

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

на правах рукописи

Лобанова Кристина Геннадьевна

ВЛИЯНИЕ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ НА ОСОБЕННОСТИ
РАЗВИТИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА И ПЕРСОНАЛИЗАЦИЮ
САХАРОСНИЖАЮЩЕЙ ТЕРАПИИ

14.01.02 – Эндокринология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Демидова Татьяна Юльевна

Москва, 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Кишечная микробиота и ее активные метаболиты	13
1.1.1. Определение и классификация кишечной микробиоты	13
1.1.2. Функциональные возможности кишечной микробиоты.....	18
1.1.3. Активные метаболиты кишечной микробиоты	19
1.2. Кишечная микробиота в патогенезе СД2.....	22
1.2.1 Влияние кишечной микробиоты на развитие инсулинорезистентности	23
1.2.2 Влияние кишечной микробиоты на развитие β -клеточной и α -клеточной дисфункции поджелудочной железы	27
1.2.3 Влияние кишечной микробиоты на развитие L-клеточной дисфункции и нарушение инкретинового эффекта	29
1.3. Характер изменений кишечной микробиоты у пациентов с СД2.....	31
1.4. Влияние состава кишечной микробиоты на эффективность сахароснижающей терапии	32
1.5. Резюме	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	35
2.1 Дизайн исследования	35
2.2 Методы исследования	39
2.2.1 Антропометрический анализ	39
2.2.2 Биохимический и гормональный анализы крови	40
2.2.3 Генетическое исследование метагенома человека 16S рРНК секвенирование кишечной микробиоты	41
2.2.4 Статистический анализ	43
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	45
3.1. Общая характеристика пациентов с впервые выявленным СД2	45
3.2. Состав кишечной микробиоты у пациентов с впервые выявленным СД2	48
3.2.1 Таксономический состав.....	49

3.2.2	Энтеротипы	56
3.2.3	«Микробиотические кооперативы»	62
3.2.4	α -разнообразие	68
3.2.5	Метаболический потенциал кишечной микробиоты	70
3.3.	Влияние кишечной микробиоты на основные звенья патогенеза СД2: инсулинорезистентность, дисфункцию α - и β -клеток ПЖЖ и L-клеток кишечника	75
3.3.1	Описательная характеристика пациентов с впервые выявленным СД2 по гормональному профилю	75
3.3.2	Влияние кишечной микробиоты на развитие инсулинорезистентности	78
3.3.3	Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции β -клеток поджелудочной железы	81
3.3.4	Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции α -клеток поджелудочной железы	86
3.3.5	Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции L-клеток кишечника	89
3.4.	Влияние кишечной микробиоты на клинические характеристики пациентов с впервые выявленным СД2	95
3.4.1	Влияние кишечной микробиоты на антропометрические характеристики пациентов с впервые выявленным СД2	95
3.4.2	Влияние кишечной микробиоты на показатели углеводного обмена у пациентов с впервые выявленным СД2	101
3.4.3	Влияние кишечной микробиоты на показатели липидного обмена у пациентов с впервые выявленным СД2	105
3.5	Оценка эффективности сахароснижающей терапии в зависимости от состава кишечной микробиоты	110
3.5.1	Оценка эффективности стартовой сахароснижающей терапии у пациентов с впервые выявленным СД2	110
3.5.2	Оценка эффективности сахароснижающей терапии в зависимости от динамики снижения HbA1c и состава кишечной микробиоты	114
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ		123
4.1	Состав кишечной микробиоты у пациентов с впервые выявленным СД2	123

4.2 Влияние кишечной микробиоты на звенья патогенеза СД2: инсулинорезистентность, дисфункцию α - β -клеток поджелудочной железы и L-клеток кишечника	129
4.2.1 Влияние кишечной микробиоты на развитие инсулинорезистентности	130
4.2.2 Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции β -клеток поджелудочной железы	131
4.2.3 Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции α -клеток поджелудочной железы	132
4.2.4 Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции L-клеток кишечника	132
4.3 Влияние кишечной микробиоты на клинические характеристики пациентов с впервые выявленным СД2.....	134
4.3.1 Влияние кишечной микробиоты на антропометрические характеристики пациентов с впервые выявленным СД2	134
4.3.2 Влияние кишечной микробиоты на показатели углеводного обмена у пациентов с впервые выявленным СД2	137
4.3.3 Влияние кишечной микробиоты на показатели липидного обмена у пациентов с впервые выявленным СД2	138
4.4 Влияние кишечной микробиоты на эффективность проводимой сахароснижающей терапии	141
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	145
ВЫВОДЫ	147
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	148
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	149
ГЛОССАРИЙ.....	151
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	152

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Сахарный диабет 2 типа (СД2) – это постоянно прогрессирующее заболевание, характеризующееся возникновением хронической гипергликемии на фоне инсулинорезистентности (ИР) или относительной инсулиновой недостаточности [1]. В настоящее время в мире отмечается лавинообразное увеличение количества больных СД. Предполагается, что к 2045г. по сравнению с данными 2021г. (536,6 млн.) количество пациентов с СД возрастет на 46% (до 783,2 млн.) [2].

Несмотря на то, что СД2 является одним из самых распространенных в мире заболеваний, причинно-следственная связь развития данного заболевания не до конца изучена. На данный момент описано 11 звеньев патогенеза СД2 [3]. Основными причинами развития заболевания являются ИР жировой ткани, мышечной ткани и печени; гиперактивность α -клеток и дисфункция β -клеток поджелудочной железы (ПЖЖ); нарушение инкретинового эффекта; развитие слабо выраженного системного воспаления и др. [3, 4, 5]. Новым и наиболее перспективным в отношении изучения фактором возникновения заболевания является кишечная микробиота (КМ) [3, 6, 7].

КМ – это совокупность микроорганизмов, заселяющих желудочно-кишечный тракт (ЖКТ). Наиболее богатой и изученной является микробиота толстого кишечника. Поэтому под термином «КМ» как правило подразумевается бактериальное разнообразие дистального отдела ЖКТ. На данный момент описано 2172 вида бактерий, разделенных на 12 типов. При этом доминирующими типами бактерий являются *Bacteroides*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Actinobacteria* [8, 9].

Несмотря на то, что в настоящее время накоплено недостаточно данных о влиянии КМ на механизмы развития СД2, возникновение заболевания объясняется снижением выработки биологически активных метаболитов бактериями кишечника за счет изменения состава или обеднения разнообразия кишечной микрофлоры [6, 10]. К основным кишечным метаболитам относят короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), индол, серотонин, сероводород (H_2S), вторичные жёлчные кислоты (ВЖК) [10, 11].

Ключевыми метаболитами КМ являются КЦЖК (бутират, пропионат и ацетат), которые образуются в просвете кишечника за счет ферментации сложных углеводов [12]. К эффектам бутирата причисляют обеспечение клеток кишечника энергией, а также поддержание процессов пролиферации и дифференцировки колоноцитов [13]. Пропионат также является энергетическим субстратом для клеток кишечного эпителия, в то время, как ацетат необходим для

энергообеспечения кишечных бактерий [14, 15]. Более того, при связывании КЦЖК со своими рецепторами GPR41 и GPR43, осуществляется контроль проницаемости кишечного барьера для эндотоксинов и предупреждение развития системного воспаления, регулируются процессы липолиза, липогенеза и глюконеогенеза, чувствительность периферических тканей к инсулину, синтез инкретиновых гормонов и инсулина [16, 17].

Несмотря на то, что индол, в первую очередь, участвует в образовании кишечных биопленок и межклеточных плотных соединений [18], серотонин регулирует процессы кишечной секреции, перистальтики и проницаемости ЖКТ-барьера [19], H₂S способствует вазодилатации и активации ангиогенеза [20], а ВЖК обеспечивают физиологическую энтерогепатическую циркуляцию жёлчных кислот в организме [21], все эти метаболиты КМ также принимают участие в метаболизме углеводов и липидов, синтезе инкретиновых гормонов и инсулина, контроле регуляции аппетита [18, 22, 23, 24]. Следовательно, при изменении состава и разнообразия КМ, тогда, когда резко снижается синтез её активных метаболитов, увеличивается риск развития СД2.

На сегодняшний день имеются противоречивые данные о влиянии тех или иных бактерий на развитие нарушений углеводного обмена. Так, с одной стороны, считается, что у пациентов с СД2 снижается количество КЦЖК-продуцирующих грамположительных бактерий, относящихся к типу Firmicutes [25, 26, 27]. С другой стороны, имеются данные, что при повышении в микробиотическом разнообразии грамположительных бактерий рода Blautia типа Firmicutes риск развития СД2 резко увеличивается [28, 29]. Однако важно заметить, что в исследовании Inoue и соавт., среди пациентов с СД2 бактерии рода Blautia отрицательно коррелировали с уровнем гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) [30]. Таким образом, мнение о том, что снижение количества грамположительных Firmicutes ассоциировано с риском развития СД2 не является достоверным. Имеющиеся в настоящее время противоречия можно объяснить тем, что в большинстве опубликованных работ исследовалась связь отдельно взятых бактерий кишечника (2172 вида) с СД2, что затрудняло установление причинно-следственной связи между КМ и развитием заболевания и определяло необходимость разработки новой классификации КМ, упрощающей изучение влияний бактериального разнообразия на развитие СД2.

Одна из таких классификаций основана на выявлении доминирующего рода бактерий и определении устойчивого варианта микробного состава кишечника (энтеротипа (ЭТ)) [31]. В настоящее время проведено одно исследование на пациентах с СД2, результаты которого позволили выявить 2 ЭТ (Bacteroides, Prevotella) и установить, что ЭТ Bacteroides связан с риском развития СД2 [32]. Однако опубликованное исследование не позволяет сделать окончательный вывод в отношении возможности использования ЭТ при оценке риска развития СД2, что определяет необходимость дальнейшего выявления и описания ЭТ у пациентов с данным заболеванием.

Другая классификация КМ основана на выявлении устойчивых сообществ бактерий, в которых имеются доминирующие и второстепенные микроорганизмы. Доминирующие бактерии вырабатывают биоактивные молекулы, сигналы которых воспринимают второстепенные бактерии. Таким образом, все представители микробного сообщества («микробиотического кооператива») выполняют единую функцию [33]. Среди пациентов с СД2 «микробиотические кооперативы» (МК) ранее не изучались, что определяет особый интерес с точки зрения идентификации и описания МК у пациентов с данным заболеванием.

Также важно отметить, что в течение последнего десятилетия преимущественно изучался состав КМ у пациентов с установленным диагнозом СД2 без ассоциации КМ с патогенетическими звеньями развития данного заболевания, в связи с чем сложно утверждать, что изменение состава КМ влияло на развитие углеводных нарушений. Быть может развитие предиабета и СД2 было ассоциировано с развитием кишечного дисбиоза. Следовательно, необходимо проведение дополнительных исследований, основанных не только на выявлении взаимосвязи КМ и её таксономических и функциональных характеристик (ЭТ и МК, соответственно) с показателями углеводного обмена, но и на определении влияний КМ на развитие ИР, α - и β -клеточной дисфункции ПЖЖ, нарушении синтеза инкретиновых гормонов и инсулина, являющихся ключевыми звеньями патогенеза СД2.

Полученные результаты позволят охарактеризовать причинно-следственную связь между КМ и углеводными нарушениями, выявить микробиотические критерии оценки риска развития и прогрессирования заболевания и расширить возможности персонализированного подхода к управлению СД2.

Степень разработанности темы исследования

В течение последнего десятилетия отмечается лавинообразное увеличение количества исследований, посвященных изучению состава КМ у пациентов с разными заболеваниями: сердечно-сосудистыми (артериальная гипертензия (АГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС)), метаболическими (СД1 и СД2, ожирение), неврологическими (болезнь Альцгеймера), психическими (депрессия, шизофрения) и др. Наиболее крупными работами, в которых изучался состав КМ у пациентов с СД2 являются исследования Maskarinec и соавт., [34], Zhang и соавт. [35], Ahmad и соавт. [36], Thingholm и соавт. [37], Doumatey и соавт. [38], Zhao и соавт. [39], Wang и соавт. [32]. Единственными систематическими обзорами и метаанализами, в которых сравнивался состав КМ между пациентами с СД2 и контрольными группами на основании данных 7 исследований и 13 исследований, являются работы Que и соавт. [40] и Umirah и соавт. [41], соответственно. При этом в литературе найдено одно исследование, посвященное не только

изучению состава КМ у пациентов с углеводными нарушениями, но и поиску взаимосвязи кишечных бактерий с ключевым звеном развития СД2 - ИР [42].

Важно отметить, что странами-лидерами по изучению состава КМ являются США и Китай [43]. Тем не менее в литературе появляются данные о характере изменений состава КМ у пациентов с СД2 на примере жителей Африки [38, 44, 45], Южной Азии [36, 46] и Европы [25, 42, 47]. Несмотря на разнообразие исследований, в которых изучался состав КМ у пациентов с СД2, на российской популяции проведено только одно исследование, оценивающее характер изменений состава КМ у пациентов с углеводными нарушениями. В данное исследование вошло только 20 пациентов с впервые выявленным СД2, 20 пациентов с предиабетом и 20 участников контрольной группы, что затрудняет интерпретацию полученных результатов в связи с ограниченной выборкой пациентов [48]. Другим ключевым фактом является то, что большинство ранее проведенных исследований изучали состав КМ у пациентов с СД2 без установления патогенетической связи кишечных бактерий с основными причинами развития данного заболевания: ИР, α -клеточной и β -клеточной дисфункцией ПЖЖ, нарушением синтеза инкретиновых гормонов. Таким образом, трудно определить какой фактор был первым: изменение состава КМ, повлекшее развитие СД2 или возникновение хронической гипергликемии, индуцирующей активную модификацию состава КМ. Более того, в мире имеются ограниченные данные, оценивающие эффективность ССТ в зависимости от состава КМ у пациентов с СД2, что ограничивает возможность использования КМ в качестве дополнительного критерия для персонализации терапии.

С учетом вышеизложенного, в настоящее время отсутствует полноценное описание состава КМ на примере российской когорты пациентов с впервые выявленным СД2, а также в мире резко ограничены данные, оценивающие связь КМ с ключевыми звеньями патогенеза СД2 и эффективностью стартовой ССТ.

Цель исследования

Установить особенности таксономического состава кишечной микробиоты у пациентов с СД2 и определить её влияние на развитие заболевания и возможности персонализации сахароснижающей терапии.

Задачи исследования

1. Изучить таксономический состав и функциональные характеристики кишечной микробиоты у пациентов с впервые выявленным СД2.

2. Определить связь кишечной микробиоты с тканевой инсулинорезистентностью, дисфункцией α - и β -клеток островкового аппарата поджелудочной железы и нарушениями инкретинового ответа у пациентов с впервые выявленным СД2.
3. Оценить влияние таксономических и функциональных особенностей кишечной микробиоты пациентов с СД2 на динамику уровней HbA1c, гликемии натощак и показателей липидного спектра крови.
4. Установить взаимосвязь таксономических и функциональных характеристик кишечной микробиоты с массой тела и объемом висцеральной жировой ткани.
5. Изучить влияние таксономических и функциональных характеристик кишечной микробиоты на эффективность стартовой сахароснижающей терапии метформином; двойной комбинированной терапии метформина с ингибиторами дипептидилпептидазы-4 (иДПП-4), агонистами рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 (арГПП-1) и ингибиторами натрий-глюкозного котранспортера 2 типа (иНГЛТ-2).

Научная новизна

Впервые в России охарактеризованы таксономический состав и функциональные особенности кишечной микробиоты пациентов с впервые выявленным СД2: выделены и описаны 3 специфических для СД2 энтеротипа и 4 доминирующих «микробиотических кооператива» ассоциированных с особенностями течения заболевания.

Впервые установлена и доказана роль энтеротипов и «микробиотических кооперативов» в развитии ключевых патогенетических дефектов СД2: дисфункции α - и β -клеток поджелудочной железы с возникновением гиперглюкокемии и снижением постпрандиальной секреции инсулина, а также в нарушении функции L-клеток кишечника, связанной со снижением уровней ГПП-1 и недостаточным инкретиновым эффектом.

Впервые в России у пациентов с манифестным СД2 определена взаимосвязь кишечной микробиоты с массой тела и типом ожирения, показателями углеводного и липидного обменов, на основании чего описание энтеротипов и «микробиотических кооперативов» дополнено фенотипическими и клинико-лабораторными характеристиками.

Впервые в России доказано влияние «микробиотических кооперативов» на эффективность монотерапии метформином и его комбинации с арГПП-1 и с иНГЛТ-2.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты проведенной работы расширили имеющееся представление о таксономическом составе и функциональных особенностях кишечной микробиоты у пациентов с впервые выявленным СД2: установлены и охарактеризованы 3 энтеротипа, отражающие

таксономический состав кишечной микробиоты и 4 доминирующих «микробиотических кооператива», определяющих функциональный потенциал кишечной микробиоты.

Сформулировано научное представление о взаимосвязи энтеротипов и «микробиотических кооперативов» с определенными патогенетическими дефектами СД2 (инсулинорезистентностью, дисфункцией α - β -клеток поджелудочной железы и L-клеток кишечника), клинико-лабораторными и фенотипическими характеристиками, что позволяет более обосновано осуществлять стратегию лечения и выбор сахароснижающей терапии.

Решена научная задача о возможности использования методов выявления энтеротипов и «микробиотических кооперативов» для определения персонализированного риска развития СД2, установления клинических особенностей заболевания и прогнозирования формирования коморбидной патологии.

Предложена концепция использования «микробиотических кооперативов» в качестве важного дополнительного критерия предикторной оценки эффективности различных классов сахароснижающих препаратов.

Методология и методы исследования

Методология научной работы включала в себя поиск и анализ имеющейся литературы по теме исследования; написание литературного обзора; разработку научной концепции, цели, задач, дизайна и протокола исследования; сбор и обработку материала; определение основных выводов и установление практической значимости работы.

Сбор клинических данных основывался на антропометрическом, биохимическом и генетическом исследованиях. После подтверждения диагноза СД2, всем пациентам проводилось определение метагенома человека - 16S рРНК секвенирование образцов стула, а также исследовались уровни С-пептида, инсулина, глюкагона и глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) в ходе стандартного завтрака. Также исходно всем пациентам исследовались антропометрические показатели (рост, вес, индекс массы тела (ИМТ), окружность талии (ОТ), и окружность бедер (ОБ), ОТ/ОБ), показатели углеводного обмена (глюкоза плазмы натощак (ГПН), HbA1c) и липидного обмена (общий холестерин (ОХ), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины высокой плотности (ЛПВП), триглицериды (ТГ)). С целью определения эффективности назначенной ССТ, через 3 месяца после инициации лечения проводилась оценка уровня HbA1c.

Положения, выносимые на защиту

1. Выявлено, что специфические для СД энтеротипы и «микробиотические кооперативы» обладают высокой предсказательной значимостью в отношении прогноза СД2:

энтеротип-1б и «микробиотические кооперативы -1 и -2» ассоциированы с высоким риском; энтеротип-1а и «микробиотический кооператив-3» – со средним риском; энтеротип-2 и «микробиотический кооператив-4» – с низким риском.

2. Установлена взаимосвязь кишечной микробиоты с патогенезом СД2: «микробиотический кооператив-1» ассоциирован с инсулинорезистентностью; «микробиотический кооператив-2» и α -разнообразие связаны с дисфункцией β -клеток поджелудочной железы; «микробиотический кооператив-2» связан с дисфункцией α -клеток поджелудочной железы; энтеротип-1б и «микробиотический кооператив-1» ассоциированы с дисфункцией L-клеток кишечника.

3. Описанные у пациентов с впервые выявленным СД2 энтеротипы и «микробиотические кооперативы» не оказывают прямого влияния на гликемию натощак и уровень HbA_{1c}, однако ассоциируются с различной активностью метаболических путей, обеспечивающих синтез короткоцепочных жирных кислот, положительно коррелирующих с показателями углеводного обмена.

4. Идентифицированные при СД2 «микробиотические кооперативы» по-разному влияют на эффективность сахароснижающей терапии, что может быть использовано для персонализации стартовой сахароснижающей терапии. «Микробиотический кооператив-3» ассоциирован с высокой эффективностью монотерапии метформином и низкой эффективностью его комбинации с арГПП-1. «Микробиотический кооператив-4» ассоциирован с низкой эффективностью монотерапии метформином и высокой эффективностью его комбинации с иНГЛТ-2.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Степень достоверности подтверждена количеством участников исследования; использованием широкого спектра диагностических исследований, выполненных согласно требуемым стандартам и на необходимом оборудовании, и современными методами статистического анализа.

Проведение диссертационного исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России (Протокол № 206 от 22.03.2021г).

Апробация диссертации проведена на совместном заседании кафедры эндокринологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова МЗ РФ, кафедры эндокринологии и диабетологии ФДПО ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ и кафедры эндокринологии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, №13 от 22.04.2022.

Результаты исследования представлены в виде тезисов и докладов в ряде конференций: 57th European Association for the Study of Diabetes (EASD) (в режиме онлайн, 2021г.), IV (XXVII)

Национальном конгрессе эндокринологов «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, Россия, 2021г.), XVI Международной Пироговской научной медицинской конференции (Москва, Россия, 2022г.).

Внедрение результатов работы

Полученные в ходе исследования результаты в виде клинических рекомендаций по ведению пациентов с впервые выявленным СД2 внедрены в клиническую практику эндокринологического отделения ГКБ им. В.П. Демикова (04.04.2022), эндокринологического отделения клинико-диагностического центра филиала «Мединцентр» ГлавУпДК при МИД России (08.04.2022). Полученные в ходе исследования научные положения внедрены в учебный план кафедры эндокринологии ЛФ ФГАОУ ВО им. Н.И. Пирогова по дисциплине «эндокринология» для преподавания студентам, ординаторам и аспирантам (04.04.2022).

Личное участие автора

Автор лично проводила анализ имеющейся литературы по теме исследования, разрабатывала дизайн и протокол исследования; отбирала пациентов для участия в клиническом исследовании; наблюдала за пациентами по клиническому исследованию в течение трех месяцев. Также, автор лично проводила подготовку и заполнение баз данных (на бумажных носителях и в таблице Excel), анализировала и описывала полученные результаты, выполняла статистический анализ, определяла основные выводы и устанавливала практическую значимость работы.

Структура и объем работы

Диссертация представлена на 166 страницах. Состоит из введения, обзора литературы, главы «материалы и методы», результатов исследования, обсуждения результатов исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, глоссария и списка литературы (192 источника литературы, из которых 11 – отечественных, 181 – иностранных). Работа иллюстрирована 29 рисунками и 50 таблицами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Кишечная микробиота и ее активные метаболиты

1.1.1. Определение и классификация кишечной микробиоты

Микробиота – совокупность всех таксонов микробных сообществ (бактерий, архей, грибов, вирусов) какой-либо ниши [49]. Следовательно, КМ – это комплекс микроорганизмов, заселяющих ЖКТ [50]. Важно, что доминирующими микроорганизмами на уровне кишечника являются бактерии. Поэтому именно бактериальному разнообразию как среди здоровой популяции, так и среди пациентов с различными заболеваниями уделяется большее внимание [50].

Результаты двух крупных исследований MetaHIT (Метагеномика Кишечного Тракта Человека) и HMP (Проект Микробиома Человека) позволили разработать таксономическую классификацию кишечных микроорганизмов, в которой бактерии подразделялись на 12 типов, 709 родов и 2172 вида в зависимости от схожести генотипа и выполняемых функций [8, 51]. При этом наиболее крупной таксономической единицей (OTU) являлся тип, затем следовали отдел, семейство, род и вид [52]. Картина таксономического кишечного разнообразия здоровых людей представлена на Рисунке 1 [52].

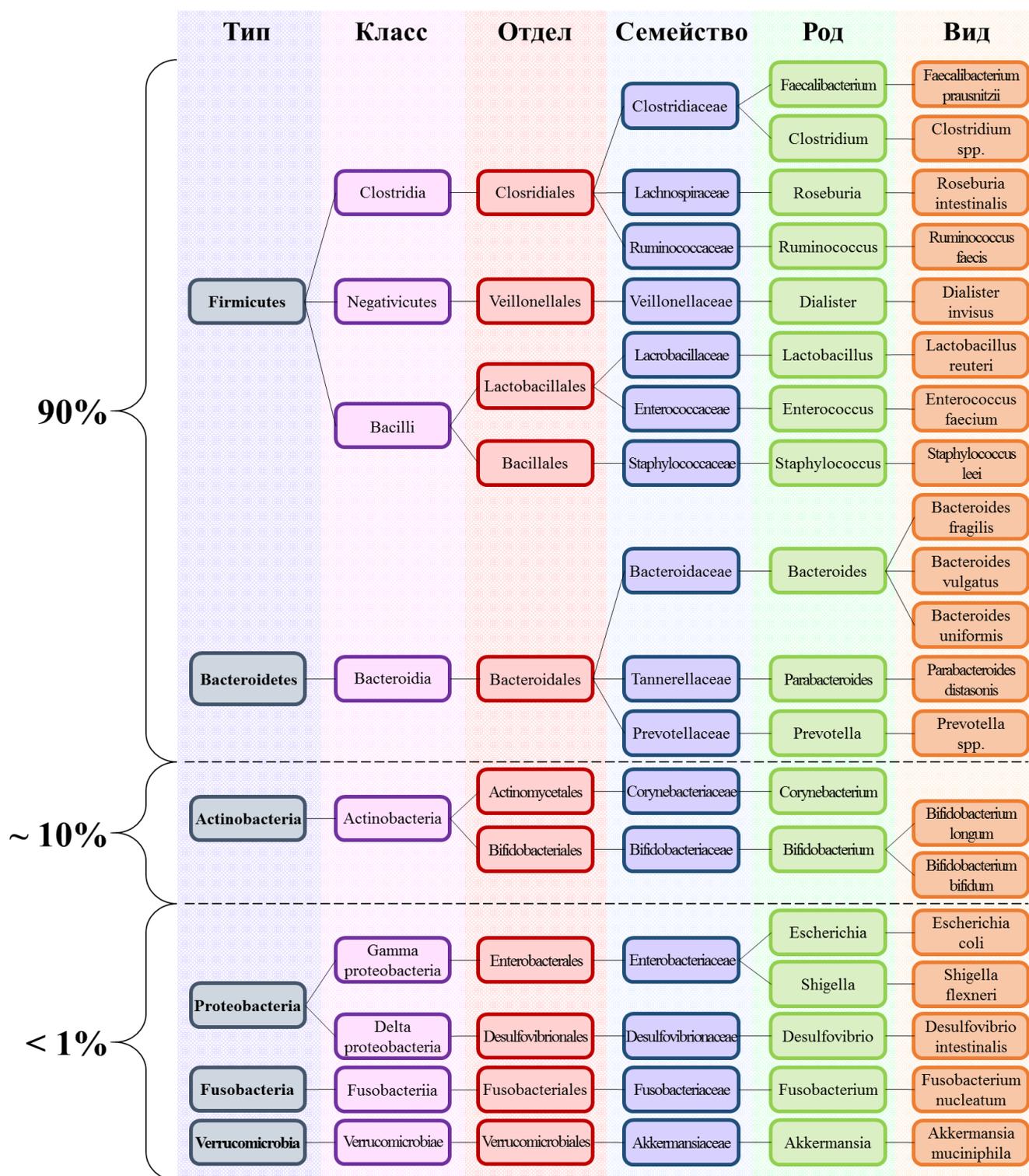


Рисунок 1. По Rinninella E. и соавт. с изменениями. Таксономическая классификация КМ здоровых людей [52].

Доминирующими типами бактерий ЖКТ человека являются Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria и Verrucomicrobia [8, 9]. При этом доля Firmicutes и Bacteroidetes составляет приблизительно 90% от состава КМ, доля Actinobacteria – около 10%, а представленность Proteobacteria и Verrucomicrobia в кишечнике не превышает 1% [8, 9].

Тип Firmicutes характеризуется наибольшим разнообразием бактерий в своем составе и классифицируется на 4 основных класса: Bacilli, Clostridia, Erysipelotrichi и Negativicutes. Типичными представителями на уровне рода являются преимущественно грамположительные (грам (+)) бактерии (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Ruminococcus*, *Roseburia*, *Clostridium*) и спорообразующие бактерии (например, *Clostridium* spp. и *Bacillus* spp.) [52]. Способность к спорообразованию характеризует данный тип как наиболее устойчивый к выживанию при неблагоприятных условиях на уровне ЖКТ и за его пределами. Касательно грампринадлежности, стоит отметить, что в последнее десятилетие среди представителей типа Firmicutes были выявлены и грамотрицательные (грам (-)) бактерии (например, *Faecalibacterium*, *Christensenella* и Negativicutes), продуцирующие активные метаболиты КМ, в первую очередь, КЦЖК и снижающие риск развития метаболических заболеваний [55, 56].

Тип Bacteroidetes представлен грам (-) бактериями. Доминирующими родами являются *Bacteroides* и *Prevotella*. Важность Bacteroidetes заключается в их стабильном разнообразии в зависимости от возраста. Представители типа Bacteroidetes способны метаболизировать клетчатку и другие полисахариды до образования КЦЖК, участвовать в метаболизме желчных кислот. Следовательно, существует предположение, что количественная представленность бактерий типа Bacteroidetes на родовом уровне определяет риск развития дефицита массы тела или, наоборот, ожирения, а также риск возникновения других метаболических заболеваний [57, 58].

Тип Actinobacteria является неотъемлемой частью КМ здорового человека в первую очередь за счет своего доминирующего рода *Bifidobacterium*, представленность которого стабильна на протяжении всей жизни. *Bifidobacterium* участвуют в образовании ацетата из неперевариваемых углеводов, защите стенки кишечного эпителия, противовоспалительной активности, синтезе витаминов, обеспечении колонизационной резистентности. Совокупность всех этих эффектов позволяет использовать штаммы данных бактерий в качестве пробиотиков [55, 59, 60].

Тип Proteobacteria представлен преимущественно сульфатредуцирующими бактериями (род *Desulfovibrio*), которые в процессе своей жизнедеятельности образуют H_2S [61]. H_2S - это биоактивный газ, который принимает участие в контроле перистальтики кишечника, пролиферации и дифференцировке колоноцитов, вазодилатации и синтезе инкретиновых гормонов [62, 63].

Тип Verrucomicrobia представлен единственным родом *Akkermansia* [52]. Действие *Akkermansia muciniphila* сосредоточено на продукции муцина и поддержании непроницаемости стенок кишечного эпителия, противовоспалительном действии по отношению к колоноцитам, ферментации сложных углеводов до образования КЦЖК, увеличении окисления жирных кислот,

снижении активности α -гликозидазы, в связи с чем данный вид бактерий ассоциирован со снижением риска развития злокачественных опухолей толстого кишечника, а также с предотвращением развития кардио-метаболических заболеваний [64].

С учетом того, что доминирующими типами бактерий на уровне толстого кишечника являются Firmicutes и Bacteroidetes, оценка соотношения данных типов бактерий используется как маркер динамики изменений микробиома кишечника. Имеется ряд исследований, данные которых показали, что избыточный вес и ожирение ассоциированы с соотношением Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) > 1 [65, 66, 67, 68]. Однако по данным Ну и соавт., каких-либо различий в F/B между пациентами с ожирением и нормальной массой тела выявлено не было [69]. Более того, в исследовании Vaiserman и соавт., наоборот, F/B < 1 чаще наблюдалось у пациентов с ожирением [70]. Позже было продемонстрировано, что у пациентов с нормальным ИМТ по сравнению с пациентами с ожирением в кишечнике доминируют как представители Bacteroidetes (*B. Faecichinchillae* и *B. Thetaiotaomicron*), так и представители Firmicutes (*Blautia wexlerae*, *Clostridium bolteae* и *Flavonifractor plautii*) [71]. Таким образом, F/B не является универсальной характеристикой, оценивающей нормальность гомеостаза КМ, несмотря на существующее убеждение, что F/B > 1 является маркером ожирения, а F/B < 1 – маркером воспалительных заболеваний кишечника [72].

В зависимости от доминирования рода *Ruminococcus*, относящегося к типу Firmicutes или доминирования родов *Bacteroides/Prevotella*, являющихся представителями типа Bacteroidetes, КМ классифицируется на три энтеротипа. В энтеротипе 1 (ЭТ-1) доминируют *Bacteroides*, в ЭТ-2 – *Prevotella*, в ЭТ-3 – *Ruminococcus*. Важной особенностью использования ЭТ как маркеров метаболического потенциала КМ является то, что ЭТ являются устойчивыми структурами, которые не изменяются с возрастом, развитием тех или иных заболеваний и патологических состояний [31]. ЭТ-1 характеризуется высоким сахаролитическим потенциалом и, следовательно, высокой способностью к образованию энергетических субстратов. Данный ЭТ доминирует у людей, предпочитающих смешанную пищу и пищу богатую белками и жирами животного происхождения. Представители ЭТ-2 обладают способностью к разрушению входящего в состав кишечных биопленок муцина и низким липолитическим потенциалом. Как правило, доминирование ЭТ-2 встречается у вегетарианцев и лиц, потребляющих большое количество простых и сложных углеводов. Эффекты представителей ЭТ-3 связаны с образованием муцина, а также с высокой липолитической способностью и активацией транспорта углеводов из просвета кишечника в кровоток. ЭТ-3, как правило, характерен для лиц, предпочитающих западную диету с высоким содержанием жиров и легких углеводов [31, 73].

Учитывая разные функциональные возможности представителей трех ЭТ, определение доминантного ЭТ вероятно может служить биомаркером ряда заболеваний, в том числе,

метаболических. Однако используемые в настоящее время методы кластеризации не позволяют четко отграничить три ЭТ по таксономической представленности бактерий. Это значит, что одни и те же рода бактерий с разной количественной представленностью могут входить в несколько ЭТ. Данная погрешность затрудняет возможность оценки риска развития того или иного заболевания [74]. Таким образом, с одной стороны, энтеротипирование позволяет упростить сложную и громоздкую таксономическую классификацию КМ, а с другой стороны, имеет некоторые ограничения, что затрудняет использование того или иного ЭТ в качестве биомаркеров развития заболеваний.

Более точно оценить функциональные возможности КМ вероятно позволит изучение взаимодействий кишечных бактерий на межродовом уровне, то есть изучение МК [75]. Считается, что сотрудничество определённых бактерий друг с другом достигается за счет способности микроорганизмов определять сигналы биоактивных молекул, вырабатываемых доминантными бактериями. Эти сигналы способствуют активации экспрессии генов одинаковых белков среди участников одного сообщества, что устанавливает общность выполняемых функций всего МК [76].

По данным Volokh и соавт., среди метаболически здоровых людей определяется 3 крупных МК. При этом МК-1 в основном представлен бутират-продуцирующими родами бактерий (*Eubacterium*, *Anaerostipes*, *Blautia*, *Dorea*) из типа *Firmicutes*; МК-2 – представителями семейств *Bacteroidaceae* и *Porphyromonadaceae*, а МК-3 – бактериями (*Clostridia*, *Christensenella*, *Methanobrevibacter*) с выраженным противовоспалительным и бутират-продуцирующим свойствами, а также с эффектами, связанными с предотвращением риска развития ожирения [33]. Тем не менее в настоящее время данное исследование является единственным в мире, позволяющим идентифицировать кишечные МК у здоровых людей.

Касательно классификации КМ на уровне вида важно отметить, что в настоящее время не все OTU систематизированы на уровне вида в связи с тем, что идентификация генома бактерий посредством 16S рРНК секвенирования кишечного метагенома человека основана на сравнении полученных в результате данного метода исследования нуклеотидных последовательностей с эталонными базами данных (например, SILVA или GreenGenes), созданными на основании исследований MetaHIT и HMP [8, 51]. Эти базы данных постоянно модифицируются и обновляются, так как при помощи 16S рРНК секвенирования кишечного метагенома идентифицируются новые OTU. Более того, данный метод исследования позволяет определить только часть генома микроорганизмов (16 нуклеотидных последовательностей) и сравнить его с эталоном, что может приводить к ошибкам в идентификации микроорганизмов на уровне вида. Важно, что данная ошибка минимальна в случае выявления родов бактерий. Именно поэтому большинство исследований, оценивающих взаимосвязь КМ с риском развития заболеваний,

опираются по большей мере не на видовую представленность, а на геномное богатство различных родов бактерий в образцах стула пациентов [53, 54].

