



Ассоциация микробиоты кишечника и факторов иммунологической реактивности при ожирении у лиц молодого возраста

Душина Т.С., Суплютов С.Н., Кляшев С.М., Суплютова Л.А., Южакова Н.Ю.

ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет МЗ РФ, (ул. Одесская, д. 54, Тюмень, 625023, Россия)

Для цитирования: Душина Т.С., Суплютов С.Н., Кляшев С.М., Суплютова Л.А., Южакова Н.Ю. Ассоциация микробиоты кишечника и факторов иммунологической реактивности при ожирении у лиц молодого возраста. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2024;(9): 63–70. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-229-9-63-70

✉ Для переписки:

Душина

Татьяна Сергеевна

dr.dushina@mail.ru

Душина Татьяна Сергеевна, ассистент кафедры терапии с курсами эндокринологии, функциональной и ультразвуковой диагностики Института клинической медицины

Суплютов Сергей Николаевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики

Кляшев Сергей Михайлович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой терапии с курсами эндокринологии, функциональной и ультразвуковой диагностики Института клинической медицины

Суплютова Людмила Александровна, д.м.н., профессор, заведующая курсом эндокринологии кафедры терапии

Южакова Наталья Юрьевна, к.м.н., заведующая диагностическим отделением Университетской многопрофильной клиники

Резюме

Цель исследования. Оценить особенности взаимосвязи состава микробиоты толстой кишки и факторов иммунологической реактивности при ожирении у лиц молодого возраста.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 87 человек с ожирением (ИМТ 37,2 [34,1; 42,05] кг/м²) и 31 человек с нормальной массой тела (ИМТ 21,9 [20,2; 23,5] кг/м²). Участникам проведено исследование показателей липидного обмена, клеточных и гуморальных факторов иммунологической реактивности, определен состав микробиоты толстой кишки. Для статистических расчетов был использован пакет прикладных программ Microsoft Excel 2010, IBM SPSS Statistics 26.0. Результаты оценивались, как статистически значимые при уровне $p < 0,05$.

Результаты. При анализе микробиоты в группе ожирения по сравнению с группой контроля, выявлено статистически значимое снижение количества бактерий *Faecalibacterium prausnitzii*, повышение количества бактерий *Prevotella spp* и *Fusobacterium nucleatum*. Выявлены ассоциации данных микроорганизмов с параметрами неспецифической и специфической иммунологической реактивности. В частности, определена корреляционная связь *Prevotella spp* с СРБ плазмы, НСТ-спонтанной активностью нейтрофилов и с индексом стимуляции НСТ-теста нейтрофилов. *A. muciniphila* коррелировала с МСР-1 а *F. nucleatum* — с Ig M. Большое количество корреляций с показателями иммунологической реактивности выявлено у *F. prausnitzii*. Так, *F. prausnitzii* коррелировала с НСТ-индуцированной активностью моноцитов (%), НСТ-индуцированной активностью нейтрофилов (%), фагоцитарной активностью нейтрофилов (%), фагоцитарным числом нейтрофилов, фагоцитарным числом моноцитов, Т-НК лимфоцитами (CD3+16+56+) (%; кл/мкл), Т-лимфоцитами с фенотипом CD3+25+ (%; кл/мкл) и Т-лимфоцитами с фенотипом CD3+HLA DR+ (%; кл/мкл).

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о наличии ассоциаций микробиоты толстой кишки с параметрами иммунологической реактивности при ожирении у молодых людей. Полученные данные подтверждают наличие при ожирении хронического воспалительного процесса низкой интенсивности, основу которого составляют компенсаторно-приспособительные реакции иммунной системы.

Ключевые слова: ожирение, низкоуровневое воспаление, микробиота кишечника, иммунологическая реактивность, цитокины

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: YHFQXV



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-229-9-63-70>

Features of changes in nonspecific factors of immunological reactivity in obesity

T.S. Dushina, S.N. Suplotov, S.M. Klyashev, L.A. Suplotova, N.I. Yuzhakova
Tyumen State Medical University, (54, Odesskaya St., Tyumen, 625023, Russia)

For citation: Dushina T.S., Suplotov S.N., Klyashev S.M., Suplotova L.A., Yuzhakova N.I. Features of changes in nonspecific factors of immunological reactivity in obesity. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2024;(9): 63–70. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-229-9-63-70

✉ *Corresponding author:*

Tatiana S. Dushina
dr.dushina@mail.ru

Tatiana S. Dushina, Assistant of the Department of the Therapy with courses in Endocrinology, Functional and Ultrasound Diagnostics; *ORCID: 0000-0002-6329-593X*

Sergey N. Suplotov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics; *ORCID: 0000-0002-1736-4084*

Sergey M. Klyashev, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Therapy with courses in Endocrinology, Functional and Ultrasound Diagnostics; *ORCID: 0000-0001-7739-3859*

Lyudmila A. Suplotova, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Endocrinology course of the institute of CPD with the courses of Endocrinology, Functional and Ultrasound Diagnostics; *ORCID: 0000-0001-9253-8075*

Natalia I. Yuzhakova, Candidate Of Medical Sciences, Head of the Diagnostic Department of the University Multidisciplinary Clinic; *ORCID: 0000-0002-4801-7763*

Summary

Aim. To evaluate the features of the relationship between changes in the composition of the colon microbiota and factors of immunological reactivity in obesity in young people.

Materials and methods. The study involved 87 obese people (BMI 37.2 [34.1; 42.05] kg/m²) and 31 people with normal body weight (BMI 21.9 [20.2; 23.5] kg/m²). The participants underwent a study of lipid metabolism, cytokine profiles, immune status, and the composition of the colon microbiota was determined. The Microsoft Excel 2010 and IBM SPSS Statistics 26.0 application software package was used for statistical calculations. The results were evaluated as statistically significant at a level of $p < 0.05$.

