микробиоты был использован PICRUSt2 [15], позволивший оценить представленность генов ферментов и метаболических путей, нормализованную на количество копий ридов 16S рРНК. Для адекватного сравнения метаболических возможностей кишечной микробиоты у исследуемых групп пациентов был использован внутренний контроль, величина представленности фермента EC: 2.7.7.7 ДНК-полимеразы, позволив-

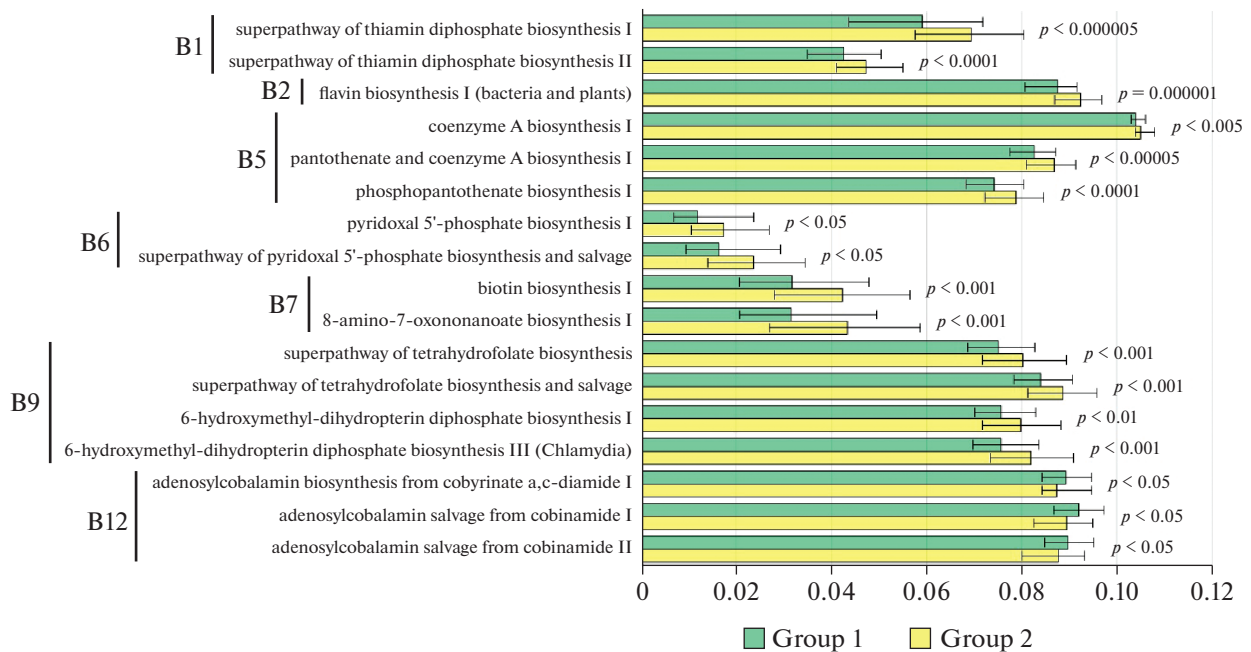


Рис. 1. Изменения прогнозируемой представленности путей синтеза водорастворимых витаминов кишечной микробиоты при ожирении. *Примечание:* здесь и далее, столбцы диаграмм построены на основании медиан, а “усы” указывают на 25 и 75 перцентили.

ший унифицировать полученные результаты. Подобный выбор был обусловлен несколькими причинами. Во-первых, предсказание наличия данного фермента было характерно для кишечной микробиоты каждого участника исследования. Во-вторых, величина представленности ДНК-полимеразы была значительно выше представленности других ферментов. Кроме того, все микроорганизмы экспрессируют ДНК-полимеразу как основной фермент репликации ДНК. Таким образом, при сравнении метаболических возможностей были использованы значения отношений представленности отдельных метаболических путей к представленности ДНК-полимеразы, рассчитанные для каждого пациента.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения MedCalc v. 20.210 (MedCalc Software Ltd, Бельгия). Все полученные массивы данных были проверены на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро–Уилка. Ввиду преобладания ненормального распределения данные были представлены в качестве медианы [25 перцентиль – 75 перцентиль]. В сравнительный анализ были включены метаболические пути, характерные для 25 и более процентов пациентов, хотя бы одной из групп. Сравнительный анализ проводили с использованием непараметрического критерия Крускала–Уоллиса. Кроме того, в случае необходимости сравнения частоты представленности метаболических путей использовался Хи-квадрат анализ.

Выявленные различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ прогнозируемой представленности метаболических путей синтеза водорастворимых витаминов выявил ряд изменений в микробиоме у больных с ожирением (рис. 1). У пациентов Группы 2 наблюдалось увеличение представленности путей синтеза и/или сохранения витаминов B1, B2, B5, B6, B7 и B9, а также их активных форм. Кроме того, при ожирении наблюдалось увеличение представленности ферментов минорного пути синтеза активной формы B3 – биосинтеза NAD II (из триптофана) (0.0 [0.0–0.00006] против 0.0 [0.000–0.000007] у Группы 1, $p < 0.05$). Следует отметить, что подобные различия были связаны с большей частотой представленности данного метаболического пути в кишечном микробиоме Группы 2 – 42.9%, тогда как в Группе 1 такая частота составила только 26.2% ($p < 0.005$).

Вместе с тем для пациентов Группы 2 было отмечено угнетение основных путей синтеза B12 (рис. 1). При этом следует отметить, что при ожирении наблюдалось усиление минорных путей синтеза B12 и его активных форм: биосинтеза аденозилкобаламина II (позднее включение кобальта) (0.0 [0.0–0.00008] против 0.0 [0.0–0.00003] у Группы 1, $p < 0.01$) и биосинтеза а,с-диамида коб(II)ирината II (позднее включение кобальта)

(0.0 [0.0–0.00005] против 0.0 [0.0–0.00002] у Группы 1, $p < 0.01$). Эти отличия также были обусловлены большей частотой представленности данных метаболических путей у пациентов Группы 2 – 42.1% против 26.9% у Группы 1 ($p < 0.05$). Таким образом, в микробном сообществе кишечника происходит не только снижение синтеза собственного витамина В12, но и повышение использования пищевого. То есть микробиота вступает в потенциальную конкуренцию за витамин В12 с макроорганизмом. Такой переход от одного метаболического профиля микробиоты к другому следует объяснить как смещение ее видового баланса с условно нормальными уровнями представленности активных продуцентов витамина В12 в сторону, где преобладает микрофлора, синтезирующая его в меньших количествах, либо вовсе поглощающая его из пищи. Это может объяснить неоднократно описываемый дефицит данного витамина, наблюдаемый при ожирении [8]. Также имеются данные, что уровень витамина В12 в сыворотке крови повышается при снижении веса, на фоне низкокалорийной диеты [20].

В то же время обнаружилась связь между такими изменениями метаболического профиля микробиоты с метаболическим фенотипом ожирения (рис. 2). МЗО приводило к развитию дисбаланса в синтезе и сохранении витамина В1: на фоне снижения метаболических способностей сохранения тиаминина II и синтеза тиазола (*E. coli*) у таких пациентов наблюдалось увеличение представленности суперпутей синтеза тиаминдифосфата I и II. МНЗО сопровождалось более выраженными изменениями путей синтеза витаминов. Для таких пациентов были характерны большие метаболические возможности кишечной микробиоты к образованию витаминов В1, В2, В5, В6, В7 и В9. Также и снижение возможности синтеза В12 наблюдалось только при МНЗО, что согласуется с данными других авторов и может объяснить предиктивную значимость гиповитаминоза В12 в развитии СДII [21].