Оценить функциональную способность КМ на видовом уровне можно посредством расчета α -разнообразия, которое отражает богатство представленных OTU в биологическом образце, а также равномерность встречаемости микроорганизмов на конкретном филогенетическом уровне (вид) [77]. Другими словами, α -разнообразие определяет таксономическое богатство и чем выше данный показатель, тем больше функциональных способностей имеет КМ конкретного индивида. α -разнообразие оценивается за счет двух основных индексов: индекса Шеннона, который преимущественно отражает разнообразие наиболее представленных видов бактерий, и индекса Чао, который определяет разнообразие низко представленных видов бактерий [77]. β -разнообразие – это мера, позволяющая оценить видовую представленность между двумя выборками, например, между контрольной группой и группой с каким-либо заболеванием. Другими словами, расчет β -разнообразия позволяет оценить выраженность изменений состава КМ между двумя выборками [78].

Таким образом, КМ классифицируется в зависимости от геномного разнообразия и выполняемых функций таксономически (тип, класс, отдел, семейство, род, вид), по ЭТ и МК. Дополнительной мерой оценки таксономического богатства на уровне типа является определение F/V. Основным способом оценки представленности кишечных бактерий на уровне вида, а также способом определения функциональных возможностей КМ является расчет индексов α -разнообразия. В дальнейшем F/V, ЭТ, МК, индексы α -разнообразия (индекс Шеннона и индекс Чао) будут описываться как характеристики КМ.

1.1.2. Функциональные возможности кишечной микробиоты

Можно выделить 4 основные функции КМ: защитную, пищеварительную, метаболическую и синтетическую. Защитная функция проявляется тем, что КМ участвует в продукции муцина и образовании кишечных биопленок, способствует детоксикации экзогенных и эндогенных субстратов, обеспечивает клетки кишечного эпителия энергией и контролирует процессы дифференцировки, пролиферации и апоптоза колоноцитов [15, 79]. Более того, бактерии кишечника в процессе своей жизнедеятельности синтезируют противовоспалительные субстраты и цитокины (интерлейкин-10 (ИЛ-10), ИЛ-22, бутират), что определяет иммунный потенциал КМ [80]. Также КМ контролирует ферментацию белков, жиров и углеводов, участвует в процессах пристеночного пищеварения, перистальтике кишечника и метаболизме жёлчных кислот. Синтетическая функция КМ определяется способностью к образованию активных

метаболитов (КЦЖК, H_2S , индол, оксид азота (NO), аммиак и др.) из углеводных и белковых субстратов. Вместе с тем, кишечные бактерии способны продуцировать незаменимые аминокислоты, витамины группы В и витамин К [15, 79]. Метаболическая активность КМ осуществляется посредством механизма «кишечник-мозг-периферия», а также за счет взаимодействия активных метаболитов КМ со своими рецепторами, расположенными на поверхности колоноцитов и клеток периферических органов [16, 81]. Вышеописанными способами контролируется гомеостаз жиров и углеводов в организме, процессы центральной регуляции аппетита, синтез ряда гормонов (инкретиновые гормоны, пептид тирозин-тирозин, инсулин, грелин, лептин и др.) и нейропептидов (серотонин и дофамин) [82, 83, 84, 85]. При этом считается, что 90% эндогенного серотонина и около 50% дофамина синтезируются на уровне кишечного эпителия [80].

1.1.3. Активные метаболиты кишечной микробиоты

КМ реализует свои эффекты через посредников – активных метаболитов, основными из которых являются КЦЖК, H_2S , индол, серотонин и ВЖК [15].

КЦЖК представляют из себя органические кислоты, имеющие в своем составе от одного до семи атомов углерода с прямой или разветвленной цепью [15, 86]. Данные субстраты образуются из не перевариваемых углеводов (инулин, целлюлоза и др.) под действием ферментов КМ [86]. КЦЖК включают в себя три основных метаболита: ацетат, пропионат и бутират. В физиологических условиях концентрация ацетата в три раза превосходит концентрации бутирата и пропионата. Следовательно, данные продукты метаболизма присутствуют в просвете кишечника в соотношении 3:1:1 соответственно [79]. Стоит отметить, что концентрация КЦЖК в толстом кишечнике колеблется в диапазоне от 70 до 140 ммоль/л в проксимальном отделе толстой кишки; от 20 до 70 ммоль/л – в дистальном отделе толстой кишки. Различные концентрации данных метаболитов в толстом кишечнике ассоциированы с разной концентрацией ионов водорода, а значит, с колебаниями pH в кишечнике. Данные условия обязательны для контроля состава КМ: при более низких значениях pH доминируют Firmicutes, при более высоких – Bacteroidetes [86].

Наиболее важной КЦЖК является бутират, который образуется из сложных углеводов и некоторых незаменимых аминокислот (лизин, цистеин и др.) под действием представителей типа Firmicutes: *Roseburia intestinalis*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, *Eubacterium bifforme*, *Coprococcus eutactus*, *Coprococcus catus* и др. [15, 87, 88]. Бутират, в первую очередь, является основным энергетическим субстратом для колоноцитов. Считается, что ежедневная

продукция бутирата восполняет около 70% потребности клеток кишечника в энергии [86]. Немаловажной функцией бутирата является контроль процессов пролиферации, дифференцировки и апоптоза колоноцитов, что определяет непроницаемость кишечной стенки для эндотоксинов и экзотоксинов и препятствует развитию системного воспаления [15, 89].

Аналогичным образом по отношению к кишечному эпителию действует и пропионат, хотя его эффекты значительно уступают по значимости эффектам бутирата [86]. Дело в том, что большая часть образованного в просвете кишечника пропионата абсорбируется из кишечника в кровотоки и достигает печени. В печени пропионат используется как субстрат для глюконеогенеза [15]. Основными поставщиками пропионата являются представители типа *Bacteroidetes* (*Bacteroides uniformis*, *Bacteroides vulgatus*, *Prevotella copri*), типа *Firmicutes* (*Negativicutes*, некоторые виды *Clostridium*, *Coprococcus catus*, *Eubacteriumh allii*, *Blautia obeum*), типа *Verrucomicrobia* (*Akkermansia Muciniphila*) [15, 87, 90].

Ацетат образуется под действием большинства кишечных анаэробов типа *Bacteroidetes*, типа *Actinobacteria* (*Bifidobacterium*), типа *Verrucomicrobia* (*Akkermansia Muciniphila*) [15, 91]. Почти весь образованный в кишечнике ацетат абсорбируется в кровь. По сравнению с бутиратом и пропионатом концентрация ацетата в периферической крови наиболее высокая, что определяет преимущественно системный эффект ацетата: обеспечение энергией поперечнополосатых мышц, кардиомиоцитов и других тканей [86]. Более того, в печени ацетат используется как субстрат для синтеза холестерина и длинноцепочечных жирных кислот, на уровне жировой ткани контролирует процесс липогенеза [15, 86, 92]. Имеются данные, что ацетат способен проникать через гематоэнцефалический барьер, повышать активацию синтеза анорексигенного проопиомеланокортина и снижать выработку повышающего аппетит агаути-пептида. Следовательно, ацетат способен участвовать в центральной регуляции аппетита [92].

Общими метаболическими эффектами для ацетата, пропионата и бутирата являются участие в гомеостазе белков, жиров и углеводов в организме, контроль синтеза ряда гормонов, в том числе, ГПП-1 и инсулина, влияние на регуляцию аппетита. Эти эффекты осуществляются при связывании КЦЖК с рецепторами свободных жирных кислот 3 типа (FFAR3) и 2 типа (FFAR2), которые также называют GPR43 и GPR41, соответственно. Эти рецепторы располагаются на поверхности ЭЭК кишечника, адипоцитов, скелетных мышц, α -клеток и β -клеток ПЖЖ [6, 91]. При этом наибольшей афинностью к GPR41 обладают пропионат и бутират, к GPR43 – пропионат и ацетат [93]. При активации рецептора GPR41 усиливается продукция лептина адипоцитами, снижается секреция глюкозозависимого инсулиотропного полипептида (ГИП), ингибируется глюкозозависимая секреция инсулина β -клетками ПЖЖ и активируется симпатическая нервная система (СНС). Напротив, активации рецептора GPR43 КЦЖК ассоциирована с регуляцией процессов липолиза и липогенеза, улучшением чувствительности

периферических тканей к инсулину, секрецией ГПП-1, ГИП и инсулина [16]. Следовательно, баланс концентрации КЦЖК в просвете кишечника и в системном кровотоке является неотъемлемой частью физиологического гомеостаза липидов и углеводов в организме. При изменении соотношения ацетат : пропионат : бутират в сторону существенного снижения / повышения всех или нескольких КЦЖК резко увеличивается риск развития метаболических заболеваний, в том числе, СД2.

Следующим активным метаболитом КМ является H_2S , который образуется как промежуточный продукт обмена при окислении органических субстратов сульфатредуцирующими бактериями типа *Proteobacteria* (род *Desulfovibrio*, виды *D. piger* и *D. desulfuricans*) [61, 94]. Эффекты H_2S сосредоточены на регуляции моторики ЖКТ и контроле процессов жизнедеятельности клеток кишечного эпителия [62]. Более того, H_2S обладает вазодилатирующим эффектом и способностью к модуляции митохондриального дыхания в гебернирующих кардиомиоцитах [20]. Имеются единичные данные о том, что H_2S увеличивает секрецию ГПП-1 через митоген-активируемый протеинкиназный путь, конечным этапом которого является транскрипция генов ГПП-1 [62, 63, 95]. Следовательно, можно предположить, что H_2S участвует в синтезе инкретиновых гормонов и улучшении показателей углеводного обмена. С другой стороны, по данным Zhang и соавт., высокие концентрации H_2S в крови приводят к уменьшению массы β -клеток ПЖЖ и снижению секреции инсулина [96]. Вероятно, повышенные концентрации H_2S приводят к развитию углеводных нарушений, о чем также свидетельствует тот факт, что увеличение H_2S ассоциировано с цитотоксическим и провоспалительным действием и, наоборот, низкие концентрации биоактивного газа связаны с протективными и противовоспалительными свойствами [97].

Индол образуется при ферментации аминокислоты триптофана такими комменсалами, как *Lactobacillus*, *Bifidobacterium longum*, *Bacteroides fragilis*, *Parabacteroides distasonis*, *Clostridium bartlettii* и др. [98]. Индол участвует в синтезе плотных соединений между эпителиальными клетками кишечника, обеспечивая барьерную функцию кишечника. Также, индол и его производные через рецепторы прегнана X (PXR) поддерживают жизнедеятельность колоноцитов и защищают кишечный эпителий от токсинов и патогенов [98]. Более того, индол способен индуцировать синтез противовоспалительного ИЛ-22 и контролировать иммунную толерантность кишечного барьера [98]. Кроме всего прочего, индол является сигнальной молекулой, контролирующей синтез ГПП-1 L-клетками кишечника [98]. При этом краткосрочное повышение концентрации индола в просвете кишечника ассоциировано со стимуляцией синтеза ГПП-1, в то время, как длительно высокая концентрация индола и его производных приводит к снижению секреции ГПП-1 [99].

Еще одним метаболитом триптофана является серотонин, эффекты которого сосредоточены на контроле проницаемости кишечного барьера, активации липогенеза и синтезе инсулина β -клетками ПЖЖ [23, 100].

ВЖК образуются в толстом кишечнике из первичных желчных кислот (ПЖК) под действием бактерий типа Firmicutes (30%), Bacteroidetes (14,4%) и Actinobacteria (8,9%) [15, 101]. Метаболические эффекты ВЖК осуществляются за счет активации двух типов рецепторов: ядерного рецептора Фарзеноида X (FXR) и мембранного рецептора желчных кислот 5 типа (TGR5) [102]. При активации FXR снижается образование ПЖК, холестерина и ЛПНП в печени и ингибируется секреция ГПП-1 L-клетками кишечника [103, 104, 105]. При активации TGR5, напротив, активируется синтез ГПП-1 и увеличивается чувствительность периферических тканей к инсулину [106, 107, 108]. Большой афинностью к TGR5 обладают ВЖК по сравнению с ПЖК, что определяет высокую значительность образования ВЖК в просвете толстого кишечника представителями КМ в регуляции метаболизма углеводов и липидов в организме [102].

Помимо вышеописанных активных метаболитов КМ существует ряд других биологически активных пептидов и газов, которые образуются под действием бактерий толстого кишечника. Однако их метаболические эффекты на данный момент мало изучены [86, 98].

1.2. Кишечная микробиота в патогенезе СД2

Согласно модели, предложенной Schwartz и соавт., триггерами СД2 выступают 11 факторов, но только один является ведущим – дисфункция β -клеток ПЖЖ, развивающаяся на фоне хронической гипергликемии [3]. Однако большинство авторов считают, что центральное место в развитии СД2 отводится не только дисфункции β -клеток ПЖЖ, но и ИР жировой и мышечной тканей, приводящей к гиперпродукции инсулина; развитию ИР печени, ассоциированной с неконтролируемой продукцией глюкозы; возникновению дисфункции α -клеток ПЖЖ, связанной с гиперглюкагонемией и формированию дисфункции L-клеток кишечника, обуславливающей снижение выраженности инкретинового эффекта [4, 109, 110, 111]. Важно, что КМ через механизм «кишечник-мозг-периферия», а также за счет взаимодействий своих активных метаболитов с соответствующими рецепторами, способна регулировать ИР метаболических тканей и функцию α - и β -клеток ПЖЖ и L-клеток кишечника [6, 81, 112]. Следовательно, дисбиоз КМ, ассоциированный с выраженным снижением функционального потенциала кишечных бактерий, резко увеличивает риск развития СД2 [6, 112, 113].

Далее будут освещены вопросы влияния КМ на развитие ключевых причин возникновения СД2: ИР, дисфункции α -клеток ПЖЖ (гиперпродукция глюкагона), дисфункции

β -клеток ПЖЖ (снижение секреции инсулина) и дисфункции L-клеток кишечника (снижение синтеза ГПП-1). Влияние КМ на звенья патогенеза СД2 представлено на Рисунке 2.

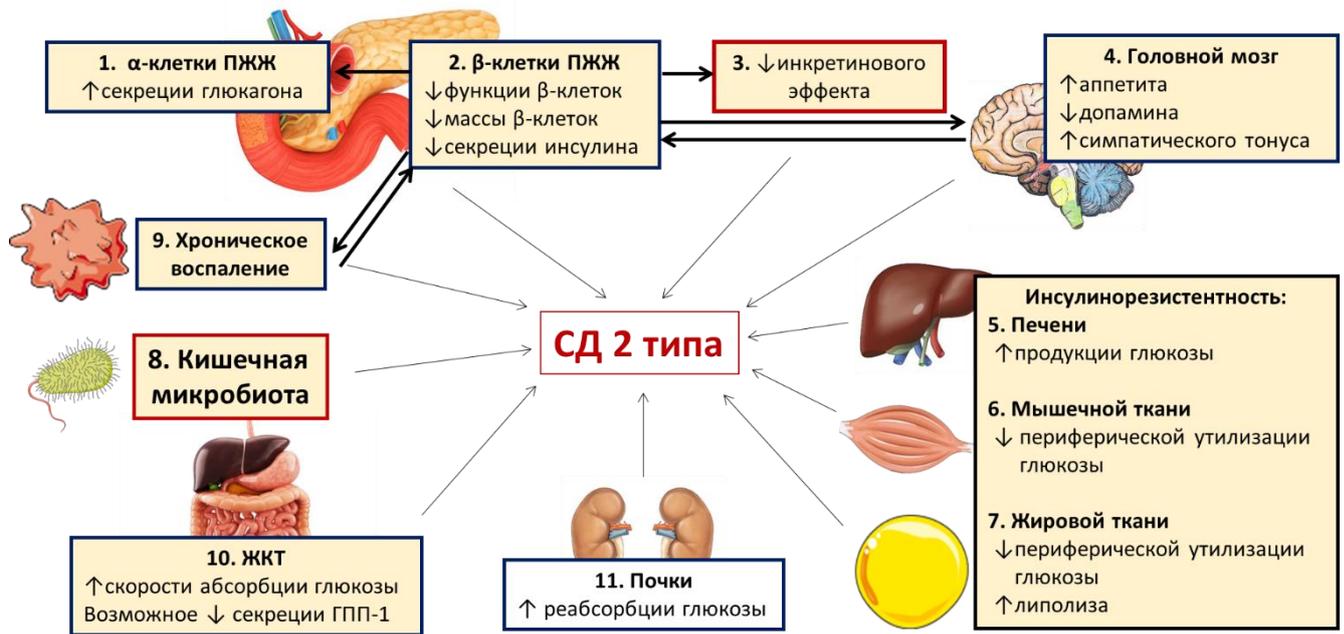


Рисунок 2. По Schwartz и соавт. с изменениями. Влияние КМ на патогенез СД2 [3, 6, 112, 113].

1.2.1 Влияние кишечной микробиоты на развитие инсулинорезистентности

ИР – это состояние, при котором снижается чувствительность периферических тканей к действию инсулина, что приводит к нарушению метаболизма белков, жиров и углеводов [114]. Согласно комплексной модели ИР, предложенной Straub и соавт. триггерами развития нечувствительности тканей к инсулину выступают хроническое воспаление и гиперактивация СНС и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) [115].

Хроническое метаболическое воспаление приводит к гиперпродукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, фактор некроза опухоли- α (ФНО- α)). Провоспалительные белки способствуют нарушению передачи сигналов инсулина в клетку путем нарушения фосфолирирования аминокислоты тирозина, входящей в состав субстрата инсулинового рецептора. Также ИЛ-1 и ФНО- α способствуют снижению экспрессии и транслокации переносчиков глюкозы 4 типа (GLUT-4), расположенных в толще мембраны миоцитов и адипоцитов. Нарушение передачи сигналов инсулина в клетку, а также нарушение транспорта глюкозы в клетку являются проявлениями ИР [116, 117]. Гиперактивация стресс-систем (СНС и ГГНС) усугубляет имеющуюся картину ИР за счет выраженного повышения контринсулирных гормонов (кортизола, адреналина и норадреналина) в кровотоке, действие

которых ассоциировано с активацией печеночного глюконеогенеза и липолиза, а также связано со снижением чувствительности периферических тканей к инсулину [118].

КМ за счет своих посредников способна влиять на ИР за счет влияний на контроль деятельности головного мозга (ГМ) (СНС и ГГНС), воспаления и чувствительности периферических тканей к инсулину [6, 119, 120].

Контроль деятельности ГМ осуществляется посредством механизма «кишечник-мозг-периферия». Дело в том, что в толще кишечной стенки имеются скопления нейронов, афферентные волокна которых при помощи NO передают нервный импульс в ствол мозга, где происходит «переключение» нервного импульса на эфферентные волокна *n.vagus*. Через систему эфферентных волокон *n.vagus* контролируются перистальтика кишечника, секреция инсулина и ГПП-1, чувствительность тканей к инсулину [119, 121].

При связывании КЦЖК со своими рецепторами GPR41 и GPR43, расположенными на поверхности колоноцитов, активируется транскрипция генов фермента NO-синтазы. Данный фермент ответственен за процесс синтеза NO. При дисбиозе КМ снижается концентрация КЦЖК в просвете кишечника и нарушается синтез NO, что приводит к нарушению передачи нервного импульса по афферентным волокнам *n.vagus* в ГМ. Следовательно, нарушается парасимпатический контроль чувствительности периферических тканей к инсулину. Активируются липолиз, глюконеогенез печени, развивается ИР [120, 122].

Более того, развитие ИР через путь «кишечник-мозг-периферия» возможен при гиперсекреции грелина в желудке. По данным Lin и соавт. дисбиоз КМ, проявляющийся увеличением *Bacteroides* и *Prevotella* и снижением *Firmicutes*, *Bifidobacterium* и *Lactobacterium*, ассоциирован с гиперсекрецией грелина, который связывается со своими рецепторами в кишечнике и приводит к ингибированию 5-АМФ-активируемой протеинкиназы. Этот сигнал доставляется в нейроны кишечника и по афферентным волокнам *n.vagus* достигает ГМ приводя к активации рецепторов N-метил-D-аспартата, расположенных на ядрах одиночного пути. Активация данных рецепторов приводит к тому, что на уровне гепатоцитов инактивируется фермент протеинкиназа В и снижается передача сигналов инсулина. В клетках печени увеличивается экспрессия генов глюконеогенеза. Возникает ИР на уровне печени, проявляющаяся гиперпродукцией глюкозы [123].

Кроме контроля деятельности ГМ, КМ также контролирует процессы развития системного воспаления путем поддержания барьерной функции кишечника. Так, бутират и пропионат поддерживают жизнедеятельность клеток кишечного эпителия и предотвращают развитие воспаления колоноцитов. Такие кишечные комменсалы как *Akkermansia muciniphilia*, *Faecalibacterium prausnitzii* и *Bifidobacterium* улучшают кишечную барьерную функцию посредством увеличения синтеза ГПП-2 L-клетками кишечника [124]. Более того, *Akkermansia*

muciniphilia вырабатывает муцин, входящий в состав кишечных биопленок, а *Faecalibacterium prausnitzii* способствует экспрессии генов плотных соединений в кишечнике [6]. Однако тогда, когда снижается количество бактерий, продуцирующих активные метаболиты и выполняющих защитную функцию по отношению к кишечному эпителию, происходит увеличение проницаемости кишечного барьера для эндотоксинов и липополисахаридов (ЛПС) грам (-) бактерий. Развивается эндотоксемия [6]. Попавшие в кровоток ЛПС связываются с Toll-подобными рецепторами 4 типа (TLR4), расположенными на поверхности клеток метаболических органов, и активируют внутриклеточные киназы, ассоциированные с рецептором ИЛ-1 (IRAK) и факторы, связанные с рецептором ФНО- α (TRAF6). Активация данных белков с одной стороны запускает синтез провоспалительных цитокинов, а с другой стороны, нарушает процессы фосфолирования субстрата инсулинового рецептора, что приводит к развитию ИР [125, 126].

Еще одним триггером развития системного воспаления является дисбаланс между количеством бактерий, продуцирующих противовоспалительные или провоспалительные цитокины. Так, у пациентов с СД2 отмечается увеличение количества *Fusobacterium nucleatum* и *Ruminococcus gnavus*, продуцирующих ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- α , и снижение *Roseburia intestinalis*, *Bacteroides fragilis*, *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium*, являющихся поставщиками ИЛ-10, ИЛ-22 и бутирата, что подтверждает наличие слабовыраженного системного воспаления и, следовательно, ИР у пациентов с углеводными нарушениями и дисбиозом состава КМ [6].

Также КМ способна влиять на передачу сигналов инсулина на уровне клеток метаболических органов. При избыточном потреблении жиров животного происхождения и сложных углеводов происходит увеличение продукции КЦЖК в кишечнике. Данные кислоты попадают в системный кровоток и с током крови переносятся в метаболические органы: жировую ткань, мышечную ткань и печень. На уровне жировой ткани и печени КЦЖК снижают активность аденозинмонофосфат активируемой протеинкиназы, что приводит к снижению окисления СЖК в данных тканях и их депонированию в адипоцитах и миоцитах. Более того, КЦЖК предотвращают транслокацию GLUT-4, что нарушает инсулинозависимый транспорт глюкозы в клетки. На уровне печени КЦЖК активируют карбоксилазу и белок, связывающий стеролы. Это приводит к депонированию СЖК в гепатоцитах и развитию ИР на уровне печени [127]. Подтверждением влияния избыточной концентрации КЦЖК на развитие ИР является исследование Huang и соавт., в котором потомство мышей, получающих избыточное количество бутирата с пищей имело более высокий НОМА-ИР, а также более высокий риск развития углеводных нарушений по сравнению с потомством мышей из контрольной группы [128].

На чувствительность гепатоцитов к действию инсулина оказывают влияние ВЖК. В норме при связывании ВЖК с рецепторами FXR, расположенными на поверхности гепатоцитов,

снижается глюконеогенез за счет ингибирования экспрессии ферментов фосфоенолпируват-карбоксикиназы, глюкозо-6-фосфатазы и фруктозо-1,6-бифосфатазы. Также активация рецепторов FXR ассоциирована с увеличением экспрессии генов рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом (PPAR α), что проявляется снижением окисления СЖК и снижением синтеза ЛПНП в печени. При отсутствии активации рецепторов FXR на фоне снижения концентрации ВЖК в крови, в гепатоцитах образуется избыток церамидов, которые включаются в мембрану митохондрий и приводят к стрессу эндоплазматического ретикуляма, влияя на синтез липидов и продукцию глюкозы в печени [129, 130].

Развитию ИР на уровне жировой ткани вероятно способствует избыточная продукция серотонина ЭЭК. Гиперпродукция серотонина возникает при увеличении в толстом кишечнике спорообразующих бактерии на фоне повышенного образования КЦЖК, СЖК и ВЖК. При этом избыток серотонина абсорбируется в кровь и на уровне адипоцита связывается со своими рецепторами. Активация серотониновых рецепторов приводит к стимуляции липолиза и увеличению циркуляции СЖК и глицерина в крови. СЖК депонируются в мышцах и гепатоцитах, что вероятно увеличивает риск развития ИР данных тканей [131].

Также непосредственный вклад в инсулинзависимый транспорт глюкозы на уровне метаболических тканей оказывают некоторые кишечные бактерии. Так *Lactobacillus gasseri* увеличивает экспрессию GLUT-4 на поверхности миоцитов и адипоцитов, а *Bifidobacterium lactis* улучшает транслокацию GLUT-4 и стимулирует инсулин опосредованное поглощение глюкозы тканями [6].

Важно, что ацетат способен влиять на развитие ИР на трех основных уровнях: на уровне ГМ, воспалительного статуса и чувствительности периферических тканей к действию инсулина. Так по данным Hernández и соавт., при потреблении продуктов с высоким содержанием ацетогенных волокон (галакто-олигосахариды, инулин), КМ (*Akkermansia Muciniphila* и *Bifidobacteria* и др.) ферментирует пируват до ацетата. Ацетат в свою очередь увеличивает активность парасимпатической нервной системы, способствует образованию бурой жировой ткани, контролирует синтез лептина, снижает продукцию провоспалительных цитокинов и увеличивает функциональную способность GLUT-4 и АМФ-зависимой протеинкиназы на уровне миоцитов, адипоцитов и гепатоцитов. Следовательно, снижение продукции ацетата кишечными бактериями приводит к увеличению массы тела и развитию ИР [132].

Таким образом, нарушение состава КМ связано с увеличением риска развития ИР за счет нарушения механизма «кишечник-мозг-периферия», увеличения проницаемости кишечного барьера и развития системного воспаления, снижения или гиперпродукции КЦЖК и нарушения метаболизма жёлчных кислот [6, 119, 120].

1.2.2 Влияние кишечной микробиоты на развитие β -клеточной и α -клеточной дисфункции поджелудочной железы

В норме по мере увеличения уровня гликемии, усиливается продукция аденозинтрифосфата (АТФ) в митохондриях. Это приводит к снижению синтеза глюкагона и повышению секреции инсулина. Аналогичным образом, при снижении гликемии – снижается концентрация АТФ в клетках и, значит, увеличивается синтез глюкагона и уменьшается продукция инсулина. Однако данный механизм не функционирует у пациентов с СД2. Это объясняется развитием митохондриальной дисфункции α - и β -клеток ПЖЖ на фоне глюкозотоксичности и липотоксичности. Таким образом, несмотря на высокий уровень гликемии, у пациентов с СД2 увеличивается продукция глюкагона и снижается секреция инсулина [133]. Особый вклад в развитие и прогрессирование дисфункции α - и β -клеток ПЖЖ играют ИР и нарушение инкретинового эффекта [3, 133, 134, 135]. Также в последнее время активно обсуждается роль КМ в контроле секреции инсулина и глюкагона [3].

Действие КМ на синтез глюкагона и инсулина объясняется как непосредственным взаимодействием КМ и её активных метаболитов с рецепторами, расположенными на поверхности данных клеток, так и через контроль секреции инкретиновых гормонов [16].

На поверхности β -клеток ПЖЖ располагаются такие рецепторы, как GPR43 и GPR41, следовательно, КЦЖК могут модулировать секрецию инсулина. Имеются данные, что активация GPR43 приводит к увеличению глюкозозависимой секреции инсулина, в то время, как связывание КЦЖК с рецептором GPR41 ассоциировано со снижением функциональной способности β -клеток [16]. Вероятно, взаимодействие КЦЖК с GPR43 приводит к активации внутриклеточной аденилатциклазы C и повышению ионов кальция в плазме β -клеток. Это ведет к модуляции секреции инсулина. При этом активация GPR41 связана с ингибированием фермента аденилатциклазы и снижением цАМФ и кальция в клетке, что ассоциировано со снижением высвобождения инсулина [85]. Более того, активация рецепторов GPR43 КЦЖК связана с пролиферацией β -клеток ПЖЖ [136], а отсутствие данных рецепторов на поверхности этих клеток ассоциировано с повышенной β -клеточной гибелью [137, 138].

Помимо непосредственного взаимодействия КЦЖК со своими рецепторами на поверхности β -клеток ПЖЖ имеются данные, что ацетат способен влиять на секрецию инсулина через механизм «кишечник-мозг-периферия». В исследовании Perry и соавт. на примере лабораторных животных было показано, что инфузии ацетата были ассоциированы с повышением продукции грелина – маркера гиперактивации парасимпатической нервной системы. На фоне повышения грелина отмечалось увеличение уровня инсулина в крови. При

этом длительные инфузии ацетата приводили к стойкому повышению грелина и инсулина, что клинически проявлялось гиперфагией и гипертриглицеридемией, в связи с чем можно предположить роль повышенного образования ацетата в развитии гиперинсулинемии и ИР [139].

Имеются данные, что ВЖК также влияют на секрецию инсулина. В исследовании Renga и соавт., было показано, что активация FXR жёлчными кислотами увеличивает функциональную способность β -клеток ПЖЖ через геномные и негеномные механизмы. Геномный путь объясняется индукцией транскрипции генов инсулина. Негеномный путь ассоциируется с активацией процесса фосфолирования каскада внутриклеточных белков и индукцией транслокации GLUT-2, что ведет к улучшению глюкозозависимой секреции инсулина [140]. С FXR преимущественно взаимодействуют ВЖК, которые образуются под действием КМ. Следовательно, при дисбиозе кишечных бактерий увеличена концентрация ПЖК и снижен уровень ВЖК в просвете кишечника и кровотоке, что вероятно связано с усугублением функции β -клеток [141]. Так в исследовании Zhang и соавт., среди худых пациентов с СД2 высокий уровень ПЖК (3-хенодезоксихолевой кислоты) был связан с более низкими концентрациями инсулина в крови и выраженным снижением *Akkermansia muciniphila* в кишечнике, действие которой связано с процессом превращения ПЖК во ВЖК [142].

Эффекты H_2S на функцию β -клеток изучены недостаточно. Однако известно, что низкие концентрации H_2S способны оказывать цитопротективное действие по отношению к β -клеткам, а высокие концентрации – снижать продукцию инсулина за счет ингибирования закрытия АТФ-зависимых калиевых каналов, расположенных на мембране β -клеток [22, 96, 97].

Действие образованного в кишечнике серотонина на функцию β -клеток не описано, однако известно, что серотонин, синтезирующийся в D-клетках ПЖЖ аутокринным и паракринным путями повышает чувствительность β -клеток ПЖЖ к уровню гликемии, а также увеличивает массу β -клеток [143]. Таким образом нельзя исключить влияния серотонина, образованного кишечными бактериями, на функциональную активность β -клеток.

Не только активные метаболиты КМ, но и кишечные комменсалы способны контролировать процессы функционирования β -клеток ПЖЖ. В обзоре Zhang и соавт. показано, что некоторые штаммы *Aegomonas* продуцируют белок, который назван фактором экспансии β -клеток А. Действие этого белка связано со стимуляцией дифференцировки клеток-предшественников в β -клетки ПЖЖ, а также со стимуляцией клеток кишечника, которые вырабатывают неизвестный белок, названный «фактор Х». Фактор Х в свою очередь влияет на процессы пролиферации β -клеток. Адекватный процесс контроля роста, дифференцировки и пролиферации β -клеток ПЖЖ в процессе эмбриогенеза и во время первых годов жизни определяет их функциональную способность в будущем. Важно, что фактор экспансии β -клеток А и фактор Х не оказывают своих действий на α -клетки ПЖЖ [144].

Влияние КМ на функциональную активность α -клеток через непосредственные рецепторные механизмы не описано, однако известно, что на поверхности α -клеток присутствует рецептор GPR41 [145].

1.2.3 Влияние кишечной микробиоты на развитие L-клеточной дисфункции и нарушение инкретинового эффекта

Также на функциональную активность α - и β -клеток ПЖЖ оказывают влияние инкретиновые гормоны. ГПП-1 и ГИП вырабатываются L-клетками и K-клетками кишечника, соответственно. Эффекты ГПП-1 ассоциированы с усилением секреции инсулина и снижением секреции глюкагона, а действие ГИП – с увеличением секреции как инсулина, так и глюкагона [121, 146]. В свою очередь инкретиновый эффект описывает процесс стимуляции пероральной глюкозой синтеза ГПП-1 и ГИП, результатом которого является усиление секреторной активности β -клеток ПЖЖ [121]. Важно отметить, что у пациентов с СД2 инкретиновый эффект снижается [147]. С учетом того, что K-клетки располагаются преимущественно в тонком кишечнике, а L-клетки в дистальном отделе тонкого кишечника и в толстом кишечнике, наибольший интерес представляет влияние КМ на секрецию ГПП-1.

Стоит отметить, что на мембране L-клеток кишечника располагаются натрий-глюкозные котранспортеры 1 типа, за счет работы которых осуществляется глюкозозависимая секреция ГПП-1 [148]. Однако помимо данных транспортеров на мембране ЭЭК также присутствуют следующие рецепторы и каналы: рецепторы GPR43 и GPR41, с которыми связываются КЦЖК; рецепторы TGR5 и FXR, с которыми взаимодействуют ВЖК; K-каналы, на которые влияют производные триптофана (индол). Следовательно, секреция ГПП-1 контролируется практически всеми основными активными метаболитами КМ [16, 99, 105, 107].

Синтез ГПП-1 осуществляется как при активации GPR41, так и при активации GPR43. При этом взаимодействие КЦЖК с GPR41 ассоциировано с ингибированием аденилатциклазы и увеличением ионов кальция в L-клетках, а активация GPR43 – со стимуляцией трифосфатинозитола и инактивацией аденилатциклазы также приводящих к повышению кальция в ЭЭК [16]. Несмотря на то, что все КЦЖК способны взаимодействовать с рецепторами GPR41 и GPR43, в исследовании Christiansen и соавт., было продемонстрировано, что на синтез ГПП-1 преимущественно влияли бутират и ацетат [82]. Вклад бутирата в синтез ГПП-1 также подтвержден и в ряде других исследований [149, 150, 151]. Таким образом, по данным большинства опубликованных исследований ведущую роль в секреции ГПП-1 осуществляет бутират. Следовательно, уменьшение количества бутират-продуцирующих бактерий в просвете

толстого кишечника может приводить к снижению секреции инкретинового гормона и, соответственно, к снижению выраженности инкретинового эффекта.

Индол по-разному влияет на функциональную способность L-клеток. Так краткосрочное повышение концентрации данного активного метаболита в просвете кишечника приводит к ингибированию K-каналов и увеличению потенциала действия мембраны клеток, что приводит к синтезу ГПП-1. Однако длительное и выраженное увеличение индола в кишечнике ассоциировано с блокированием образования АТФ в митохондриях, что ведет к снижению ионов кальция в клетках, а значит, снижает секрецию ГПП-1 [99]. Действительно, в исследовании Zhang и соавт., на лабораторных животных было показано, что быстрая стимуляция индолом приводила к росту уровня ГПП-1 и снижению глюкозы в крови, тогда как стимуляция индолом в течение 240 мин была ассоциирована с прогрессивным снижением данного инкретинового гормона в крови и ростом гликемии [98].