Results. When analyzing the microbiota, in the obesity group compared to the control group, a statistically significant decrease in the bacteria *Faecalibacterium prausnitzii* and an increase in the bacteria *Prevotella* spp and *Fusobacterium nucleatum* were revealed. Associations of these microorganisms with the most important parameters of nonspecific and specific immunological reactivity were identified. In particular, a correlation between *Prevotella* spp and CRP, NBT spontaneous activity of neutrophils and the stimulation index of the NBT test of neutrophils has been traced. *A. muciniphila* correlated with MCP-1 and *F. nucleatum* — with Ig M. A large number of correlations have been identified in *F. prausnitzii* with indicators of cellular nonspecific and specific immunological reactivity. Thus, *F. prausnitzii* correlated with NBT-induced monocyte activity (%), NBT-induced neutrophil activity (%), phagocytic activity of neutrophils (%), phagocytic number of neutrophils, phagocytic number of monocytes, T-NK lymphocytes (CD3+16+56+) (%; cells/ μ l), T-lymphocytes with the CD3+25+ phenotype (%; cells/ μ l) and T-lymphocytes with the CD3+HLA DR+ phenotype (%; cells/ μ l).

Conclusion. The results of the study indicate the presence of associations of colon microbiota with the mechanisms of immunological reactivity in obesity in young people. The data obtained confirm the presence of a low-intensity chronic inflammatory process in obesity, the basis of which is the adaptive reactions of the immune system.

Keywords: obesity, low-grade inflammation, gut microbiota, immunological reactivity, cytokines

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Ожирение является глобальной проблемой общественного здравоохранения [1, 2]. В 2019 году избыточная масса тела и ожирение стали причиной около 5 миллионов смертей от таких неинфекционных заболеваний, как сердечно-сосудистая

патология, диабет, рак, неврологические расстройства, хронические респираторные заболевания и расстройства пищеварения [3]. Данная ситуация обуславливает необходимость детального

изучения патогенеза ожирения с целью разработки новых стратегий ранней диагностики и лечения.

В настоящее время в медицинской литературе появилась информация о воздействии микробиоты кишечника на состояние иммунологической реактивности организма человека [4, 5, 6]. При этом, некоторые авторы склоняются к мнению, что аналогичная ситуация наблюдается и при развитии ожирения, в ходе которого формируется хронический низкоуровневый воспалительный

процесс в жировой ткани [7, 8, 9]. Однако, развитие воспалительного процесса во многом определяется состоянием активности иммунной системы, что определяет актуальность проведения исследования взаимоотношений между изменениями микробиоты кишечника и иммунологической реактивностью у лиц с ожирением.

Цель: оценить особенности взаимосвязи состава микробиоты толстой кишки и факторов иммунологической реактивности при ожирении у лиц молодого возраста.

Материалы и методы

На базе Университетской многопрофильной клиники ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России проведено одноцентровое, поперечное, одномоментное, контролируемое исследование. В исследовании приняли участие 87 человек с ожирением (ИМТ 37,2 [34,1; 42,05] кг/м²) и 31 человек с нормальной массой тела (ИМТ 21,9 [20,2; 23,5] кг/м²), составлявшие группу контроля ($p < 0,001$). Средний возраст лиц группы контроля составил 29 [26,0; 34,0] лет, пациентов с ожирением – 28 [23,0; 37,0] лет ($p = 0,542$). Пациенты с ожирением в зависимости от ИМТ разделены на 3 группы в соответствии с классификацией ВОЗ, 1997 г. Критериями включения в исследование являлись: возраст от 18 до 44 лет, подписание информированного согласия, отсутствие тяжелой соматической патологии. Критерии невключения: возраст до 18 лет и старше 44 лет, обострение хронических соматических заболеваний, острые воспалительные заболевания за последний месяц, применение препаратов, влияющих на микробный состав (про-, пре-, син-, мета-, анти-биотики) и моторику кишечника (прокинетики, спазмолитики, слабительные препараты) за последние 3 месяца, вакцинация за последние 6 месяцев, травмы/оперативные вмешательства за последние 6 месяцев, злоупотребление алкоголем (потребление в неделю более 70 г этанола у женщин, или 140 г этанола у мужчин), беременность/лактация. Каждый участник исследования проходил опрос в форме заполнения анкеты, специально разработанной под цели и задачи данной работы. Проводилось измерение веса, роста, окружности талии (ОТ) и окружности бедер (ОБ), уровня артериального давления (АД).

Участники исследования в утренние часы сдавали венозную кровь для определения показателей углеводного и липидного обмена, цитокинового профиля, иммунного статуса. На биохимическом анализаторе BS-380 Mindray (Китай) в крови проводилось исследование содержания глюкозы, общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), липопротеидов высокой (ЛПВП), низкой (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП).

Исследование клеточных и гуморальных факторов неспецифического и специфического иммунного ответа осуществлялось с использованием гематологического анализатора Mindray BC-6800 (Китай) и проточного цитофлуориметра Citomics FC500 производства Beckman Coulter (США).

Оценка цитокинового профиля крови проводилась на основе исследования концентрации IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, гамма-интерферона, (ИФА-БЕСТ, Россия), TNF- α , («Альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ», Россия), MCP-1 (MCP-1-ИФА-БЕСТ (ИФА Вектор-БЕСТ, Россия), которые определяли с помощью микропланшетного анализатора Sunrise Bio-Rad TECAN (Австрия). Уровень высокочувствительного СРБ в сыворотке крови определяли с использованием тест-системы «СРБ-ИФА-БЕСТ высокочувствительный» (г. Новосибирск, Россия) на микропланшетном анализаторе Sunrise Bio-Rad TECAN (Австрия).