При анализе влияния ожирения на метаболические возможности синтеза жирорастворимых витаминов мы обнаружили у Группы 2 увеличение представленности ферментов путей биосинтеза витамина К (рис. 3). При этом ожирение не затронуло метаболический потенциал микробиоты продуцировать другие жирорастворимые витамины: А, D и E.

В отличие от путей синтеза водорастворимых витаминов, увеличение представленности путей синтеза витамина К было характерно как для пациентов с МНЗО, так и для лиц с МЗО (рис. 4).

Таким образом, в целом микробиота больных с ожирением обладает потенциально значительно большими возможностями витамин-синтетических процессов и снабжением организма витаминами, а соответственно и активацией анаболических процессов, в том числе липогенеза и адипогенеза.

Большой интерес представляют пути образования КЦЖК, так как последние являются не только основным энергетическим субстратом для колоноцитов и регулятором проницаемости мукозального барьера кишечника, но и энергетическим субстратом для клеток печени, миокарда и других тканей [13]. Основными КЦЖК являются ацетат (С2), пропионат (С3) и бутират (С4) [14]. Для пациентов с ожирением был характерен ряд изменений в метаболических возможностях синтеза КЦЖК (рис. 5). По данным проведенного исследования, у пациентов с ожирением отмечалось перераспределение в метаболическом профиле микробиоты путей биосинтеза ацетата из пирувата к альтернативным путям производства С2 в цикле трикарбоновых кислот VII. Также наблюдался дисбаланс в путях образования бутирата: на фоне снижения производства С4 из ацетил-КоА у пациентов с ожирением была отмечена большая представленность ферментов образования бутирата из пирувата и деградации 4-аминобутирата. Кроме того, ожирение сопровождалось увеличением метаболических возможностей образования пропионата.

Разделение пациентов Группы 1 по метаболическому фенотипу позволило выявить, что изменения в прогностической представленности путей синтеза ацетата, пропионата и бутирата характерны только для пациентов с МНЗО, но не для лиц с МЗО (рис. 6).

Таким образом, микробиом больных с ожирением, особенно с МНЗО, характеризуется дисбалансом в метаболизме короткоцепочечных жирных кислот, что может отражаться на состоянии мукозального барьера кишечника.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последнее время возник растущий интерес к роли витаминов в контексте ожирения, поскольку многие исследования показали, что ожирение и ассоциированные с ним метаболические нарушения связаны с дефицитом или неоптимальными концентрациями ряда витаминов в сыворотке крови [22]. Кишечная микрофлора представляет собой “метаболический орган”, одной из функций которого в рамках мутуалистических отношений с организмом человека является синтез витаминов.

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о росте представленности путей биосинтеза витаминов В1, В2, В5, В6, В7, фолиевой кислоты и снижении – витамина В12 в метаболических профилях микробиоты пациентов, страдающих ожирением, причем с более ярко выраженным характером для фенотипа МНЗО. Ранее Duan и соавт. выявили большую представленность в микробиоме кишечника путей синтеза фолиевой кислоты, В2, В5 и В6 у больных с ожирением [6], однако полученные нами данные свидетельствуют

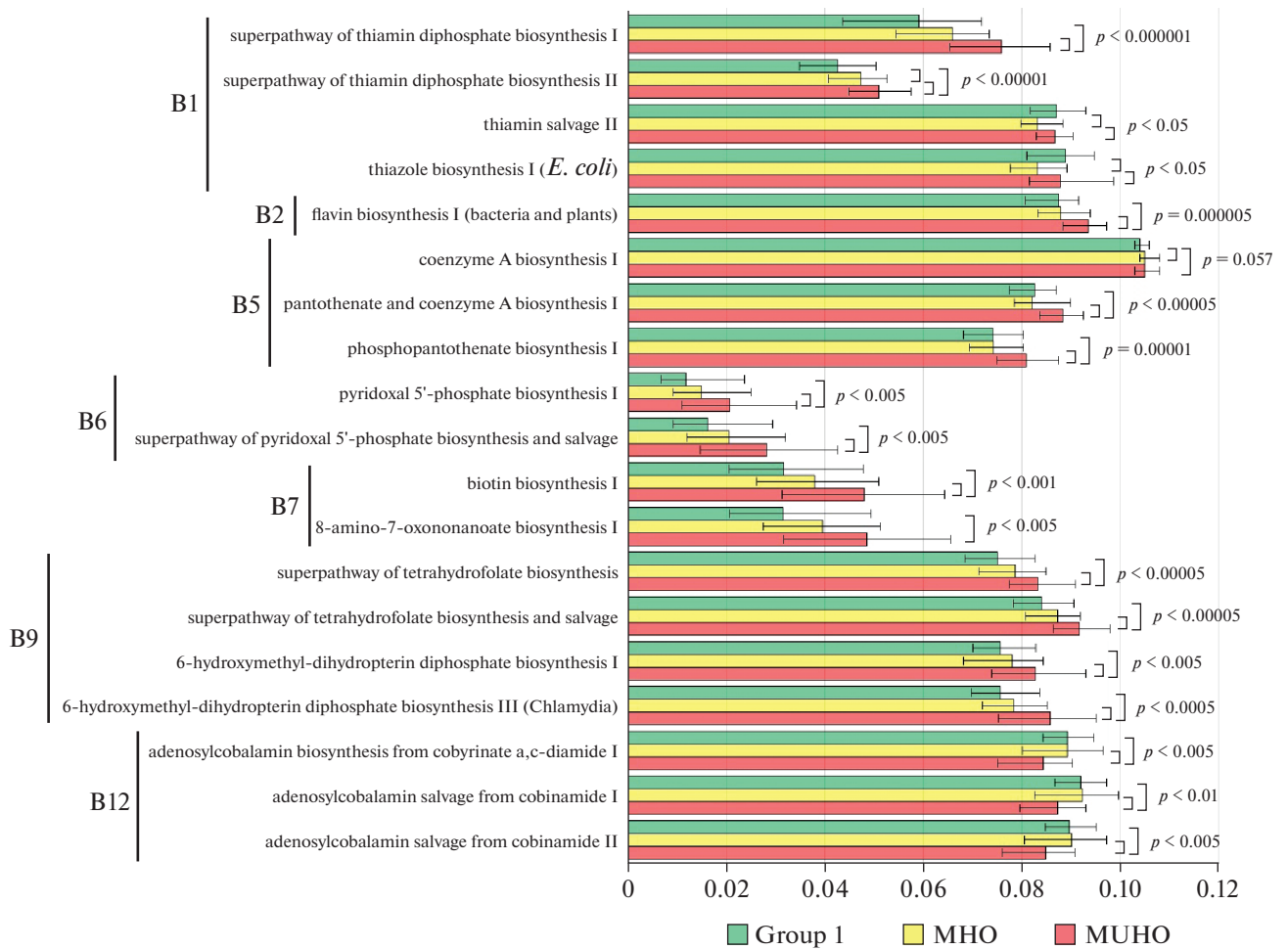


Рис. 2. Изменения прогнозируемой представленности путей синтеза водорастворимых витаминов кишечной микробиоты у пациентов с МЗО и МНЗО.