При активации TGR5, расположенных на мембране L-клеток стимулируется секреция ГПП-1, так как внутриклеточно увеличиваются цАМФ и концентрация кальция. С другой стороны, связывание желчных кислот с FXR снижает секрецию ГПП-1 в ЭЭК за счет нарушения транскрипции гена-предшественника ГПП-1 – проглюкагона [102, 105, 107, 152]. Стоит отметить, что наибольшим сродством к FXR обладают ПЖК в то время, как ВЖК связываются преимущественно с TGR5. Следовательно ВЖК принимают непосредственное участие в секреции ГПП-1 [102].

В настоящее время неизвестно через какие рецепторные механизмы H_2S влияет на секрецию ГПП-1, однако имеются данные, что на фоне увеличения сульфатредуцирующих бактерий в кишечнике отмечается увеличение концентрации ГПП-1 и инсулина в крови. Рост данных гормонов в плазме ассоциирован с улучшением контроля гликемии на фоне пероральной нагрузки глюкозой [95].

Таким образом, практически все основные кишечные метаболиты КМ контролируют секрецию инкретиновых гормонов в кишечнике. Следовательно, при дисбиозе КМ в первую очередь снижается процесс секреции ГПП-1, что приводит к нарушению инкретинового эффекта, проявляющегося дисфункцией α - и β -клеток ПЖЖ и снижением толерантности к постпрандиальному подъему гликемии. Вероятно, одновременно с этими процессами развивается ИР периферических тканей. Совокупность этих факторов приводит к развитию СД2. Это определяет важность изучения характера изменений состава КМ у пациентов с углеводными нарушениями, ведь понимание логики развития дисбиоза КМ у пациентов с предиабетом и СД2 позволило бы в будущем использовать исходный состав КМ в качестве маркера диагностики и терапевтической мишени метаболических заболеваний.

1.3. Характер изменений кишечной микробиоты у пациентов с СД2

При оценке таксономического состава КМ у пациентов с СД2 отмечается увеличение типа Firmicutes и снижение типа Bactroidetes [32, 36, 38, 39, 40, 48]. Также в некоторых исследованиях упоминается снижение таких типов бактерий, как Actinobacteria, Proteobacteria и Verrucomicrobia среди пациентов с СД2 [34, 36, 38, 39].

Каких-либо изменений КМ на уровне класса, отдела и семейства между группами пациентов с СД2 и без углеводных нарушений в большинстве исследований не отмечается. Тем не менее в работе Егшатын Л. В. и соавт. наблюдается увеличение отдела Verrucomicrobia [48], а в исследованиях Maskarinec и соавт. и Wang и соавт. имеются противоположные данные о представленности семейства Lachnospiraceae среди пациентов с СД2 [32, 34].

Наиболее выраженные изменения состава КМ у пациентов с углеводными нарушениями представлены на уровне рода. В ряде исследований условно патогенный род Escherichia-Shigella, а также род Lactobacillus увеличены у пациентов с СД2 [32, 34, 37, 39, 40, 41]. В тоже время по данным большинства исследований, такие рода бактерий, как Faecalibacterium, Roseburia и Prevotella снижены у пациентов с СД2 [32, 39, 40, 41]. Стоит отметить, что данные рода бактерий являются поставщиками бутирата, противовоспалительных цитокинов, а также некоторых других активных метаболитов КМ [6, 153, 154].

В исследовании Leite и соавт. было высказано предположение, что среди пациентов с СД2 доминирующими видами бактерий являются Prevotella copri и Bacteroides vulgatus [155]. Данные бактерии являются наиболее часто представленными штаммами ЖКТ здорового человека. При этом численность P. copri превосходит количество B. vulgatus [156]. Таким образом, в настоящее время картина видового разнообразия пациентов с СД2 не описана. Вероятно, это связано с тем, что состав КМ здорового человека на уровне вида до конца не определен. Это ограничивает возможность ориентации на характер изменения видового разнообразия бактерий толстого кишечника при развитии углеводных нарушений и подтверждает необходимость оценки изменения бактериального состава на более высокой ступени таксономической лестницы – на уровне рода, на уровне устойчивых родовых кластеров – ЭТ и на уровне межродовых взаимодействий – кооперативов. Принимая во внимание ЭТ стоит отметить, что ЭТ Bacteroides в отличие от типа Prevotella положительно связан с развитием СД2 [32]. Связь кишечных кооперативов с риском развития углеводных нарушений до настоящего времени не изучалась.

В большинстве исследований индекс α -разнообразия снижался [32, 34, 37, 39] или не изменялся [35, 36, 40, 48] среди пациентов с СД2 по сравнению с метаболически здоровыми. Хотя результаты одного африканского исследования указывали на увеличение α -разнообразия у лиц,

имеющих СД2 [38]. Следовательно, можно предположить, что для пациентов с углеводными нарушениями не характерно выраженное снижение OTU. Вероятнее всего для пациентов с СД2 свойственно снижение численности только основных представителей филонетаболического ядра (*Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Lactobacillus* и др.): продуцентов бутирата и других КЦЖК, а также бактерий, обладающих противовоспалительным потенциалом, способностью к синтезу активных метаболитов КМ и к активации секреции инкретиновых и других гормонов, что подтверждается в ряде исследований [32, 39, 40, 41].

Тем не менее вопрос о характере изменений состава КМ у пациентов с СД2 остается открытым. Дело в том, что в большинстве исследований состав КМ оценивался на фоне длительного стажа заболевания, а также на фоне приема пероральной ССТ. Как стаж СД2, так и прием лекарственных средств могут влиять на состав КМ. Таким образом в настоящее время ошибочно предполагать, что вышеописанные изменения КМ приводят к СД2. Вероятно хроническая гипергликемия и прием пероральных ССП способствуют типичным изменениям состава КМ. Для того, чтобы понять какие именно изменения состава КМ ассоциированы с риском развития углеводных нарушений необходимо проводить оценку изменений КМ у пациентов с впервые диагностированным СД2, которые ранее не получали ССТ, а также оценивать взаимосвязь кишечных бактерий с основными патогенетическими звеньями заболевания: ИР, α и β – дисфункцией ПЖЖ и дисфункцией L-клеток кишечника.

1.4. Влияние состава кишечной микробиоты на эффективность сахароснижающей терапии

В настоящее время отсутствуют исследования, посвященные изучению влияния КМ на эффективность ССП. Тем не менее имеются косвенные данные о роли КМ в реализации сахароснижающей способности антидиабетических средств. Так, в исследовании Koh и соавт. на примере лабораторных животных показано, что сахароснижающий эффект метформина не осуществляется в случае, если мыши получают пропионат [157]. Вероятно, отсутствие снижения гликемии на фоне терапии метформином у животных, получающих пропионат связано с дискордантными эффектами метформина и пропионата по отношению к глюконеогенезу в печени: метформин ингибирует глюконеогенез в печени, а пропионат является субстратом для глюконеогенеза и, возможно, влияет на процесс образования глюкозы в печени [15, 158]. С другой стороны, бутират-продуцирующие бактерии активируют кишечный глюконеогенез, что способствует снижению продукции глюкозы в печени, белки клеточной стенки *Akkermansia*

имитируют действие метформина, а представители КМ, ассоциированные с образованием ВЖК, усиливают секрецию ГПП-1 [159, 160].

По всей видимости усиливать эффективность метформина могут бутират-продуцирующие бактерии, а также бактерии, обладающие способностью стимулировать секрецию ГПП-1 и метаболизировать ПЖК до ВЖК. К этим бактериям относятся *Akkermansia*, *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и др., численность которых снижается у пациентов с СД2 [6, 153, 154, 161].

Имеются данные о влиянии КМ на эффективность препаратов инкретинового ряда. В исследовании Grasset и соавт. показано, что увеличение *Bacteroidales*, *Burkholderiales*, *Clostridiales* и снижение *Lactobacilli* ассоциировано с уменьшением концентрации рецепторов ГПП-1 на кишечных нейронах и снижением образования NO, что приводит к ингибированию передачи информации из кишечника в ГМ по афферентным волокнам *p.vagus* [162]. Таким образом, несмотря на пролонгирование действия ГПП-1 в кишечнике на фоне терапии иДПП-4 или увеличение концентрации ГПП-1 в кишечнике на фоне лечения агонистами рецепторов ГПП-1 (арГПП-1) ожидаемого сахароснижающего эффекта у лиц с нарушением образования NO в нейронах кишечника отмечаться не будет. Другим возможным механизмом, снижающим эффективность препаратов инкретинового ряда является способность некоторых представителей *Clostridium* и *Enterococcus faecalis* синтезировать ферменты, расщепляющие ГПП-1 до неактивных метаболитов [163].

Возможные патогенетические влияния отдельных представителей КМ на эффективность терапии препаратами сульфонилмочевины, ингибиторов натрий-глюкозного котранспортера 2 типа (иНГЛТ-2) и инсулина еще предстоит выяснить.

1.5. Резюме

КМ контролирует гомеостаз углеводов и липидов в организме посредством своих активных метаболитов. При дисбиозе состава КМ, когда снижается физиологическая концентрация данных метаболитов в просвете кишечника и в кровотоке, увеличивается риск развития СД2: развивается ИР, дисфункция β -клеток ПЖЖ и ЭЭК кишечника, нарушается работа механизма «кишечник-мозг-периферия». В настоящее время не идентифицированы кишечные бактерии, ответственные за развитие того или иного звена патогенеза СД2. Более того, отсутствуют исследования, в которых бы изучалась связь между исходным составом КМ у пациентов с СД2 и эффективностью стартовой ССТ. Таким образом изучение состава КМ у пациентов с манифестным СД2, а также выявление связи кишечных бактерий с

патогенетическими звеньями заболевания и эффективностью ССТ являются немаловажной задачей, направленной на поиск новых путей диагностики и стартовой терапии СД2.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

Проведено наблюдательное одноцентровое проспективное исследование, посвященное изучению влияния КМ на особенности развития СД2 и персонализацию стартовой ССТ у пациентов с впервые выявленным СД2, которые ранее не получали ССТ. Данные пациенты были госпитализированы в городскую клиническую больницу имени В.П. Демикова в период с октября 2019 г. по февраль 2021 г. в связи с гипергликемией, выявленной случайно по месту жительства. Выборка была сформирована из мужчин и женщин в возрасте от 18 до 80 лет.

После госпитализации пациентов в стационар, диагноз впервые выявленного СД2 двукратно подтверждался по данным любых из имеющихся лабораторных методов диагностики: гликемия венозной крови натощак более 7,0 ммоль/л или более 11,1 ммоль/л при случайном определении; гликемия через 2 часа после орального приема 75г глюкозы более 11,1 ммоль/л; уровень HbA1c более 6,5%.

После двукратного подтверждения диагноза СД2 в исследование были включены 100 пациентов с впервые выявленным СД2, ранее не получающие ССТ и соответствующие критериям включения.

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Впервые выявленный СД2
2. Отсутствие кетоацидоза
3. Возраст ≥ 18 лет, ≤ 80 лет
4. ИМТ > 25 кг/м²
5. Отсутствие приема сахароснижающих препаратов (ССП) в анамнезе
6. Отсутствие приема препаратов, влияющих на изменение состава КМ:
 - в течение последних 3 мес.: антибиотиков, иммуносупрессантов, ингибиторов протоновой помпы;
 - в течение последнего месяца: пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков, антацидов;
 - в течение последних 2 недель: нестероидных противовоспалительных препаратов;
7. Наличие подписанного пациентом информированного согласия

Критерии не включения пациентов в исследование:

1. Наличие СД1

2. Наличие хронических заболеваний ЖКТ: язвенный колит, болезнь Крона, целиакия, синдром раздраженного кишечника, множественный полипоз кишечника, хронический панкреатит с частыми обострениями (более 6-7 раз в год)

3. Наличие острых заболеваний ЖКТ: острый панкреатит, острый холецистит, энтериты, колиты, обострение язвенной болезни желудка или двенадцатиперстной кишки

4. Перенесенное оперативное вмешательство на ЖКТ в течение последних 3 мес.

5. Наличие тяжелых инфекционных заболеваний (ВИЧ-инфекция, гепатит В, гепатит С, туберкулез, Covid-19)

6. Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) < 30 мл/мин/1,73м²

7. Наличие психических заболеваний

8. Алкоголизм, наркомания

9. Беременность или лактация

10. Наличие онкологических заболеваний

11. Переливание крови, трансплантация органов или костного мозга в анамнезе

Критерии исключения из исследования:

1. Существенное отклонение сроков планируемых визитов согласно протоколу исследования

2. Несоблюдение пациентом назначенного медикаментозного лечения

3. Отказ пациента или его законных представителей от дальнейшего участия в исследовании

4. Появление любых критериев, соответствующих критериям не включения

Каждым участником было подписано письменное информационное согласие на участие в исследовании. Всем пациентам была доведена и предоставлена полная информация о проводимых анализах и процедурах.

На **1-ом визите** после оценки соответствия пациентов критериям включения и не включения выполнялся сбор анамнеза, проводился антропометрический анализ и внутривенное взятие крови на гормональный (инсулин, С-пептид, глюкагон, ГПП-1) и биохимический анализы крови (глюкоза, HbA1c, ОХ, ЛПНП, ЛПВП, ТГ, креатинин, мочевины, АЛТ, АСТ, билирубин общ.). Исследование уровней глюкагона и ГПП-1 в крови проводилось натощак (точка 0 мин.) и через 30 мин. после стандартного завтрака (точка 30 мин.). Исследование уровня инсулина проводилось натощак (точка 0 мин.) и через 120 мин. после стандартного завтрака (точка 120 мин.). Оценка динамики инсулина, глюкагона и ГПП-1 на фоне стандартного завтрака была выполнена 88 пациентам (случайная выборка). Также на 1-ом визите с целью оценки состава КМ 100 пациентам проводился забор кала для проведения 16S рРНК секвенирования.

На **2-ом визите** по мере получения результатов лабораторных исследований пациенты были рандомизированы на группы монотерапии или комбинированной терапии в зависимости от уровня HbA1c согласно «Алгоритмам специализированной помощи больным сахарным диабетом» от 2019г. [164]. В качестве монотерапии назначался метформин в суточной дозе 2000 мг (n=20), а в качестве комбинированной терапии к метформин добавлялись инновационные ССП: иДПП-4 (n=20)/арГПП-1 (n=20)/иНГЛТ-2 (n=20) или иДПП-4 + инсулин гларгин 300 ЕД/мл (n=20) исходя из расчета $0,2-0,4 \text{ ЕД} \times \text{кг}$ массы тела пациента с последующей коррекцией дозы препарата до достижения целевых показателей гликемии натощак. Всем пациентам был рекомендован самоконтроль гликемии при помощи индивидуального глюкометра.

Эффективность проводимой терапии оценивалась на **3-ем визите** по уровню HbA1c через 3 месяца лечения. В случае недостижения целевых показателей гликемии через 3 месяца лечения, на 3-ем визите проводилась коррекция ССТ с учетом отечественных рекомендаций [164].

Анализ состава КМ был получен у 97 из 100 пациентов. Результаты гормонального исследования (инсулин, глюкагона, ГПП-1) получены у 88 из 88 пациентов. Полностью завершили исследование 81 из 100 пациентов, из которых метформин получали 20 пациентов, комбинированную терапию метформин + иДПП-4 – 15 пациентов, метформин + арГПП-1 – 16 пациентов, метформин + НГЛТ-2 – 20 пациентов, метформин + иДПП-4 + инсулин гларгин 300 ЕД/мл – 10 пациентов.

Дизайн исследования и график визитов пациентов представлены на Рисунке 3 и в Таблице 1 соответственно.

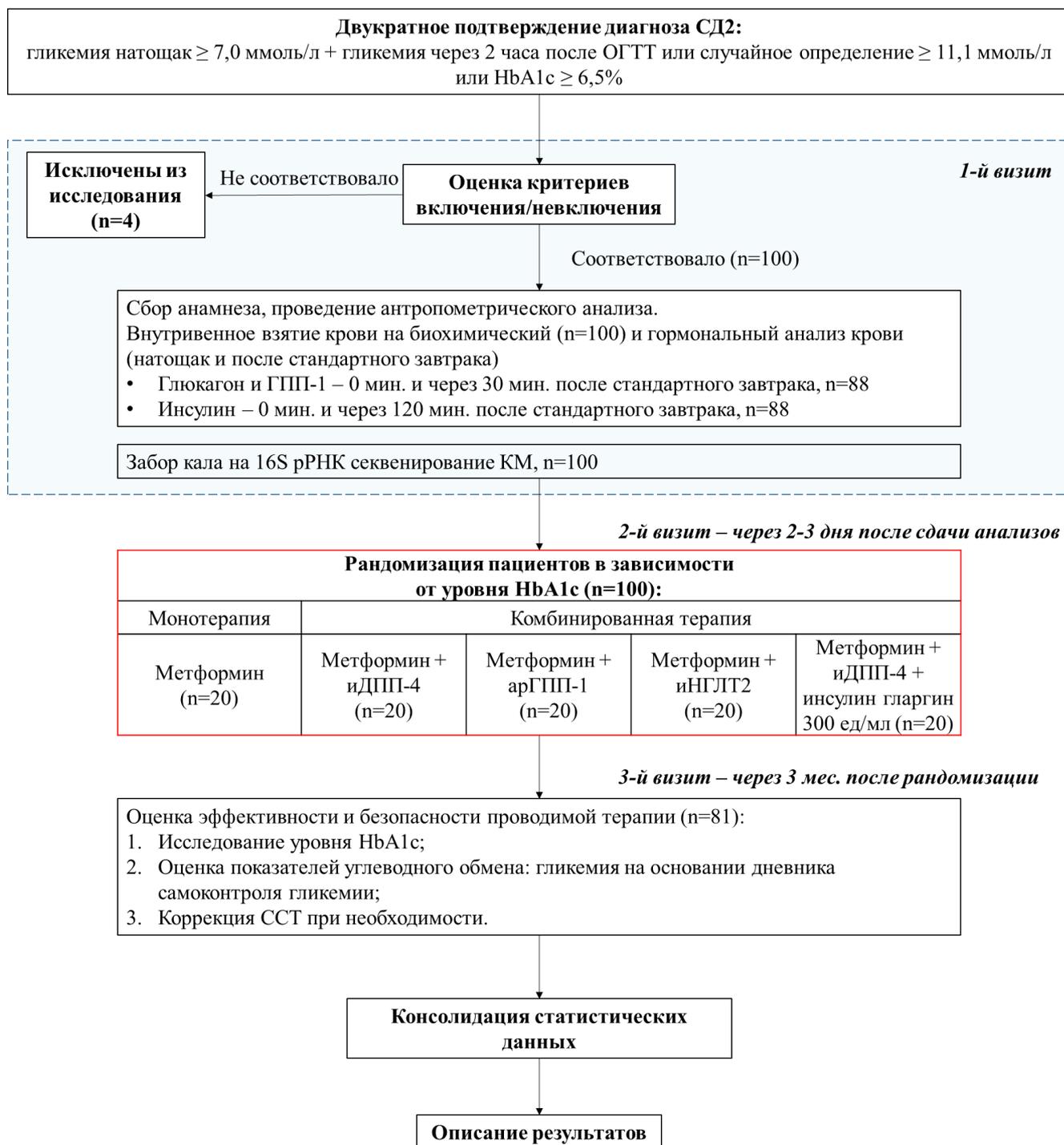


Рисунок 3. Дизайн исследования

Таблица 1. График визитов пациентов

Обследование	Визит 1	Визит 2 (через 3 дня)	Визит 3 (через 3 мес.)
Сбор анамнестических данных	+		
Антропометрические данные (вес, рост, ИМТ, ОТ, ОБ)	+		
Биохимический анализ крови (глюкоза, HbA1c, ЛПНП, ЛПВП, ОХ, ТГ, креатинин, мочевины, АЛТ, АСТ, билирубин общий)	+		
Биохимический анализ крови (HbA1c)			+
Гормональный анализ крови (Инсулин, С-пептид, Глюкагон, ГПП-1)	+		
Оценка индексов ИР (индекс НОМА-IR)	+		
Забор кала на 16S рРНК секвенирование КМ	+		
Назначение лечения		+	

2.2 Методы исследования

2.2.1 Антропометрический анализ

Антропометрический анализ проводился всем пациентам на **1-ом визите**. В данный анализ включалось измерение веса (кг), роста (см), ОТ (см), ОБ (см), ОТ/ОБ, расчет ИМТ.

Вес пациентов измерялся на медицинских электронных весах ВМЭН-150, 200-50/100-А; рост – при помощи ростомера. Для оценки ОТ и ОБ использовалась сантиметровая медицинская лента. ИМТ, отражающий степень соответствия массы тела и роста человека, рассчитывался по формуле:

$$\text{ИМТ} = \frac{m}{h^2}, \quad (1)$$

где ИМТ – индекс массы тела (кг/м²);

m – масса тела (кг);

h – рост человека (м).

При этом:

ИМТ < 18,5 кг/м² – дефицит массы тела;

ИМТ = 18,5-24,5 кг/м² – норма;

ИМТ = 5,0-29,9 кг/м² – избыточная масса тела;

ИМТ = 30-34,9 кг/м² – ожирение 1 степени

ИМТ = 35-39,9 кг/м² – ожирение 2 степени

ИМТ > 40 кг/м² – ожирение 3 степени.

2.2.2 Биохимический и гормональный анализы крови

На **1-ом визите** проводился биохимический анализ крови. Забор крови проводился в пробирку с разделительным гелем (жёлтая крышка). После взятия крови пробирка была центрифугирована на 3000 оборотах в течение 15 мин. Биохимические показатели определялись в день взятия крови. Оценка показателей липидного спектра, ГПН, креатинина, мочевины, АЛТ, АСТ, билирубина общего выполнялись на высокопроизводительном биохимическом анализаторе AU 5800 (Beckman Coulter, США).

Оценка уровня HbA1c проводилась на **1-ом и 3-ем визитах**. Забор крови на HbA1c осуществлялся в пробирку с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) (сиреневая крышка), пробирка не центрифугировалась, показатель определялся в день взятия крови с помощью анализатора Variant II Turbo (Bio-Rad Laboratories, США) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

На **1-ом визите** с целью оценки секреторной способности α - и β -клеток ПЖЖ, а также L-клеток кишечника 88 пациентам (случайная выборка) исследованы глюкагон, инсулин, С-пептид, ГПП-1 натощак (в точке 0 мин). ГПП-1 и глюкагон повторно исследовались в точке 30 минут после стандартного завтрака (соотношение белки/жиры/углеводы (г) = 17,86/15,45/42,32 г, 382,0 ккал); инсулин – в точке 120 мин после стандартного завтрака. Исследование уровней глюкагона и ГПП-1 проводилось в точке 30 мин. в связи с тем, что пик секреции данных гормонов приходится через 30-40 мин. после пероральной нагрузки глюкозой [165, 166]. Исследование уровня инсулина проводилось в точке пика его секреции, возникающего через 120 мин. после пероральной нагрузки глюкозой [165, 166].

Забор крови на глюкагон и ГПП-1 проводился в пробирку с ЭДТА (сиреневая крышка); на инсулин и С-пептид - в пробирку с разделительным гелем (жёлтая крышка). Сразу после взятия крови, пробирки были центрифугированы на 3000 оборотах в течение 15 мин. Затем плазма была отделена и заморожена при -80 °С. Из замороженной плазмы были определены инсулин, С-пептид, глюкагон и ГПП-1 на базе ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологий», г. Москва.

Инсулин и С-пептид определялись при помощи иммунохемилюминесцентного анализа на автоматическом иммунохимическом анализаторе LIAISON XL (DiaSorin S.p.A., Италия).

Единицы измерения для инсулина – МкМЕ/мл. Единицы измерения для С-пептида – нг/мл. Глюкагон и ГПП-1 определялись с помощью иммуноферментного анализа (ELISA) наборами BioVendor. Единицы измерения для глюкагона и ГПП-1 – нг/мл.

Также пациентам проводилась оценка ИР периферических тканей путем определения индекса НОМА-IR (homeostasis model assessment).

Индекс НОМА-IR отражает резистентность периферических тканей к инсулину и рассчитывается по формуле:

$$\text{НОМА} - \text{IR} = \frac{I_0 \cdot G_0}{22,5}, \quad (2)$$

где НОМА-IR – индекс ИР.

Условно нормальная чувствительность периферических тканей к инсулину определяется в случае, если НОМА-IR < 2,7. ИР диагностируется при индексе НОМА-IR ≥ 2,7 [167].

2.2.3 Генетическое исследование метагенома человека 16S рРНК секвенирование кишечной микробиоты

С целью определения состава КМ у 100 пациентов с впервые выявленным СД2 до назначения ССТ были собраны образцы кала в стерильные пробирки с транспортной средой Norgen. Анализ микробного состава кала проводился методом ампликонного секвенирования гена 16S рРНК бактерий на базе ФГБУ Научного Исследовательского Центра «Курчатовский институт», г. Москва.

Выделение ДНК из образцов кала проводилось при помощи набора Qiagen Power Fecal PRO согласно инструкции производителя. Амплификацию переменного участка V4 гена 16S рРНК проводили с использованием следующей системы праймеров: модификация 515 F (5' - GTGBCAGCMGCCGCGGTAA - 3') и Pro-mod-805 R (5'-GACTACNVGGGTMTCААТСС - 3'). После этого проводился второй этап амплификации с использованием стандартных индексов Illumina с адаптерами. Оба раунда полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводились с использованием ПЦР буфера производства Eurogen и амплификатора Bio-Rad CFX-96.

Очистку ПЦР продуктов проводили с помощью набора реакционных смесей Cleanup Mini (Eurogen). Концентрацию дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) определяли с помощью флуориметра Qubit® (Invitrogen, США) с использованием набора Quant-iT™ dsDNA High-Sensitivity Assay Kit. Очищенные ампликоны смешивали эквимолярно в соответствии с полученными концентрациями. Секвенирование пулированной библиотеки осуществляли с

использованием набора MiSeq Reagent Kit v2 (500 циклов) на платформе MiSeq (Illumina, США) согласно рекомендациям производителя.

Объединение парных ДНК-прочтений (ридов) проводилось с помощью пакета SeqPrep; итоговая длина ридов составила 252 пн. Глубина секвенирования для каждого образца составила не менее 10000 ридов.

В дальнейшем проводилась фильтрация качества полученных образцов с использованием сценария `split_libraries_fastq.py` QIIME script. Образцы считались качественными в случае, если количество прочтений составляло 3000 и более. Образцы, которые после фильтрации по качеству имели недостаточное количество качественных прочтений (< 3000) были исключены из дальнейшего анализа. В итоговый анализ было включено 97 образцов.

С целью определения таксономического состава КМ была использована платформа “Кномикс-Биота” (электронный доступ: <https://biota.knomics.ru/>) и наивный байесовский классификатор QIIME2, обученный на базе SILVA v138 (электронный доступ: <https://www.arb-silva.de/documentation/release-138/>). Для унификации анализа данные по каждому образцу были прорежены до 6000 ридов. Таблицы относительной представленности на таксономических уровнях вида, рода, семейства и т. д. были получены путем суммирования относительной представленности последовательностей, принадлежащих соответствующей таксономической группе.

Метаболический потенциал микробного сообщества был оценен с использованием программы PICRUSt. Представленность метаболических путей оценивалась по базам KEGG и MetaCyc. Также в системе “Кномикс-Биота” отдельно проводилось вычисление относительной представленности путей производства кишечными бактериями ряда КЦЖК.

α -разнообразие было оценено после пятикратного прореживания полученных таблиц представленности до 6000 ридов на образец и усреднения результатов. Расстояние между образцами (β -разнообразие) было оценено на уровне бактериальных родов с использованием меры расстояния Брея-Кертиса.

Энтеротипирование проводилось с использованием метода полиномиальных смесей Дирихле (англ. DMM - Dirichlet multinomial mixtures) для вероятностного моделирования данных метагеномики. Оптимальное количество кластеров было определено путем минимизации лапласовой оценки правдоподобия модели.

Анализ совместной встречаемости таксонов в образцах (определение кооперативов) был проведен на уровне родов с помощью алгоритма SPIEC-EASI. Были использованы следующие параметры алгоритма: метод Meinshausen и Bühlmann (MB), $\text{minimum lambda ratio} = 0,1$, $\text{number of lambda iterations} = 20$, выбор модели с помощью алгоритма StARS (число подвыборок = 50).

Бактериальные кооперативы были определены как связанные компоненты положительных корреляций.

2.2.4 Статистический анализ

Статистический анализ и сравнение данных КМ, полученных на платформе “Кномикс-Биота” (электронный доступ: <https://biota.knomics.ru/>) с клинико-лабораторными показателями пациентов проводились с помощью программ Microsoft Office Excel 2013, Statistica 10 v.10.0.1011.0 (StatSoft, Inc., США).

Проверка нормальности распределения признаков проводилась при помощи критерия Колмогорова–Смирнова (при числе исследуемых n более 50) или критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых n менее 50). Для описания признаков с нормальным распределением использовалось среднее значение (M), стандартная ошибка среднего значения (m) с указанием 95% доверительного интервала (95% ДИ). При описании признаков с ненормальным распределением использовалась медиана с указанием межквартильного диапазона [25-й и 75-й процентиля].

Сравнение двух групп пациентов по количественному признаку для несвязанных совокупностей и определение уровня значимости p для данных с нормальным распределением выполнялось с помощью t -критерия Стьюдента, для совокупностей с ненормальным распределением – с помощью U -критерия Манна-Уитни.

Сравнение изменения количественных признаков при 2-х этапном измерении «до-после» для связанных совокупностей и определение уровня значимости p для данных с нормальным распределением выполнялось с помощью парного t -критерия Стьюдента, для совокупностей с ненормальным распределением – с помощью T -критерия Уилкоксона.

При сравнении количественных признаков для трех и более групп с нормальным распределением использовался однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), в результате которого находилось значение F -критерия Фишера. По результатам анализа трех групп для оценки различий показателей при сравнении групп попарно использовались уточняющие критерии Тьюки и Шеффе. В случае если хотя бы в одной группе рассматриваемых показателей распределение отличалось от нормального использовался непараметрический критерий Краскела-Уоллиса.

Сравнение качественных данных проводилось с использованием таблиц сопряженности по критерию χ^2 Пирсона и точному критерию Фишера.

Для выявления взаимосвязи между двумя количественными признаками с нормальным распределением использовался коэффициент корреляции r_{xy} Пирсона, для совокупностей с ненормальным распределением – коэффициент ранговой корреляции r_{xy} Спирмена.

Все различия расценивались как статистически значимые при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Общая характеристика пациентов с впервые выявленным СД2

Из 104 обследованных пациентов, в исследование было включено 100 участников с впервые выявленным СД2, которые ранее не получали ССТ. Из всех участников 56% (56 из 100) были мужчинами, 44% (44 из 100) – женщинами. Наследственность по СД2 была отягощена у 57,69% пациентов (45 из 78). Общая характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в Таблице 2.

Средний возраст участников исследования составил $53,97 \pm 1,21$ года (95% ДИ 51,57 - 56,37). При этом 67% (67 из 100) – лица моложе 60 лет; 33% (33 из 100) – старше 60 лет. Эти данные подтверждают мировые тенденции последнего десятилетия, указывающие на развитие СД2 у более молодой когорты пациентов.

Таблица 2. Общая характеристика пациентов, включенных в исследование

Параметр	Значение параметра Общая группа, n=100
Мужчины	56% (56 из 100)
Женщины	44% (44 из 100)
Антропометрические показатели (n=100)	
Возраст, лет	$53,97 \pm 1,21$ (95% ДИ 51,57 - 56,37)
Возрастная группа 18-60 лет	67% (67 из 100)
Возрастная группа 60-80 лет	33% (33 из 100)
Рост, см	$169,58 \pm 0,94$ (95% ДИ 167,72 - 171,44)
Вес, кг	$92,1 \pm 2,04$ (95% ДИ 88,06 - 96,14)
ОТ, см	$107,98 \pm 1,29$ (95% ДИ 105,42 - 110,54)
ОБ, см	$109,65 \pm 1,07$ (95% ДИ 107,53 - 111,77)
ОТ/ОБ	$0,99 \pm 0,01$ (95% ДИ 0,97 - 1)
ИМТ, кг/м ²	$31,98 \pm 0,62$ (95% ДИ 30,75 - 33,2)
ИМТ <30, кг/м ²	38% (38 из 100) 26,69 [24,91; 28,03]
ИМТ ≥30, кг/м ²	62% (62 из 100) 34,51 [31,65; 37,87]
Лабораторные показатели (n=100)	
ГПН, ммоль/л	10,35 [7,73; 13,27]
НbA1c, %	10,8 [8,25; 12,15]
НbA1C <8,0, %	21,88% (21 из 96) $6,49 \pm 0,17$ (95% ДИ 6,14 - 6,83)
НbA1C ≥8,0, %	78,13% (75 из 96) $11,46 \pm 0,2$ (95% ДИ 11,07 - 11,85)
ОХ, ммоль/л	6,2 [5,3; 7,1]
ЛПНП, ммоль/л	$4,2 \pm 0,11$ (95% ДИ 3,99 - 4,41)

Параметр	Значение параметра Общая группа, n=100
ЛПОНП, ммоль/л	0,92 [0,67; 1,48]
ТГ, ммоль/л	2 [1,45; 3,28]
ЛПВП, ммоль/л	1,06±0,05 (95% ДИ 0,95 - 1,16)
Креатинин, мкмоль/л	84,31±1,79 (95% ДИ 80,75 - 87,87)
СКФ (СКД-ЕРІ), мл/мин/1,72м ²	113,66 [102,73; 128,83]
Коморбидность	
Нормальная масса тела	10% (10 из 100)
Избыточная масса тела	28% (28 из 100)
Ожирение (общее)	62% (62 из 100)
1 степень ожирения	35% (35 из 100)
2 степень ожирения	19% (19 из 100)
3 степень ожирения	8% (8 из 100)
Артериальная Гипертензия	68,37% (67 из 98)
Дислипидемия	87% (87 из 100)
ИБС	7,14% (7 из 98)
Стенокардия напряжения	2,04% (2 из 98)
Инфаркт миокарда	5,1% (5 из 98)
Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК)	1,02% (1 из 98)
Хроническая болезнь почек (ХБП)	4,08% (4 из 98)
Другие факторы	
Курение (да)	22,35% (19 из 85)
Курение (бросил)	20% (17 из 85)
Менопауза	74,42% (32 из 43)
Наследственность по СД2	57,69% (45 из 78)
Сопутствующая терапия	
Антигипертензивная терапия	44,67% (30 из 67)
иАПФ/БРА	30% (9 из 30)
БКК	6,66% (2 из 30)
иАПФ/БРА+ТД	10% (3 из 30)
иАПФ/БРА+ β-АБ	33,33% (10 из 30)
иАПФ/БРА+БКК+β-АБ	16,66% (5 из 30)
иАПФ/БРА+ТД+ β-АБ	3,33% (1 из 30)
Статины	6,89% (6 из 87)

Также обращает на себя внимание то, что пациенты, включенные в исследование, имели абдоминальное ожирение, ассоциированное с повышенным риском развития ИР и СД2. Так, средний вес участников исследования составил 92,1±2,04 кг (95% ДИ 88,06 - 96,14), средний ИМТ – 31,98±0,62 кг/м² (95% ДИ 30,75 - 33,20), ОТ – 107,98±1,29 см (95% ДИ 105,42 - 110,54); ОБ – 109,65±1,07 см (95% ДИ 107,53 - 111,77), ОТ/ОБ – 0,99±0,01 (95% ДИ 0,97 - 1).