Состояние микробиоценоза толстой кишки оценивалось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР); НПО Альфа Лаб (Россия), обработка результатов проводилась с помощью программы «КолоноФлор – Премиум» v.2.1.5.0 (Россия) на оборудовании системы ПЦР в реальном времени с флуоресцентной детекцией BioRad CFX96 (США).

Проведение исследования одобрено Комитетом по этике при ФГБОУ ВО Тюменском ГМУ Минздрава России от 13 марта 2023 года, протокол № 113.

Для статистических расчетов был использован пакет прикладных программ Microsoft Excel 2010, IBM SPSS Statistics 26.0. Количественные переменные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Ме [Q25; Q75]). Для сравнительного анализа количественных показателей при непараметрическом распределении использовались – U-критерии Манна-Уитни, однофакторный дисперсионный анализ Краскала-Уоллиса. Для оценки и выявления связей между переменными применяли метод ранговой корреляции Спирмена. При множественных сравнениях применяли поправку Бонферрони. Результаты оценивались, как статистически значимые при уровне $p < 0,05$.

Результаты

Проведенные исследования микробиоты кишечника у лиц с ожирением позволили выявить определенные изменения микробиологического пейзажа толстой кишки. При анализе количественного содержания

микроорганизмов в группе ожирения по отношению к группе контроля выявлено статистически значимое снижение количества бактерий *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*) ($p = 0,030$) (табл. 1).

Таблица 1.

Сравнение количественных показателей филоотипов микроорганизмов в кале здоровых лиц и пациентов с ожирением (Me [Q1; Q3])

Филоотипы, количественные показатели	Контрольная группа, n=29	Группа ожирения, n=85	P
Общая бактериальная масса	1×10^{13} [4×10^{12} ; 3×10^{13}]	1×10^{13} [3×10^{12} ; 4×10^{13}]	0,982
<i>Lactobacillus spp</i>	1×10^7 [5×10^6 ; 3×10^7]	6×10^6 [8×10^5 ; 3×10^7]	0,326
<i>Bifidobacterium spp</i>	3×10^{10} [1×10^9 ; 1×10^{11}]	1×10^{10} [8×10^8 ; 7×10^{10}]	0,217
<i>Escherichia coli</i>	2×10^8 [4×10^7 ; 7×10^8]	4×10^8 [6×10^7 ; 2×10^9]	0,156
<i>Bacteroides spp</i>	1×10^{13} [4×10^{12} ; 2×10^{13}]	1×10^{13} [3×10^{12} ; 3×10^{13}]	0,850
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	8×10^{11} [1×10^{11} ; 2×10^{12}]	2×10^{11} [3×10^{10} ; 6×10^{11}]	0,030
Соотношение <i>Bacteroides spp</i> / <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	33,33 [15; 62,5]	35 [12,5; 100]	0,498
<i>Eubacterium rectale</i>	8×10^9 [4×10^8 ; 4×10^{10}]	8×10^9 [$5,5 \times 10^8$; 8×10^{10}]	0,808
<i>Acinetobacter spp</i>	$8,5 \times 10^6$ [2×10^6 ; 3×10^7]	1×10^7 [3×10^6 ; $5,5 \times 10^7$]	0,317
<i>Roseburia inulinivorans</i>	7×10^9 [1×10^8 ; 2×10^{10}]	4×10^9 [2×10^8 ; 2×10^{10}]	0,710
<i>Prevotella spp</i>	3×10^7 [4×10^6 ; 4×10^{10}]	1×10^{10} [6×10^7 ; 4×10^{11}]	0,029
<i>Bacteroides thetaomicronn</i>	2×10^{10} [4×10^8 ; 4×10^{10}]	4×10^9 [7×10^8 ; 2×10^{10}]	0,553
<i>Ruminococcus spp</i>	2×10^8 [$3,5 \times 10^6$; 1×10^9]	2×10^8 [1×10^7 ; 3×10^9]	0,446
<i>Streptococcus spp</i>	$6,5 \times 10^6$ [4×10^5 ; 4×10^7]	2×10^7 [3×10^6 ; 2×10^8]	0,086
<i>Blautia spp</i>	2×10^7 [2×10^6 ; 2×10^8]	1×10^8 [6×10^7 ; 3×10^9]	0,127
<i>Enterobacter spp</i>	4×10^7 [4×10^5 ; 2×10^8]	1×10^7 [1×10^6 ; $1,5 \times 10^8$]	0,937
<i>Staphylococcus aureus</i>	$2,5 \times 10^6$ [1×10^6 ; 1×10^7]	$4,5 \times 10^6$ [$1,5 \times 10^6$; 6×10^7]	0,482
<i>Methanobrevibacter smithii</i>	6×10^6 [1×10^6 ; 1×10^7]	6×10^7 [$6,5 \times 10^6$; 5×10^8]	0,063
<i>Methanosphaera stadmanae</i>	6×10^7 [2×10^7 ; 4×10^8]	8×10^7 [$3,3 \times 10^7$; 9×10^7]	0,833
<i>Parvimonas micra</i>	$2,5 \times 10^8$ [$7,5 \times 10^5$; $4,5 \times 10^{16}$]	3×10^6 [1×10^6 ; 5×10^8]	0,911
<i>Clostridium perfringens</i>	$1,4 \times 10^6$ [$5,5 \times 10^5$; $1,6 \times 10^7$]	3×10^6 [6×10^5 ; $8,5 \times 10^6$]	0,617
<i>Proteus vulgaris/mirabilis</i>	$1,6 \times 10^6$ [2×10^5 ; $4,5 \times 10^6$]	8×10^5 [3×10^5 ; 4×10^6]	0,788
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	2×10^5 [2×10^3 ; 7×10^6]	8×10^5 [$4,5 \times 10^3$; $3,5 \times 10^6$]	0,379
<i>Citobacter spp</i>	4×10^5 [2×10^3 ; 2×10^7]	3×10^6 [8×10^3 ; 1×10^7]	0,393
<i>Escherichia coli enteropathogenic</i>	$1,2 \times 10^4$ [4×10^3 ; 2×10^4]	$1,35 \times 10^6$ [$1,8 \times 10^4$; $5,5 \times 10^6$]	0,636
<i>Candida spp</i>	1×10^6 [1×10^6 ; 1×10^6]	$2,5 \times 10^6$ [1×10^6 ; 2×10^{13}]	1.000
<i>Enterococcus spp</i>	2×10^5 [2×10^5 ; 2×10^{51}]	$1,5 \times 10^{11}$ [$4,51 \times 10^7$; $6,5 \times 10^{11}$]	1.000
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	1.000
<i>Clostridium difficile</i>	3×10^{16} [3×10^{16} ; 3×10^{16}]	1×10^{16} [4×10^7 ; 2×10^{16}]	1.000
<i>Shigella spp</i>	7×10^5 [7×10^5 ; 7×10^{51}]	2×10^{16} [2×10^{16} ; 2×10^{16}]	1.000
<i>Akkermansia muciniphila</i>	0	1×10^{10} [3×10^6 ; 4×10^{10}]	1.000