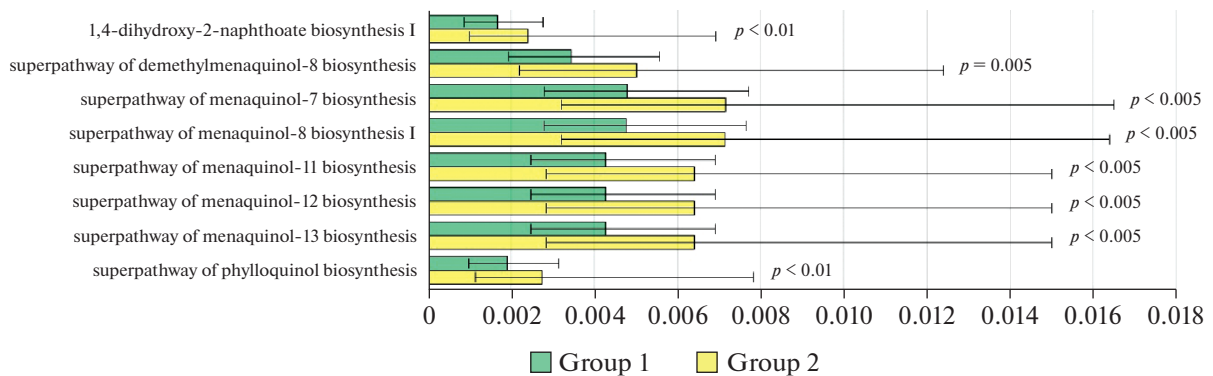


Рис. 3. Изменения прогнозируемой представленности путей синтеза витамина К кишечной микробиоты при ожирении.

о более широком спектре изменений в синтезе витаминов. Также наши результаты частично согласуются с результатами сравнения метаболических путей у больных с МНЗО и МЗО, проведенного коллегами из Южной Кореи (Kim и соавт.), кото-

рые выявили увеличение представленности путей синтеза витамина В1 и фолиевой кислоты [23]. Мы обнаружили, что МНЗО приводит также к увеличению представленности путей синтеза витаминов В2, В5, В6, и В7, но, что важно, снижению возмож-

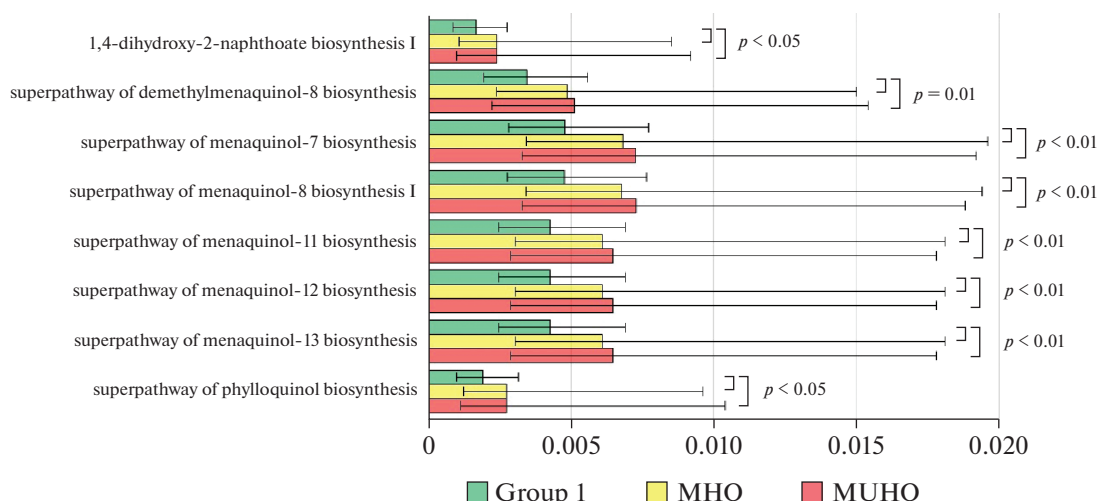


Рис. 4. Изменения прогнозируемой представленности путей синтеза витамина К кишечной микробиоты у пациентов с МЗО и МНЗО.

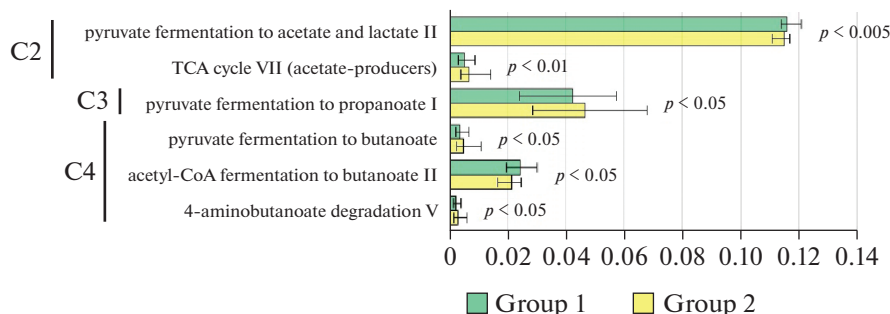


Рис. 5. Изменения прогнозируемой представленности путей синтеза КЦЖК кишечной микробиоты при ожирении.

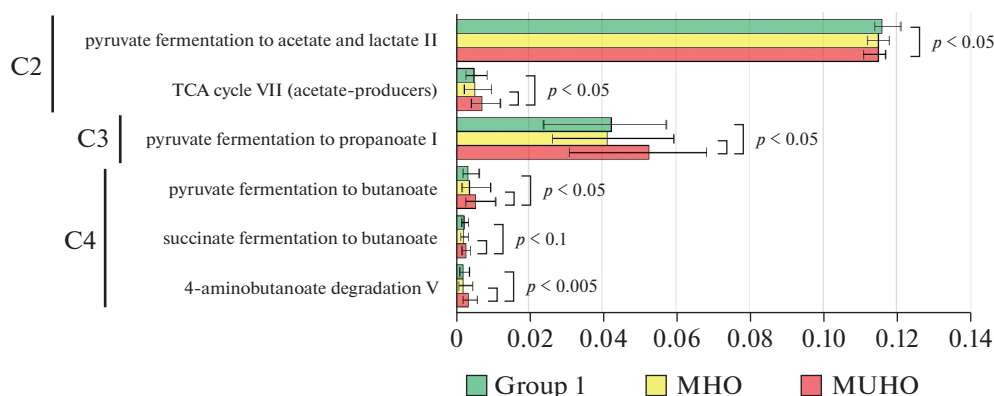


Рис. 6. Изменения прогнозируемой представленности путей синтеза КЦЖК кишечной микробиоты у пациентов с МЗО и МНЗО.

ности синтеза витамина В12, при этом подобные изменения не были характерны для МЗО.

Интересно, что МНЗО сопровождается уменьшением разнообразия кишечной флоры, тогда как при МЗО, напротив, наблюдается увеличение ее разнообразия [7]. Однако снижение разнообразия

микробиома кишечника при МНЗО тем не менее способствует сохранению таксонов-продуцентов В1, В2, В5, В6, В7 и В9, что может указывать на большую потребность микробного сообщества и/или макроорганизма в этих витаминах. Кроме того, мы выявили у пациентов с ожирением увели-

чение представленности минорного пути синтеза активной формы витамина В3, для которого была показана прямая корреляция с характеристиками альфа-разнообразия [24].

Тиамин (В1) является важным участником энергетического обмена (окислительное декарбоксилирование пирувата, цикл трикарбоновых кислот), а также необходим для образования рибозы-5-фосфата в пентозофосфатном пути и, как следствие, для синтеза нуклеотидов ДНК и РНК [25]. Дефицит тиамина достаточно распространен у людей с ожирением, что, с одной стороны, может быть результатом недостаточного потребления цельно-зерновых продуктов – источников В1, а с другой стороны, следствием повышенной потребности в этом витамине при ожирении [26]. Более того, сообщалось, что до 75% пациентов с СДII типа имеют низкую концентрацию витамина В1 в сыворотке [27]. Таким образом, увеличение метаболических возможностей синтеза В1 на фоне МНЗО можно рассматривать как адаптивное изменение кишечной микробиоты у таких пациентов, имеющее в целом позитивный характер, и направленное на восполнение дефицита данного витамина в системе “микробиота-макроорганизм”.