Тем не менее только 62% пациентов (62 из 100) имели ИМТ ≥ 30 кг/м². Остальные 28% пациентов (28 из 100) имели ИМТ = 25,0-29,9 кг/м², соответствующий избыточной массе тела, а у 10% пациентов (10 из 100) отмечалась нормальная масса тела (ИМТ <25 кг/м²). При этом среди пациентов с нормальной массой тела ОТ составляла 95±2,71 см (95% ДИ 88,86 - 101,14) и была

выше общепризнанной нормы, соответствующей менее 88 см для женщин и менее 94 см для мужчин. В связи с чем стоит предположить, что даже пациенты с ИМТ < 25 кг/м² имели риск развития ИР и углеводных нарушений.

Стоит отметить, что несмотря на дебют СД₂, пациенты, включенные в исследование, имели выраженные нарушения углеводного обмена: медиана ГПН составляла 10,35 ммоль/л [7,73; 13,27], медиана HbA_{1c} – 10,8 % [8,25; 12,15]. При этом HbA_{1c} ≥ 8,0 отмечался у 78,13% пациентов (75 из 96), HbA_{1c} < 8,0 – у 21,88% пациентов (21 из 96). Кетоацидоз отсутствовал. Это говорит о вероятном наличии длительного анамнеза углеводных нарушений у данных пациентов, а также о несвоевременности постановки диагноза СД₂.

При оценке основных показателей липидного спектра было выявлено, что 87% пациентов (87 из 100), включенных в исследование, имели дислипидемию. При этом отмечалось повышение всех основных фракций липидов: медиана ОХ – 6,2 ммоль/л [5,3; 7,1], среднее значение ЛПНП – 4,2 ± 0,11 ммоль/л (95% ДИ 3,99 - 4,41), медиана ЛПОНП – 0,92 ммоль/л [0,67; 1,48]; медиана ТГ – 2,0 ммоль/л [1,45; 3,28]. Следовательно, пациенты были предрасположены не только к активному атерогенезу за счет повышения уровня ЛПНП в крови, но и имели выраженную липотоксичность за счет высоких уровней ТГ. Таким образом, принимая во внимание наличие выраженных нарушений углеводного и липидного обмена, участники исследования на момент постановки диагноза СД₂ имели высокий риск развития микрососудистых и макрососудистых осложнений СД.

Однако помимо гипергликемии и дислипидемии у пациентов, включенных в исследование, имелись и другие факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и ХБП. Так, у 68,37% пациентов (67 из 98) была диагностирована АГ, у 62% пациентов (62 из 100) ожирение. Более того, 74,42% пациентов (32 из 43) имели такой фактор риска как менопауза, 22,35% (19 из 85) – курение. Возраст старше 50 лет среди мужчин встречался в 50% случаев (28 из 56). Также обращает на себя внимание медиана СКФ (СКД-ЕРІ), равная 113,66 мл/мин/1,73м² [102,73; 128,83] у обследованных пациентов. Такое повышение СКФ указывает на наличие гиперфльтрации – начальной стадии нефропатии, за которой следует прогрессивное снижение почечной функции в случае отсутствия коррекции имеющихся факторов риска.

Наличие у участников исследования широкого спектра факторов риска развития осложнений СД, в первую очередь, макрососудистых осложнений, определяет необходимость отхождения от глюкоцентрического подхода и переход к многофакторному управлению СД₂. Данная необходимость также подтверждается тем, что высокий процент пациентов в дебюте СД₂, по нашим данным, уже имели установленные ССЗ и ХБП. Так, среди участников исследования диагноз ИБС уже присутствовал у 7,14% (7 из 98), ХБП – у 4,08% (4 из 98), ОНМК – у 1,01% (1 из 98) пациентов. При этом в структуру ИБС входили стенокардия напряжения (2 из

7) и перенесенный инфаркт миокарда (5 из 7). Тем не менее на момент постановки диагноза СД2, коррекция основных факторов риска развития сердечно-сосудистых катастроф (АГ и дислипидемии) путем назначения антигипертензивной терапии и гиполипидемической терапии проводилась только у 44,77% (30 из 67) имеющих АГ и у 6,89% (6 из 87) имеющих дислипидемию соответственно. Это доказывает отсутствие пристального внимания со стороны медицинских работников первичного звена к пациентам, имеющим метаболический синдром и/или комплекс факторов риска развития как углеводных нарушений, так и ССЗ.

Таким образом, пациенты, включенные в исследование, характеризуются средним возрастом дебюта заболевания, наличием абдоминального ожирения, глюкозотоксичности и липотоксичности, а также присутствием высокого риска развития микрососудистых и макрососудистых осложнений СД2 за счет имеющихся множественных факторов, ассоциированных с развитием, в первую очередь, сердечно-сосудистых катастроф. Это определяет важность многофакторного подхода в лечении данных пациентов.

Более глубокое понимание патогенетических связей между составом КМ и СД2 способствовало бы в будущем использовать генетическое исследование метагенома КМ как ранний маркер развития углеводных нарушений и предиктор эффективности ССТ. В свою очередь своевременное выявление СД2 и осуществление адекватной ССТ и терапии, направленной на коррекцию других факторов риска, позволило бы снизить смертность от атеросклеротических ССЗ и других осложнений СД.

3.2. Состав кишечной микробиоты у пациентов с впервые выявленным СД2

Исследование метагенома КМ методом 16S рРНК секвенирования было выполнено 100 пациентам. Однако в описательный анализ включено 97 образцов, так как один образец не отвечал правилам сбора биоматериала, а два других образца не соответствовали критериям качества в связи с тем, что они имели менее 3000 картированных ридов.

Классическое описание состава КМ включает в себя оценку α -разнообразия и таксономической иерархии кишечных бактерий на уровне типа, в том числе – F/B, класса, отдела, семейства, рода и вида. Однако в ряде исследований с целью объединения кишечных бактерий в группы в зависимости от их возможного функционального потенциала используются ЭТ – устойчивые кишечные сообщества, кластеризованные исходя из доминирующего рода бактерий. Более того, имеются единичные данные о предпринятых попытках оценки состава межродовых сообществ бактерий (МК) и выполняемых ими функций среди здоровых людей. Также в единичных исследованиях на здоровой когорте участников, а также на лабораторных животных

оценивалась функциональная способность КМ посредством выявления концентрации продуктов синтеза бактерий (КЦЖК, H₂S, ЛПС, витамины группы В, витамин К и др.) в образцах стула и выявления относительных значений генов, ассоциированных с метаболическими путями синтеза КЦЖК.

В нашей работе мы охарактеризовали состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 используя как традиционный план описания (α -разнообразие, F/B и таксономическая иерархия кишечных бактерий), так и нестандартный способ описания, который включал в себя оценку состава КМ в зависимости от доминирующего рода бактерий (ЭТ), межродовых взаимодействий и образования устойчивых кишечных сообществ (МК) и способности кишечных представителей к синтезу КЦЖК (метаболические пути синтеза бутирата и пропионата).

3.2.1 Таксономический состав

При анализе таксономического состава КМ было выявлено, что наиболее часто представленными типами бактерий являлись Firmicutes 51,136 \pm 1,486 (95% ДИ 48,187 - 54,085) и Bacteroidetes 37,238 \pm 1,597 (95% ДИ 34,068 - 40,408). При этом F/B составляло 1,274 [0,836; 2,327], что указывает на преимущественное доминирование типа Firmicutes. Тем не менее не у всех пациентов доминировали Firmicutes. У 34,02% (33 из 97) пациентов наиболее распространенным типом бактерий являлись Bacteroidetes (F/B <1).

Стоит отметить, что среди здоровых выборок доминирующими типами бактерий также являются Firmicutes и Bacteroidetes [8, 9]. При этом количественная представленность данных типов бактерий существенно различается в зависимости от возраста, пола и этноса. Следовательно, внутри одной популяции могут встречаться пациенты с доминированием как Firmicutes, так и Bacteroidetes [175]. Именно поэтому использовать F/B как высокоспецифический маркер риска развития углеводных нарушений не представляется возможным. С целью понимания закономерностей изменения состава КМ, ассоциированного с повышенным риском развития СД2, необходимо проводить оценку кишечного разнообразия бактерий на более низком таксономическом уровне.

Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне типа представлен на Рисунке 4.

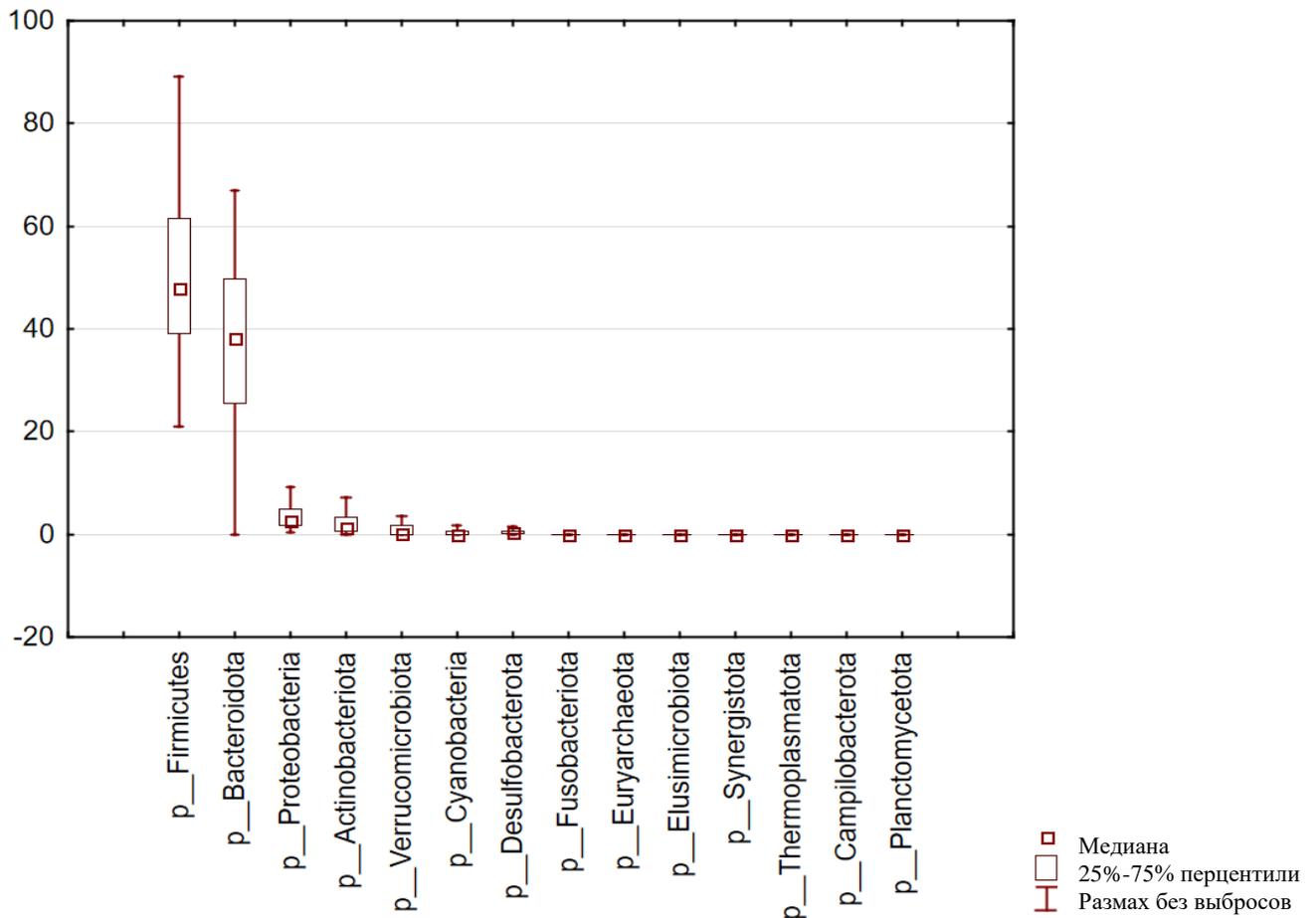


Рисунок 4. Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне типа

На уровне класса наиболее представленными бактериями являлись Clostridia $42,058 \pm 1,504$ (95% ДИ 39,073 - 45,043), Negativicutes $3,667$ [1,65; 7,95] и Bacilli $2,15$ [0,667; 4,167] относящиеся к типу Firmicutes, а также Bacteroidia $37,231 \pm 1,597$ (95% ДИ 34,061 - 40,402) из типа Bacteroidetes и Gammaproteobacteria $2,283$ [1,583; 4] из типа Proteobacteria. Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне класса представлен на Рисунке 5.

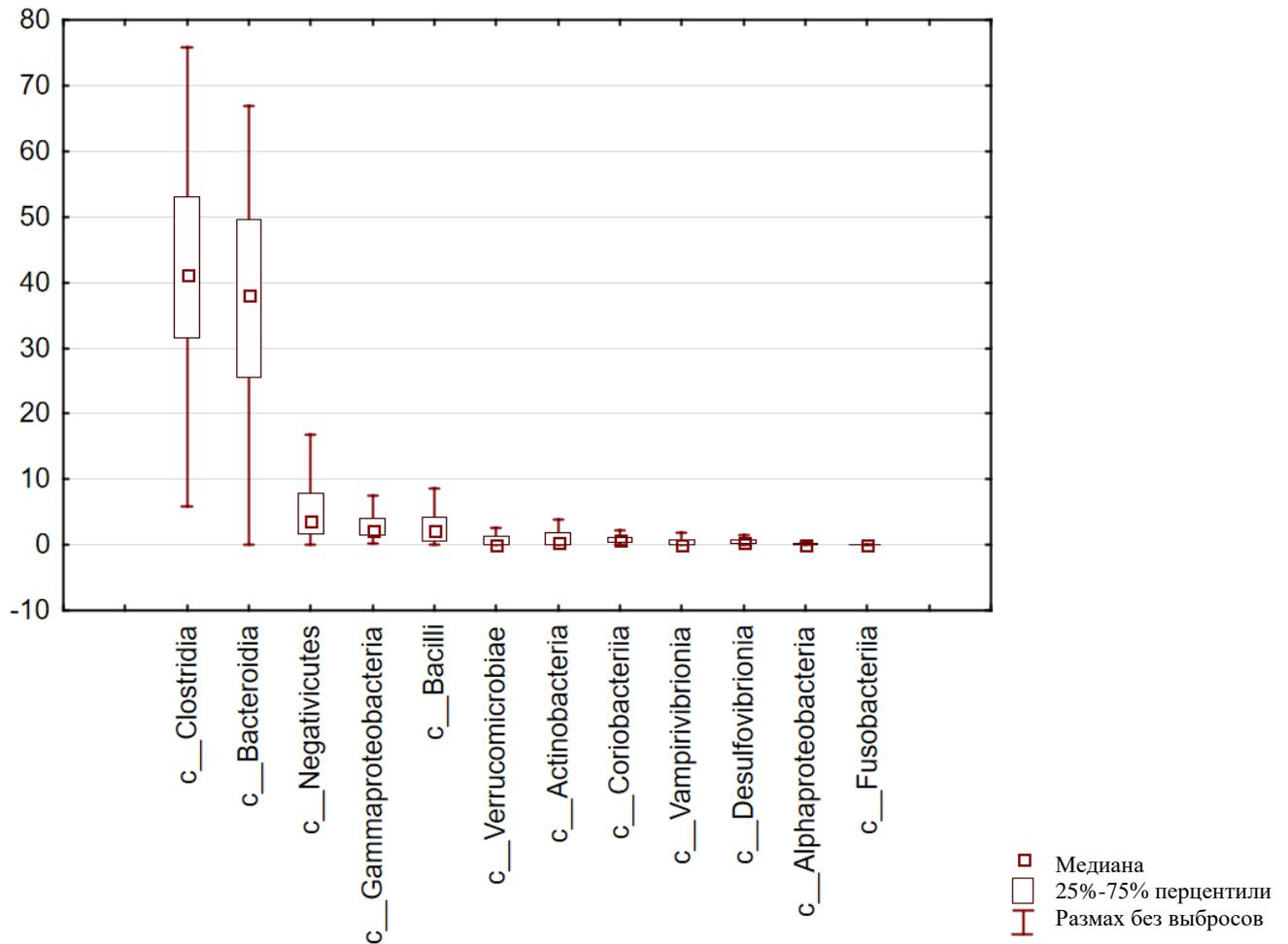


Рисунок 5. Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне класса

Наиболее высокая численность бактерий на уровне отдела отмечалась среди Bacteroidales $37,223 \pm 1,598$ (95% ДИ 34,051 - 40,394), и представителей типа Firmicutes: Oscillospirales $20,224 \pm 1,043$ (95% ДИ 18,154 - 22,293), Lachnospirales 16,65 [13,483; 22,867] и Veillonellales-Selenomonadales 1,817 [0,217; 3,817]. Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне отдела представлен на Рисунке 6.

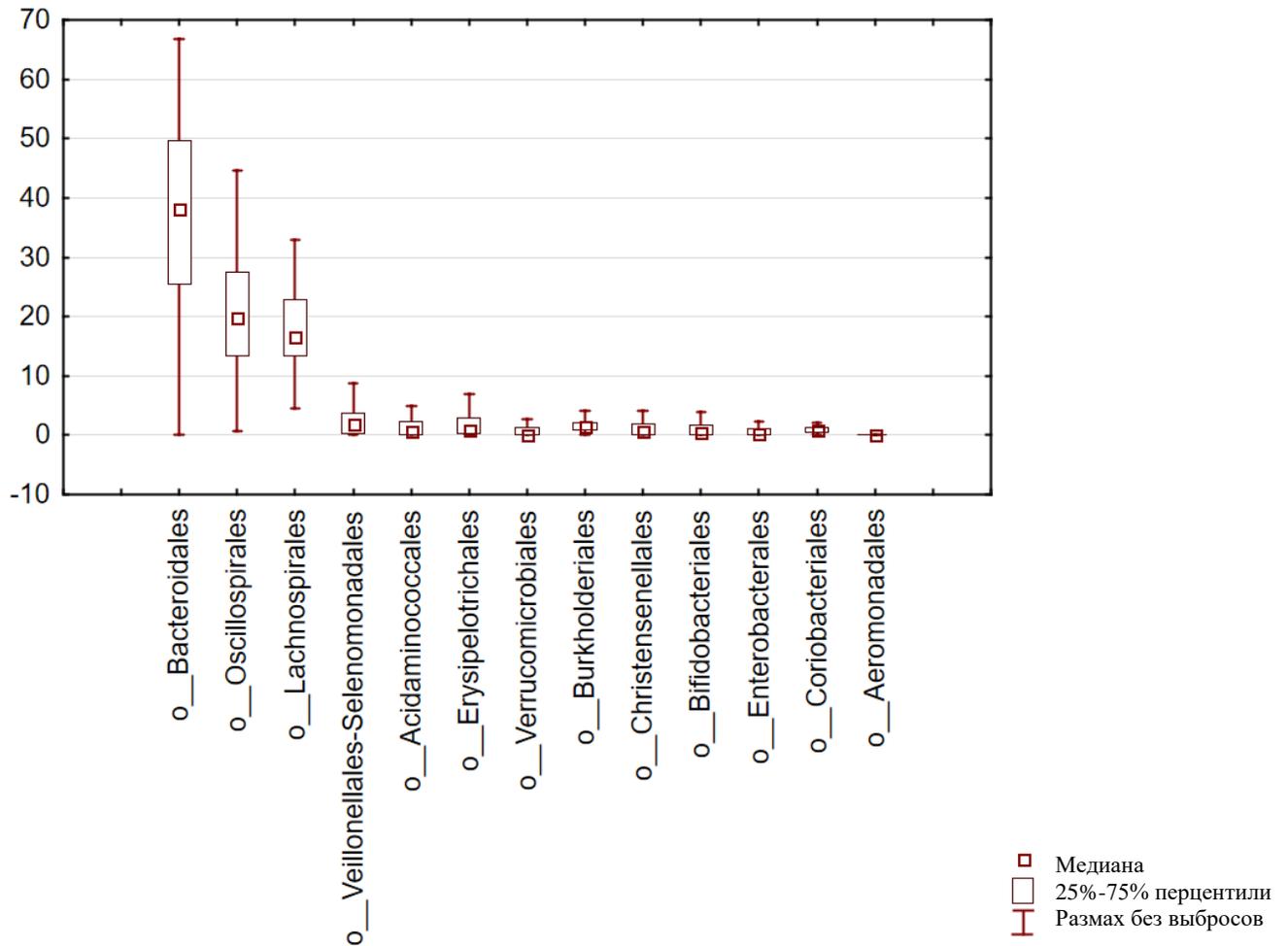


Рисунок 6. Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне отдела

На уровне семейства отмечалась наибольшая численность Lachnospiraceae (из типа Firmicutes) 16,65 [13,483; 22,867], Bacteroidaceae (из типа Bacteroidetes) 13,5 [5,9; 26,167] и Ruminococcaceae (из типа Firmicutes) $13,276 \pm 0,775$ (95% ДИ 11,738 - 14,814). Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне семейства представлен на Рисунке 7.

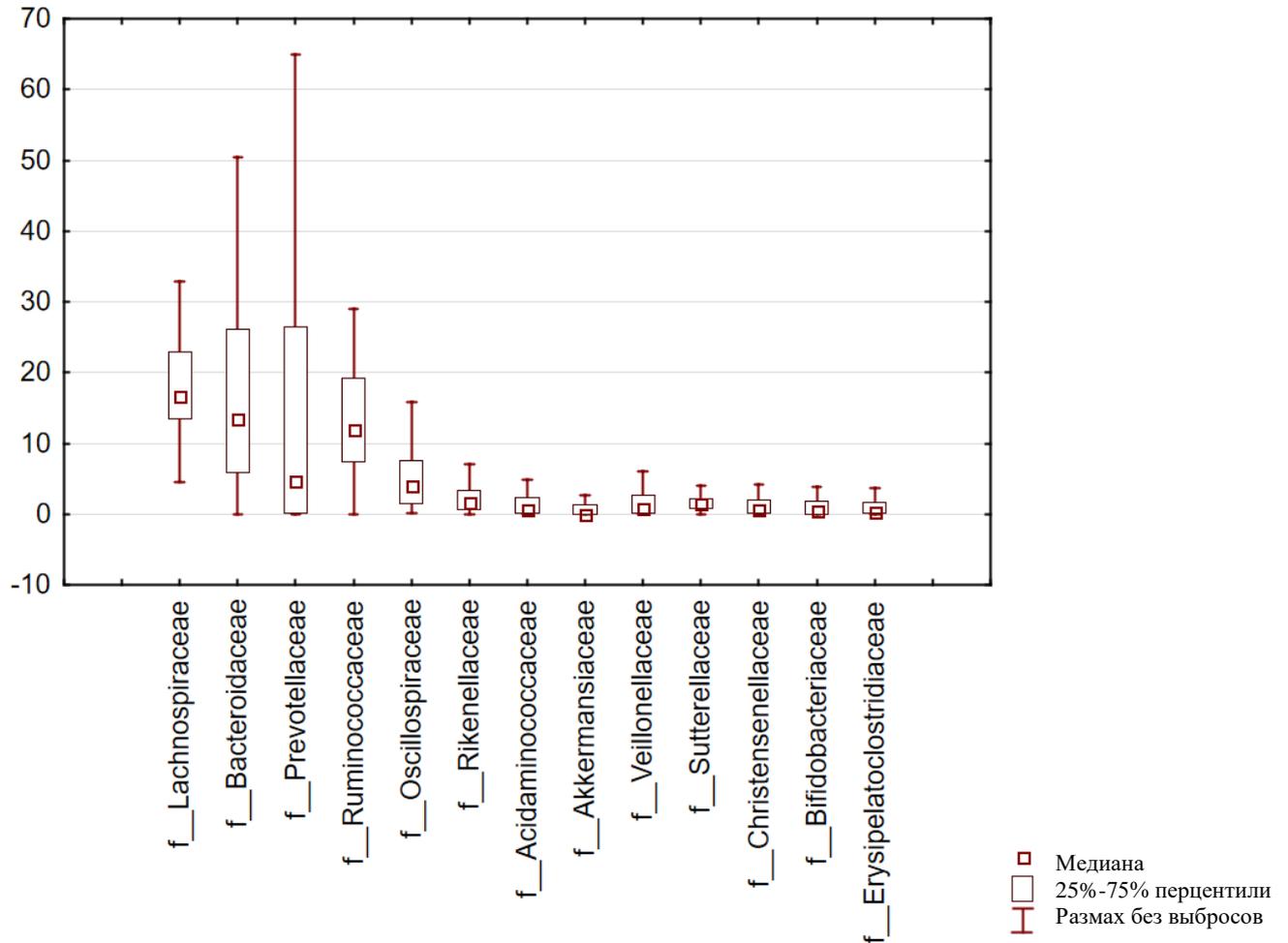


Рисунок 7. Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне семейства

Стоит отметить, что каких-либо существенных изменений в составе КМ на уровне класса, отдела и семейства между результатами, полученными в проведенном исследовании, и двумя крупнейшими исследованиями, оценивающими состав КМ здоровых добровольцев (MetaHIT (Европа) и HMP (США)), не отмечается [8, 51]. Тем не менее мы признаем, что делать выводы об особенностях изменения состава КМ пациентов с впервые выявленным СД2 на основании сравнения полученных нами результатов с данными двух ранее опубликованных исследований некорректно, ввиду того, что участники MetaHIT и HMP отличны от используемой нами когорты пациентов по возрасту, региону проживания, особенностям питания и образу жизни. Таким образом, сделать окончательный вывод о том, что состав КМ не отличается от состава КМ здоровой популяции на уровне класса, отдела и семейства не совсем корректно. Полученный вывод является ориентировочным, требующим подтверждающих или опровергающих результатов, полученных в ходе последующих исследований. Тем не менее наши результаты вносят несоизмеримый вклад в представление о составе КМ у пациентов с СД2 ранее не получавших ССТ и проживающих в Московском регионе.

На родовом уровне наиболее часто представленными бактериями являлись представители типа Bacteroidetes: Bacteroides 13,5 [5,9; 26,167], Prevotella 2,583 [0,05; 25,4], Alistipes 1,483 [0,533; 3,25], а также представители типа Firmicutes: Faecalibacterium 7,68±0,585 (95% ДИ 6,519 - 8,841), Blautia 1,733 [1,033; 3,167], UCG-002 1,917 [0,367; 3,733], Subdoligranulum 1,383 [0,683; 2,65]. Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне рода представлен на Рисунке 8.

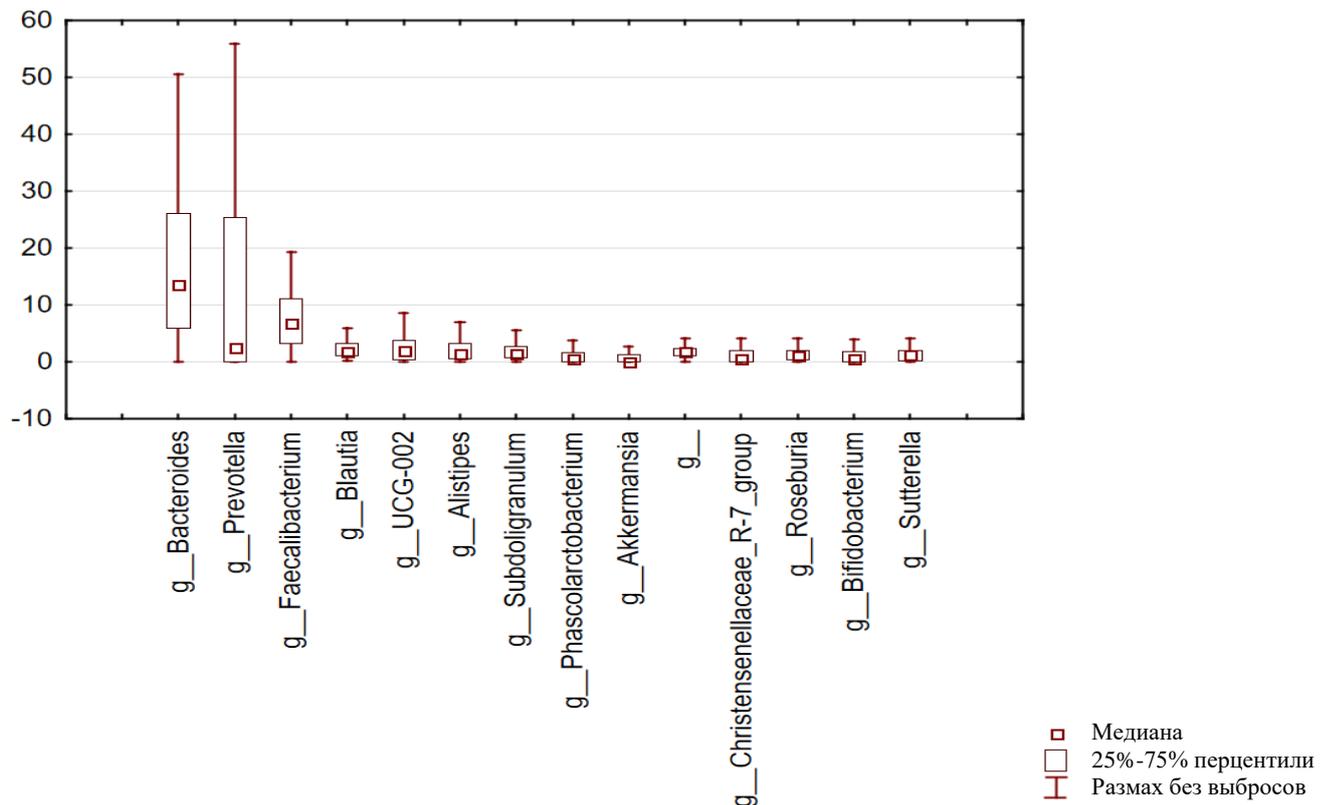


Рисунок 8. Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне рода

Несмотря на то, что сравнение таксономического состава КМ пациентов с манифестным СД2, проживающих в г. Москве с европейской популяцией здоровых добровольцев (исследование MetaHIT) не совсем корректно, ввиду генетической детерминированности КМ в зависимости от этноса и региона проживания, обращает на себя внимание то, что среди здоровых пациентов наиболее распространенными типами бактерий являются Bacteroides, Prevotella, Ruminococcus и Faecalibacterium. В нашем же исследовании помимо высокого разнообразия Bacteroides и Faecalibacterium, отмечается высокое относительное значение таких родов бактерий, как Alistipes и Blautia на фоне позитивной подавленности рода Prevotella. Стоит отметить, что род Alistipes связан с развитием атеросклеротических ССЗ, род Blautia связан с ожирением, предиабетом и СД2, а род Prevotella ассоциирован со снижением риска развития углеводных нарушений [29, 32, 156, 169]. Таким образом стоит отметить, что состав КМ на

родовом уровне у пациентов с впервые выявленным СД2 характеризуется увеличением кишечных бактерий, положительно связанных с риском развития СД2, ожирения и атеросклеротических ССЗ.

Видовое разнообразие КМ среди пациентов с впервые выявленным СД2 характеризуется наличием ряда ранее не описанных штаммов бактерий на фоне высокой представленности *Bacteroides vulgatus* 4,867 [1,183; 10,883] и *Prevotella copri* 1,1 [0,017; 16,117]. Данные бактерии являются наиболее частыми представителями ЖКТ здорового человека. При этом численность *P. copri* превосходит количество *B. vulgatus* [176]. Однако в исследовании Leite и соавт. было высказано предположение, что высокая представленность *P. copri* и *B. vulgatus* - это типичная модель КМ пациентов с СД2 на видовом уровне [155]. Несмотря на то, что полученные нами данные совпадают с ранее опубликованными результатами, оценивающими встречаемость видов *B. vulgatus* и *P. Copri* в толстом кишечнике, обращает на себя внимание то, что в нашем исследовании было выявлено широкое разнообразие «безымянных» ранее не описанных видов, что доказывает наличие уникального видового разнообразия КМ среди пациентов с впервые выявленным СД2, проживающих в г. Москве.

Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне вида представлен на Рисунке 9.

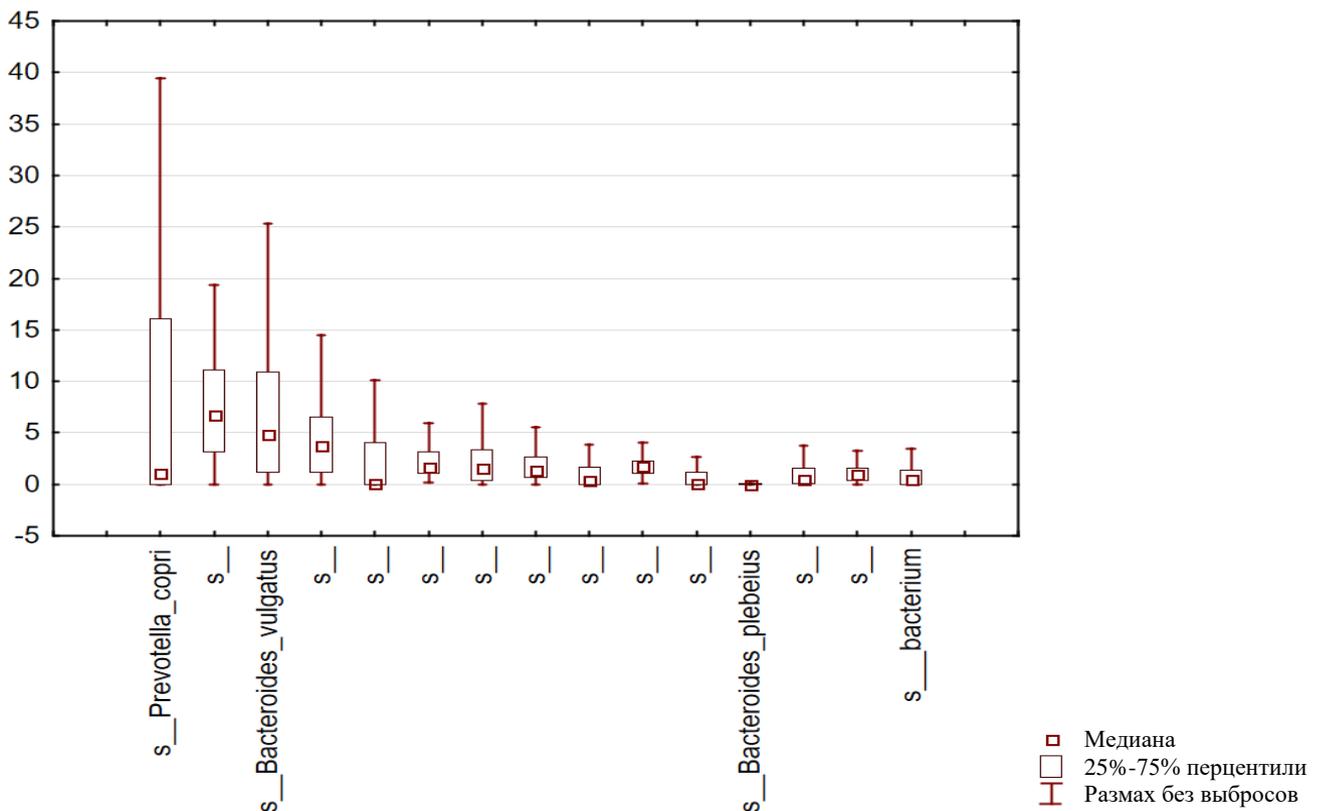


Рисунок 9. Таксономический состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 на уровне вида

Таким образом, полученные нами данные убедительно показывают, что таксономический состав КМ на уровне типа, класса, отдела и семейства мало отличается от состава КМ здорового человека. Существенные изменения выявляются на более низких таксономических ступенях: на уровне рода и вида. Следовательно, наши данные фокусируют внимание на значимости родов и видов бактерий в развитии СД2 поскольку тип, класс, отдел и семейство являются наиболее разрозненными таксонами, включающими в себя большое разнообразие бактерий как отрицательно, так и положительно связанных с развитием СД2.