F. prausnitzii являются бактериями с выраженной метаболической активностью, помимо синтеза шикимовой и салициловой кислот – веществ, обладающих выраженным противовоспалительным действием, данные микроорганизмы относятся к одним из основных продуцентов бутирата [10].

В исследовании выявлена отрицательная корреляция *F. prausnitzii* с возрастом ($r = -0,309$, $p = 0,004$), что еще раз подтверждает уменьшение разнообразия и сокращение бактерий, вырабатывающих бутират, с увеличением возраста человека [11]. Также выявлена умеренная отрицательная корреляционная связь *F. prausnitzii* с уровнем ТГ ($r = -0,333$, $p = 0,002$) и ЛПОНП ($r = -0,337$, $p = 0,002$).

Помимо снижения уровня *F. prausnitzii*, в группе ожирения выявлено статистически значимое повышение количества бактерий рода *Prevotella* ($p = 0,029$). Известно, что данные бактерии обладают широким спектром факторов вирулентности способствующих их патогенности и выживаемости в организме хозяина. К данным факторам относятся: фимбрии, везикулы внешней мембраны, протеолитические ферменты, адгезины, гемолизины, нуклеазы, устойчивость к окислительному стрессу и изменениям pH [12, 13]. К потенциальным факторам вирулентности относится так же липополисахарид (ЛПС). Факторы вирулентности усиливают воспалительный процесс путём

активации TLR2 (англ. Toll-like receptor, толл-подобный рецептор 2), что ведёт к продукции провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-8, IL-6, IL-23 и CCL20) [14]. Дополнительно, выявлено негативное действие бактерий на толщину защитного слоя слизи кишечника, уменьшение которого оказывает неблагоприятное действие [15].

Кроме того, необходимо отметить, что, отсутствующая в группе контроля, в группе ожирения выявляется *Akkermansia muciniphila* (*A. muciniphila*).

При анализе частоты встречаемости микробных представителей выявлено статистически достоверное превалирование бактерий *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) в группе ожирения (37,6%) в сравнении с группой контроля (10,3%) ($p = 0,005$). При этом, изменение содержания данных бактерий было прямо пропорционально степени ожирения, с достижением максимальных значений у пациентов с 3 степенью ожирения в сравнении с группой контроля ($p = 0,001$).

За счёт токсинов FadA, Fap2 и ЛПС бактерии *F. nucleatum* относятся к микроорганизмам, обладающим провоспалительным и протуморогенным потенциалом [16]. Помимо стимуляции синтеза провоспалительных цитокинов, данные бактерии способны повышать проницаемость кишечного барьера, подавляя экспрессию белков плотных контактов – zonula occludens-1 (ZO-1) и окклюдина [17].

Таблица 2.

Изменения показателей лейкограммы у пациентов с ожирением и контрольной группы (Me [Q25; Q75])

Показатель	Контрольная группа, n=31	Группа ожирения, n=87	p
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	5,55 [4,76; 6,15]	7,06 [6,14; 8,47]	< 0,001
Нейтрофилы,%	46,00 [43,35; 50,70]	52,20 [46,70; 58,10]	< 0,001
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	2,51 [2,06; 2,92]	3,81 [3,06; 4,75]	< 0,001
Лимфоциты,%	40,20 [36,55; 45,20]	36,40 [30,05; 41,45]	0,010
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	2,13 [1,72; 2,55]	2,46 [2,02; 3,10]	0,006
Моноциты,%	8,70 [7,45; 9,85]	7,50 [6,60; 8,60]	0,011
Моноциты 10 ⁹ /л	0,49 [0,36; 0,57]	0,53 [0,46; 0,66]	0,030
Эозинофилы%	2,40 [1,65; 4,40]	2,30 [1,50; 3,50]	0,513
Базофилы%	0,80 [0,45; 1,10]	0,60 [0,40; 0,80]	0,101

В исследовании выявлена умеренная обратная корреляция уровня *F. nucleatum* со сроком грудного вскармливания ($r = -0,493$, $p = 0,009$), что подтверждает благотворное влияние материнского молока на созревание микробиоты ребенка.