Рибофлавин (В2) – предшественник коферментов оксидоредуктаз играет значительную роль в энергетическом обмене. Обычно ожирение не связывают с дефицитом рибофлавина, однако было показано, что активность глутатион редуктазы эритроцитов (один из способов оценки недостатка В2) отрицательно коррелирует с уровнями систолического артериального давления, общего холестерина и холестерина ЛПВП, повышенные значения которых являются признаками МНЗО [22]. Кроме того, В2 способен снижать продукцию провоспалительных цитокинов в культуре мышечных адипоцитов и макрофагов [28]. Учитывая, что для МНЗО характерно развитие дислипидемии и более выраженное системное воспаление, чем у МЗО [29], большой потенциал к синтезу рибофлавина представляется позитивным изменением со стороны кишечной микробиоты и, возможно, является одним из механизмов противовоспалительного ответа в компенсации вялотекущего системного воспаления в системе “микробиота-макроорганизм”.

Витамин В5 (пантотеновая кислота) является неотъемлемым участником обмена жирных кислот, участвуя как в их синтезе и депонировании, так и окислении [30]. Учитывая влияние на систему “макроорганизм-микробиота” жировой диеты, обычно характерной для пациентов с ожирением, увеличение потребности микробиоты в этом витамине становятся понятным. Производные В5 стимулируют катаболизм жирных кислот и проявляют гипогликемический эффект [31], кроме того, пантотенат усиливает экспрессию термогенина в бурой жировой ткани, что способствует расходу

энергии [32]. Такие эффекты производных пантотеновой кислоты делают ее потенциально полезной в терапии ожирения.

Основной биохимической функцией пиридоксина (В6) является участие в обмене аминокислот, включая синтез заменимых аминокислот и нейромедиаторов [30]. Обычно у лиц с ожирением наблюдается нормальный уровень сывороточного В6, однако при тяжелом ожирении были выявлены дефицит пиридоксина и его отрицательная корреляция с ИМТ [22]. Прием пиридоксина женщинами с ожирением привел к снижению уровней инсулина, общего холестерина, холестерина ЛПНП, триглицеридов сыворотки и увеличению концентрации адипонектина, что указывает на улучшение метаболического профиля пациентов [33]. Неизвестно, способно ли увеличение метаболических возможностей синтеза В6 микрофлорой на фоне МНЗО оказывать положительный эффект на метаболический профиль таких пациентов, однако подобные изменения не являются потенциально неблагоприятными.

Биотин (В7) представляет собой кофермент ряда карбоксилаз, играющих значительную роль как в катаболизме, так и анаболизме человека и микробиоты [34]. Кроме того, биотин необходим для биотинилирования гистонов, что регулирует экспрессию генов [35]. Было показано, что тяжелое ожирение сопровождается снижением уровня биотина в сыворотке, а также отрицательной корреляцией между ИМТ и экспрессией биотин-зависимых карбоксилаз в жировой ткани [36]. Исследования Velda и соавт. [36] также продемонстрировали снижение абсолютного количества продуцентов биотина в микробиоме лиц с тяжелым ожирением, что на первый взгляд противоречит полученным нами данным. Подобные различия могут быть следствием разницы методических подходов: наше исследование базировалось на изучении относительной представленности метаболического пути по отношению к ЕС: 2.7.7.7 ДНК-полимеразе, т.е. доли таксономических единиц в микробиоме, обладающих конкретными метаболическими путями, тогда как работа Velda и соавт. [36] исследовала абсолютные количества, когда количество клеток было преобразовано в микробную нагрузку на грамм биоматериала. А учитывая общее истощение кишечной флоры при ожирении, можно заключить, что несмотря на абсолютное снижение биотин-продуцирующих микроорганизмов при ожирении, их доля в микробном сообществе возрастает. Возможно, именно способность этих микроорганизмов к синтезу В7 дает им метаболическое преимущество перед другими представителями микробного сообщества в специфических условиях, создаваемых при МНЗО.

Производные фолиевой кислоты (В9) вовлечены в перенос одноуглеродных фрагментов, что

имеет особое значение в метаболизме гомоцистеина и синтезе нуклеотидов [37]. У лиц с ожирением обычно наблюдаются нормальные или сниженные уровни фолатов в сыворотке, что может быть следствием их повышенного использования, избыточной экскрецией с мочой, изменением распределения по органам и тканям, а также недостаточного употребления растительной пищи [32, 38]. Недостаток В9 сопровождается развитием гипергомоцистеинемии, что повышает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, риск которых значительно выше у пациентов с МНЗО [5, 22]. Если предположить недостаток потребления растительной пищи или усиленное всасывание фолатов макроорганизмом, как компенсация их дефицита, выявленное нами увеличение прогнозируемой представленности путей синтеза В9 у микрофлоры пациентов с МНЗО может носить адаптационный характер.

У человека кобаламин (В12) участвует в процессе образования метионина из гомоцистеина (наравне с В9) и изомеризации метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА при деградации жирных кислот с нечетным количеством углеродных атомов [39]. Уровень витамина В12 связан с ожирением, и имеются данные о наличии негативной связи между ИМТ и концентрацией кобаламина в сыворотке [3, 21]. Более того, некоторые авторы обнаружили тенденцию к снижению концентрации витамина В12 в сыворотке крови у пациентов с МНЗО по сравнению с МЗО [8]. Было показано, что дефицит кобаламина ассоциирован с гипергомоцистеинемией, инсулинорезистентностью, дислипидемией и повышением риска сердечно-сосудистых заболеваний, которые в большей степени характерны для пациентов с МНЗО [3, 40]. Кроме того, накопление метилмалонил-КоА блокирует карнитин-зависимый транспорт жирных кислот в митохондрию для их последующего окисления, тем самым способствуя депонированию жиров [40]. Обнаруженный нами меньший потенциал к образованию В12 у кишечной микрофлоры пациентов с МНЗО может вносить свой вклад в прогрессирование метаболических нарушений у таких пациентов. Однако следует учитывать, что место всасывания кобаламина (подвздошная кишка) значительно удалено от основного места обитания кишечной флоры (толстый кишечник), что ограничивает биодоступность бактериального В12 [39]. В то же время данное обстоятельство может нивелироваться, так как тонкая кишка обладает своим микробным сообществом, а при ожирении частым является развитие феномена “избыточного бактериального роста” и заселение тонкой кишки представителями микрофлоры толстой кишки [41]. Интересным представляются последствия снижения возможности синтезировать В12 для самой кишечной микрофлоры. Было показано, что прием В12 положительно ассоциирован с альфа-разнообразием и обилием ки-

шечной микрофлоры [39]. Таким образом, можно предполагать, что меньшая способность синтезировать кобаламин у кишечной микрофлоры при МНЗО может быть одной из причин ее деградации и истощения, отмеченного нами ранее у таких пациентов [7].