Важно отметить, что при изучении родового состава КМ пациентов с впервые выявленным СД2 нам удалось выявить высокую представленность бактерий (*Alistipes*, *Blautia*, *Bacteroides* и др.), ассоциированных с развитием СД2 и атеросклеротических ССЗ, что совпадает с находками других исследователей. Несмотря на то, что на видовом уровне нам также удалось выявить штаммы, связанные с развитием СД2 в других исследованиях, мы не можем с уверенностью утверждать, что видовой состав КМ пациентов с СД2 является уникальным для данной когорты в связи с тем, что в настоящее время отсутствует детальное описание видового разнообразия на примере здоровой популяции, и биобанк таксономической представленности бактерий на уровне вида постоянно обновляется, реклассифицируется и совершенствуется. В связи с вышесказанным мы считаем, что соотношение клинической картины, а также гормонального статуса данных пациентов с моделью видового разнообразия мало информативно для определения роли КМ в развитии СД2. Наиболее ценным с точки зрения клинической и научной значимости является изучение влияний родов бактерий на развитие СД2 и его последствий. Однако родовой состав КМ представлен более, чем 2000 бактерий, что существенно отягощает выявление конкретных представителей кишечника в развитии патологии. Поэтому в последующем мы отходим от поиска взаимосвязи конкретных бактерий с клинико-лабораторными и гормональными характеристиками пациентов и проводим поиск взаимосвязей КМ с СД2 через систему доминирующего рода бактерий (ЭТ), межродовых взаимодействий (ЭТ), функционального и метаболического потенциала КМ (α -разнообразие и метаболические пути синтеза бутирата и пропионата).

3.2.2 Энтеротипы

ЭТ – это устойчивый вариант микробного состава кишечника, который определяется на основании выявления доминирующего рода бактерий посредством статистического метода полиномиальных смесей Дирихле и последующего проведения минимизации лапласовой оценки

правдоподобия модели, использующейся для выявления оптимального количества кластеров [71, 72].

В нашем исследовании было выявлено 3 ЭТ: два ЭТ с доминированием рода *Bacteroides* (ЭТ-1а, ЭТ-1б) и один ЭТ с доминированием рода *Prevotella* (ЭТ-2). Стоит отметить, что ЭТ *Bacteroides* подразделялся на два независимых кластера в связи с разной встречаемостью наиболее часто встречающегося рода бактерий: в ЭТ-1а распространенность рода *Bacteroides* достигала 13,717 [10,167; 24,767], в ЭТ-1б - $28,311 \pm 3,63$ (95% ДИ 20,835 - 35,787), $p=0,005$. В связи с тем, что среди здоровых людей определяется три ЭТ: ЭТ-1 - *Bacteroides*, ЭТ-2 - *Prevotella* и ЭТ-3 - *Ruminococcus/Faecalibacterium* [177], полученные нами данные убедительно показывают, что для пациентов с впервые выявленным СД2 характерна отличная от здоровой популяции представленность ЭТ (у пациентов с СД2 отсутствует ЭТ *Ruminococcus/Faecalibacterium*). Касательно пациентов с углеводными нарушениями, то в литературе нам удалось найти одну работу, в которой среди пациентов с СД2 выделялось 2 ЭТ: ЭТ-1 - *Bacteroides* и ЭТ-2 – *Prevotella* [32]. Таким образом, с одной стороны, полученные нами данные согласуются с ранее описанными результатами в отношении отсутствия у пациентов с СД2 ЭТ *Ruminococcus/Faecalibacterium*, но, с другой стороны, отличаются от ранее описанных наличием двух кластеров с разной представленностью рода *Bacteroides* (ЭТ-1а, ЭТ-1б). Таким образом, стоит предположить, что выявленное в нашем исследовании разделение ЭТ *Bacteroides* на два независимых ЭТ неслучайно. Это разделение, по-видимому, определяется не только разным бактериальным составом, но и отличными функциональными возможностями.

Среди участников исследования ЭТ-1а был наиболее распространен и встречался в 49,49% случаев. ЭТ-1б и ЭТ-2 были представлены в относительно одинаковом проценте случаев: в 26,80% и 23,71%, соответственно.

ЭТ-1а включал в себя преимущественно представителей типа Firmicutes (F/B 2,14 [1,32; 3,24]) в то время, как ЭТ-1б и ЭТ-2 характеризовались доминированием бактерий из типа Bacteroidetes: F/B составляло 0,96 [0,57; 1,38] и 0,83 [0,66; 1,02], соответственно, $p < 0,001$.

ЭТ-1а охватывал обширное количество родов бактерий, доминирующими из которых являлись *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, UCG-002, *Alistipes* и *Subdoligranulum*. Стоит отметить, что помимо вышеописанных родов, численное количество *Christensenellaceae_R-7_group* и UCG-005 было максимально в ЭТ-1а по сравнению с ЭТ-1б и ЭТ-2. Важно отметить, что в ЭТ-1а входили как бутират-продуцирующие бактерии и бактерии отрицательно связанные с риском развития СД2 и ожирения (*Faecalibacterium*, UCG-002, *Subdoligranulum*, *Christensenellaceae_R-7_group*), так и бактерии, ассоциированные с риском развития СД2 и атеросклеротических ССЗ (*Bacteroides*, *Alistipes*) [29, 32, 156, 168, 169, 170, 178]. Это дает возможность предполагать, что течение СД2 среди пациентов с доминированием данного ЭТ характеризуются низкой

прогрессией заболевания и низким риском развития микрососудистых и макрососудистых осложнений, так как эффекты «полезных» бактерий вероятно перекрывают патогенные свойства родов, связанных с риском развития СД2 и ССЗ.

В свою очередь ЭТ-1б по сравнению с ЭТ-1а и ЭТ-2 характеризовался самой скудной представленностью бактерий на родовом уровне и преимущественно состоял из *Bacteroides*, *Faecalibacterium* и *Blautia*. При этом численное количество бутират-продуцирующих *Faecalibacterium* в ЭТ-1б было минимально по сравнению с ЭТ-1а и ЭТ-2, а количественная представленность родов *Blautia* и *Bacteroides*, ассоциированных с риском развития углеводных нарушений и сердечно-сосудистых катастроф, была максимальна в ЭТ-1б по сравнению с ЭТ-1а и ЭТ-2. Таким образом, при сравнении родового состава ЭТ-1а и ЭТ-1б становится очевидным подразделение ЭТ *Bacteroides* на два независимых ЭТ: ЭТ-1а характеризуется широким спектром кишечных бактерий с разным метаболическим потенциалом в то время, как ЭТ-1б определяется скудным бактериальным разнообразием и высоким количеством родов, связанных с риском развития СД2. Особенность состава ЭТ-1б дает основание полагать, что доминирование данного ЭТ определяет высокий риск развития СД2, прогрессирования СД2 и возникновения его осложнений.

По данным нашего исследования ЭТ-2 характеризовался довольно большим разнообразием родов бактерий. Доминирующими представителями данного ЭТ являлись *Prevotella*, *Faecalibacterium* и *Bacteroides*. При этом численность *Bacteroides* существенно уступала количеству этих бактерий в ЭТ-1а и ЭТ-1б. Помимо вышеописанных родов, в ЭТ-2 по сравнению с ЭТ-1а и ЭТ-1б наблюдалось существенное увеличение концентрации *Phascolarctobacterium* и *Alloprevotella* и наименьшая представленность рода *Blautia*. Это говорит о том, что ЭТ-2 представлен преимущественно бутират-продуцирующими бактериями и бактериями, положительно влияющими на гомеостаз углеводов в организме. Вероятно, ЭТ-2 по сравнению с ЭТ-1а и, особенно, с ЭТ-1б, ассоциирован с наименьшим риском развития СД2, мягким течением уже имеющегося СД2, низкой прогрессией данного заболевания и низким риском развития микрососудистых и макрососудистых осложнений.

Сравнительная характеристика родового разнообразия между ЭТ у пациентов с впервые выявленным СД2 представлена в Таблице 3.

Таблица 3. Сравнительная характеристика родового разнообразия между ЭТ у пациентов с впервые выявленным СД2

Параметр	Значение параметра ¹ Энтеротип 1а, (n=48)	Значение параметра ² Энтеротип 1б, (n=26)	Значение параметра ³ Энтеротип 2, (n=23)	Значение p	Значение p ₁₂	Значение p ₁₃	Значение p ₂₃
F/B	2,14 [1,32; 3,24]	0,96 [0,57; 1,38]	0,83 [0,66; 1,02]	p=0,0000	p ₁₂ =0,000022	p ₁₃ =0,000000	p>0,05
Род							
Bacteroides	13,717 [10,167; 24,767]	28,311±3,63 (95% ДИ 20,835 - 35,787)	5,167 [1,6; 11,317]	p=0,0000	p ₁₂ =0,005910	p ₁₃ =0,000018	p ₂₃ =0,000013
Prevotella	0,392 [0,033; 7,308]	0,108 [0,017; 7,783]	35,877±2,359 (95% ДИ 30,985 - 40,768)	p=0,0000	p>0,05	p ₁₃ =0,000000	p ₂₃ =0,000000
Faecalibacterium	8,233 [4,683; 12,75]	3,025 [0,467; 7,817]	7,031±0,776 (95% ДИ 5,422 - 8,64)	p=0,0042	p ₁₂ =0,001785	p>0,05	p ₂₃ =0,041258
Blautia	1,792 [1,133; 2,933]	2,975 [1,3; 8,4]	1,033 [0,9; 1,417]	p=0,0005	p ₁₂ =0,029468	p ₁₃ =0,001579	p ₂₃ =0,001135
UCG-002	3,167 [2,192; 5,392]	0,167 [0; 0,583]	1,583 [0,633; 2,267]	p=0,0000	p ₁₂ =0,000000	p ₁₃ =0,000176	p ₂₃ =0,000022
Alistipes	2,45 [1,5; 3,817]	0,642 [0,133; 1,683]	0,733 [0,2; 1,183]	p=0,0000	p ₁₂ =0,000238	p ₁₃ =0,000009	p>0,05
Subdoligranulum	2,025 [1,233; 3,167]	0,517 [0,167; 1,333]	0,967 [0,683; 1,617]	p=0,0001	p ₁₂ =0,000186	p ₁₃ =0,001977	p>0,05
Phascolarctobacterium	0,45 [0; 1,533]	0,1 [0; 1]	1,5 [0,233; 7,567]	p=0,0144	p>0,05	p ₁₃ =0,015526	p ₂₃ =0,011015
Akkermansia	0,2 [0; 4,067]	0 [0; 0,217]	0,033 [0; 0,517]	p=0,0232	p ₁₂ =0,028612	p ₁₃ =0,035503	p>0,05
Christensenellaceae_R-7_group	1,533 [0,658; 4,075]	0 [0; 0,15]	0,35 [0,05; 0,867]	p=0,0000	p ₁₂ =0,000000	p ₁₃ =0,000047	p ₂₃ =0,000027
Bifidobacterium	0,817 [0,275; 2,458]	0,183 [0; 1,617]	0,1 [0; 0,533]	p=0,0005	p ₁₂ =0,010018	p ₁₃ =0,000185	p>0,05
CAG-352	1,108 [0,433; 3,325]	0,008 [0; 0,65]	0,067 [0; 0,55]	p=0,0000	p ₁₂ =0,000002	p ₁₃ =0,000001	p>0,05
Agathobacter	0,825 [0,267; 2,225]	0,367 [0,017; 1,033]	1,061±0,141 (95% ДИ 0,769 - 1,353)	p=0,0438	p ₁₂ =0,025394	p>0,05	p ₂₃ =0,025910
[Eubacterium]_coprostanoligenes_group	1,208 [0,567; 2,433]	0,483 [0,1; 1,05]	0,617 [0,267; 1,383]	p=0,0015	p ₁₂ =0,000867	p ₁₃ =0,014989	p>0,05
Lachnospiraceae	0,425 [0,175; 0,717]	0,85 [0,25; 2,833]	0,483 [0,267; 0,833]	p=0,0168	p ₁₂ =0,004400	p>0,05	p>0,05
Coprococcus	1,083 [0,5; 2,058]	0,425 [0,183; 1,233]	1,033 [0,383; 2,017]	p=0,0096	p ₁₂ =0,003505	p>0,05	p ₂₃ =0,015702
Escherichia-Shigella	0,267 [0,05; 1,017]	0,258 [0,067; 1,867]	0 [0; 0,05]	p=0,0000	p>0,05	p ₁₃ =0,000001	p ₂₃ =0,000016
UCG-005	1,133 [0,575; 2,467]	0,042 [0; 0,083]	0,733 [0,033; 1,167]	p=0,0000	p ₁₂ =0,000000	p ₁₃ =0,010066	p ₂₃ =0,000704
Parabacteroides	1,083 [0,55; 1,5]	0,95 [0,367; 1,783]	0,483 [0,167; 0,783]	p=0,0052	p>0,05	p ₁₃ =0,001092	p ₂₃ =0,015702
Ruminococcus	0,817 [0,283; 2,008]	0,05 [0; 0,367]	0,317 [0,117; 1,617]	p=0,0000	p ₁₂ =0,000002	p>0,05	p ₂₃ =0,007128
Alloprevotella	0 [0; 0,1]	0 [0; 0]	1,1 [0; 4,217]	p=0,0003	p>0,05	p ₁₃ =0,003322	p ₂₃ =0,002772
Lachnospira	0,583 [0,35; 1,05]	0,167 [0,017; 1,167]	0,617 [0,45; 1,767]	p=0,0270	p ₁₂ =0,018089	p>0,05	p ₂₃ =0,023254
Lachnospiraceae_NK4A136_group	0,683 [0,433; 1,542]	0,092 [0; 0,15]	0,9 [0,417; 1,583]	p=0,0000	p ₁₂ =0,000000	p>0,05	p ₂₃ =0,000000
Catenibacterium	0,008 [0; 0,833]	0 [0; 0]	0,067 [0; 0,533]	p=0,0273	p ₁₂ =0,047695	p>0,05	p ₂₃ =0,012420
Muribaculaceae	0,142 [0; 0,675]	0 [0; 0,017]	0,633 [0; 1,133]	p=0,0051	p ₁₂ =0,025394	p>0,05	p ₂₃ =0,004502

Параметр	Значение параметра ¹ Энтеротип 1a, (n=48)	Значение параметра ² Энтеротип 1б, (n=26)	Значение параметра ³ Энтеротип 2, (n=23)	Значение p	Значение p ₁₂	Значение p ₁₃	Значение p ₂₃
[Ruminococcus]_torques_group	0,483 [0,258; 0,908]	0,525 [0,25; 1,267]	0,317 [0,1; 0,533]	p>0,05	p>0,05	p ₁₃ =0,016650	p>0,05
Gastranaerophilales	0,217 [0; 1,208]	0 [0; 0]	0 [0; 0,367]	p=0,0021	p ₁₂ =0,001451	p>0,05	p>0,05
Clostridia_UCG-014	0,483 [0,117; 1,417]	0 [0; 0]	0,083 [0; 1,35]	p=0,0000	p ₁₂ =0,000000	p>0,05	p ₂₃ =0,001930
Holdemanella	0,117 [0; 0,925]	0 [0; 0,033]	0,167 [0; 0,633]	p=0,0183	p ₁₂ =0,030347	p>0,05	p ₂₃ =0,007596
[Eubacterium]_hallii_group	0,342 [0,217; 0,558]	0,533 [0,117; 0,767]	0,217 [0,167; 0,65]	p=0,0003	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Dorea	0,525 [0,333; 0,942]	0,417 [0,15; 1,033]	0,317 [0,2; 0,667]	p>0,05	p>0,05	p ₁₃ =0,040157	p>0,05
[Eubacterium]_ruminantium_group	0,333 [0; 1,092]	0 [0; 0,033]	0 [0; 1]	p>0,05	p ₁₂ =0,000074	p>0,05	p>0,05
Ранее не описанный род бактерий	0,117 [0; 1,108]	0 [0; 0]	0 [0; 0,017]	p=0,0034	p ₁₂ =0,018668	p ₁₃ =0,013000	p>0,05
Barnesiella	0,325 [0,092; 0,992]	0 [0; 0,45]	0,067 [0; 0,6]	p=0,0014	p ₁₂ =0,000727	p ₁₃ =0,033352	p>0,05

Примечание: розовым цветом выделена наибольшая представленность рода бактерий; рыжим цветом – средние значения представленности рода бактерий, желтым цветом – минимальная представленность рода бактерий.

Таким образом, в нашем исследовании было выявлено три ЭТ. При этом разделение ЭТ *Bacteroides* на ЭТ-1а и ЭТ-1б ранее не было описано ни среди здоровой популяции, ни среди пациентов с СД2. Следовательно, наши данные впервые позволили выделить три ЭТ у пациентов с СД2 в дебюте заболевания (ЭТ-1а, ЭТ-1б и ЭТ-3). Разный родовой состав выявленных бактериальных сообществ позволил описать фенотип пациентов с доминированием того или иного ЭТ, предположить особенности течения и прогрессии СД2 и определить вероятность развития осложнений. Так, ЭТ-1а за счет высокой представленности бутират-продуцирующих бактерий и бактерий, ассоциированных с нормальной массой тела (*Faecalibacterium*, *Subdoligranulum*, *Christensenella* и др.) на фоне высокого уровня родов, связанных с развитием СД2 и атеросклеротических ССЗ (*Bacteroides*, *Blautia*) по-видимому предполагает развитие гипергликемии и дислипидемии на фоне нормального или незначительно повышенного ИМТ, средний риск развития СД2, умеренно выраженное прогрессирование патологии и средний риск развития основных осложнений данного заболевания. ЭТ-1б за счет скудной представленности кишечных бактерий на фоне высокого уровня СД2-ассоциированных *Blautia* и *Bacteroides* предполагает высокий риск развития СД2 и атеросклеротических ССЗ у пациентов с ожирением и дислипидемией. Более того, данный ЭТ вероятно предопределяет быстрое прогрессирование СД2 и высокий риск развития его осложнений. ЭТ-2 за счет высокой представленности бутират-продуцирующих бактерий и бактерий, отрицательно связанных с СД2 на фоне минимальной встречаемости СД2-ассоциированных *Blautia* и *Bacteroides* по сравнению с ЭТ-1а и ЭТ-1б предсказывает низкую вероятность развития СД2. В случае развития СД2 среди пациентов с данным ЭТ, СД2 по-видимому характеризуется наименьшим риском прогрессирования заболевания и развития осложнений.

В Таблице 4 представлена предполагаемая метаболическая характеристика ЭТ.

Таблица 4. Предполагаемая метаболическая характеристика ЭТ.

ЭТ	Предполагаемые эффекты	Предполагаемый фенотип пациента	Риск развития заболевания
ЭТ-1а	Развитие углеводных нарушений	Пациенты с гипергликемией на фоне незначительного избытка массы тела или нормального ИМТ за счет высокой представленности рода Christensenella, ассоциированного со снижением массы тела	- Средний риск развития СД2 и атеросклеротических ССЗ - Умеренное прогрессирование СД2 - Средний риск развития осложнений СД2
ЭТ-1б	Развитие ожирения, дислипидемии, углеводных нарушений	Типичный образ пациента с СД2: ожирение, гипергликемия, дислипидемия	- Высокий риск развития СД2 и атеросклеротических ССЗ - Быстрое прогрессирование СД2 - Высокий риск развития осложнений СД2
ЭТ-2	Снижение риска развития углеводных нарушений и ожирения за счет высокой продукции КЦЖК и наименьшей представленности СД2-ассоциированных родов бактерий	-	- Низкий риск развития СД2 - Медленное прогрессирование СД2 - Низкий риск развития осложнений СД2

Тем не менее важно отметить, что используемый метод кластеризации хоть и разделил ЭТ Bacteroides на два ЭТ в зависимости от представленности рода Bacteroides и выделил ЭТ Prevotella, но не позволил четко отграничить три ЭТ по родовому разнообразию, поэтому одни и те же рода бактерий в разных пропорциях встречались в каждом ЭТ. Эта погрешность ограничивает возможность ориентации на доминантный ЭТ как на маркер развития СД2. Необходимо ориентироваться на более универсальную систематизацию родов бактерий, позволяющую исключить перекрестную встречаемость бактерий в различных сообществах. Примером такой систематизации КМ могут выступать МК.

3.2.3 «Микробиотические кооперативы»

Важнейшей особенностью КМ является способность определенных бактерий образовывать сообщества, которые называются «микробиотические кооперативы» (МК). Так, согласно современным данным, наиболее представленные рода бактерий в конкретном МК через систему сигнальных молекул способны оказывать влияния на менее представленные рода

бактерий. Таким образом, доминирующие рода бактерий в конкретном сообществе определяют функциональный потенциал целого МК [74, 76].

Мы провели кластерный анализ совместной встречаемости таксонов в образцах стула пациентов подобно тому, что был выполнен Volokh и соавт. [33]. В исследовании Volokh и соавт. у метаболически здоровых людей удалось описать три наиболее представленных МК: МК-1 был представлен *Eubacterium*, *Anaerostipes*, *Blautia* и *Dorea*, обладающими способностью к продукции бутирата; МК-2 состоял из представителей семейств *Bacteroidaceae* и *Porphyromonadaceae*, а МК-3 характеризовался родами *Clostridia*, *Christensenella* и *Methanobrevibacter*, характеризующимися выраженным противовоспалительным и бутират-продуцирующим потенциалами [33]. Стоит отметить, что в настоящее время данное исследование является единственным, описывающим особенности родового состава МК на примере здоровой выборки.

В нашем исследовании было идентифицировано десять кишечных кооперативов (МК), из которых наиболее распространенными среди участников исследования являлись МК-1 – $36,724 \pm 1,993$ (95% ДИ 32,769 - 40,679), МК-2 – 9,7 [3,633; 16,617], МК-3 – 7,767 [2,183; 32,633] и МК-4 – $12,992 \pm 0,795$ (95% ДИ 11,414 - 14,57). При этом МК-1 преобладал у 63,91% (62 из 97), МК-3 – у 24,74% (24 из 97), МК-2 – у 9,28% (9 из 97), МК-4 – у 2,06% (2 из 97) пациентов. МК 5-10 не являлись доминирующими у пациентов с СД2. В связи с этим для выявления взаимосвязи между МК и клинико-лабораторными, гормональными показателями пациентов с впервые выявленным СД2 были отобраны первые четыре МК, которые имели наибольшую представленность среди когорты участников исследования и доминировали у этих пациентов в той или иной пропорции. В связи с редкой встречаемостью, другие МК не использовались в последующем анализе из-за имеющегося предположения, что доминантные МК перекрывают возможные метаболические эффекты наименее представленных микробных сообществ и определяют функциональный потенциал всего микробного сообщества.

При оценке родового разнообразия в МК было выявлено, что в МК-1 доминирующими родами бактерий, определяющими функциональную активность всего сообщества, являлись *Bacteroides*, *Blautia*, *Parabacteroides* и *Alistipes*. Стоит отметить, что данные рода бактерий ассоциированы с риском развития ожирения, СД2 и атеросклеротических ССЗ [156, 168, 169]. Полученные нами данные указывают на значимое влияние МК-1 в развитии вышеописанных патологических состояний.

МК-2 по данным нашего исследования преимущественно был представлен *Christensenellaceae_R-7_group*, UCG-005 и UCG-002. Род *Christensenella* связан с более низким ИМТ и предотвращением риска развития ожирения и метаболического синдрома [170]. В свою очередь рода UCG-005 и UCG-002 из семейства *Ruminococcaceae* ассоциированы с увеличением риска развития СД2 [170]. Таким образом логично предположить, что МК-2 может оказывать

влияние на возникновение СД2. Однако стоит отметить, что пациенты, имеющие наибольшую представленность МК-2, не должны иметь выраженного ожирения, и этот фактор не должен иметь ведущей роли в патогенезе данного заболевания.

Ключевыми представителями МК-3 являлись *Prevotella*, *Alloprevotella*, *Megamonas* и *Sutterella*. Стоит отметить, что *Prevotella* и *Megamonas* ассоциированы с нормальной толерантностью к глюкозе, род *Sutterella* отрицательно связан с гипергликемией натощак и положительно связан с ЛПВП, обладающими антиатерогенными свойствами, в то время, как род *Alloprevotella* связан с риском развития предиабета и СД2 [35, 179, 180, 181]. Вероятно, положительные эффекты *Prevotella*, *Megamonas* и *Sutterella* в отношении гомеостаза углеводов и липидов в организме нивелируют риск развития СД2, ассоциированный с родом *Alloprevotella*. Следовательно, МК-3 скорее всего снижает шанс развития СД2 и атеросклеротических ССЗ.

В нашем исследовании МК-4 преимущественно представлен *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Lachnospiraceae_NK4A136_group* и *Subdoligranulum*. Эти рода бактерий связаны с образованием КЦЖК, противовоспалительным потенциалом, защитой колоноцитов и поддержанием непроницаемости кишечного барьера для эндотоксинов и ЛПС, что, вероятно, определяет благоприятное влияние данного МК по отношению к углеводному и липидному обменам и обуславливает низкий риск развития СД2, а также благоприятное течение данного заболевания, если оно развилось у пациентов с доминированием данного МК [6, 168].

Характеристика МК у пациентов с впервые выявленным СД2 представлена в Таблице 5.

Таблица 5. Характеристика МК у пациентов с впервые выявленным СД2

Кооперативы бактерий	Значение параметра Общая группа, n=97	Рода бактерий
МК-1	36,724±1,993 (95% ДИ 32,769 - 40,679)	<ul style="list-style-type: none"> - Bacteroides - Blautia - Parabacteroides - Alistipes - <i>Lachnospira</i> - <i>Barnesiella</i> - <i>Lachnoclostridium</i> - <i>Escherichia-Shigella</i> - <i>[Ruminococcus]_torques_group</i> - UBA1819 - <i>Incertae_Sedis</i> - <i>u(f__Oscillospiraceae)</i> - <i>Oscillibacter</i> - <i>Acidaminococcus</i> - <i>Megasphaera</i> - <i>Flavonifractor</i> - <i>Anaerosinus</i> - <i>Tyzzereella</i> - <i>Anaeroglobus</i> - <i>Prevotellaceae_Ga6A1_group</i>

Кооперативы бактерий	Значение параметра Общая группа, n=97	Рода бактерий
		<ul style="list-style-type: none"> - CAG-873 - [Ruminococcus]_gnavus_group - [Clostridium]_innocuum_group - Enterococcus - Anaerostipes - Erysipelotrichaceae_UCG-003 - [Eubacterium]_ventriosum_group - u(f__Lachnospiraceae) - Butyricoccus - Lachnospiraceae_ND3007_group - Lachnospiraceae_UCG-004 - Lachnospiraceae_UCG-008 - Colidextribacter - Odoribacter - Butyricimonas - Coprobacter - Fusobacterium - Lachnospiraceae_UCG-010 - Veillonella - Haemophilus - Streptococcus - Lactobacillus - u(f__Enterobacteriaceae)
МК-2	9,7 [3,633; 16,617]	<ul style="list-style-type: none"> - Christensenellaceae_R-7_group - UCG-005 - UCG-002 - [Eubacterium]_coprostanoligenes_group - Gastranaerophilales - Clostridia_UCG-014 - [Eubacterium]_eligens_group - [Eubacterium]_xylanophilum_group - [Eubacterium]_siraeum_group - Victivallis - UCG-010 - u(f__Ruminococcaceae) - Clostridia_vadinBB60_group - Family_XIII_AD3011_group - NK4A214_group - Intestinimonas - RF39 - Rikenellaceae_RC9_gut_group - Prevotellaceae_UCG-003 - Prevotellaceae_NK3B31_group - Elusimicrobium - Butyrivibrio - Izemoplasmatales - Methanobrevibacter - u(f__Puniceicoccaceae) - u(o__Rhodospirillales)
МК-3	7,767 [2,183; 32,633]	<ul style="list-style-type: none"> - Prevotella - Alloprevotella - Megamonas - Sutterella - Phascolarctobacterium

Кооперативы бактерий	Значение параметра Общая группа, n=97	Рода бактерий
МК-4	12,992±0,795 (95% ДИ 11,414 - 14,57)	- Faecalibacterium - Roseburia - Lachnospiraceae_NK4A136_group - Subdoligranulum - UCG-003 - Fusicatenibacter
МК-5	0,583 [0,1; 1,917]	- Bifidobacterium - u(f_Eggerthellaceae)
МК-6	0,117 [0,017; 0,367]	- Romboutsia - Clostridium_sensu_stricto_1 - Intestinibacter
МК-7	0 [0; 0,383]	- Desulfovibrio - u(o_Bacteroidales)
МК-8	0,917 [0,35; 1,983]	- Agathobacter - [Ruminococcus]_gauvreauii_group
МК-9	1,617 [0,267; 3,133]	- Ruminococcus - CAG-352
МК-10	0,85 [0,45; 1,583]	- Dorea - [Eubacterium]_hallii_group

Примечание: жирным выделены рода бактерий, доминирующие в конкретном МК.

При проведении корреляционного анализа была выявлена обратная связь между МК-1 и МК-2 ($r = -0,402$, $p < 0,05$), МК-1 и МК-3 ($r = -0,618$, $p < 0,05$). Это говорит о том, что МК-1 не просто регулирует численную представленность других наиболее часто представленных МК, но и подавляет функциональную активность родов бактерий из других микробных сообществ. Тем самым, можно говорить, что именно МК-1 является наиболее мощным предиктором развития углеводных нарушений у пациентов с манифестным СД2.

Корреляционный анализ МК у пациентов с впервые выявленным СД2 приведен в Таблице 6.

Таблица 6. Корреляционный анализ МК между собой у пациентов с впервые выявленным СД2

Общая группа	МК-1	МК-2	МК-3	МК-4
МК-1	-	-0,402559	-0,618485	$p > 0,05$
МК-2	-0,402559	-	$p > 0,05$	$p > 0,05$
МК-3	-0,618485	$p > 0,05$	-	$p > 0,05$
МК-4	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	-

Примечание: коэффициент ранговой корреляции гху Спирмена (для не нормального распределения) и Пирсона (для нормального распределения). Значения коэффициента корреляции выделены красным цветом при уровне значимости корреляционной связи $p < 0,05$. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p > 0,05$.

Из вышеописанного следует, что в нашем исследовании было выявлено 10 МК. Однако наиболее часто встречаемыми МК являлись МК-1, МК-2, МК-3 и МК-4. При этом МК-1 преобладал у 63,91% (62 из 97), МК-3 – у 24,74% (24 из 97), МК-2 – у 9,28% (9 из 97), МК-4 – у 2,06% (2 из 97) пациентов. На основании полученных нами данных об уникальном родовом составе свойственном для каждого МК, преобладании МК-1 – МК-4 у пациентов с манифестным СД2 и имеющихся в литературе данных о том, что доминантные МК определяют вектор функциональной активности для всей КМ, мы полагаем, что каждый из четырех наиболее представленных МК определяет различный фенотип пациентов, обладает предикторной значимостью не только в отношении риска развития СД2, но и его осложнений, и, возможно, влияет на течение заболевания и эффективность ССТ. Действительно, выявленная нами высокая представленность СД2-ассоциированных бактерий в МК-1 и МК-2 позволяет считать, что такое сочетание родов бактерий в данных МК может свидетельствовать о высоком риске развития СД2 и его осложнений вне зависимости от генетических и внешнесредовых факторов. Более того, присутствие в МК-1 родов, связанных с развитием ожирения и атеросклеротических ССЗ, позволяет определить МК-1 не только как предиктор развития СД2, но и вышеописанных патологических состояний. Также на основании бактериального разнообразия МК-1 можно предположить, что пациенты с доминирующим МК-1 по-видимому характеризуются наличием типичной триады, свойственной большинству пациентов с СД2 (избыточная масса тела или ожирение, гипергликемия и дислипидемия). Напротив, отличительной фенотипической особенностью пациентов с доминирующим МК-2 является отсутствие избыточной массы тела или ожирения за счет высокой представленности рода *Christensenella*, связанного с нормальным ИМТ. Следовательно, у данных пациентов ожирение не имеет ведущей роли в патогенезе СД2. Стоит предположить, что развитие СД2 у таких пациентов объясняется доминирующей ролью других звеньев патогенеза данного заболевания: β -клеточной дисфункцией, нарушением инкретинового ответа, активацией системного метаболического воспаления и др.

Промежуточным в отношении риска развития СД2 и его осложнений является МК-3, включающий в себя как бактерии, ассоциированные с нормогликемией и повышением антиатерогенных фракций липидов (ЛПВП), так и бактерии, увеличивающие риск развития углеводных нарушений. Наиболее благоприятным в отношении риска развития СД2 является МК-4, представленный высоким количеством бутират-продуцирующих бактерий. По всей видимости наличие данного МК у пациентов с манифестным СД2 ассоциировано с низким риском прогрессирования данного заболевания и низким риском развития осложнений.

В Таблице 7 представлена предполагаемая характеристика четырех наиболее часто представленных МК.

Таблица 7. Предполагаемая характеристика четырех наиболее часто представленных МК

МК	Предполагаемые эффекты	Предполагаемый фенотип пациента	Риск развития заболевания
МК-1	Развитие ожирения, гипергликемии и дислипидемии	Типичный образ пациентов с СД2: избыточная масса тела или ожирение, гипергликемия и дислипидемия	- Высокий риск развития СД2 и атеросклеротических ССЗ - Высокий риск прогрессирования СД2 - Высокий риск развития осложнений СД2
МК-2	Развитие гипергликемии, предотвращение развития ожирения	Пациенты с нормальным ИМТ или незначительным избытком массы тела на фоне выраженной гипергликемии	- Высокий риск развития СД2 и атеросклеротических ССЗ - Высокий риск прогрессирования СД2 - Высокий риск развития осложнений СД2
МК-3	Положительные эффекты в отношении гомеостаза углеводов и липидов в организме	-	- Средний риск развития СД2 и атеросклеротических ССЗ - Средний риск прогрессирования СД2 - Средний риск развития осложнений СД2
МК-4	Положительные эффекты в отношении гомеостаза углеводов и липидов в организме	-	- Низкий риск развития СД2 и атеросклеротических ССЗ - Низкий риск прогрессирования СД2 - Низкий риск развития осложнений СД2

3.2.4 α -разнообразие

Одним из наиболее широко используемых подходов к оценке состава КМ является изучение α -разнообразия, которое отражает как характер представленности микробного сообщества в биологическом образце, так и функциональные возможности кишечных бактерий. В нашем исследовании мы оценивали α -разнообразие путем расчета двух основных индексов: индекса Шеннона и индекса Чао.

Принимая во внимание то, что у здоровой когорты пациентов индекс Шеннона колеблется в диапазоне от 3 до 6, по данным нашего исследования были выявлены достаточно высокие показатели индекса Шеннона среди пациентов с впервые выявленным СД2: индекс Шеннона $5,21 \pm 0,08$ (95% ДИ 5,05 - 5,38). Индекс Чао составлял $222,65 \pm 6,69$ (95% ДИ 209,37 - 235,94). Стоит отметить, что два основных индекса α -разнообразия являлись взаимозависимы: $r=0,747$, $p < 0,05$, то есть, при увеличении значений индекса Шеннона отмечалось увеличение индекса Чао, и наоборот.

При проведении корреляционного анализа была выявлена слабая прямая связь между индексами α -разнообразия и F/V: $r=0,195$, $p<0,05$ – для индекса Шеннона. Следовательно, увеличение значений α -разнообразия отмечалось за счет численного роста представителей типа Firmicutes. Стоит отметить, что бактерии, относящиеся к типу Firmicutes являются основными поставщиками КЖЦК. Следовательно, более высокие значения индекса Шеннона ассоциированы с более высоким функциональным потенциалом КМ.

Корреляционный анализ между индексами α -разнообразия и F/V представлен в Таблице 8.

Таблица 8. Корреляционный анализ между F/V и индексами α -разнообразия

Параметр	α -разнообразие Шеннона	α -разнообразие Чао	F/V
Индекс Шеннона	-	0,7479	0,1957
Индекс Чао	0,7479	-	0,0931
F/V	0,1957	0,0931	-

Примечание: коэффициент ранговой корреляции гху Спирмена. Выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне $p<0,05$.