В последнее время при обсуждении патогенеза ожирения активно обсуждается участие микробиоты кишечника в развитии низкоуровневого воспаления, ее влияние на процессы иммунной защиты организма [18]. В связи с чем, в настоящем исследовании нами проведена оценка основных параметров иммунологической реактивности у пациентов с ожирением.

Результаты исследования показателей клеточного звена врожденного иммунитета показали следующие изменения (табл. 2). У пациентов с ожирением в сравнении с контрольной группой в крови отмечалось увеличение числа лейкоцитов ($p < 0,001$), преимущественно за счёт повышения уровня нейтрофилов, как в абсолютном, так и в процентном отношении ($p < 0,001$, $p < 0,001$ соответственно).

Важной особенностью лейкограммы является наличие дисбаланса в количественном содержании лимфоцитов и моноцитов в зависимости от единиц измерения уровня данных клеток. При оценке количества лимфоцитов и моноцитов в процентах, уровень этих клеток был достоверно ниже ($p = 0,010$, $p = 0,011$ соответственно), а при их выражении в абсолютных числах (10⁹/л) – выше в группе пациентов с ожирением в сравнении с контрольной группой ($p = 0,006$, $p = 0,030$ соответственно).

Оценка функциональной активности указанных клеток осуществлялась посредством изучения их способности к фагоцитозу. У лиц с ожирением отмечалось повышение уровня индекса стимуляции НСТ-теста нейтрофильных гранулоцитов до 8,11 [6,42; 10,85] у.е., по сравнению с группой контроля – 7,43 [5,04; 9,54] у.е., ($p = 0,038$) на фоне некоторого снижения НСТ спонтанной активности нейтрофилов, которая в группе ожирения составляет 10,56% [7,11; 13,51], в группе – контроля 12,22 [8,90; 18,24] ($p = 0,036$).

Изучение содержания в крови НК-клеток (CD3–16+56+) не выявило каких-либо существенных различий показателя между контрольной группой и группой ожирения.

Исследование клеточного звена специфической иммунологической реактивности при ожирении показало наличие некоторых отклонений от аналогичных значений показателей контрольной группы (табл. 3). В частности, у пациентов с ожирением наблюдается повышение абсолютного числа Т-лимфоцитов (CD3+19-) в крови по сравнению с группой контроля ($p = 0,002$). Оценка фенотипов Т-лимфоцитов показала наличие более высокого уровня Т-хелперов (Т-h, CD3+CD4+) в абсолютном значении, на фоне сниженного процентного содержания Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+) ($p = 0,001$, $p = 0,033$ соответственно). При этом, данные изменения характеризуются повышением уровня иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8) ($p = 0,022$), что, в целом, свидетельствует о повышении уровня

Таблица 3.

Показатели клеточного звена специфического иммунного ответа крови при ожирении и контрольной группы (Me [Q1; Q3])

Показатель	Контрольная группа, n=31	Группа ожирения, n=87	P
Т-лимф. (CD3+19-),%	75,89 [72,99 84,14]	80,57 [75,70; 83,65]	0,480
Т-лимф. (CD3+19-) кл/мкл	1567,00 [1343,50; 1924,50]	2029,00 [1553,00; 2433,50]	0,002
Т-хелперы (CD3+4+),%	47,64 [41,28; 52,93]	50,52 [45,17; 54,85]	0,100
Т-хелперы (CD3+4+) кл/мкл	920,00 [775,00; 1241,00]	1233,00 [946,00; 1560,00]	0,001
Т-цитотокс. (CD3+8+),%	28,39 [24,03; 30,40]	23,43 [20,31; 28,31]	0,033
Т-цитотокс. (CD3+8+) кл/мкл	574,00 [403,00; 684,00]	616,00 [464,00; 753,00]	0,213
CD4/CD8 у.е.	1,64 [1,44; 2,20]	2,03 [1,69; 2,66]	0,022
Т-НК лимф.(CD3+16+56+),%	2,19 [0,93; 3,83]	1,16 [0,49; 3,00]	0,112
Т-НК лимф. (CD3+16+56+)кл/мкл	39,00 [20,00; 82,50]	27,00 [13,50; 73,00]	0,339
НК-лимф.,%	9,28 [4,54; 12,69]	7,52 [3,39; 10,05]	0,197
НК-лимф.(CD3–16+56+) кл/мкл	170,00 [90,00; 253,00]	-	0,771
Т-лимфоц. (CD3+25+),%	3,01 [1,57; 4,21]	2,86 [1,91; 4,11]	0,705
Т-лимфоц. (CD3+25+)	60,00 [38,00; 85,00]	66,00 [46,00; 99,50]	0,101
Т-лимф.(CD3+HLA DR+)	1,28 [1,05; 1,79]	1,30 [1,03; 1,76]	0,901
Т-лимф.(CD3+HLA DR+) кл/мкл	28,50 [20,00; 38,00]	32,00 [24,50; 44,50]	0,049
В-лимфоциты (CD3–19+),%	10,27 [7,52; 12,74]	10,65 [8,09; 13,16]	0,812
В-лимфоциты (CD3–19+)кл/мкл	211,0 [149,5; 294,5]	246,0 [189,5; 359,5]	0,061

Таблица 4.
Показатели содержания цитокинов в крови у пациентов с ожирением и контрольной группы (Ме [Q1; Q3])

Показатель	Контрольная группа, n=31	Группа ожирения, n=87	p
TNF- α , пкг/мл,	1,00 [1,00; 1,00]	1,00 [1,00; 1,00]	0,529
IL-6, пкг/мл	0,5 [0,5; 0,5]	0,67 [0,50; 1,10]	< 0,001
IL-18, пкг/мл	198 [155; 242]	204 [163; 246]	0,485
МСП-1, пкг/мл	227 [196; 256]	276 [226; 357]	0,010
ИФ-гамма, пкг/мл	2,0 [2,0; 2,0]	2,0 [2,0; 2,0]	0,112
IL-4, пкг/мл	0,4 [0,4; 0,4]	0,4 [0,4; 0,4]	0,102
IL-8, пкг/мл	3,88 [2,76; 5,15]	5,07 [3,28; 7,45]	0,132
IL-10, пкг/мл	1,41 [1,09; 1,63]	1,85 [1,41; 2,28]	0,022

активности клеточного адаптивного иммунитета. Последнее подтверждается и увеличением абсолютного числа активированных Т-лимфоцитов с фенотипом CD3+HLA-DR+ ($p=0,049$).