Хорошо известной функцией витамина К (филлохинон, менахиноны) является участие в синтезе белков системы свертывания крови и костной ткани. Также он играет роль в таких процессах, как пролиферация и дифференцировка клеток, иммунный ответ, воспаление, окислительный стресс и ряде других [42]. Обычно ожирение не ассоциируют с изменением концентрации витамина К, однако известно, что низкий ИМТ может быть связан с высоким потреблением этого витамина ввиду большего употребления зеленых овощей – основных источников филлохинона [22]. Следует отметить, что филлохинон и менахиноны являются важной частью энергетического обмена микрофлоры, принимая участие в бактериальном дыхании [43]. Интересно, что увеличение метаболических возможностей микрофлоры синтезировать витамин К было характерно как для пациентов с МНЗО, так и для лиц с МЗО. С одной стороны, это может быть следствием несбалансированного питания, в частности недостатка зеленых овощей в рационе пациентов с ожирением, вследствие чего у микробиоме активируется пролиферация таксонов, способных к синтезу витамина К, т.е. имеющие метаболические преимущества. С другой стороны, гиперкалорийная диета, характерная для лиц, страдающих ожирением, предоставляет больше энергетических субстратов микрофлоре, которой требуется больше витамина К для ее катаболизма, что также может способствовать увеличению в микробиоме филлохинон и менахинон-продуцентов. Не известно, дает ли какие-то преимущества повышенная продукция кишечным микробиомом витамина К макроорганизму. Например, Liu и соавт. [44] не обнаружили какой-либо связи между интенсивностью синтеза витамина К микробиомом и клинической картиной остеоартрита, несмотря на имеющиеся данные, о способствовании дефицита витамина К развитию и/или прогрессированию данной патологии.

Таким образом, изменение метаболических возможностей синтеза витаминов кишечной флорой при ожирении, по-видимому, является результатом “селекции” таксонов под действием факторов, специфичных для данной патологии. Увеличение прогнозируемой представленности синтеза витаминов В1, В2, В5, В6, В7, В9 и витамина К у пациентов с МНЗО и витамина К у лиц с МЗО на основании имеющихся литературных данных можно рассматривать как нейтральное или позитивное для макроорганизма. Тогда как депрессия путей синтеза В12 при МНЗО может иметь негативный

характер как для микробного сообщества кишечника, так и для организма-хозяина.

На сегодняшний день не существует единой гипотезы, способной полностью охватить взаимосвязь между составом микробного сообщества, количеством и соотношением КЦЖК и их ролью в патогенезе ожирения и сопутствующих метаболических нарушениях [14]. КЦЖК являются значимым энергетическим субстратом и представляют собой важный медиатор в системе “микробиота-макроорганизм” [45–47]. КЦЖК проявляют противовоспалительное действие, снижая экспрессию TNF α , IL6 и IL12 и повышая – IL10, а также индуцируют образование белков плотных контактов, что уменьшает кишечную проницаемость [47, 48]. Кроме того, КЦЖК выступают в качестве медиаторов в оси “микробиота–кишечник–мозг”, которые, стимулируя экспрессию анорексигенных белков (лептин, глюкагоноподобный пептид 1 типа, пептид YY), подавляют аппетит [47]. Было показано, что у лиц с ожирением в кале возрастают концентрации ацетата, пропионата и бутирата [14, 49]. Возможно, это связано с тем, что микробный дисбаланс при ожирении приводит к менее эффективному всасыванию КЦЖК или же микробиота кишечника при ожирении обладает повышенной способностью к продукции КЦЖК [50].

Изменения метаболических возможностей образования КЦЖК были характерны исключительно для пациентов с МНЗО, но не для МЗО. Микробиота пациентов с МНЗО в меньшей степени была способна продуцировать ацетат из пирувата, что, по-видимому, компенсируется большей возможностью синтезировать эту КЦЖК из этанола, о чем свидетельствует высокая представленность цикла трикарбоновых кислот VII (ацетат-продуценты). Следует отметить, что оценка метаболической возможности микробиоты синтезировать ацетат представляет значительные сложности, так как уксусная кислота является интермедиатом или продуктом деградации большинства субстратов, включая углеводы, жирные кислоты, аминокислоты и т.д. Однако полученные данные указывают, что пируват у пациентов с МНЗО меньше используется кишечной микробиотой для синтеза ацетата и больше – для образования пропионата и бутирата. Кроме того, кишечный микробиом таких пациентов обладал большими метаболическими возможностями продуцировать бутират из сукцината и при катаболизме 4-аминобутаноата. Sanna и соавт. [51] обнаружили, что представленность пути деградации 4-аминобутаноата (метаболический путь PWY-5022) в кишечном микробиоме позитивно ассоциирована с повышенной секрецией инсулина, измеренной в тесте толерантности к глюкозе, при этом генетическая предрасположенность к большей продукции пропионата была связана с повышенным риском развития СДII. Таким образом, можно рассматривать увеличение синтеза бутирата

кишечной флорой как позитивное изменение, а избыточное производство пропионата – как негативное. При этом надо учитывать, что избыточное накопление бутирата может оказать и негативный эффект на слизистую толстой кишки, индуцируя апоптоз стволовых клеток кишечника [52, 53], и на костную ткань, подавляя остеогенную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток [54]. Регуляция последней при МНЗО претерпевает некоторые изменения, о чем свидетельствует появление положительной ассоциации между остеокином и миостатином, характерной только для такого фенотипа ожирения [55].

Взаимодействие между микробиомом и иммунной системой не является односторонним, и как микробиота способствует формированию периферической толерантности (например, благодаря продукции КЦЖК), так и мукозальный иммунитет осуществляет надзор за микробиотой, в т.ч. регулирует ее численность [56]. Одним из ключевых различий между метаболическими фенотипами ожирения является формирование системного воспаления, характерного для пациентов с МНЗО, но не с МЗО [29]. Возможно, активация иммунной системы у пациентов с МНЗО затрагивает и кишечник, что может быть одной из причин истощения кишечной микробиоты у таких пациентов. Таким образом, накопление в кишечном микробиоме таксонов, способных к продукции КЦЖК, можно рассматривать как результат “селекции” микроорганизмов и защитную реакцию микробного сообщества на активацию иммунной системы. При этом последствия такой трансформации микрофлоры для макроорганизма представляются неоднозначными, что требует дальнейшего динамического изучения.

ВЫВОДЫ

Ожирение оказывает влияние на метаболические возможности микробиоты синтезировать витамины и короткоцепочечные жирные кислоты, которое наиболее выражено при метаболически нездоровом ожирении. Вне зависимости от метаболического фенотипа ожирение сопровождается большей продукцией витамина К кишечной микробиотой. У микробиота пациентов с МНЗО также обладает большей представленностью путей синтеза витаминов B1, B2, B5, B6, B7 и B9, что может давать метаболические преимущества как микробному сообществу, так и макроорганизму. При этом у таких пациентов прогнозируется снижение синтеза витамина B12, что может рассматриваться как неблагоприятный фактор, как для микробиоты, так и для организма-хозяина.

Изменения в прогнозируемой представленности путей синтеза ацетата и увеличение метаболических возможностей продукции пропионата и бутирата наблюдались только у пациентов с МНЗО,

но не с МЗО. Учитывая неоднозначное потенциальное влияние КЦЖК на макроорганизм необходимы дальнейшие исследования для оценки побочных изменений.