Стоит отметить, что индексы α -разнообразия существенно различались между ЭТ. Так в ЭТ-1а индекс Шеннона и индекс Чао были максимальны и составляли $5,8\pm 0,06$ (95% ДИ 5,67 - 5,92) и $259,81\pm 6,89$ (95% ДИ 245,95 - 273,68), соответственно. В ЭТ-2 показатели α -разнообразия были ниже, чем в ЭТ-1а: индекс Шеннона $4,9\pm 0,14$ (95% ДИ 4,61 - 5,19) против $5,8\pm 0,06$ (95% ДИ 5,67 - 5,92), $p<0,001$, индекс Чао $234,55\pm 9,88$ (95% ДИ 214,06 - 255,04) против $259,81\pm 6,89$ (95% ДИ 245,95 - 273,68), $p<0,05$. В ЭТ-1б показатели α -разнообразия были ниже, чем в ЭТ-2: индекс Шеннона 4,24 [3,84; 5,07] против $4,9\pm 0,14$ (95% ДИ 4,61 - 5,19), $p<0,05$, индекс Чао $143,53\pm 6,58$ (95% ДИ 129,97 - 157,09) против $234,55\pm 9,88$ (95% ДИ 214,06 - 255,04), $p<0,001$. Полученные результаты могут говорить о том, что ЭТ-1а и ЭТ-2 характеризуются высоким микробным разнообразием и высоким функциональным потенциалом в то время, как ЭТ-1б обладает скудным кишечным разнообразием и минимальной метаболической активностью. Значения индексов α -разнообразия в зависимости от ЭТ представлены в Таблице 9.

Таблица 9. Значения индексов α -разнообразия в зависимости от ЭТ

Параметр	Значение параметра ¹ Энтеротип 1а, (n=48)	Значение параметра ² Энтеротип 1б, (n=26)	Значение параметра ³ Энтеротип 2, (n=23)	Значение p	Значение p ₁₂	Значение p ₁₃	Значение p ₂₃
Индекс Шеннона	$5,8\pm 0,06$ (95% ДИ 5,67 - 5,92)	4,24 [3,84; 5,07]	$4,9\pm 0,14$ (95% ДИ 4,61 - 5,19)	$p=0,000$	$p_{12}=0,00000$	$p_{13}=0,00000$	$p_{23}=0,12420$
Индекс Чао	$259,81\pm 6,89$ (95% ДИ 245,95 - 273,68)	$143,53\pm 6,58$ (95% ДИ 129,97 - 157,09)	$234,55\pm 9,88$ (95% ДИ 214,06 - 255,04)	$p=0,00000$	$p_{12}=0,00106$	$p_{13}=0,40199$	$p_{23}=0,00106$

При оценке взаимосвязи между индексами α -разнообразия и наиболее часто представленными МК было выявлено, что по мере увеличения относительной представленности МК-1 индексы α -разнообразия снижались: $r = -0,321$, $p < 0,05$ – для индекса Шеннона; $r = -0,582$, $p < 0,05$ – для индекса Чао. Это подтверждает ранее выдвинутое предположение о том, что доминирование МК-1 способно снижать численную представленность других бактерий.

Напротив, по мере увеличения относительной представленности МК-2 и МК-4 отмечалось увеличение значений индексов α -разнообразия. Значит по мере увеличения относительной численности данных МК наблюдались рост разнообразия кишечных бактерий, и, следовательно, улучшение функционального потенциала КМ. Корреляционный анализ между МК и индексами α -разнообразия представлен в Таблице 10.

Таблица 10. Корреляционный анализ между МК и индексами α -разнообразия

Общая группа	МК-1	МК-2	МК-3	МК-4
Индекс Шеннона	-0,321100	0,759943	$p > 0,05$	0,275100
Индекс Чао	-0,582900	0,839723	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Примечание: Выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне $p < 0,05$. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p > 0,05$.

Таким образом, были определены значения индексов α -разнообразия. Однако оценить насколько полученные результаты отличны от нормы не представляется возможным, в связи с отсутствием общепризнанных референсов для индекса Шеннона и индекса Чао. Более того, в настоящее время опубликованы только отдельные работы, в которых оценивалось α -разнообразие в специально сформированных группах, что также затрудняет возможность сравнения полученных нами результатов с уже опубликованными данными. Подводя итог можно сказать, что выявленное нами значение индексов Шеннона и Чао среди пациентов с манифестным СД2 мало информативно с точки зрения научной и практической значимости.

3.2.5 Метаболический потенциал кишечной микробиоты

Важнейшей функциональной характеристикой КМ является способность к продукции КЦЖК, которая может быть косвенно оценена путем определения относительной представленности метаболических путей образования пропионата и бутирата. В связи с тем, что гены, ассоциированные с путями синтеза ацетата неспецифичны, оценить относительную представленность путей ацетата не представляется возможным.

Стоит отметить, что бутират и пропионат контролируют процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток кишечника, что определяет непроницаемость кишечной стенки для эндотоксинов и ЛПС и препятствует развитию системного воспаления [86]. Более того, пропионат и бутират принимают участие в гомеостазе углеводов и липидов в организме, влияют на синтез ГПП-1 и инсулина, регулируют центральный аппетит [6, 16, 91, 93]. Однако отличительной особенностью пропионата является участие в глюконеогенезе печени [15]. Более того, избыточная гиперпродукция КЦЖК в кишечнике может приводить к резкому увеличению концентрации жирных кислот в кровотоке, возникновению ИР, и как следствие, к развитию дисфункции островкового аппарата ПЖЖ [127]. Следовательно, существенное изменение физиологической концентрации КЦЖК в просвете кишечника как в сторону снижения, так и в сторону повышения бутирата и пропионата резко увеличивает риск развития СД2.

Существует 4 пути синтеза бутирата: Acetyl-CoA, глутаратный, 4-аминобутиратный и лизиновый, доминирующими из которых являются Acetyl-CoA и лизиновый пути [183]. К путям синтеза пропионата относят сукцинатный (основной), акрилатный и пропандиоловый пути [90].

По данным нашего исследования ведущим биохимическим путем синтеза бутирата являлся путь Acetyl-CoA: относительная представленность $0,55 \pm 0,011$ (95% ДИ 0,529 - 0,571). Представленность 4-аминобутират-сукцинатного пути и глутаратного пути была составляла $0,35 \pm 0,007$ (95% ДИ 0,336 - 0,364) и $0,348 \pm 0,007$ (95% ДИ 0,334 - 0,362) соответственно, что не противоречит данным ранее опубликованного исследования, проведенного на здоровой выборке пациентов. Тем не менее один из основных путей синтеза бутирата, лизиновый путь, не был представлен среди участников нашего исследования, что может указывать на снижение способности КМ к продукции бутирата среди пациентов с СД2 [183].

Также было идентифицировано четыре основных пути синтеза пропионата: Succinate a, Succinate b, acrylate и propanediol. При этом лидерами синтеза пропионата являлись пути Succinate a и Succinate b, относительная численность которых составляла $0,207 \pm 0,009$ (95% ДИ 0,19 - 0,224) и $0,238 \pm 0,009$ (95% ДИ 0,22 - 0,256) соответственно. Наиболее редким путем синтеза пропионата являлся acrylate: относительная представленность составляла 0,019 [0,012; 0,032]). Стоит отметить, что полученные результаты сопоставимы с ранее опубликованными данными, полученными от здоровой выборки пациентов [90].

Относительная представленность 4-аминобутират-сукцинатного пути и пути Acetyl-CoA, ассоциированных с синтезом бутирата, была наибольшей в ЭТ-1а по сравнению с ЭТ-1б и ЭТ-2. При этом представленность метаболических путей синтеза бутирата в ЭТ-1б и ЭТ-2 была сопоставима. Так, относительная представленность 4-аминобутират-сукцинатного пути в ЭТ-1а составляла $0,375 \pm 0,009$ (95% ДИ 0,356 - 0,394), в ЭТ-1б достигала значения $0,332 \pm 0,014$ (95% ДИ 0,303 - 0,362), в ЭТ-2 равнялась $0,319 \pm 0,012$ (95% ДИ 0,293 - 0,345), $p=0,001$. Относительная

представленность пути Acetyl-CoA в ЭТ-1а составляла $0,592 \pm 0,014$ (95% ДИ 0,565 - 0,62), в ЭТ-1б - $0,508 \pm 0,02$ (95% ДИ 0,466 - 0,55), в ЭТ-2 - $0,51 \pm 0,02$ (95% ДИ 0,469 - 0,551), $p < 0,001$. Действительно, синтез бутирата через путь Acetyl-CoA и 4-aminobutyrate/ Succinate осуществляется преимущественно бактериями из типа Firmicutes (Roseburia, Coprococcus, Eubacteria, Ruminococcus, Faecalibacteria и др.) [183], а ЭТ-1а имеет наибольшую долю представителей типа Firmicutes по сравнению с ЭТ-1б и ЭТ-2, что определяет более высокий метаболический потенциал по отношению к продукции бутирата в данном ЭТ.

Относительная представленность основных путей синтеза пропионата (Succinate a и Succinate b) не отличалась между ЭТ, однако более высокая представленность acrylate отмечалась в ЭТ-1а по сравнению с ЭТ-1б ровно, как и более высокая представленность propanediol отмечалась в ЭТ-1а по сравнению с ЭТ-2. Следовательно, ЭТ-1а, характеризующийся преимущественно представителями типа Firmicutes, вероятно имел более высокую способность к продукции пирувата по сравнению с другими ЭТ. При этом стоит отметить, что способность кишечных бактерий, входящих в ЭТ-1а к продукции пропионата была несколько ниже, чем бутирата, в связи с тем, что относительная представленность основного пути синтеза пропионата, сукцинатного пути не различалась между ЭТ.

Относительная представленность основных путей синтеза бутирата и пропионата в зависимости от ЭТ представлена в Таблице 11.

Таблица 11. Относительная представленность основных путей синтеза бутирата и пропионата у разных ЭТ

Параметр	Значение параметра ¹ Энтеротип 1а, (n=48)	Значение параметра ² Энтеротип 1б, (n=26)	Значение параметра ³ Энтеротип 2, (n=23)	Значение p	Значение p ₁₂	Значение p ₁₃	Значение p ₂₃
Метаболические пути синтеза бутирата							
4-aminobutyrate/ Succinate	$0,375 \pm 0,009$ (95% ДИ 0,356 - 0,394)	$0,332 \pm 0,014$ (95% ДИ 0,303 - 0,362)	$0,319 \pm 0,012$ (95% ДИ 0,293 - 0,345)	$p=0,001788$	$p_{12}=0,013082$	$p_{13}=0,014667$	$p>0,05$
Acetyl-CoA	$0,592 \pm 0,014$ (95% ДИ 0,565 - 0,62)	$0,508 \pm 0,02$ (95% ДИ 0,466 - 0,55)	$0,51 \pm 0,02$ (95% ДИ 0,469 - 0,551)	$p=0,000276$	$p_{12}=0,006645$	$p_{13}=0,013659$	$p>0,05$
Glutarate	$0,353 \pm 0,009$ (95% ДИ 0,336 - 0,37)	$0,337 \pm 0,016$ (95% ДИ 0,303 - 0,37)	$0,351 \pm 0,015$ (95% ДИ 0,319 - 0,383)	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
Метаболические пути синтеза пропионата							
Succinate a	$0,199 \pm 0,009$ (95% ДИ 0,181 - 0,217)	$0,238 \pm 0,024$ (95% ДИ 0,19 - 0,287)	$0,187 \pm 0,014$ (95% ДИ 0,157 - 0,217)	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
Succinate b	$0,231 \pm 0,01$ (95% ДИ 0,211 - 0,252)	$0,269 \pm 0,024$ (95% ДИ 0,22 - 0,319)	$0,216 \pm 0,015$ (95% ДИ 0,185 - 0,246)	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
acrylate	0,021 [0,016; 0,037]	0,014 [0,008; 0,021]	0,018 [0,014; 0,03]	$p=0,0242$	$p_{12}=0,007072$	$p>0,05$	$p>0,05$
propanediol	$0,119 \pm 0,002$ (95% ДИ 0,114 - 0,123)	$0,125 \pm 0,004$ (95% ДИ 0,117 - 0,133)	0,099 [0,086; 0,106]	$p=0,0000$	$p>0,05$	$p_{13}=0,000001$	$p_{23}=0,000002$

При проведении корреляционного анализа была выявлена прямая зависимость между МК-1, МК-2 и метаболическими путями синтеза бутирата и пропионата. При этом МК-1 был больше

ассоциирован с увеличением относительной представленности путей синтеза пропионата, а МК-2 –бутирата. Обратная зависимость отмечалась между МК-3, МК-4, и метаболическими путями синтеза бутирата и пропионата. При этом МК-3 был отрицательно связан с путями синтеза бутирата, а МК-4 – бутирата и пропионата. Полученные нами данные дают основание полагать, что МК-1 и МК-2 ассоциированы с чрезмерной продукцией КЦЖК, что приводит к развитию СД2. Напротив, МК-3 и МК-4 способствуют снижению продукции КЦЖК, что вероятно является необходимой мерой в условиях гипергликемии, свойственной для пациентов с СД2.

Корреляционный анализ между МК и основными метаболическими путями синтеза бутирата и пропионата представлен в Таблице 12.

Таблица 12. Корреляционный анализ между МК и основными метаболическими путями синтеза бутирата и пропионата

Общая группа	МК-1	МК-2	МК-3	МК-4
Метаболические пути синтеза бутирата				
4-aminobutyrate/ Succinate	0,249800	0,363810	-0,245717	-0,300100
Acetyl-CoA	p>0,05	0,597477	-0,280291	-0,228300
Glutarate	p>0,05	p>0,05	p>0,05	-0,447200
Метаболические пути синтеза пропионата				
Succinate a	0,392000	p>0,05	p>0,05	-0,500100
Succinate b	0,406600	p>0,05	p>0,05	-0,453300
acrylate	p>0,05	0,489582	p>0,05	-0,236885
propanediol	0,424600	p>0,05	p>0,05	-0,280600

Примечание: выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне $p < 0,05$. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p > 0,05$.

Таким образом, оценка представленности метаболических путей синтеза бутирата и пропионата позволяет оценить функциональный потенциал КМ. Так мы отмечаем, что в связи с отсутствием одного из ключевых путей синтеза бутирата (лизинового пути) на фоне присутствия всех основных путей синтеза пропионата, КМ пациентов с манифестным СД2 характеризуется снижением возможностей к продукции бутирата, но не пропионата. Однако мы не можем оценить характер продукции КЦЖК КМ, так как в настоящее время целевые диапазоны для бутирата и пропионата не определены, а в литературе отсутствуют данные об уровнях метаболических путей синтеза КЦЖК у здоровых пациентов и пациентов с СД2. Поэтому мы считаем возможным сравнивать относительные значения метаболических путей синтеза бутирата и пропионата между ЭТ и МК для того, чтобы идентифицировать метаболически активные и пассивные кишечные сообщества на уровне рода и межродовых взаимодействий.

Так мы определили наибольшую активность в отношении продукции КЦЖК в ЭТ-1а, который характеризуется высокой представленностью бактерий из типа Firmicutes, являющихся основными поставщиками бутирата и пропионата. Отсутствие различий в продукции КЦЖК между ЭТ-1б и ЭТ-2 несмотря на противоположные предполагаемые метаболические эффекты данных ЭТ указывает на второстепенную роль продукции КЦЖК в определении риска развития СД2 на уровне данных ЭТ.

Напротив, говоря про представленность метаболических путей синтеза КЦЖК между МК, обращает на себя внимание существенное увеличение продукции бутирата и пропионата в МК-1 и МК-2 и выраженное снижение продукции данных метаболитов в МК-3 и МК-4. Важно отметить, что МК-1 и МК-2 представлены бактериями, положительно связанными с риском развития СД2, в то время, как МК-3 и МК-4 представлены бактериями, ассоциированными со снижением вероятности развития данного заболевания. Совпадение эффектов бактериального состава МК с функциональной активностью КМ позволяет не только оценить фенотипический образ пациентов в зависимости от доминирующего МК, но и выделять инструменты, через которые МК осуществляют свои метаболические эффекты. Так, стоит предположить, что увеличение продукции КЦЖК по мере роста представленности МК-1 и МК-2 у пациентов с СД2 ассоциировано не только с высоким ферментативным потенциалом по отношению к поступившим в ЖКТ углеводам, но и с избыточным транспортом жирных кислот из кишечника в кровотоки. Эти жирные кислоты накапливаются в метаболически активных органах, приводят к развитию ИР и способствуют возникновению и прогрессированию углеводных нарушений. Тем не менее не совсем понятна причина снижения относительных значений путей синтеза КЦЖК по мере увеличения представленности МК-3 и МК-4, при том, что доминирующими родами бактерий в данных МК являются бутират-продуцирующие бактерии. Вероятно, у пациентов с СД2 с целью предотвращения повышенного метаболизма сложных углеводов в толстом кишечнике и уменьшения поступления жирных кислот из ЖКТ в кровотоки, КМ снижает свои функциональные возможности в отношении продукции КЦЖК. Важно отметить, что до нашего исследования связь МК с метаболическими путями синтеза бутирата и пропионата не оценивалась, в связи с чем не представляется возможным полноценно интерпретировать полученные нами результаты.

3.3. Влияние кишечной микробиоты на основные звенья патогенеза СД2: инсулинорезистентность, дисфункцию α - и β -клеток ПЖЖ и L-клеток кишечника

С целью выявления роли КМ в активации того или иного патогенетического механизма развития СД2, пациентам, включенным в исследование, были оценены:

- индекс НОМА-IR для определения характера выраженности ИР;
- уровни С-пептида натощак и инсулина в точках 0 мин. и 120 мин. после стандартного завтрака для определения функциональной способности β -клеток ПЖЖ;
- уровни глюкагона в точках 0 мин. и 30 мин. после стандартного завтрака для определения функционального потенциала α -клеток ПЖЖ;
- уровни ГПП-1 в точках 0 мин. и 30 мин. после стандартного завтрака для определения функционального потенциала L-клеток кишечника.

В последующем была оценена взаимосвязь КМ с индексом НОМА-IR, инсулином, С-пептидом, глюкагоном и ГПП-1. Опираясь на предшествующие данные стоит отметить, что достоверно установить влияние отдельных родов или видов бактерий на развитие ИР и дисфункции островкового аппарата ПЖЖ и L-клеток кишечника затруднительно. Именно поэтому при определении влияний КМ на развитие СД2, мы опирались не на конкретные бактерии, а на устойчивые сообщества: на уровне типа - на F/V; на уровне рода – на ЭТ; на уровне межродовых взаимодействий – на наиболее часто представленные МК (МК-1, МК-2, МК-3, МК-4), которые, вероятно, определяли функциональную активность всего кишечного многообразия бактерий; на уровне метаболического потенциала КМ – на показатели α -разнообразия и относительные значения путей синтеза бутирата и пропионата.

3.3.1 Описательная характеристика пациентов с впервые выявленным СД2 по гормональному профилю

В настоящее время насчитывается 11 звеньев патогенеза СД2. При этом ключевыми причинами развития данного заболевания являются ИР и дисфункция островкового аппарата ПЖЖ. В последнее время активное внимание уделяется инкретиновому дефекту как наиболее раннему триггеру развития углеводных нарушений. Именно поэтому мы сочли целесообразным всем пациентам с впервые выявленным СД2 оценить выраженность ИР посредством расчета индекса НОМА-IR; выявить функциональные способности α - и β -клеток ПЖЖ, а также L-клеток кишечника за счет определения характера изменений инсулина, глюкагона и ГПП-1 натощак и

на фоне стандартного завтрака. За нормальные уровни инсулина, С-пептида и глюкагона принимались значения, равные 2,3-26,4 мкМЕ/мл – для инсулина, 0,78-5,19 нг/мл – для С-пептида и 0,03-0,12 нг/мл – для глюкагона. Нормальный диапазон уровня ГПП-1 натощак и через 30 мин после стандартного завтрака в настоящее время не определен.

ИР, оцениваемая по уровню индекса НОМА-IR $\geq 2,7$, отмечалась у 83,67% участников исследования (82 из 98). При этом медиана НОМА-IR равнялась 4,67 [3,4; 6,94]. Стоит отметить, что среди пациентов с нормальным ИМТ индекс НОМА-IR составлял 3,65 [2,1; 5,34]. Полученные данные указывают на наличие выраженной ИР у большинства участников исследования включая пациентов, не имеющих избыточную массу тела или ожирение.

При оценке функциональной способности β -клеток ПЖЖ был выявлен уровень С-пептида, равный $2,34 \pm 0,12$ нг/мл (95% ДИ 2,11 - 2,57), а также нормоинсулинемия натощак (инсулин в точке 0 мин. составлял $12,03 \pm 0,61$ мкМЕ/мл (95% ДИ 10,82 - 13,23)). Таким образом, пациенты, включенные в исследование, характеризовались сохранной функцией β -клеток ПЖЖ.

При оценке функционального потенциала α -клеток ПЖЖ было выявлено наличие гиперглюкагонемии натощак: глюкагон в точке 0 мин. составлял 0,79 нг/мл [0,16; 1,37]). Стоит отметить, что гиперглюкагонемия является проявлением дисфункции α -клеток ПЖЖ, характерной для пациентов с СД2.

Гормональный профиль участников исследования представлен в Таблице 13.

Таблица 13. Гормональный профиль пациентов, включённых в исследование.

Гормональные показатели	Значение параметра	Нормальный диапазон
С-пептид (0 мин), (n=98), нг/мл	$2,34 \pm 0,12$ (95% ДИ 2,11 - 2,57)	0,78-5,19 нг/мл
Инсулин (0 мин), (n=98), мкМЕ/мл	$12,03 \pm 0,61$ (95% ДИ 10,82 - 13,23)	2,3-26,4 мкМЕ/мл
Индекс НОМА-IR, (n=98)	4,67 [3,4; 6,94]	Менее 2,7
Индекс НОМА-IR при ИМТ $< 25,0$ кг/м ² (n=10)	3,65 [2,1; 5,34]	Менее 2,7
Инсулин (120 мин), (n=88), мкМЕ/мл	19,65 [11,45; 31,55]	2,3-26,4 мкМЕ/мл
Δ Инсулина, (n=88)	9,35 [2,1; 18,4]	-
Глюкагон (0 мин), (n=88), нг/мл	0,79 [0,16; 1,37]	0,03-0,12 нг/мл
Глюкагон (30 мин), (n=88), нг/мл	0,55 [0,38; 1,34]	0,03-0,12 нг/мл
Δ глюкагона, (n=88)	0,1 [-0,46; 0,39]	-
ГПП-1 (0 мин), (n=88), нг/мл	0,01 [0,01; 0,01]	Не определен
ГПП-1 (30 мин), (n=88), нг/мл	0,79 [0,2; 2,11]	Не определен
Δ ГПП-1, (n=88)	0,78 [0,19; 2,1]	-

При оценке функции L-клеток кишечника, а также α - и β -клеток ПЖЖ на фоне стандартного завтрака было выявлено, что через 30 мин. после приема пищи отмечалось достоверное повышение уровня ГПП-1 в крови: ГПП-1 (0 мин.) - 0,01 нг/мл [0,01; 0,01], ГПП-1 (30 мин.) - 0,79 нг/мл [0,2; 2,11], $p < 0,001$; Δ ГПП-1 0,78 нг/мл [0,19; 2,1]; тенденция к снижению

синтеза глюкагона: глюкагон (0 мин.) - 0,79 нг/мл [0,16; 1,37], глюкагон (30 мин.) - 0,55 нг/мл [0,38; 1,34], достоверность не подтверждена; Δ глюкагона 0,1 нг/мл [-0,46; 0,39]; значимый прирост уровня инсулина через 120 мин. после завтрака по сравнению с уровнем инсулина натощак: 19,65 мкМЕ/мл [11,45; 31,55] против 12,03±0,61 мкМЕ/мл (95% ДИ 10,82 - 13,23), $p < 0,001$, Δ Инсулина - 9,35 мкМЕ/мл [2,1; 18,4]. Важно отметить, что уровень ГПП-1 отрицательно коррелировал с уровнем глюкагона в точке 30 мин: коэффициент ранговой корреляции $r = -0,550$, $p < 0,05$, что говорит о сохранном глюкагонопеническом эффекте ГПП-1 у пациентов с впервые выявленным СД2. Однако достоверных изменений уровня инсулина в точке 120 мин. в зависимости от уровня ГПП-1 в точке 30 мин. выявлено не было, что, предположительно указывает на снижение инсулиотропного эффекта ГПП-1. Тем не менее на фоне стандартного завтрака отмечалось достоверное увеличение уровня инсулина в точке 120 мин., подразумевающее сохранение способности β -клеток ПЖЖ к глюкозозависимой секреции инсулина. Динамика изменений ГПП-1, глюкагона и инсулина на фоне стандартного завтрака представлена на Рисунке 10.

Таким образом, для пациентов с впервые выявленным СД2 характерна выраженная ИР на фоне сохранной функциональной способности β -клеток и гиперфункции α -клеток ПЖЖ. Более того, пациенты, включенные в исследование, характеризуются наличием инкретинового дефекта, проявляющегося снижением инсулиотропного действия на фоне сохраненного глюкагонопенического действия ГПП-1 и достоверно значимого прироста уровня данного гормона после стандартного завтрака.

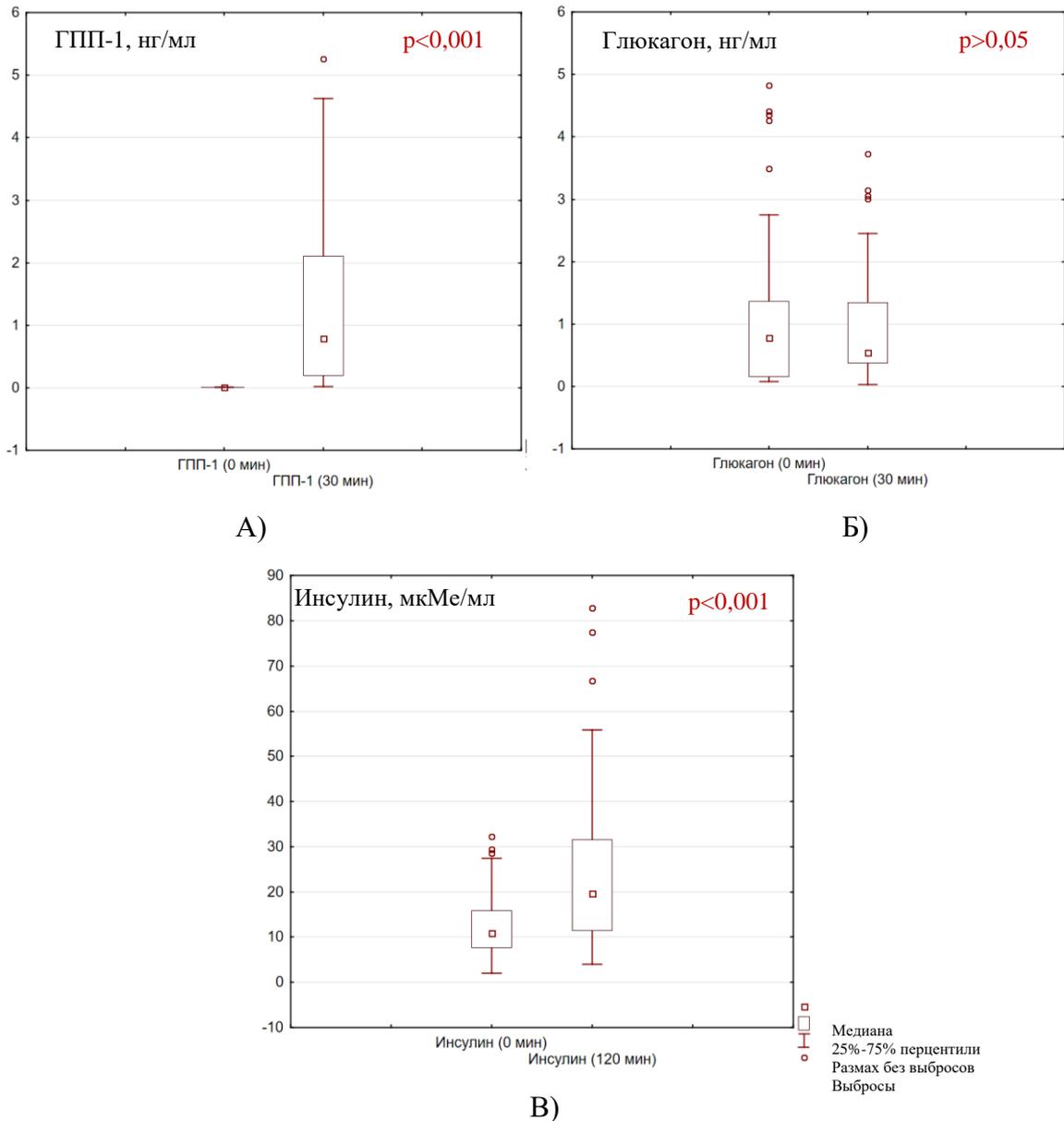


Рисунок 10. Динамика изменений гормонального профиля на фоне стандартного завтрака.

А) Динамика изменений ГПП-1; Б) Динамика изменений глюкагона;

В) Динамика изменений инсулина.

3.3.2 Влияние кишечной микробиоты на развитие инсулинорезистентности

ИР является ведущим звеном патогенеза СД2. Таким образом, понимание влияний основных характеристик КМ на развитие ИР позволило бы установить связь КМ с риском развития СД2.

ИР, оцениваемая по уровню НОМА-IR $> 2,7$, отмечалась как в группе пациентов, у которых доминировал тип Firmicutes ($F/B \geq 1$), так и в группе пациентов с более высоким уровнем

представителей типа Bacteroidetes ($F/B < 1$). Достоверных различий значения индекса НОМА-IR у пациентов с впервые выявленным СД2 при $F/B \geq 1$ или $F/B < 1$ выявлено не было, однако, при $F/B \geq 1$ по сравнению с $F/B < 1$ отмечалось более низкое значение НОМА-IR: 4,39 [3,16; 6,94] против 4,86 [3,79; 6,72], достоверность не подтверждена. Значения индекса НОМА-IR в зависимости от F/B представлены в Таблице 14.

Таблица 14. Значения индекса НОМА-IR в зависимости от F/B

Параметр	Значение параметра $F/B \geq 1$, (n=55)	Значение параметра $F/B < 1$, (n=30)	Значение p
Индекс НОМА-IR	4,39 [3,16; 6,94]	4,86 [3,79; 6,72]	$p > 0,05$

Во всех трех ЭТ показатели НОМА-IR соответствовали значениям ИР. Тем не менее более низкий индекс ИР отмечался в ЭТ-2 (НОМА-IR = 4,19 [3,66; 5,99]), в котором доминирующим родом являлась *Prevotella*, ассоциированная с нормальным гомеостазом углеводов и липидов в организме. Наибольшее значение индекса НОМА-IR было связано с ЭТ-1б (НОМА-IR = 4,8 [3,66; 7,38]), имеющим самое скудное разнообразие кишечных бактерий и самый высокий уровень рода *Blautia*, часто встречающегося у пациентов с СД2. Несмотря на то, что достоверность не была подтверждена, вероятно, ЭТ-2 был ассоциирован с наиболее благоприятным профилем чувствительности тканей к инсулину. Тем не менее наличие выраженной ИР во всех трех ЭТ может объясняться тем, что ИР уже сформировалась на стадии предиабета, и во время манифестации СД2, ни один из выявленных у пациентов с данным заболеванием ЭТ уже не оказывал существенного влияния на развитие ИР. Значения индекса НОМА-IR в зависимости от ЭТ представлены в Таблице 15.

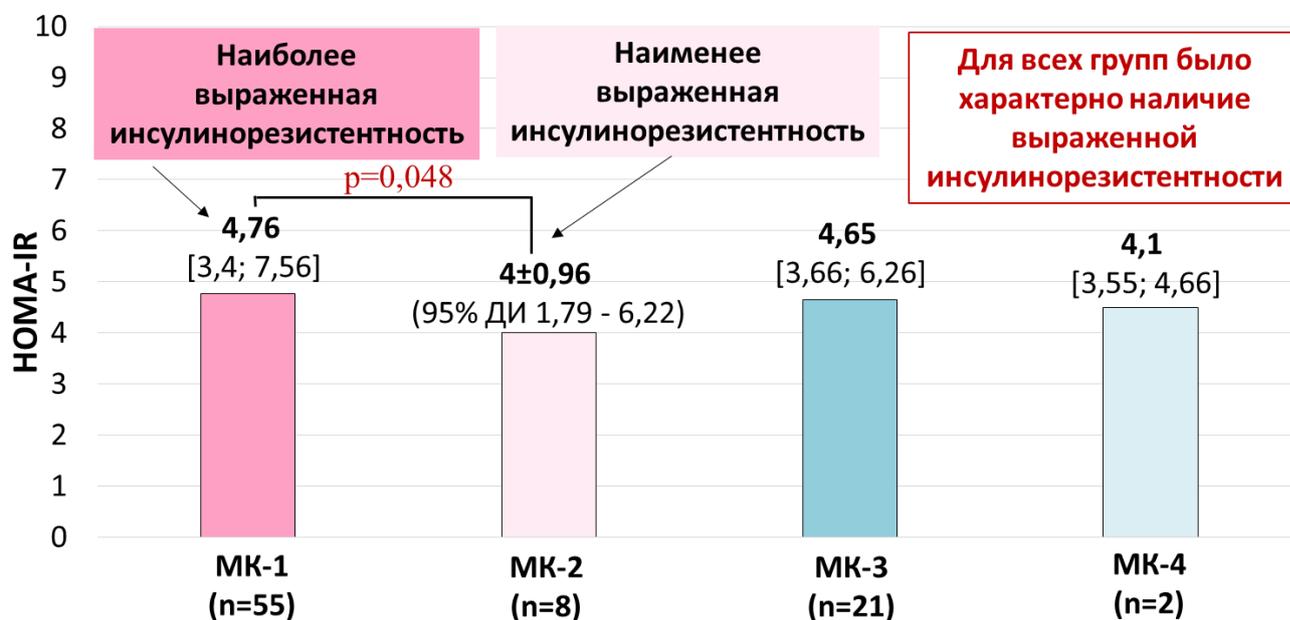
Таблица 15. Значения индекса НОМА-IR в зависимости от ЭТ

Параметр	Значение параметра Энтеротип 1а, (n=44)	Значение параметра Энтеротип 1б, (n=20)	Значение параметра Энтеротип 2, (n=21)	Значение p
Индекс НОМА-IR	4,67 [3,16; 7,68]	4,8 [3,66; 7,38]	4,19 [3,66; 5,99]	$p > 0,05$

Все из четырех наиболее часто представленных МК были связаны с высокими значениями индекса НОМА-IR, что определяет наличие ИР у всех пациентов вне зависимости от доминирующего МК. Однако достоверные различия НОМА-IR были выявлены только между МК-1 и МК-2: 4,76 [3,4; 7,56] против 4,65 [3,66; 6,26], $p = 0,048$, что указывает на наличие более выраженной ИР в МК-1. Значения индекса НОМА-IR в зависимости от МК представлены в Таблице 16 и Рисунке 11.

Таблица 16. Значения индекса НОМА-IR в зависимости от МК

Параметр	Значение параметра МК-1, (n=53)	Значение параметра МК-2, (n=8)	Значение параметра МК-3, (n=21)	Значение параметра МК-4, (n=2)	Значение p
Индекс НОМА-IR	4,76 [3,4; 7,56]	4±0,96 (95% ДИ 1,79 - 6,22)	4,65 [3,66; 6,26]	4,1 [3,55; 4,66]	p ₁₂ = p=0,048

**Рисунок 11.** Значения индекса НОМА-IR в зависимости от МК

Стоит отметить, что ранее описанный родовой состав МК-1 и МК-2 характеризует два этих МК как наиболее значимые в отношении риска развития СД2. Более того, бактериальное сообщество МК-1 предполагает наличие ожирения в то время, как рода бактерий, включенные в МК-2, нивелируют риск развития ожирения. Принимая во внимание предполагаемый фенотип, а также наибольший уровень индекса НОМА-IR у пациентов, имеющих МК-1, стоит отметить, что ИР, вероятно, является ключевым патогенетическим механизмом развития СД2 в данном МК. Напротив, стоит отметить, что наименьший уровень индекса НОМА-IR в МК-2 согласуется с нашими ранее выдвинутыми предположениями о том, что ожирение, и его следствие – ИР, не являются ведущими причинами развития СД2 в данном МК.