В ходе исследования гуморального звена иммунологической реактивности, выявлены существенные изменения цитокинового профиля у пациентов с ожирением (табл. 4). В частности, в сравнении с контрольной группой, у пациентов с ожирением в крови отмечается более высокое содержания IL-6 ($p<0,001$), IL-10 ($p=0,022$) и МСП-1 ($p=0,010$).

Учитывая выявленные изменения, можно полагать, что при ожирении происходит формирование скрытого воспалительного процесса. Наличие воспалительного процесса низкого уровня при ожирении в настоящем исследовании подтверждается более высокой концентрацией СРБ в крови, а также С3 и С4-компонентов комплемента. Так, уровень СРБ составил в контрольной группе 2,4 [1,22; 4,52] мг/л, а у лиц с ожирением 6,41 [3,97; 10,29] мг/л ($p<0,001$). Содержание С3-компонента комплемента в группе контроля – 1,02 [0,96; 1,12] г/л, при ожирении – 1,45 [1,32; 1,60] г/л ($p<0,001$). Аналогично изменялось значение С4-компонента комплемента, а именно, у лиц контрольной группы он составил 0,20 [1,19; 0,24] г/л, у пациентов с ожирением – 0,30 [0,255; 0,350] г/л ($p<0,001$).

В целом, можно сделать заключение о том, что ожирение у молодых людей сопровождается специфическими изменениями как показателей иммунологической реактивности организма, так и состава микробиоты толстой кишки. Для оценки взаимосвязи выявленных отклонений было проведено исследование корреляций изучаемых показателей иммунитета и микробиоты толстой кишки.

Обсуждение

Проведенный анализ полученных данных позволил выявить изменения показателей отдельных звеньев иммунитета и микробиоты толстой кишки при ожирении, а также провести оценку корреляционной связи между ними. Установлено, что у пациентов с ожирением происходит повышение содержания в кале бактерий рода *Prevotella* и снижение *F. prausnitzii*. Согласно литературным данным, повышение количества *Prevotella spp* ассоциировано с хроническим воспалительным процессом и дисфункцией слизистой оболочки кишечника [13]. В нашей работе показано наличие прямой корреляционной связи бактерии *Prevotella spp* с НСТ-спонтанной активностью нейтрофилов.

При оценке корреляционной связи между содержанием *Prevotella spp* с показателями неспецифической иммунологической реактивности у пациентов с ожирением, были выявлены следующие особенности. Наблюдалась прямая корреляционная связь уровня *Prevotella spp* с СРБ ($r=0,285$, $p=0,014$) и НСТ-спонтанной активностью нейтрофилов ($r=0,396$, $p<0,001$), обратная корреляция с индексом стимуляции НСТ-теста нейтрофилов ($r=-0,395$, $p<0,001$).

Прослеживалась высокая корреляционная связь уровня *A. muciniphila* с МСП-1 ($r=0,900$, $p=0,037$), умеренная – *F. nucleatum* с IgM ($r=0,413$, $p=0,019$). Множество корреляций выявлено с уровнем *F. prausnitzii*, в частности, из показателей неспецифической иммунологической реактивности выявлена прямая корреляция с НСТ-индуцированной активностью моноцитов (%) ($r=0,393$, $p<0,001$), НСТ-индуцированной активностью нейтрофилов (%) ($r=0,262$, $p=0,016$), фагоцитарной активностью нейтрофилов (%) ($r=0,229$, $p=0,035$), обратная корреляция с фагоцитарным числом нейтрофилов ($r=-0,218$, $p=0,045$) и фагоцитарным числом моноцитов ($r=-0,293$, $p=0,006$).

При анализе показателей специфической иммунологической реактивности выявлена обратная корреляция *F. prausnitzii* с Т-NK лимфоцитами (CD3+16+56+) как с процентным ($r=-0,382$, $p<0,001$), так и с абсолютным числом ($r=-0,398$, $p<0,001$) данных клеток. Также обратная корреляционная связь *F. prausnitzii* наблюдалась с процентным ($r=-0,296$, $p=0,006$) и абсолютным числом ($r=-0,285$, $p=0,008$) Т-лимфоцитов с фенотипом CD3+25+, с процентным ($r=-0,310$, $p=0,004$) и абсолютным числом ($r=-0,265$, $p=0,014$) Т-лимфоцитов с фенотипом CD3+HLA DR+.

Также отмечается статистически достоверная обратная корреляционная связь между *Prevotella spp* и индексом стимуляции НСТ-нейтрофилов. Полученные результаты могут свидетельствовать о формировании в патогенезе ожирения компенсаторно-приспособительных механизмов неспецифического клеточного иммунитета. Данная ситуация при ожирении может быть обусловлена наличием воспалительного процесса низкой интенсивности, а также нарушениями состава и функциональной активности микробиоты кишечника [19]. Подтверждением данного заключения в нашей работе является наличие прямой корреляционной связи *Prevotella spp* с повышенным уровнем СРБ.