В целом изменение представленности метаболитических путей у кишечной микрофлоры на фоне ожирения является результатом “селекции” микроорганизмов под действием специфических факторов, более выраженных при МНЗО. Таким образом, дисбаланс в путях синтеза витаминов и короткоцепочечных жирных кислот кишечной флоры отражает нарушение метаболитического симбиоза в рамках суперорганизма (“микробиота-макроорганизм”).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках договора № 397 от 03.09.2020 с ФГБУ “НМИЦ онкологии” Минздрава России.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы – А.В.Ш., С.А.Р., Ю.Л.Н., Н.И.В.; планирование эксперимента – А.В.Ш., Н.И.В., Л.А.Г., О.В.Б., Т.В.Г.; сбор данных – Л.А.Г., О.В.Б., Ю.Л.Н., И.Ю.В.; обработка данных – Л.А.Г., И.Ю.В., И.М.К., Т.В.Г.; написание манускрипта – А.В.Ш., Л.А.Г., И.М.К., О.В.Б.; редактирование манускрипта – С.А.Р., Ю.Л.Н., А.В.Ш., И.М.К., Н.И.В.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Piché ME, Tchernof A, Després JP* (2020) Obesity Phenotypes, Diabetes, and Cardiovascular Diseases. *Circ Res* 126: 1477–1500. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.316101>
2. *Lin X, Li H* (2021) Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics. *Front Endocrinol (Lausanne)* 12. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2021.706978>
3. *Boachie J, Adaikalakoteswari A, Samavat J, Saravanan P* (2020) Low Vitamin B12 and Lipid Metabolism: Evidence from Pre-Clinical and Clinical Studies. *Nutrients* 12: 1–20. <https://doi.org/10.3390/NU12071925>
4. *Khan MJ, Gerasimidis K, Edwards CA, Shaikh MG* (2016) Role of Gut Microbiota in the Aetiology of Obesity: Proposed Mechanisms and Review of the Literature. *J Obes* 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7353642>
5. *Stefan N* (2020) Metabolically Healthy and Unhealthy Normal Weight and Obesity. *Endocrinol Metab (Seoul)* 35: 487–493. <https://doi.org/10.3803/ENM.2020.301>
6. *Duan M, Wang Y, Zhang Q, Zou R, Guo M, Zheng H* (2021) Characteristics of gut microbiota in people with obesity. *PLoS One* 16. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0255446>
7. *Гапонов АМ, Волкова НИ, Ганенко ЛА, Набока ЮЛ, Маркелова МИ, Снягина 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 иммунобиол* 98: 144–155. [*Gaponov AM, Volkova NI, Ganenko LA, Naboka YuL, Markelova MI, Siniagina MN, Kharchenko AM, Khusnutdinova DR, Rumyantsev SA, Tutelyan AV, Makarov VV, Yudin SM, Shestopalov AV* (2021) Characteristics of the colonic microbiome in patients with different obesity phenotypes (the original article). *J Microbiol Epidemiol Immunobiol* 98 (2): 144–155. (In Russ)]. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-66>
8. *Voland L, Le Roy T, Debédat J, Clément K* (2022) Gut microbiota and vitamin status in persons with obesity: A key interplay. *Obes Rev* 23. <https://doi.org/10.1111/OBR.13377>
9. *Ciobârca D, Cătoi AF, Copăescu C, Miere D, Crișan G* (2020) Bariatric Surgery in Obesity: Effects on Gut Microbiota and Micronutrient Status. *Nutrients* 12. <https://doi.org/10.3390/NU12010235>
10. *Hooper LV, Midwedt T, Gordon JI* (2002) How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr* 22: 283–307. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.NU-TR.22.011602.092259>
11. *Chambers ES, Preston T, Frost G, Morrison DJ* (2018) Role of Gut Microbiota-Generated Short-Chain Fatty Acids in Metabolic and Cardiovascular Health. *Curr Nutr Rep* 7: 198–206. <https://doi.org/10.1007/S13668-018-0248-8>
12. *Zhou SS, Li D, Zhou YM, Sun WP, Liu QG* (2010) B-vitamin consumption and the prevalence of diabetes and obesity among the US adults: population based ecological study. *BMC Public Health* 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-10-746>
13. *O’Riordan KJ, Collins MK, Moloney GM, Knox EG, Aburto MR, Fülling C, Morley SJ, Clarke G, Schellekens H, Cryan JF* (2022) Short chain fatty acids: Microbial metabolites for gut-brain axis signalling. *Mol Cell Endo-*

- crinol 546.
<https://doi.org/10.1016/J.MCE.2022.111572>
14. *Martínez-Cuesta MC, del Campo R, Garriga-García M, Peláez C, Requena T* (2021) Taxonomic Characterization and Short-Chain Fatty Acids Production of the Obese Microbiota. *Front Cell Infect Microbiol* 11.
<https://doi.org/10.3389/FCIMB.2021.598093>
 15. *Douglas GM, Maffei VJ, Zaneveld JR, Yurgel SN, Brown JR, Taylor CM, Huttenhower C, Langille MGI* (2020) PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. *Nat Biotechnol* 38: 685–688.
<https://doi.org/10.1038/S41587-020-0548-6>
 16. *Osadnik K, Osadnik T, Gierlotka M, Windak A, Tomasik T, Mastej M, Kuras A, Józwiak K, Penson PE, Lip GYH, Mikhailidis DP, Toth PP, Catapano AL, Ray KK, Howard G, Tomaszewski M, Charchar FJ, Sattar N, Williams B, MacDonald TM, Banach M, Józwiak J, LIPIDOGRAM Investigators* (2023) Metabolic syndrome is associated with similar long-term prognosis in non-obese and obese patients. An analysis of 45 615 patients from the nationwide LIPIDOGRAM 2004-2015 cohort studies. *Eur J Prev Cardiol*.
<https://doi.org/10.1093/EURJPC/ZWAD101>
 17. *Меньшиков ВВ* (ред) (2009) Методики клинических лабораторных исследований: справочное пособие: в 3 т. Т. 3: Клиническая микробиология. Бактериологические исследования. Микологические исследования. Паразитологические исследования. Инфекционная иммунодиагностика. Молекулярные исследования в диагностике инфекционных заболеваний. М. Лабора. [*Menshikov VV* (ed) (2009) *Methods of clinical laboratory research: a reference guide: in 3 volumes. V. 3: Clinical microbiology. bacteriological research. Mycological research. parasitological research. Infectious immunodiagnosis. Molecular studies in the diagnosis of infectious diseases. M. Labora. (In Russ)*].
 18. *Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA, Alexander H, Alm EJ, Arumugam M, Asnicar F, Bai Y, Bisanz JE, Bittinger K, Brejnrod A, Brislawn CJ, Brown CT, Callahan BJ, Caraballo-Rodríguez AM, Chase J, Cope EK, Da Silva R, Diener C, Dorrestein PC, Douglas GM, Durall DM, Duvallet C, Edwardson CF, Ernst M, Estaki M, Fouquier J, Gauglitz JM, Gibbons SM, Gibson DL, Gonzalez A, Gorlick K, Guo J, Hillmann B, Holmes S, Holste H, Huttenhower C, Huttley GA, Janssen S, Jarmusch AK, Jiang L, Kaehler BD, Kang K Bin, Keefe CR, Keim P, Kelley ST, Knights D, Koester I, Kosciulek T, Kreps J, Langille MGI, Lee J, Ley R, Liu YX, Lofffield E, Lozupone C, Maher M, Marotz C, Martin BD, McDonald D, McIver LJ, Melnik AV, Metcalf JL, Morgan SC, Morton JT, Naimey AT, Navas-Molina JA, Nothias LF, Orchanian SB, Pearson T, Peoples SL, Petras D, Preuss ML, Pruesse E, Rasmussen LB, Rivers A, Robeson MS, Rosenthal P, Segata N, Shaffer M, Shiffer A, Sinha R, Song SJ, Spear JR, Swafford AD, Thompson LR, Torres PJ, Trinh P, Tripathi A, Tumbaugh PJ, Ul-Hasan S, van der Hooft JJJ, Vargas F, Vázquez-Baeza Y, Vogtmann E, von Hippel M, Walters W, Wan Y, Wang M, Warren J, Weber KC, Williamson CHD, Willis AD, Xu ZZ, Zaneveld JR, Zhang Y, Zhu Q, Knight R, Caporaso JG* (2019) Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol* 37: 852–857.
<https://doi.org/10.1038/S41587-019-0209-9>
 19. *Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO* (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 41.
<https://doi.org/10.1093/NAR/GKS1219>
 20. *Geiker NRW, Veller M, Kjoelbaek L, Jakobsen J, Ritz C, Raben A, Astrup A, Lorenzen JK, Larsen LH, Bügel S* (2018) Effect of low energy diet for eight weeks to adults with overweight or obesity on folate, retinol, vitamin B12, D and E status and the degree of inflammation: a post hoc analysis of a randomized intervention trial. *Nutr Metab (Lond)* 15.
<https://doi.org/10.1186/S12986-018-0263-1>
 21. *Baltaci D, Kutlucan A, Turker Y, Yilmaz A, Karacam S, Deler H, Ucgun T, Kara IH* (2013) Association of vitamin B12 with obesity, overweight, insulin resistance and metabolic syndrome, and body fat composition; primary care-based study. *Med Glas (Zenica)* 10: 203–210.
 22. *Thomas-Valdés S, Tostes M das GV, Anunciação PC, da Silva BP, Sant'Ana HMP* (2017) Association between vitamin deficiency and metabolic disorders related to obesity. *Crit Rev Food Sci Nutr* 57: 3332–3343.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1117413>
 23. *Kim MH, Yun KE, Kim J, Park E, Chang Y, Ryu S, Kim HL, Kim HN* (2020) Gut microbiota and metabolic health among overweight and obese individuals. *Sci Rep* 10.
<https://doi.org/10.1038/S41598-020-76474-8>
 24. *Fangmann D, Theismann EM, Turk K, Schulte DM, Reling I, Hartmann K, Keppler JK, Knipp JR, Rehman A, Heinsen FA, Franke A, Lenk L, Freitag-Wolf S, Appel E, Gorb S, Brenner C, Seegert D, Waetzig GH, Rosenstiel P, Schreiber S, Schwarz K, Laudes M* (2018) Targeted Microbiome Intervention by Microencapsulated Delayed-Release Niacin Beneficially Affects Insulin Sensitivity in Humans. *Diabetes Care* 41: 398–405.
<https://doi.org/10.2337/DC17-1967>
 25. *Polegato BF, Pereira AG, Azevedo PS, Costa NA, Zornoff LAM, Paiva SAR, Minicucci MF* (2019) Role of Thiamin in Health and Disease. *Nutr Clin Pract* 34: 558–564.
<https://doi.org/10.1002/NCP.10234>
 26. *Kerns JC, Arundel C, Chawla LS* (2015) Thiamin deficiency in people with obesity. *Adv Nutr* 6: 147–153.
<https://doi.org/10.3945/AN.114.007526>
 27. *Thornalley PJ, Babaei-Jadidi R, Al Ali H, Rabbani N, Antonysunil A, Larkin J, Ahmed A, Rayman G, Bodmer CW* (2007) High prevalence of low plasma thiamine concentration in diabetes linked to a marker of vascular disease. *Diabetologia* 50: 2164–2170.
<https://doi.org/10.1007/S00125-007-0771-4>
 28. *Mazur-Bialy AI, Pocheć E* (2016) Riboflavin Reduces Pro-Inflammatory Activation of Adipocyte-Macrophage Co-culture. Potential Application of Vitamin B2 Enrichment for Attenuation of Insulin Resistance and Metabolic Syndrome Development. *Molecules* 21.
<https://doi.org/10.3390/MOLECULES21121724>
 29. *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>