При проведении корреляционного анализа каких-либо связей между индексами α -разнообразия и значением НОМА-IR, а также между метаболическими путями синтеза бутирата и пропионата и уровнем НОМА-IR выявлено не было. Это, вероятно, указывает на то, что разнообразие кишечного сообщества и представленность метаболических путей синтеза КЦЖК не ассоциированы с чувствительностью периферических тканей к инсулину.

КМ влияет на чувствительность периферических тканей к инсулину. По данным нашего исследования вне зависимости от значений F/B, доминирующих ЭТ или МК отмечались высокие

показателе индекса НОМА-IR соответствующие наличию выраженной ИР. Однако достоверные различия показателя НОМА-IR были выявлены только между МК-1 и МК-2, что определяет МК-1 как наиболее значимый маркер развития ИР периферических тканей.

3.3.3 Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции β -клеток поджелудочной железы

Дисфункция β -клеток ПЖЖ является одним из ключевых факторов развития СД2. С целью расширения представления о патогенетическом влиянии КМ на развитие СД2, мы оценили динамику изменений инсулина и С-пептида в зависимости от характеристик КМ.

При анализе полученных в ходе исследования данных было выявлено, что уровни С-пептида и инсулина натощак существенно не отличались в зависимости от значений $F/B \geq 1$ и $F/B < 1$. На фоне стандартного завтрака также каких-либо достоверно значимых изменений показателей инсулина в зависимости от значения F/B выявлено не было. Следовательно, поиск влияний КМ на функциональную способность β -клеток ПЖЖ через систему классификации кишечных бактерий на уровне типа (F/B) не является целесообразным. Уровни С-пептида, инсулина базального и стимулированного в зависимости от значения F/B представлены в Таблице 17.

Таблица 17. Уровни С-пептида, инсулина базального и стимулированного в зависимости от значения F/B

Параметр	Значение параметра $F/B \geq 1$, (n=55)	Значение параметра $F/B < 1$, (n=30)	Значение p
С-пептид, нг/мл	2,26±0,15 (95% ДИ 1,96 - 2,57)	2,45±0,19 (95% ДИ 2,06 - 2,84)	p>0,05
Инсулин (0 мин), мкМЕ/мл	11,69±0,77 (95% ДИ 10,16 - 13,22)	11,7 [8,5; 15]	p>0,05
Инсулин (120 мин), мкМЕ/мл	17,9 [9,41; 31,6]	22,3 [16,1; 32,4]	p>0,05

Более того, значимых изменений уровней С-пептида и инсулина натощак, а также уровня инсулина в точке 120 мин. в зависимости от ЭТ выявлено не было, что говорит об отсутствии существенных влияний ЭТ на β -клетки ПЖЖ. Уровни С-пептида, инсулина базального и стимулированного в зависимости от ЭТ представлены в Таблице 18.

Таблица 18. Уровни С-пептида, инсулина базального и стимулированного в зависимости от ЭТ

Параметр	Значение параметра ¹ Энтеротип 1а, (n=44)	Значение параметра ² Энтеротип 1б, (n=20)	Значение параметра ³ Энтеротип 2, (n=21)	Значение р
С-пептид, нг/мл	1,91 [1,29; 3,18]	2,52±0,2 (95% ДИ 2,1 - 2,94)	2,44±0,27 (95% ДИ 1,87 - 3,01)	p>0,05
Инсулин (0 мин), мкМЕ/мл	12,02±0,91 (95% ДИ 10,2 - 13,85)	11,55 [7,1; 15]	9,8 [8,2; 14,2]	p>0,05
Инсулин (120 мин), мкМЕ/мл	17,95 [10,65; 31,15]	22,69±3 (95% ДИ 16,4 - 28,98)	21,6 [15,2; 36]	p>0,05

При оценке функциональной способности β -клеток ПЖЖ в зависимости от доминирующего МК было выявлено, что МК-2 по сравнению с МК-1, МК-3 и МК-4 характеризовался более низкими значениями С-пептида, инсулина натощак и через 120 мин. после стандартного завтрака. Таким образом, МК-2 в большей степени, чем другие МК был ассоциирован с β -клеточным дефектом ПЖЖ.

Тем не менее достоверные различия в показателях С-пептида и инсулина были выявлены только между МК-2 и МК-3. Так в МК-2 по сравнению с МК-3 отмечались более низкие уровни инсулина (8,07±1,52 мкМЕ/мл (95% ДИ 4,55 - 11,58) против 11,2 мкМЕ/мл [8,5; 15,8], p=0,01) и С-пептида (1,68±0,24 нг/мл (95% ДИ 1,12 - 2,25) против 2,64±0,26 нг/мл (95% ДИ 2,1 - 3,17), p=0,03). Полученные данные указывают на то, что МК-2 по сравнению с МК-3 действительно ассоциирован со снижением β -клеточной функции ПЖЖ.

Важно отметить, что МК-1 также, как и МК-2 на основании своего бактериального состава ассоциирован с высоким риском развития СД2. Однако МК-1 по сравнению с МК-2 ассоциирован с более высокими значениями С-пептида и инсулина, сопоставимыми с показателями данных гормонов в МК-3, что может указывать на отсутствие дефекта β -клеток ПЖЖ в данном МК.

Уровни С-пептида, инсулина базального и стимулированного в зависимости от МК представлены в Таблице 19 и на Рисунке 12.

Таблица 19. Уровни С-пептида, инсулина базального и стимулированного в зависимости от МК

Параметр	Значение параметра ¹ МК-1, (n=54)	Значение параметра ² МК-2, (n=8)	Значение параметра ³ МК-3, (n=21)	Значение параметра ⁴ МК-4, (n=2)	Значение р
С-пептид, нг/мл	2,35±0,15 (95% ДИ 2,04 - 2,65)	1,68±0,24 (95% ДИ 1,12 - 2,25)	2,64±0,26 (95% ДИ 2,1 - 3,17)	1,98 [0,62; 3,34]	p ₂₃ =0,039277
Инсулин (0 мин), мкМЕ/мл	12,24±0,79 (95% ДИ 10,65 - 13,82)	8,07±1,52 (95% ДИ 4,55 - 11,58)	11,2 [8,5; 15,8]	13,35 [10,5; 16,2]	p ₂₃ =0,019108
Инсулин (120 мин), мкМЕ/мл	22,84±2,13 (95% ДИ 18,57 - 27,1)	10,1 [9,4; 14,05]	30,19±3,91 (95% ДИ 22,02 - 38,35)	26,82 [7,64; 46]	p=0,0146 p ₂₃ =0,004932

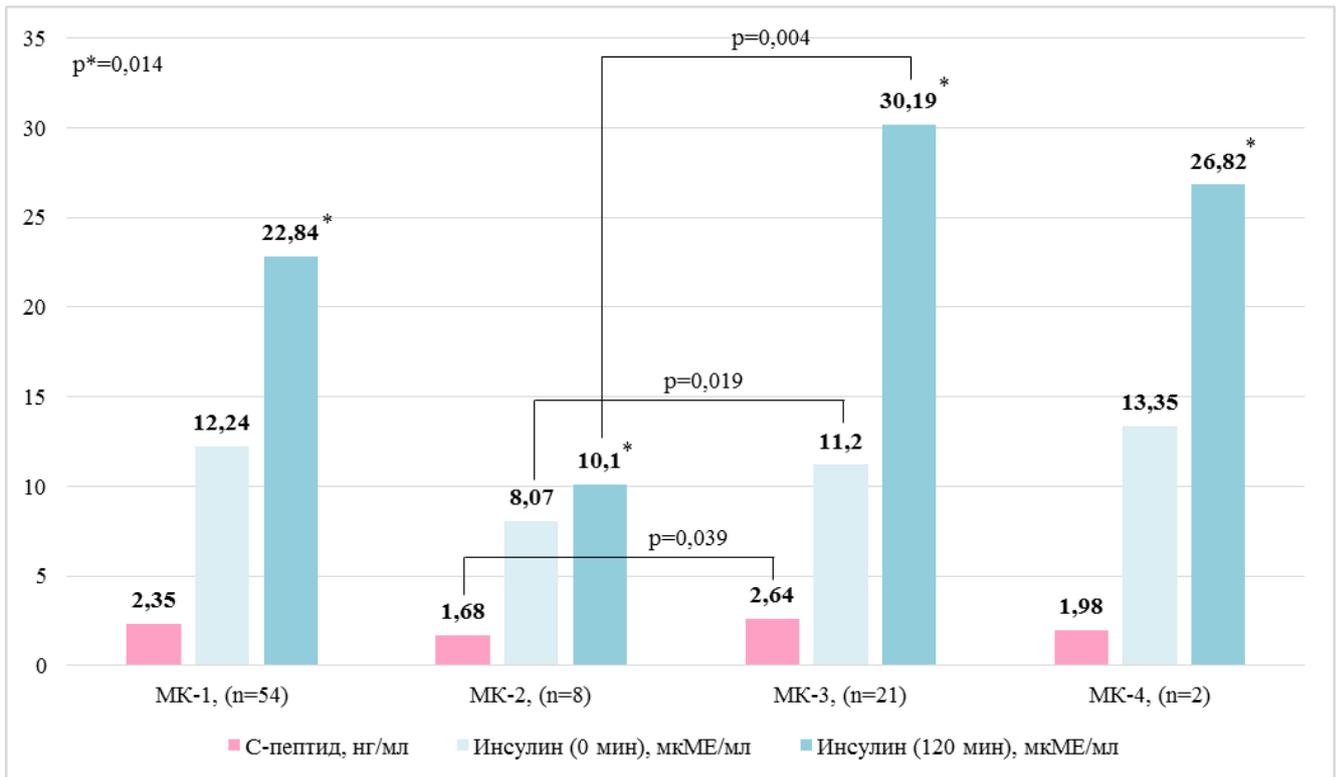


Рисунок 12. Сравнение уровня инсулина и С-пептида натощак в зависимости от МК

Аналогичные результаты были получены при проведении корреляционного анализа, который также не выявил достоверно значимых корреляций между уровнями С-пептида и инсулина в МК-1. Тем не менее было подтверждено наличие отрицательной корреляционной связи между МК-2 и уровнями инсулина ($r = -0,381$, $p < 0,05$) и С-пептида ($r = -0,226$, $p < 0,05$), что указывает на прогрессивное снижение секреции инсулина β -клетками ПЖЖ по мере увеличения представленности МК-2.

Корреляционный анализ между уровнями С-пептида и инсулина натощак/ через 120 мин. после стандартного завтрака и МК представлен в Таблице 20.

Таблица 20. Корреляционный анализ между уровнями С-пептида и инсулина натощак/ через 120 мин. после стандартного завтрака и МК.

Общая группа	С-пептид	Инсулин (0 мин)	Инсулин (120 мин)
МК-1	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
МК-2	-0,381813	-0,226558	$p > 0,05$
МК-3	$p > 0,05$	$p > 0,05$	0,233042
МК-4	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Примечание: выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне $p < 0,05$. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p > 0,05$.

Что касается взаимосвязи между МК и поздней фазой секреции инсулина, которая оценивалась по уровню инсулина через 120 мин. после стандартного завтрака было выявлено, что МК-1 и МК-2 по сравнению с МК-3 и МК-4 имели более низкие значения инсулина в точке 120 мин. При этом МК-2 характеризовался наименьшим уровнем инсулина в точке 120 мин, равным 10,1 мкМЕ/мл [9,4; 14,05]. Следовательно, МК-2 был ассоциирован с наибольшим дефектом глюкозозависимой секреции инсулина по сравнению с МК-1.

Также обращает на себя внимание высокий уровень инсулина в точке 120 мин. ($30,19 \pm 3,91$ мкМЕ/мл (95% ДИ 22,02 - 38,35)) в МК-3, а также наличие прямой зависимости между МК-3 и уровнем инсулина на фоне стандартного завтрака ($r=0,233042$, $p<0,05$), что подтверждает влияние данного МК на улучшение глюкозозависимой фазы секреции инсулина.

МК-4 хоть и характеризовался высоким значением уровня постпрандиального инсулина (26,82 мкМЕ/мл [7,64; 46]), но не имел прямых корреляций с инсулином в точке 120 мин., что говорит об отсутствии влияний данного МК на β -клеточную функцию.

При проведении корреляционного анализа была выявлена слабая обратная связь между индексом Шеннона и уровнем С-пептида ($r= -0,246$, $p < 0,05$) и между индексом Чао и уровнем С-пептида ($r= -0,264$, $p < 0,05$). Полученные результаты указывают на то, что по мере увеличения кишечного разнообразия снижалась β -клеточная функция ПЖЖ. В настоящее время ответить на вопрос почему по мере увеличения α -разнообразия снижается функция β -клеток ПЖЖ не представляется возможным, однако, стоит предположить, что при увеличении представленности кишечных бактерий отмечается увеличение функционального потенциала КМ в отношении продукции КЦЖК. Гиперпродукция данных биологических субстратов может приводить к резкому увеличению концентрации жирных кислот в кровотоке, возникновению ИР, и как следствие, к прогрессивному развитию β -клеточной дисфункции. Однако данное предположение требует последующих доказательств. Корреляционный анализ между значениями индексов α -разнообразия и уровнями инсулина и С-пептида представлен в Таблице 21.

Таблица 21. Корреляционный анализ между значениями индексов α -разнообразия и уровнями С-пептида и инсулина натощак и после стандартного завтрака

Общая группа	С-пептид	Инсулин (0 мин)	Инсулин (120 мин)
Индекс Шеннона	-0,246494	$p>0,05$	$p>0,05$
Индекс Чао	-0,264475	$p>0,05$	$p>0,05$

Примечание: выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне $p<0,05$. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p>0,05$.

Корреляционный анализ между значениями метаболических путей синтеза бутирата и пропионата и уровнями инсулина и С-пептида показал слабую обратную корреляционную связь

между путями Acetyl-CoA (бутират), акрилатным путем (пропионат) и уровнем С-пептида: $r = -0,212$, $p < 0,05$ и $r = -0,242$, $p < 0,05$, соответственно. Также была выявлена обратная корреляционная связь между Acetyl-CoA (бутират) и акрилатным путем (пропионат) и уровнем инсулина в точке 120 мин.: $r = -0,347$, $p < 0,05$ и $r = -0,309$, $p < 0,05$, соответственно. Таким образом, при увеличении относительного значения основного пути синтеза бутирата (Acetyl-CoA) и одного из путей синтеза пропионата (акрилатного пути) происходит снижение секреции постпрандиального инсулина, вероятно, из-за имеющейся β -клеточной дисфункции. Таким образом, полученные нами результаты подтверждают предположение о том, что увеличение продукции КЦЖК действительно может приводить к прогрессивному снижению β -клеточной функции ПЖЖ.

Корреляционный анализ между значениями метаболических путей синтеза бутирата и пропионата и уровнями С-пептида, инсулина базального и стимулированного представлен в Таблице 22.

Таблица 22. Корреляционный анализ между значениями метаболических путей синтеза бутирата и пропионата и уровнями С-пептида, инсулина базального и стимулированного

Общая группа	С-пептид	Инсулин (0 мин)	Инсулин (120 мин)
Метаболические пути синтеза бутирата			
4-aminobutyrate/ Succinate	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
Acetyl-CoA	$-0,212500$	$p > 0,05$	$-0,347697$
Glutarate	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
Метаболические пути синтеза пропионата			
Succinate a	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
Succinate b	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
acrylate	$-0,242799$	$p > 0,05$	$-0,309110$
propanediol	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Примечание: выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне $p < 0,05$. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p > 0,05$.

Таким образом, поиск влияний КМ на функциональную способность β -клеток ПЖЖ через систему классификации кишечных бактерий на уровне типа (F/V) и рода (ЭТ) не является целесообразным. Более чувствительным маркером оценки функциональной способности β -клеток ПЖЖ являются МК. Так, по данным нашего исследования, МК-2 ассоциирован с дисфункцией, а МК-3 с улучшением функциональной способности β -клеток ПЖЖ. Более того, стоит предположить, что избыточное образование в просвете кишечника КЦЖК может приводить к дисфункции β -клеток ПЖЖ (при высоких значениях α -разнообразия, при высокой представленности метаболических путей синтеза бутирата и пропионата).

3.3.4 Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции α -клеток поджелудочной железы

Функциональная способность α -клеток ПЖЖ в зависимости от состава КМ оценивалась как натощак, так и на фоне стандартного завтрака.

При анализе полученных в ходе исследования данных было выявлено, что в группе пациентов, имеющих значение $F/B \geq 1$ отмечался более высокий уровень глюкагона по сравнению с пациентами, у которых значение F/B составляло менее 1: 0,89 [0,17; 1,55] против 0,43 [0,14; 1], $p=0,03$. На фоне стандартного завтрака каких-либо достоверно значимых изменений показателей глюкагона в зависимости от значения F/B выявлено не было. Тем не менее стоит предположить, что увеличение типа Firmicutes вероятно было ассоциировано с более выраженной гиперглюкагонемией натощак, являющейся признаком дисфункции α -клеток ПЖЖ.

Уровни глюкагона базального и стимулированного в зависимости от значения F/B представлены в Таблице 23 и на Рисунке 13.

Таблица 23. Уровни глюкагона базального и стимулированного в зависимости от значения F/B

Параметр	Значение параметра $F/B \geq 1, (n=55)$	Значение параметра $F/B < 1, (n=30)$	Значение p
Глюкагон (0 мин), нг/мл	0,89 [0,17; 1,55]	0,43 [0,14; 1]	$p=0,038464$
Глюкагон (30 мин), нг/мл	0,57 [0,41; 1,29]	0,47 [0,26; 1,48]	$p>0,05$

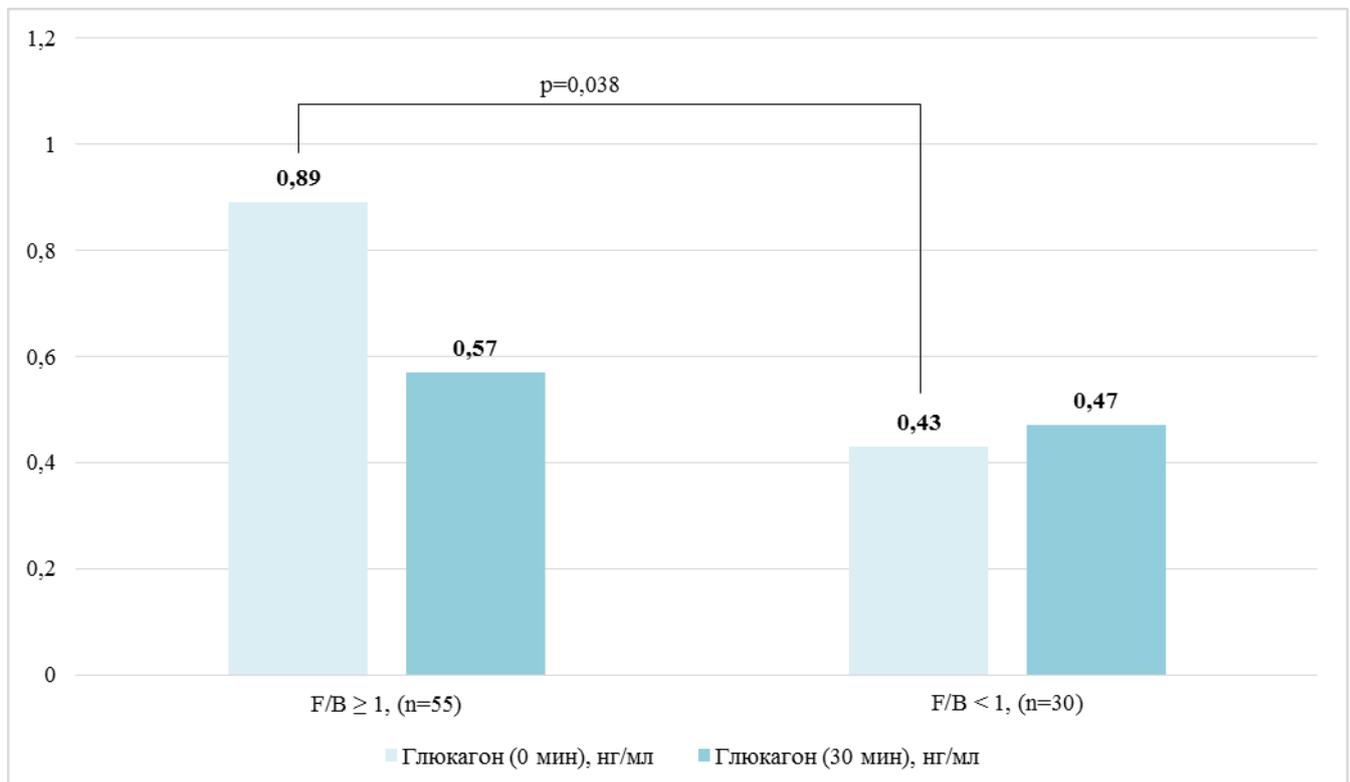


Рисунок 13. Сравнение уровня глюкагона в зависимости от F/B

Достоверно значимых изменений уровней глюкагона натощак и в постпрандиальных точках в зависимости от ЭТ выявлено не было. Тем не менее обращает на себя внимание более высокий уровень глюкагона в ЭТ-1а, представленном преимущественно родами бактерий из типа Firmicutes. Полученные нами данные подтверждают наличие тенденции к развитию гиперглюкагонемии натощак в случае увеличения представленности бактерий из типа Firmicutes. Однако отсутствие достоверных различий между значениями глюкагона в различных ЭТ не дает оснований для использования ЭТ в качестве кишечных биомаркеров развития α -клеточной дисфункции ПЖЖ. Уровни глюкагона базального и стимулированного в зависимости от ЭТ представлены в Таблице 24.

Таблица 24. Уровни глюкагона базального и стимулированного в зависимости от ЭТ

Параметр	Значение параметра ¹ Энтеротип 1а, (n=44)	Значение параметра ² Энтеротип 1б, (n=20)	Значение параметра ³ Энтеротип 2, (n=21)	Значение p
Глюкагон (0 мин), нг/мл	0,87 [0,15; 1,48]	0,51 [0,24; 1,36]	0,66 [0,16; 1,04]	p>0,05
Глюкагон (30 мин), нг/мл	0,52 [0,38; 1,12]	0,49 [0,23; 1,56]	0,58 [0,47; 1,88]	p>0,05

При оценке влияний четырех основных МК на секреторную способность α -клеток ПЖЖ были выявлены более высокие уровни глюкагона натощак в МК-1 и МК-2 по сравнению с МК-3 и МК-4. Существенных различий уровней глюкагона в точке 30 мин. между МК выявлено не было. Полученные нами данные указывают на то, что МК-1 и МК-2, ассоциированные с развитием СД2 ввиду особенностей бактериального состава, действительно имеют более выраженную гиперглюкагонемии натощак по сравнению с МК-3 и МК-4, в состав которых входят бактерии, отрицательно связанные с риском возникновения СД2. Тем не менее стоит отметить, что достоверные различия были получены только между уровня глюкагона натощак в МК-2 и МК-3: 1,33 нг/мл [0,84; 3,57] против 0,39 нг/мл [0,16; 1,04] p=0,04. Таким образом, МК-2 по сравнению с МК-3 ассоциирован с увеличением активности α -клеток ПЖЖ.

Уровни глюкагона базального и стимулированного в зависимости от МК представлены в Таблице 25 и на Рисунке 14.

Таблица 25. Уровни глюкагона базального и стимулированного в зависимости от МК

Параметр	Значение параметра ¹ МК-1, (n=54)	Значение параметра ² МК-2, (n=8)	Значение параметра ³ МК-3, (n=21)	Значение параметра ⁴ МК-4, (n=2)	Значение p
Глюкагон (0 мин), нг/мл	0,76 [0,16; 1,33]	1,33 [0,84; 3,57]	0,39 [0,16; 1,04]	0,28 [0,11; 0,45]	p ₂₃ =0,046570
Глюкагон (30 мин), нг/мл	0,56 [0,36; 1,33]	0,48 [0,37; 0,63]	0,53 [0,39; 1,88]	0,41 [0,2; 0,62]	p>0,05

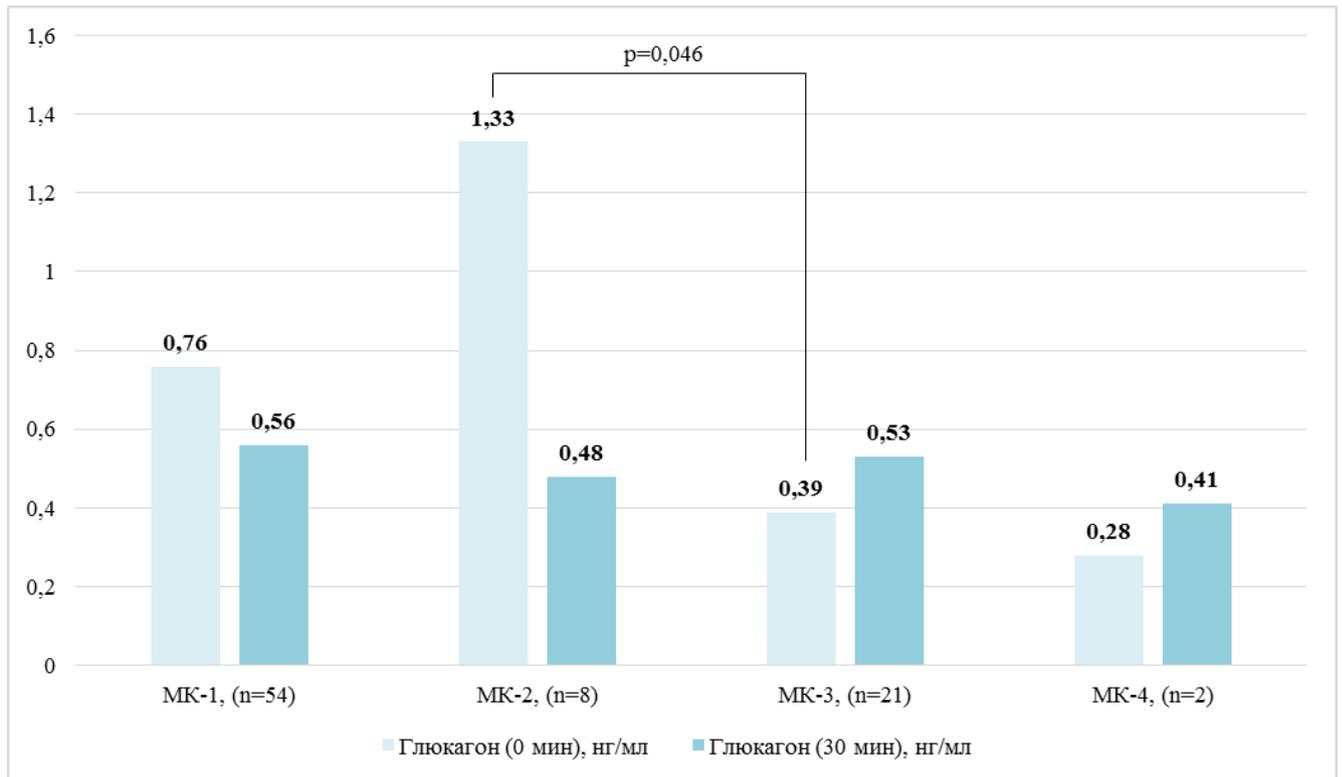


Рисунок 14. Уровни глюкагона базального и стимулированного в зависимости от МК

При проведении корреляционного анализа каких - либо связей между показателями глюкагона натощак и после стандартного завтрака в зависимости от значений индексов α -разнообразия и метаболических путей синтеза КЦЖК выявлено не было. Таким образом, оценка метаболических возможностей КМ на основании определения значений индексов Шеннона и Чао и путей синтеза бутирата и пропионата в настоящее время не могут быть использованы в качестве маркера оценки функциональной способности α -клеток ПЖЖ.

Корреляционный анализ между значениями индексов α -разнообразия, метаболических путей синтеза КЦЖК и уровнями глюкагона натощак и после стандартного завтрака представлен в Таблице 26.

Таблица 26. Корреляционный анализ между значениями индексов α -разнообразия и уровнями глюкагона натощак и после стандартного завтрака

Общая группа	Глюкагон (0 мин)	Глюкагон (30 мин)
α-разнообразие		
Индекс Шенона	p>0,05	p>0,05
Индекс Чао	p>0,05	p>0,05
Метаболические пути синтеза бутирата		
4-aminobutyrate/ Succinate	p>0,05	p>0,05
Acetyl-CoA	p>0,05	p>0,05
Glutarate	p>0,05	p>0,05
Метаболические пути синтеза пропионата		
Succinate a	p>0,05	p>0,05
Succinate b	p>0,05	p>0,05
acrylate	p>0,05	p>0,05
propanediol	p>0,05	p>0,05

Примечание: При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение p>0,05.

На основании полученных данных мы определили, что бактерии их типа Firmicutes (F/B \geq 1) ассоциированы с более выраженной гиперглюкагонемией натощак, являющейся признаком дисфункции α -клеток ПЖЖ. Однако ввиду включения большого количества кишечных бактерий, обладающих различным функциональным потенциалом в тип Firmicutes, мы предполагаем, что использовать значение F/B в качестве биомаркера риска развития α -клеточной дисфункции некорректно. Более того, нецелесообразно применять ЭТ, а также показатели α -разнообразия и метаболические пути синтеза КЦЖК в качестве маркера оценки функционального потенциала α -клеток ПЖЖ. В качестве предсказательного критерия развития дисфункции α -клеток ПЖЖ могут быть использованы МК. Так, по данным нашего исследования, МК-2 характеризовался наличием дисфункции α -клеток ПЖЖ и имел более высокие значения глюкагона натощак.

3.3.5 Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции L-клеток кишечника

Функциональная способность L-клеток кишечника в зависимости от состава КМ оценивалась по уровню ГПП-1 как натощак, так и на фоне стандартного завтрака. В связи с тем, что к основным эффектам ГПП-1 относят снижение секреции глюкагона и активацию секреции инсулина, также были оценены влияния ГПП-1 на уровень глюкагона в точке 30 мин. и уровень инсулина в точке 120 мин в зависимости от показателей КМ.

При анализе полученных в ходе исследования данных было выявлено, что уровни ГПП-1 натощак и на фоне стандартного завтрака существенно не отличались в зависимости от значений $F/B \geq 1$ и $F/B < 1$. При этом отмечалась тенденция к более низкой секреторной способности L-клеток кишечника в группе пациентов, имеющих значение $F/B < 1$ по сравнению с пациентами, имеющими $F/B \geq 1$: 0,4 [0,2; 2,08] против 0,82 [0,19; 1,97]. По-видимому, более высокие уровни постпрандиального ГПП-1 среди пациентов, у которых доминантным типом бактерий являются Firmicutes объясняется тем, что среди данного типа бактерий имеется наибольшее количество бутират продуцирующих бактерий. Бутират в свою очередь способен связываться со своими рецепторами на поверхности L-клеток кишечника и активировать секрецию инкретинового гормона. Уровни ГПП-1 натощак и на фоне стандартного завтрака в зависимости от значения F/B представлены в Таблице 27.

Таблица 27. Уровни ГПП-1 натощак и на фоне стандартного завтрака в зависимости от значения F/B

Параметр	Значение параметра $F/B \geq 1$, (n=55)	Значение параметра $F/B < 1$, (n=30)	Значение p
ГПП-1 (0 мин), нг/мл	0,01 [0,01; 0,01]	0,01 [0,01; 0,02]	p>0,05
ГПП-1 (30 мин), нг/мл	0,82 [0,19; 1,97]	0,4 [0,2; 2,08]	p>0,05

Значимых изменений уровней ГПП-1 натощак в зависимости от ЭТ выявлено не было. Тем не менее на фоне стандартного завтрака отмечались достоверные различия в значении ГПП-1 между ЭТ. Так ЭТ-2 характеризовался самым высоким уровнем ГПП-1 в точке 30мин., а ЭТ-1б – самым низким уровнем ГПП-1 в точке 30 мин.: ЭТ-1а – ГПП-1 (30 мин.) = 0,62 нг/мл [0,19; 1,77], ЭТ-1б – ГПП-1 (30 мин.) = 0,4 нг/мл [0,2; 1,6], ЭТ-2 – ГПП-1 (30 мин.) = 1,97 нг/мл [0,44; 3,27], p=0,01 при сравнения трех величин. Таким образом, стоит предположить, что ЭТ оказывают влияние исключительно на функциональную способность L-клеток кишечника. При этом ЭТ-1б, ассоциированный с самым скудным бактериальным разнообразием и высокой представленностью рода *Blautia*, связанного с возникновением СД2, характеризовался наибольшей L-клеточной дисфункцией. Напротив, ЭТ-2, представленный бактериями, снижающими риск возникновения СД2, имел наибольший уровень ГПП-1 и, вероятно, сохранил функциональный потенциал L-клеток кишечника. Уровни ГПП-1 натощак и на фоне стандартного завтрака, а также уровни глюкагона и инсулина на фоне стандартного завтрака в зависимости от ЭТ представлены в Таблице 28 и на Рисунке 15.

Таблица 28. Уровни ГПП-1 натощак и на фоне стандартного завтрака, а также уровни глюкагона и инсулина на фоне стандартного завтрака в зависимости от ЭТ

Параметр	Значение параметра ¹ Энтеротип 1а, (n=44)	Значение параметра ² Энтеротип 1б, (n=20)	Значение параметра ³ Энтеротип 2, (n=21)	Значение p
ГПП-1 (0 мин), нг/мл	0,01 [0,01; 0,01]	0,01 [0,01; 0,02]	0,01 [0,01; 0,02]	p < 0,05
ГПП-1 (30 мин), нг/мл	0,62 [0,19; 1,77]	0,4 [0,2; 1,6]	1,97 [0,44; 3,27]	p=0,0187 p ₁₃ =0,010995 p ₂₃ =0,011628
Глюкагон (30 мин), нг/мл	0,52 [0,38; 1,12]	0,49 [0,23; 1,56]	0,58 [0,47; 1,88]	p > 0,05
Инсулин (120 мин), мкМЕ/мл	17,95 [10,65; 31,15]	22,69±3 (95% ДИ 16,4 - 28,98)	21,6 [15,2; 36]	p > 0,05

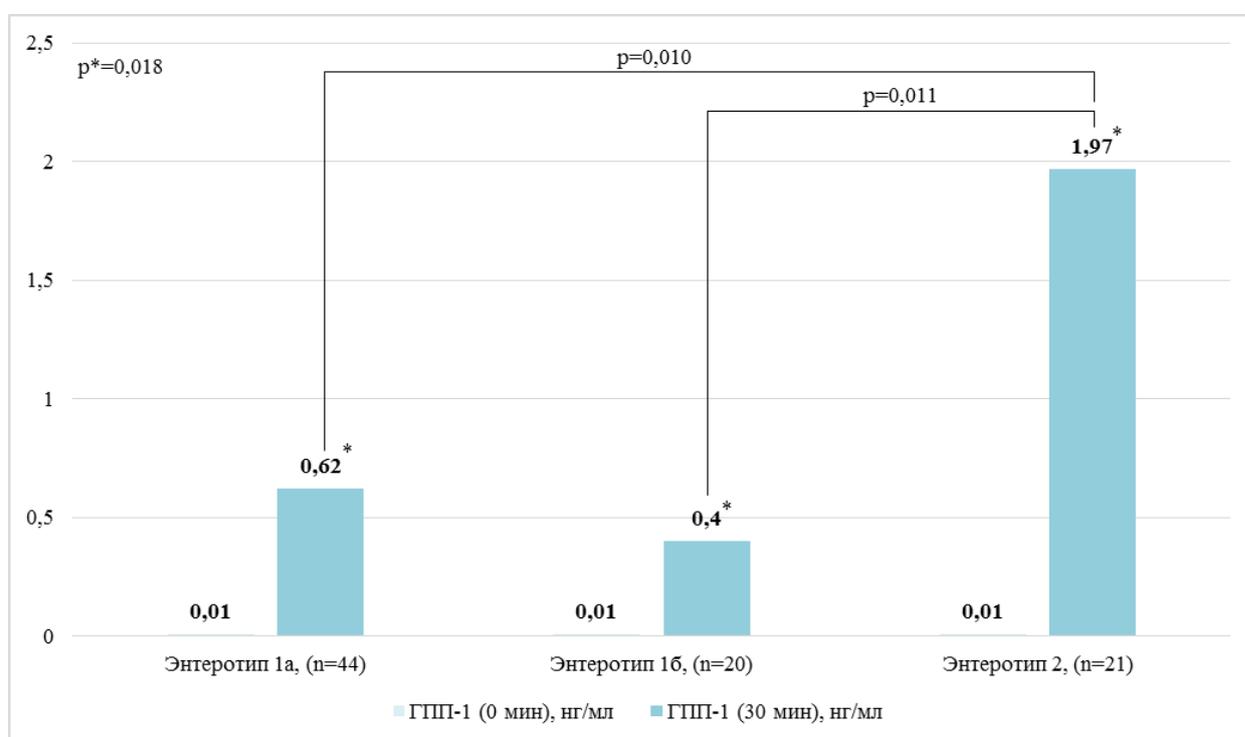


Рисунок 15. Сравнение уровня ГПП-1 натощак и в точке 120 мин. в зависимости от ЭТ

При оценке влияния четырех основных МК на секреторную способность L-клеток кишечника, было выявлено, что достоверных различий в уровне ГПП-1 натощак между МК выявлено не было. На фоне стандартного завтрака было установлено, что МК-2 и МК-3 по сравнению с МК-1 и МК-4 были ассоциированы с более высокими значениями ГПП-1. Это говорит о том, что МК-2 и МК-3 характеризовались сохранной секрецией ГПП-1 L-клетками кишечника. Однако важно отметить, что в МК-2 высокому значению уровня ГПП-1 в точке 30 мин. соответствовал минимальный уровень инсулина в точке 120 мин., что может объясняться нарушением эффектов ГПП-1 на секреторную активность β -клеток ПЖЖ. Напротив, в МК-3 высокий уровень ГПП-1 в точке 30 мин. соответствовал высокому уровню инсулина в точке 120

мин. Более того, по данным корреляционного анализа была выявлена прямая связь между МК-3 и уровнем ГПП-1 в точке 30 мин ($r=0,215$, $p<0,05$), а также прямая связь между МК-3 и уровнем инсулина в точке 120 мин. ($r=0,233$, $p<0,05$). Полученные результаты указывают на сохранную функцию L-клеток кишечника и сохраненный инкретиновый эффект в МК-3 и на нарушение инкретинового эффекта на фоне отсутствия L-клеточной гипofункции в МК-2.