У пациентов с ожирением выявлено снижение уровня *F. prausnitzii*. Данным бактериям характерно противовоспалительное действие, которое, предположительно, связано с блокировкой активации NF-κB (англ. Nuclear factor κB, ядерный фактор κB), что приводит к снижению выработки провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-12 и IL-8, с одновременной стимуляцией секреции противовоспалительного IL-10. Кроме противовоспалительного действия, бактерии улучшают барьерную функцию кишечника путём стимуляции экспрессии белков плотных контактов и пролиферации эпителиальных клеток толстой кишки [20, 21]. Перечисленные эффекты оказывают влияние на низкоуровневое воспаление, связанное с ожирением, и делают *F. prausnitzii* наиболее перспективным пробиотиком нового поколения (англ. Next-generation probiotics, NGP) [22, 23]. Влияние на липидный обмен, по всей видимости, обусловлено воздействием бактерий через бутират [24]. Точный механизм участия бутирата в процессе атерогенеза до конца не изучен, предполагается, что он оказывает влияние путём повышения экспрессии белков SESN2/CRTC2 (англ. Sestrin-2, сестрин-2) [25].

Оценка корреляционной взаимосвязи количества *F. prausnitzii* с исследуемыми показателями иммунной системы подтверждает определенную роль микробиоты в механизмах формирования иммунного ответа на воспалительный процесс в жировой ткани. Со стороны клеточной неспецифической иммунологической реактивности определена достоверная прямая корреляционная связь уровня *F. prausnitzii* с активностью фагоцитоза нейтрофилов, НСТ-индуцированной активностью

моноцитов и нейтрофилов. При этом, отмечается наличие достоверной отрицательной связи между *F. prausnitzii* и фагоцитарным числом нейтрофилов. Данные изменения свидетельствуют о некотором снижении активности клеточного механизма врожденного иммунитета с сохранением полноценной функции клеток к фагоцитозу.

У пациентов с ожирением в крови отмечается повышение содержания IL-6, IL-10 и MCP-1. Учитывая функциональное значение указанных цитокинов, можно предполагать наличие определенного баланса между провоспалительными и противовоспалительными процессами при ожирении. Причем, судя по увеличению уровня в крови MCP-1, происходит активация механизмов, направленных на стимуляцию фагоцитарной функции клеток крови. В этом убеждает и повышение индекса стимуляции НСТ-теста нейтрофильных гранулоцитов, на фоне увеличения в крови абсолютного числа моноцитов, процентного и абсолютного значения нейтрофилов.

Взаимосвязь показателей специфического клеточного иммунитета и микрофлоры кишечника при ожирении в большей степени ассоциирована с изменениями в содержании клеток Т-системы лимфоцитов. Это характеризуется наличием статистически достоверной отрицательной корреляционной связи *F. prausnitzii* с Т-NK-лимфоцитами, лимфоцитами с фенотипом CD3+25+ и CD3+HLA-DR. При этом, у лиц с ожирением, как было показано ранее, отмечено достоверно более высокое содержание Т-лимфоцитов (CD3+HLA-DR). Таким образом, снижение количества *F. prausnitzii* в толстой кишке коррелирует с активацией Т-клеточного звена иммунной системы.

Заключение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о наличии ассоциаций микрофлоры толстой кишки с параметрами иммунологической реактивности при ожирении у молодых людей. Бактерии *Prevotella spp* и *F. prausnitzii* имеют наибольшее количество корреляционных связей с показателями клеточного врожденного и приобретенного иммунитета.

Полученные данные подтверждают наличие при ожирении хронического воспалительного процесса низкой интенсивности, основу которого составляют компенсаторно-приспособительные реакции иммунной системы.

Вклад авторов:

Концепция статьи – Кляшев С.М., Суплютов С.Н.
 Концепция и дизайн исследования – Кляшев С.М., Суплютов С.Н., Душина Т.С.
 Написание текста – Душина Т.С., Суплютов С.Н., Кляшев С.М., Суплютова Л.А., Южакова Н.Ю.
 Сбор и обработка материала – Душина Т.С., Южакова Н.Ю.
 Обзор литературы – Душина Т.С.
 Перевод на английский язык – Душина Т.С.
 Анализ материала – Душина Т.С., Суплютов С.Н., Кляшев С.М., Суплютова Л.А.
 Редактирование – Душина Т.С., Суплютов С.Н.
 Утверждение окончательного варианта статьи – Кляшев С.М.

Contribution of authors:

Concept of the article – Sergey M. Klyashev, Sergey N. Suplotov
 Study concept and design – Sergey M. Klyashev, Sergey N. Suplotov, Tatiana S. Dushina
 Text development – Tatiana S. Dushina, Sergey N. Suplotov, Sergey M. Klyashev, Lyudmila A. Suplotova, Natalia I. Iuzhakova
 Collection and processing of material – Tatiana S. Dushina, Natalia I. Iuzhakova
 Literature review – Tatiana S. Dushina
 Translation into English – Tatiana S. Dushina
 Material analysis – Tatiana S. Dushina, Sergey N. Suplotov, Sergey M. Klyashev, Lyudmila A. Suplotova
 Editing – Tatiana S. Dushina, Sergey N. Suplotov
 Approval of the final version of the article – Sergey M. Klyashev