30. *Chawla J, Kvarnberg D* (2014) Hydrosoluble vitamins. *Handb Clin Neurol* 120: 891–914. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4087-0.00059-0>
31. *Naruta E, Buko V* (2001) Hypolipidemic effect of pantothenic acid derivatives in mice with hypothalamic obesity induced by aurothioglucose. *Exp Toxicol Pathol* 53: 393–398. <https://doi.org/10.1078/0940-2993-00205>
32. *Zhou H, Zhang H, Ye R, Yan C, Lin J, Huang Y, Jiang X, Yuan S, Chen L, Jiang R, Zheng K, Cheng Z, Zhang Z, Dong M, Jin W* (2022) Pantothenate protects against obesity via brown adipose tissue activation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 323: E69–E79. <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00293.2021>
33. *Haidari F, Mohammadshahi M, Zarei M, Haghhighizadeh MH, Mirzaee F* (2021) The Effect of Pyridoxine Hydrochloride Supplementation on Leptin, Adiponectin, Glycemic Indices, and Anthropometric Indices in Obese and Overweight Women. *Clin Nutr Res* 10: 230. <https://doi.org/10.7762/CNR.2021.10.3.230>
34. *Tong L* (2013) Structure and function of biotin-dependent carboxylases. *Cell Mol Life Sci* 70: 863–891. <https://doi.org/10.1007/S00018-012-1096-0>
35. *Filenko NA, Kolar C, West JT, Abbie Smith S, Hassan YI, Borgstahl GEO, Zemleni J, Lyubchenko YL* (2011) The role of histone H4 biotinylation in the structure of nucleosomes. *PLoS One* 6. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0016299>
36. *Belda E, Voland L, Tremaroli V, Falony G, Adriouch S, Assmann KE, Prifiti E, Aron-Wisniewsky J, Debédat J, Le Roy T, Nielsen T, Amouyal C, André S, Andreelli F, Blüher M, Chakaroun R, Chilloux J, Coelho LP, Dao MC, Das P, Fellahi S, Forslund S, Galleron N, Hansen TH, Holmes B, Ji B, Krogh Pedersen H, Le P, Le Chatelier E, Lewinter C, Mannerås-Holm L, Marquet F, Myridakis A, Pelloux V, Pons N, Quinquis B, Rouault C, Roume H, Salem JE, Sokolovska N, Sondertoft NB, Touch S, Vieira-Silva S, Galan P, Holst J, Götze JP, Køber L, Vestergaard H, Hansen T, Herberg S, Oppert JM, Nielsen J, Letunic I, Dumas ME, Stumvoll M, Pedersen OB, Bork P, Ehrlich SD, Zucker JD, Bäckhed F, Raes J, Clément K* (2022) Impairment of gut microbial biotin metabolism and host biotin status in severe obesity: effect of biotin and prebiotic supplementation on improved metabolism. *Gut* 71. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2021-325753>
37. *Shulpekova Y, Nechaev V, Kardasheva S, Sedova A, Kurbatova A, Bueverova E, Kopylov A, Malsagova K, Dlamini JC, Ivashkin V* (2021) The Concept of Folic Acid in Health and Disease. *Molecules* 26. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26123731>
38. *Köse S, Sözlü S, Bölükbaşı H, Ünsal N, Gezmen-Karadağ M* (2020) Obesity is associated with folate metabolism. *Int J Vitam Nutr Res* 90: 353–364. <https://doi.org/10.1024/0300-9831/A000602>
39. *Guetterman HM, Huey SL, Knight R, Fox AM, Mehta S, Finkelstein JL* (2022) Vitamin B-12 and the Gastrointestinal Microbiome: A Systematic Review. *Advances in Nutrition* 13: 530. <https://doi.org/10.1093/ADVANCES/NMAB123>
40. *Al-Musharaf S, Aljuraiban GS, Hussain SD, Alnaami AM, Saravanan P, Al-Daghri N* (2020) Low Serum Vitamin B12 Levels Are Associated with Adverse Lipid Profiles in Apparently Healthy Young Saudi Women. *Nutrients* 12: 1–11. <https://doi.org/10.3390/NU12082395>
41. *Roland BC, Lee D, Miller LS, Vegesna A, Yolken R, Severance E, Prandovszky E, Zheng XE, Mullin GE* (2018) Obesity increases the risk of small intestinal bacterial overgrowth (SIBO). *Neurogastroenterol Motil* 30. <https://doi.org/10.1111/NMO.13199>
42. *Lai Y, Masatoshi H, Ma Y, Guo Y, Zhang B* (2022) Role of Vitamin K in Intestinal Health. *Front Immunol* 12. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.791565>
43. *Ellis JL, Karl JP, Oliverio AM, Fu X, Soares JW, Wolfe BE, Hernandez CJ, Mason JB, Booth SL* (2021) Dietary vitamin K is remodeled by gut microbiota and influences community composition. *Gut Microbes* 13: 1–16. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1887721>
44. *Liu M, Matuszek G, Azcarate-Peril MA, Loeser RF, Shea MK* (2023) An Exploratory Case-Control Study on the Associations of Bacterially-Derived Vitamin K Forms with the Intestinal Microbiome and Obesity-Related Osteoarthritis. *Curr Dev Nutr* 7: 100049. <https://doi.org/10.1016/J.CDNUT.2023.100049>
45. *Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L* (2014) The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol* 121: 91–119. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9>
46. *Brahe LK, Astrup A, Larsen LH* (2013) Is butyrate the link between diet, intestinal microbiota and obesity-related metabolic diseases? *Obes Rev* 14: 950–959. <https://doi.org/10.1111/OBR.12068>
47. *Amabebe E, Robert FO, Agbalalah T, Orubu ESF* (2020) Microbial dysbiosis-induced obesity: role of gut microbiota in homeostasis of energy metabolism. *Br J Nutr* 123: 1127–1137. <https://doi.org/10.1017/S0007114520000380>
48. *Beisner J, Filipe Rosa L, Kaden-Volynets V, Stolzer I, Günther C, Bischoff SC* (2021) Prebiotic Inulin and Sodium Butyrate Attenuate Obesity-Induced Intestinal Barrier Dysfunction by Induction of Antimicrobial Peptides. *Front Immunol* 12. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.678360>
49. *Yang J, Keshavarzian A, Rose DJ* (2013) Impact of dietary fiber fermentation from cereal grains on metabolite production by the fecal microbiota from normal weight and obese individuals. *J Med Food* 16: 862–867. <https://doi.org/10.1089/JMF.2012.0292>
50. *de la Cuesta-Zuluaga J, Mueller NT, Álvarez-Quintero R, Velásquez-Mejía EP, Sierra JA, Corrales-Agudelo V, Carmona JA, Abad JM, Escobar JS* (2018) Higher Fecal Short-Chain Fatty Acid Levels Are Associated with Gut Microbiome Dysbiosis, Obesity, Hypertension and Cardiometabolic Disease Risk Factors. *Nutrients* 11. <https://doi.org/10.3390/NU11010051>
51. *Sanna S, van Zuydam NR, Mahajan A, Kurilshikov A, Vich Vila A, Võsa U, Mujagic Z, Masclee AAM, Jonkers DMAE, Oosting M, Joosten LAB, Netea MG, Franke L, Zhernakova A, Fu J, Wijmenga C, McCarthy MI* (2019) Causal relationships between gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases. *Nat Genet* 51: 600. <https://doi.org/10.1038/S41588-019-0350-X>
52. *Kaiko GE, Ryu SH, Koues OI, Collins PL, Solnica-Krezel L, Pearce EJ, Pearce EL, Oltz EM, Stappenbeck TS*

- (2016) The Colonic Crypt Protects Stem Cells from Microbiota-Derived Metabolites. *Cell* 165: 1708–1720. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2016.05.018>
53. *Salvi PS, Cowles RA* (2021) Butyrate and the Intestinal Epithelium: Modulation of Proliferation and Inflammation in Homeostasis and Disease. *Cells* 10. <https://doi.org/10.3390/CELLS10071775>
54. *Hou J, Xu J, Liu Y, Zhang H, Wang S, Jiao Y, Guo L, Li S* (2022) Sodium butyrate inhibits osteogenesis in human periodontal ligament stem cells by suppressing smad1 expression. *BMC Oral Health* 22. <https://doi.org/10.1186/S12903-022-02255-6>
55. *Шестопалов АВ, Ганенко ЛА, Григорьева ТВ, Лайков АВ, Васильев ИЮ, Колесникова ИМ, Набока ЮЛ, Волкова НИ, Румянцев СА* (2023) Адипокины и миокины как индикаторы фенотипов ожирения и их связь с показателями разнообразия микробиома кишечника. *Вестн Российск гос мед унив* 2023 (1): 49–58. [*Shestopalov AV, Ganenko LA, Grigoryeva TV, Laikov AV, Vasilyev IYu, Kolesnikova IM, Naboka Yu, Volkova NI, Roumiantsev SA* (2023) Adipokines and myokines as indicators of obese phenotypes and their association with the gut microbiome diversity indices. *Bull Russ State Med Univ* 2023 (1): 49–58. (In Russ)]. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2023.004>
56. *Shi N, Li N, Duan X, Niu H* (2017) Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Mil Med Res* 4. <https://doi.org/10.1186/S40779-017-0122-9>

PREDICTION OF VITAMINS AND SHORT-CHAIN FATTY ACIDS SYNTHESIS PATHWAYS IN OBESE ADULTS

A. V. Shestopalov^{a,b,c,d}, L. A. Ganenko^{e,#}, I. M. Kolesnikova^{a,b}, T. V. Grigoryeva^f, I. Yu. Vasilyev^f, Yu. L. Naboka^e, N. I. Volkova^e, O. V Borisenko^a, and S. A. Roumiantsev^{a,b,d}

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

^b*National Medical Research Center for Endocrinology, Moscow, Russia*

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

^d*Center for Molecular Health, Moscow, Russia*

^e*Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia*

^f*Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia*

[#]*e-mail: ganenko.lilia@yandex.ru*

Gut microbiota and its metabolites such as short-chain fatty acids (SCFAs) and vitamins are involved in maintaining energy homeostasis, which is relevant in the context of obesity. The aim was to screen the predicted representation of vitamin and SCFAs biosynthesis pathways based in patients with metabolically healthy obesity (MHO) and metabolically unhealthy obesity (MUHO). The study included two groups: a control group ($n = 130$) and obese patients ($n = 133$), which was divided into subgroups with MHO ($n = 38$) and MUHO ($n = 55$). The predicted representation of metabolic pathways for the biosynthesis of vitamins and SCFAs in feces was studied using PICRUSt2. Obese patients had an increase in the representation of the synthesis of vitamins B1, B2, B5, B6, B7, B9 and vitamin K pathways, as well as a decrease in the pathways for the vitamin B12 synthesis. At the same time, the identified changes were determined by the metabolic phenotype of obesity. MHO was accompanied by an imbalance in the B1 synthesis pathways and an increased representation of vitamin K formation pathways. Whereas MUHO led to an increase in the ability of the gut microbiota to synthesize vitamins B1, B2, B5, B6, B7, B9 and K, as well as to inhibition of the B12-synthesizing pathways. In addition, patients with MUHO had an increase in the representation of the pathways for the SCFAs synthesis such as acetate, propionate, and butanoate, which was not observed in MHO patients. In general, the change in the metabolic pathways representation of gut microbiota in obese patients is the result of the microorganism's "selection" under the influence of specific factors, which are more pronounced in MUHO. Thus, the imbalance in the pathways for the vitamins and short-chain fatty acids biosynthesis of the gut microbiome reflects a violation of the metabolic symbiosis within the superorganism ("microbiota-macroorganism").

Keywords: gut microbiome, obesity, PICRUSt2, metabolically healthy obesity, metabolically unhealthy obesity, short-chain fatty acids, vitamins