Литература | References

- Bray G.A., Kim K.K., Wilding J.P.H. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obes Rev.* 2017;18(7):715–723. doi: 10.1111/obr.12551.
- DeJesus RS, Croghan IT, Jacobson DJ, Fan C, St Sauver J. Incidence of Obesity at 1 and 3 Years Among Community Dwelling Adults: A Population-Based Study. *J Prim Care Community Health.* 2022;13:21501319211068632. doi: 10.1177/21501319211068632.
- GBD 2019 Risk Factors Collaborators. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet.* 2020;396(10258):1223–1249. doi: 10.1016/S0140–6736(20)30752–2.
- Hotamisligil G.S., Shargill N.S., Spiegelman B.M. Adipose Expression of Tumor Necrosis Factor- α : Direct Role in Obesity-Linked Insulin Resistance. *Science.* 1993;259(5091):87–91. doi: 10.1126/science.7678183.
- Wang J, Zhu N, Su X, Gao Y, Yang R. Gut-Microbiota-Derived Metabolites Maintain Gut and Systemic Immune Homeostasis. *Cells.* 2023;12(5):793. doi: 10.3390/cells12050793.
- Ullah H., Arbab S., Tian Y. et al. Crosstalk between gut microbiota and host immune system and its response to traumatic injury. *Front Immunol.* 2024;15:1413485. doi: 10.3389/fimmu.2024.1413485.
- Erin B. Taylor. The complex role of adipokines in obesity, inflammation, and autoimmunity. *Clin Sci (Lond).* 2021;135(6):731–752. doi: 10.1042/CS20200895.
- Vetrani C., Di Nisio A., Paschou SA et al. From Gut Microbiota through Low-Grade Inflammation to Obesity: Key Players and Potential Targets. *Nutrients.* 2022; 14(10):2103. doi: 10.3390/nu14102103.
- Liébana-García R., Olivares M., Bullich-Vilarrubias C. et al. The gut microbiota as a versatile immunomodulator in obesity and associated metabolic disorders. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2021;35(3):101542. doi: 10.1016/j.beem.2021.101542.
- Effendi R.M.R.A., Anshory M., Kalim H. et al. Akkermansia muciniphila and Faecalibacterium prausnitzii in Immune-Related Diseases. *Microorganisms.* 2022;10(12):2382. doi: 10.3390/microorganisms10122382.
- Casati M., Ferri E., Azzolino D. et al. Gut microbiota and physical frailty through the mediation of sarcopenia. *Exp Gerontol.* 2019;124:110639. doi: 10.1016/j.exger.2019.110639.
- Könönen E., Fteita D., Gursoy U.K., Gursoy M. *Prevotella* species as oral residents and infectious agents with potential impact on systemic conditions. *J Oral Microbiol.* 2022;14(1):2079814. doi: 10.1080/20002297.2022.2079814.
- Sharma G., Garg N., Hasan S., Shirodkar S. *Prevotella*: An insight into its characteristics and associated virulence factors. *Microb Pathog.* 2022;169:105673. doi: 10.1016/j.micpath.2022.105673.
- Larsen JM. The immune response to *Prevotella* bacteria in chronic inflammatory disease. *Immunology.* 2017;151(4):363–374. doi: 10.1111/imm.12760.
- Rolhion N., Chassaing B., Nahori M.A. et al. A *Listeria monocytogenes* Bacteriocin Can Target the Commensal *Prevotella copri* and Modulate Intestinal Infection. *Cell Host Microbe.* 2019;26(5):691–701.e5. doi: 10.1016/j.chom.2019.10.016.
- Engevik M.A., Danhof H.A., Ruan W. et al. *Fusobacterium nucleatum* secretes outer membrane vesicles and promotes intestinal inflammation. *MBio.* 2021;12(2):e02706–20. doi: 10.1128/mBio.02706–20.
- Liu H., Hong X.L., Sun T.T. et al. *Fusobacterium nucleatum* exacerbates colitis by damaging epithelial barriers and inducing aberrant inflammation. *J Dig Dis.* 2020;21(7):385–398. doi: 10.1111/1751–2980.
- Vetrani C., Di Nisio A., Paschou S.A. et al. From Gut Microbiota through Low-Grade Inflammation to Obesity: Key Players and Potential Targets. *Nutrients.* 2022;14(10):2103. doi: 10.3390/nu14102103.
- Di Vincenzo F., Del Gaudio A., Petito V. et al. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *Intern Emerg Med.* 2024;19:275–293. doi: 10.1007/s11739–023–03374-w.
- Sugawara Y., Kanazawa A., Aida M. et al. Association of gut microbiota and inflammatory markers in obese patients with type 2 diabetes mellitus: post hoc analysis of a synbiotic interventional study. *Biosci Microbiota Food Health.* 2022;41(3):103–111. doi: 10.12938/bmfh.2021–081.
- Xu J., Liang R., Zhang W. et al. *Faecalibacterium prausnitzii*-derived microbial anti-inflammatory molecule regulates intestinal integrity in diabetes mellitus mice via modulating tight junction protein expression. *J Diabetes.* 2020;12(3):224–236. doi: 10.1111/1753–0407.12986.
- Vallianou N.G., Kounatidis D., Tsilingiris D. et al. The Role of Next-Generation Probiotics in Obesity and Obesity-Associated Disorders: Current Knowledge and Future Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2023;24(7):6755. doi: 10.3390/ijms24076755.
- Chang C.J., Lin T.L., Tsai Y.L. et al. Next generation probiotics in disease amelioration. *J Food Drug Anal.* 2019;27(3):615–622. doi: 10.1016/j.jfda.2018.12.011.
- Xiao Y., Guo Z., Li Z. et al. Role and mechanism of action of butyrate in atherosclerotic diseases: a review. *J Appl Microbiol.* 2021;131(2):543–552. doi: 10.1111/jam.14906.
- Tokarek J., Gadzinowska J., Młynarska E. et al. What Is the Role of Gut Microbiota in Obesity Prevalence? A Few Words about Gut Microbiota and Its Association with Obesity and Related Diseases. *Microorganisms.* 2021;10(1):52. doi: 10.3390/microorganisms10010052.