По сравнению с МК-3, в МК-1 отмечался достоверно более низкий уровень ГПП-1 в точке 30 мин: 1,95 нг/мл [0,34; 3,27] против 0,59 нг/мл [0,2; 1,82], $p=0,03$. При этом в МК-1 отмечался высокий уровень постпрандиального инсулина. Таким образом, для МК-1 характерно снижение секреторной способности L-клеток кишечника на фоне сохранного инкретинового эффекта.

В МК-4 уровень ГПП-1 в точке 30 мин. составлял 0,15 нг/мл [0,09; 0,2]. Тем не менее, такому значению ГПП-1 соответствовали самые низкие показатели уровня глюкагона в точке 30 мин. по сравнению с другими МК и высокий уровень инсулина в точке 120 мин. Следовательно, стоит предположить, что в МК-4 даже незначительное увеличение секреции ГПП-1 на фоне стандартного завтрака приводило к снижению уровня глюкагона и увеличению уровня инсулина, что по-видимому исключает наличие нарушений инкретинового эффекта в данном МК.

Уровни ГПП-1 натощак и уровни инсулина, глюкагона и ГПП-1 на фоне стандартного завтрака в зависимости от МК представлены в Таблице 29 и на Рисунке 16.

Таблица 29. Уровни ГПП-1 натощак и уровни инсулина, глюкагона и ГПП-1 на фоне стандартного завтрака в зависимости от МК

Параметр	Значение параметра ¹ МК-1, (n=54)	Значение параметра ² МК-2, (n=8)	Значение параметра ³ МК-3, (n=21)	Значение параметра ⁴ МК-4, (n=2)	Значение p
ГПП-1 (0 мин), нг/мл	0,01 [0,01; 0,01]	0,01 [0,01; 0,02]	0,01 [0,01; 0,02]	0,02 [0,01; 0,03]	$p>0,05$
ГПП-1 (30 мин), нг/мл	0,59 [0,2; 1,82]	1,1±0,28 (95% ДИ 0,43 - 1,76)	1,95 [0,34; 3,27]	0,15 [0,09; 0,2]	$p_{13}=0,038505$ $p_{34}=0,031620$
Инсулин (120 мин), мкМЕ/мл	22,84±2,13 (95% ДИ 18,57 - 27,1)	10,1 [9,4; 14,05]	30,19±3,91 (95% ДИ 22,02 - 38,35)	26,82 [7,64; 46]	$p=0,0146$ $p_{23}=0,004932$
Глюкагон (30 мин), нг/мл	0,56 [0,36; 1,33]	0,48 [0,37; 0,63]	0,53 [0,39; 1,88]	0,41 [0,2; 0,62]	$p>0,05$

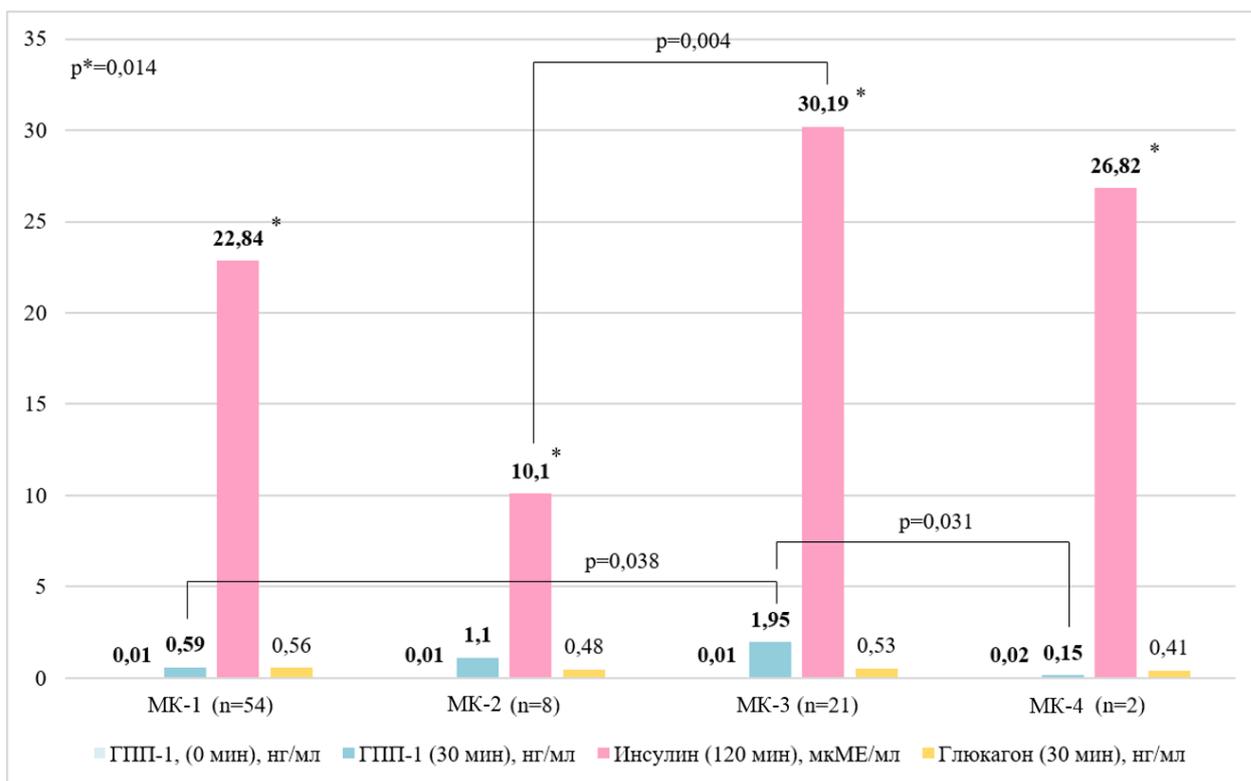


Рисунок 16. Уровни ГПП-1 натощак и уровни инсулина, глюкагона и ГПП-1 на фоне стандартного завтрака в зависимости от МК

Корреляционный анализ между уровнями инсулина, глюкагона, ГПП-1 и МК представлен в Таблице 30.

Таблица 30. Корреляционный анализ между уровнями инсулина, глюкагона, ГПП-1 и МК

Общая группа	Инсулин (120 мин)	Глюкагон (30 мин)	ГПП-1 (0 мин)	ГПП-1 (30 мин)
МК-1	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
МК-2	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
МК-3	0,233042	p>0,05	p>0,05	0,215186
МК-4	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Примечание: выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне $p < 0,05$. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p > 0,05$.

При проведении корреляционного анализа каких - либо связей между показателями ГПП-1 натощак и после стандартного завтрака в зависимости от значений индексов α -разнообразия и метаболическими путями синтеза ГПП-1 выявлено не было. Следовательно, показатели функционального потенциала МК не могут быть использованы в качестве маркеров дисфункции L-клеток кишечника. Корреляционный анализ между значениями индексов α -разнообразия/метаболическими путями синтеза КЦЖК и уровнями ГПП-1 натощак и после стандартного завтрака представлен в Таблице 31.

Таблица 31. Корреляционный анализ между значениями индексов α -разнообразия и уровнями ГПП-1 натощак и после стандартного завтрака

Общая группа	ГПП-1 (0 мин)	ГПП-1 (30 мин)
α-разнообразии		
Индекс Шенона	p>0,05	p>0,05
Индекс Чао	p>0,05	p>0,05
Метаболические пути синтеза бутирата		
4-aminobutyrate/ Succinate	p>0,05	p>0,05
Acetyl-CoA	p>0,05	p>0,05
Glutarate	p>0,05	p>0,05
Метаболические пути синтеза пропионата		
Succinate a	p>0,05	p>0,05
Succinate b	p>0,05	p>0,05
acrylate	p>0,05	p>0,05
propanediol	p>0,05	p>0,05

Примечание: При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение p>0,05.

Итак, F/V не влияли на функцию ЭЭК кишечника и синтез инкретиновых гормонов. Показатели функционального потенциала КМ (α -разнообразии и метаболические пути синтеза КЦЖК) также не оказывали эффектов на функцию L-клеток кишечника. Сохранная функциональная активность L-клеток кишечника отмечалась в ЭТ-2, в котором доминирующим родом бактерий являются *Prevotella*, отрицательно связанные с риском развития СД2. Напротив, дисфункция L-клеток была характерна для ЭТ-1б, обладающего скудным микробным разнообразием и высокой численностью рода *Blautia*.

Кроме того, чувствительным маркером оценки функциональной способности L-клеток кишечника являлись МК. По данным нашего исследования МК-3 и МК-4 характеризовались сохранной функциональной активностью L-клеток кишечника. Стоит отметить, что данные МК представлены бактериями, отрицательно связанными с развитием СД2.

Также в нашем исследовании было выявлено, что МК-1 был связан со снижением секреции ГПП-1, но с сохранными эффектами данного гормона по отношению к β -клеткам ПЖЖ. Важно, что бактериальный состав МК-1 ассоциирован не только с риском развития СД2, но и с развитием ожирения и атеросклеротических ССЗ, шанс развития которых резко увеличивается при снижении секреции инкретиновых гормонов.

МК-2 обладал сохранной секрецией ГПП-1, однако данный гормон не осуществлял своих эффектов на уровне β -клеток ПЖЖ. Эти данные подтверждают полученные нами результаты по преимущественной ассоциации МК-2 с β -клеточной дисфункцией ПЖЖ.

Таким образом, в качестве прогностических критериев развития дисфункции L-клеток кишечника могут выступать ЭТ и МК.

3.4. Влияние кишечной микробиоты на клинические характеристики пациентов с впервые выявленным СД2

С целью определения влияний КМ на клинические характеристики пациентов с впервые выявленным СД2, мы оценили взаимосвязь основных микробиотических характеристик с антропометрическими показателями, а также с показателями углеводного и липидного обменов.

3.4.1 Влияние кишечной микробиоты на антропометрические характеристики пациентов с впервые выявленным СД2

Определение влияний состава КМ на динамику массы тела и ОТ позволило бы определить роль кишечных бактерий в развитии ожирения, в том числе, абдоминального. В свою очередь ожирение, а также ОТ более 94 см у мужчин и более 88 см у женщин являются ведущими факторами риска возникновения СД2 [164]. Таким образом, в нашем исследовании мы оценили характер изменений основных антропометрических показателей (ИМТ, ОТ и ОБ) в зависимости от характеристик КМ (F/V, ЭТ, МК, индексы α -разнообразия и метаболические пути синтеза бутирата и пропионата) с целью определения влияний КМ на развитие ожирения, являющегося одной из ведущих причин возникновения СД2.

При оценке роли F/V на значения ИМТ, ОТ, ОБ и ОТ/ОБ было выявлено, что доминирование типа *Bacteroidetes* ($F/V < 1$) ассоциировано с более высокими показателями ИМТ, ОТ и ОТ/ОБ. Так при $F/V < 1$ ИМТ составлял $33,25 \text{ кг/м}^2$ [30,12; 37,2], а при $F/V \geq 1$ - $30,8 \pm 0,71 \text{ кг/м}^2$ (95% ДИ 29,37 - 32,22), $p=0,014$. При $F/V < 1$ ОТ равнялась 112 см [105; 121], при $F/V \geq 1$ - $105,24 \pm 1,53$ см (95% ДИ 102,19 - 108,29), $p=0,004$. Аналогичным образом по данным корреляционного анализа была выявлена слабая обратная связь между F/V и показателями ИМТ и ОТ: $r = -0,203$, $p < 0,05$ и $r = -0,295$, $p < 0,05$, соответственно. Каких-либо достоверных различий в показателе ОБ между группами пациентов выявлено не было. Тем не менее было определено, что ОТ/ОБ достоверно выше среди пациентов, имеющих $F/V < 1$: $0,97 \pm 0,01$ (95% ДИ 0,95 - 0,99) – при $F/V \geq 1$ против $1,02 \pm 0,01$ (95% ДИ 0,99 - 1,04) – при $F/V < 1$, $p=0,003$. Полученные результаты

могут указывать на то, что доминирование типа Bacteroidetes вероятно было связано с более высоким риском развития абдоминального ожирения.

Важно отметить, что среди пациентов, имеющих $F/B < 1$ по сравнению с пациентами, у которых F/B составлял ≥ 1 отмечался более высокий процент лиц с ожирением: 75,76% против 53,97%, $p=0,037$, что также доказывает влияние Bacteroidetes на развитие ожирения у пациентов с СД2 и согласуется с ранее опубликованным немецким исследованием Schwartz и соавт., в котором развитие ожирения также было связано с увеличением типа Bacteroidetes и снижением типа Firmicutes [184]. Однако в большинстве опубликованных данных именно тип Firmicutes ассоциирован с риском развития ожирения [185, 186, 187]. Важно отметить, что результаты нашего исследования не исключают роль Firmicutes в развитии ожирения, так как в группе пациентов, имеющих $F/B \geq 1$ процент пациентов, с ИМТ < 30 кг/м² и ИМТ ≥ 30 кг/м² был сопоставим: 46,03% против 53,97%.

Таким образом, полученные нами данные указывают на преимущественную роль типа Bacteroidetes в возникновении ожирения у пациентов с СД2, проживающих в г. Москве. Однако имеющиеся в литературе дискордантные данные касательно F/B и риска развития ожирения, а также полученные нами результаты, не исключают связь типа Firmicutes с возникновением ожирения, не позволяют в настоящее время использовать F/B в качестве маркера риска развития данного состояния. Значения основных антропометрических показателей в зависимости от значения F/B представлены в Таблице 32 и на Рисунке 17.

Таблица 32. Значения основных антропометрических показателей в зависимости от значения F/B

Параметр	Значение параметра $F/B \geq 1$, (n=63)	Значение параметра $F/B < 1$, (n=33)	Значение p
ИМТ, кг/м ²	30,8±0,71 (95% ДИ 29,37 - 32,22)	33,25 [30,12; 37,2]	p=0,014885
ИМТ < 30 кг/м ²	46,03% (29 из 63)	24,24% (8 из 33)	p=0,037212
ИМТ ≥ 30 кг/м ²	53,97% (34 из 63)	75,76% (25 из 33)	
ОТ, см	105,24±1,53 (95% ДИ 102,19 - 108,29)	112 [105; 121]	p=0,004157
ОБ, см	108,84±1,5 (95% ДИ 105,84 - 111,85)	110,97±1,48 (95% ДИ 107,95 - 113,99)	p>0,05
ОТ/ОБ	0,97±0,01 (95% ДИ 0,95 - 0,99)	1,02±0,01 (95% ДИ 0,99 - 1,04)	p=0,003535

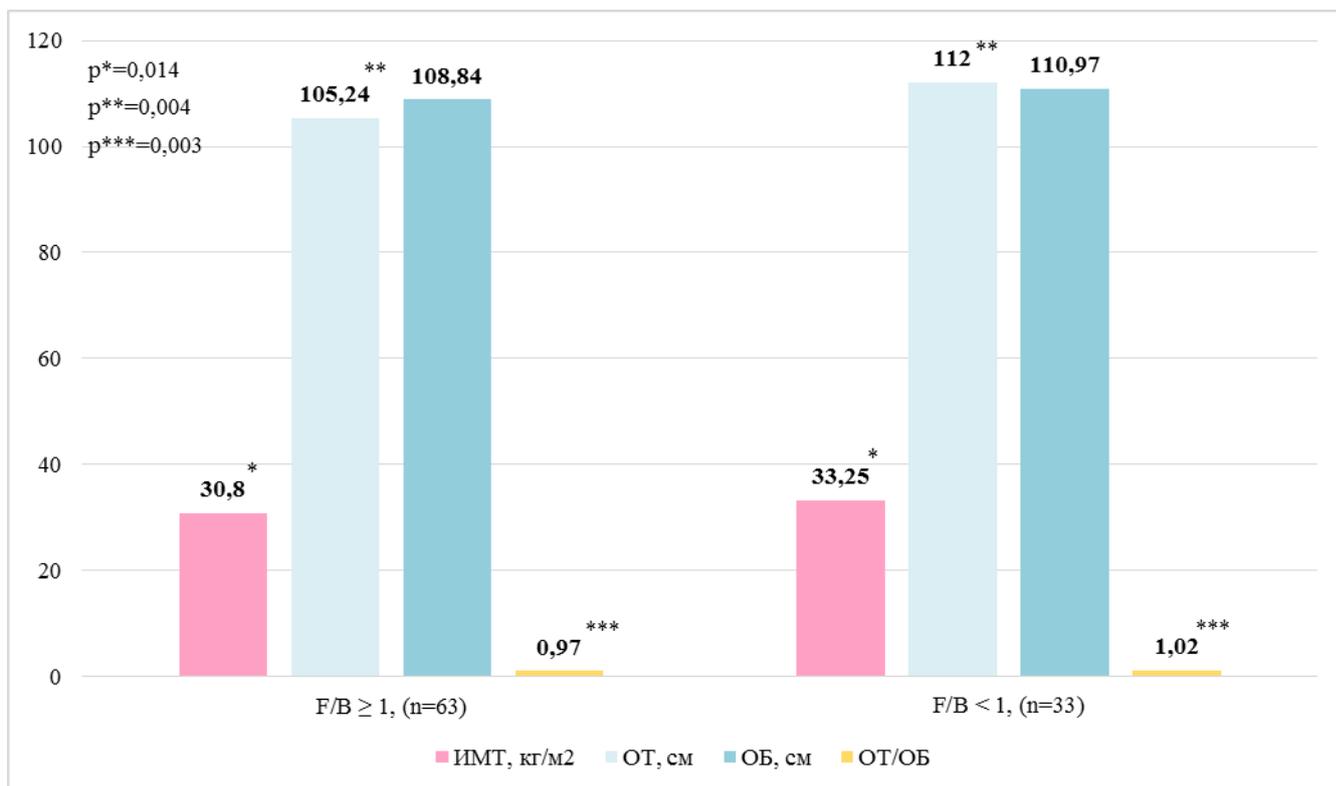


Рисунок 17. Значения основных антропометрических показателей в зависимости от F/B

Достоверных различий в показателях ИМТ, ОТ, ОБ, ОТ/ОБ в зависимости от ЭТ выявлено не было. Это говорит о том, что ЭТ не оказывали существенного влияния на динамику массы тела и характер перераспределения жировой ткани у пациентов с впервые выявленным СД2. Значения основных антропометрических показателей в зависимости от ЭТ представлены в Таблице 33.

Таблица 33. Значения основных антропометрических показателей в зависимости от ЭТ.

Параметр	Значение параметра ¹ Энтеротип 1а, (n=48)	Значение параметра ² Энтеротип 1б, (n=26)	Значение параметра ³ Энтеротип 2, (n=23)	Значение p
ИМТ, кг/м ²	30,72±0,69 (95% ДИ 29,33 - 32,1)	31,83 [27,78; 39,19]	32,6±1,21 (95% ДИ 30,1 - 35,1)	p>0,05
ОТ, см	104,79±1,64 (95% ДИ 101,49 - 108,09)	111 [99; 121]	110,22±2,27 (95% ДИ 105,5 - 114,93)	p>0,05
ОБ, см	108,31±1,31 (95% ДИ 105,67 - 110,95)	110±2,37 (95% ДИ 105,12 - 114,88)	111,78±2,64 (95% ДИ 106,31 - 117,26)	p>0,05
ОТ/ОБ	0,97±0,01 (95% ДИ 0,95 - 0,99)	1,01±0,02 (95% ДИ 0,98 - 1,05)	0,99±0,01 (95% ДИ 0,96 - 1,02)	p>0,05

При сравнении антропометрических показателей между основными четырьмя МК обращает на себя внимание более высокий ИМТ в МК-1 по сравнению с МК-2: 32,05±0,67 кг/м² (95% ДИ 30,72 - 33,39) против 27,38±1,56 (95% ДИ 23,78 - 30,98), p=0,022. Важно отметить, что МК-1 характеризуется высокой представленностью родов *Bacteroides* и *Blautia*, ассоциированных

не только с развитием СД2, но и с ожирением. Следовательно, бактериальный состав может частично объяснять причину более высокого ИМТ в МК-1.

В отличие от МК-1, МК-2 характеризовался наименьшим ИМТ, соответствующим значению избыточной массы тела: $27,38 \pm 1,56$ кг/м² (95% ДИ 23,78 - 30,98). При проведении корреляционного анализа была выявлена слабая обратная зависимость между МК-2 и ИМТ: $r = -0,259$, $p < 0,05$. Достоверных различий между значениями ОТ, ОБ и ОТ/ОБ в зависимости от МК выявлено не было. Тем не менее в МК-2 и МК-4 по сравнению с МК-1 и МК-3 отмечалась тенденция к более низким значениям ОТ и ОБ. Вероятно, более низкие антропометрические показатели в МК-2 и МК-4 объясняются тем, что МК-2 помимо бактерий, ассоциированных с повышенным риском развития СД2 представлен родом *Christensenella*, связанным с нормальным ИМТ. В отличие от МК-2, МК-4 представлен преимущественно бутират-продуцирующими бактериями, что может определять данный МК как наиболее благоприятный в отношении развития ожирения и СД2.

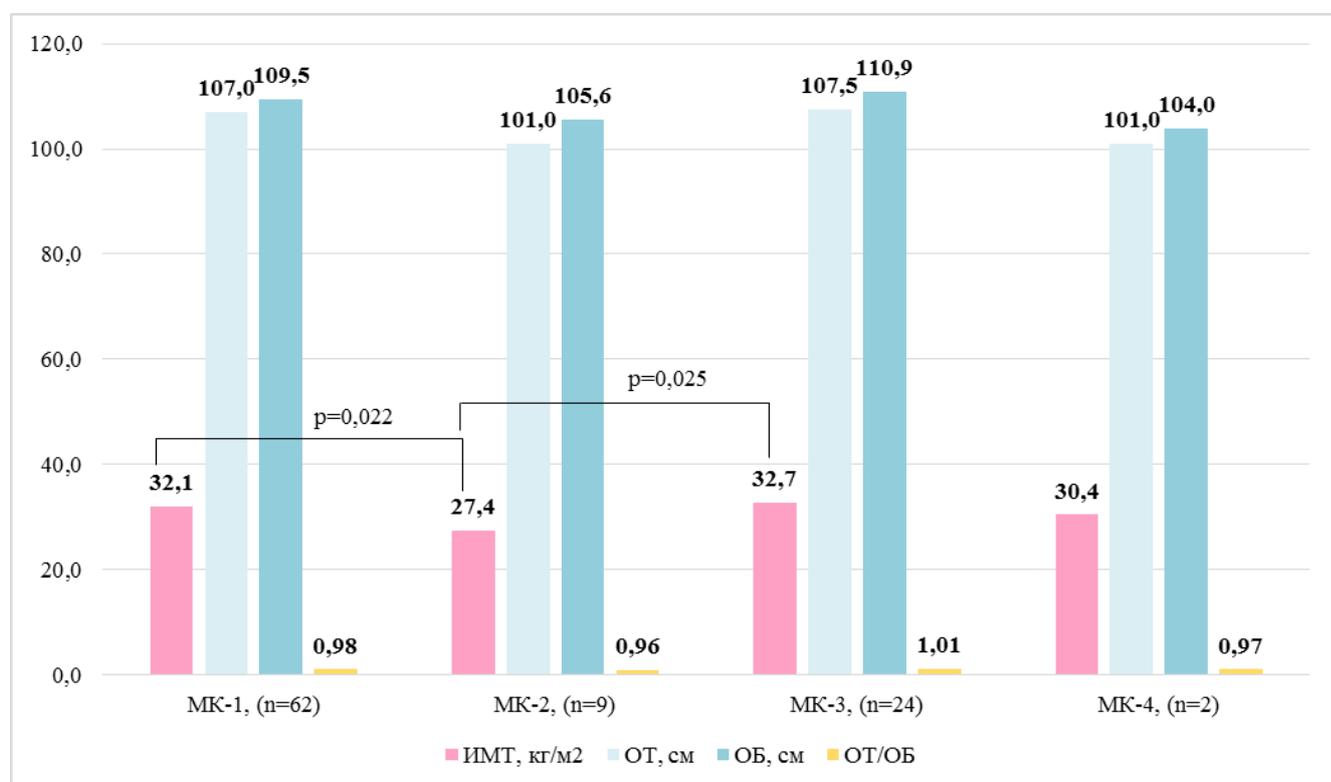
МК-3, как и МК-1, был ассоциирован с высоким ИМТ, равным $32,68$ кг/м² [27,72; 36,05], а также более высокими показателями ОТ, ОБ и ОТ/ОБ по сравнению с другими МК (достоверность не подтверждена). Однако бактериальный состав данного МК не характеризовался наличием бактерий, положительно связанных с развитием ожирения. Более того, МК-3 был широко представлен родом *Sutterella* положительно ассоциированным с увеличением ЛПВП в крови. Также стоит отметить, что данный МК состоял как из бактерий, увеличивающих риск развития СД2 (*Alloprevotella*), так и из бактерий, снижающих риск возникновения данного заболевания (*Prevotella*, *Megamonas* и *Sutterella*), следовательно, стоит предположить, что данный МК, по-видимому ассоциирован с развитием ожирения, но не СД2.

Таким образом, наиболее значимыми маркерами риска развития ожирения по данным нашего исследования являлись МК-1, МК-2 и МК-3. При этом МК-1 и МК-3 были связаны с развитием ожирения, а МК-2 - со снижением риска развития данного патологического состояния.

Значения основных антропометрических показателей в зависимости от МК представлены в Таблице 34 и на Рисунке 18.

Таблица 34. Значения основных антропометрических показателей в зависимости от МК.

Параметр	Значение параметра ¹ МК-1, (n=62)	Значение параметра ² МК-2, (n=9)	Значение параметра ³ МК-3, (n=24)	Значение параметра ⁴ МК-4, (n=2)	Значение p
ИМТ, кг/м ²	32,05±0,67 (95% ДИ 30,72 - 33,39)	27,38±1,56 (95% ДИ 23,78 - 30,98)	32,68 [27,72; 36,05]	30,41 [25,83; 35]	p ₁₂ =0,022897 p ₂₃ =0,025639
ОТ, см	107 [98; 115]	101±3,49 (95% ДИ 92,95 - 109,05)	107,5 [103,5; 119,5]	101 [98; 104]	p>0,05
ОБ, см	109,48±1,31 (95% ДИ 106,85 - 112,1)	105,56±2,2 (95% ДИ 100,48 - 110,63)	110,92±2,61 (95% ДИ 105,52 - 116,32)	104 [97; 111]	p>0,05
ОТ/ОБ	0,98±0,01 (95% ДИ 0,96 - 1)	0,96±0,02 (95% ДИ 0,9 - 1,01)	1,01±0,01 (95% ДИ 0,98 - 1,04)	0,97 [0,94; 1,01]	p>0,05

**Рисунок 18.** Значения основных антропометрических показателей в зависимости от МК

По данным корреляционного анализа оценивалась связь между показателями α -разнообразия и ИМТ, ОТ, ОБ, ОТ/ОБ а также связь между значениями метаболических путей синтеза бутирата и пропионата и ИМТ, ОТ, ОБ, ОТ/ОБ. Как индекс Шеннона, так и индекс Чао имели слабую обратную корреляционную связь с ИМТ и ОТ. Более того, индекс Шеннона имел обратную зависимость с ОТ/ОБ. Корреляций между большинством показателей метаболических путей синтеза бутирата и пропионата с антропометрическими характеристиками выявлено не было. Тем не менее отмечалась слабая обратная зависимость между 4-аминобутират-сукцинатным путем синтеза бутирата и ИМТ. Наличие отрицательной корреляционной связи между индексами α -разнообразия, метаболическим путем синтеза бутирата и

антропометрическими показателями может объясняться тем, что по мере увеличения вышеописанных характеристик КМ, возрастает продукция КЦЖК, которые, с одной стороны стимулируют секрецию ГПП-1, а, с другой стороны, непосредственно участвуют в регуляции центрального аппетита. Тем не менее, наличие корреляции между представленностью только одного из имеющихся семи метаболических путей синтеза бутирата и пропионата и ИМТ не даёт основания говорить о роли относительных значений метаболических путей в контроле массы тела пациентов. Таким образом, более скудное кишечное разнообразие, но не относительные значения путей синтеза КЦЖК по-видимому могут приводить к повышенному риску развития абдоминального ожирения, являющегося триггером ИР и СД2. Корреляционный анализ между основными характеристиками КМ и показателями ИМТ, ОТ и ОБ представлен в Таблице 35.

Таблица 35. Корреляционный анализ между основными характеристиками КМ и показателями ИМТ, ОТ и ОБ

Общая группа	ИМТ	ОТ	ОБ	ОТ/ОБ
Индекс Шеннона	-0,212000	-0,225300	p>0,05	-0,295100
Индекс Чао	-0,258400	-0,206600	p>0,05	p>0,05
F/B	-0,203114	-0,295519	p>0,05	p>0,05
МК-1	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
МК-2	-0,259543	p>0,05	p>0,05	p>0,05
МК-3	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
МК-4	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
4-aminobutyrate/ Succinate	-0,205700	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Acetyl-CoA	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Glutarate	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Succinate a	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Succinate b	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
acrylate	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
propanediol	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Примечание: выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне $p < 0,05$. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p > 0,05$.

Таким образом, в настоящее время сложно использовать F/B, ЭТ и относительные значения метаболических путей синтеза бутирата и пропионата в качестве предикторов риска развития абдоминального ожирения. Однако мы впервые определили роль МК в развитии ожирения и установили, что МК-1 и МК-3 по сравнению с МК-2 ассоциированы с более высоким ИМТ. Также мы косвенно подтвердили, что на массу тела действительно оказывает влияние концентрация образованных в кишечнике КЦЖК. Так в нашем исследовании была выявлена отрицательная связь между относительными значениями индексов α -разнообразия и антропометрическими показателями (ИМТ, ОТ, ОТ/ОБ).

3.4.2 Влияние кишечной микробиоты на показатели углеводного обмена у пациентов с впервые выявленным СД2

С целью оценки влияний КМ на развитие СД2 проводилось исследование связи основных характеристик КМ (F/B, ЭТ, МК, индексы α -разнообразия и метаболические пути синтеза бутирата и пропионата) с ключевыми показателями углеводного обмена (ГПН и HbA1c), используемыми для подтверждения диагноза СД2 [164].

Высокие уровни ГПН и HbA1c, соответствующие диагнозу СД2, отмечались как в группе пациентов с $F/B \geq 1$, так и в группе с $F/B < 1$. Достоверно значимых изменений показателей углеводного обмена в зависимости от значения F/B выявлено не было. Показатели углеводного обмена также существенно не различались в зависимости от ЭТ. Таким образом, значение F/B и ЭТ не могут предсказывать степень повышения гликемии, а значит, не могут использоваться в качестве маркеров риска развития СД2. Уровни ГПН и HbA1c в зависимости от значения F/B представлены в Таблице 36 и на Рисунке 19. Уровни ГПН и HbA1c в зависимости от ЭТ представлены в Таблице 37 и на Рисунке 20.

Таблица 36. Уровни ГПН и HbA1c в зависимости от значения F/B

Параметр	Значение параметра F/B ≥ 1 , (n=63)	Значение параметра F/B < 1, (n=33)	Значение p
ГПН, ммоль/л	9,35 [7,6; 13,18]	10,52 \pm 0,58 (95% ДИ 9,33 - 11,71)	p>0,05
HbA1c, %	10,9 [7,9; 12,2]	10,45 \pm 0,41 (95% ДИ 9,62 - 11,27)	p>0,05

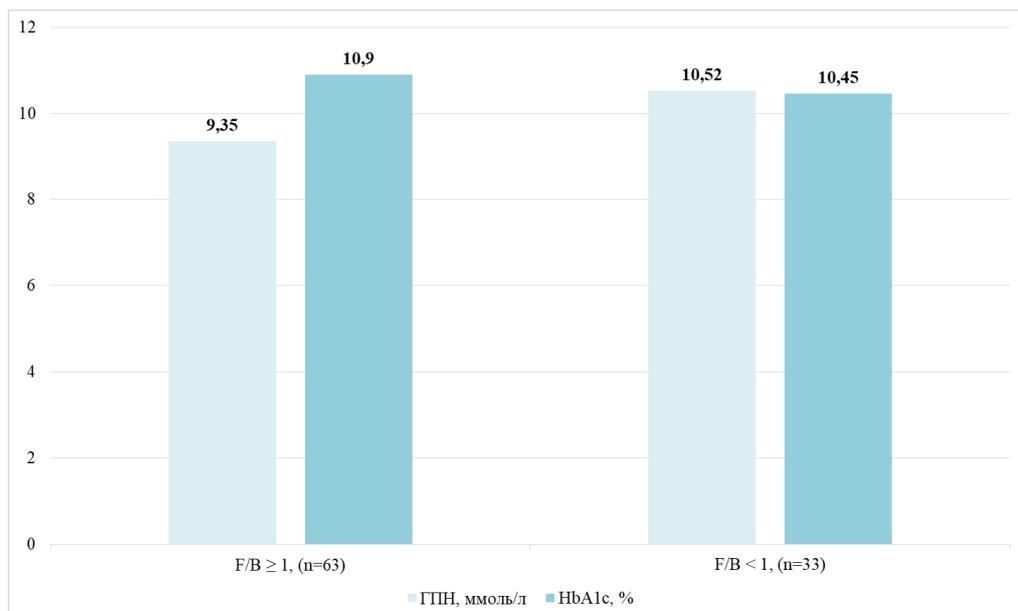
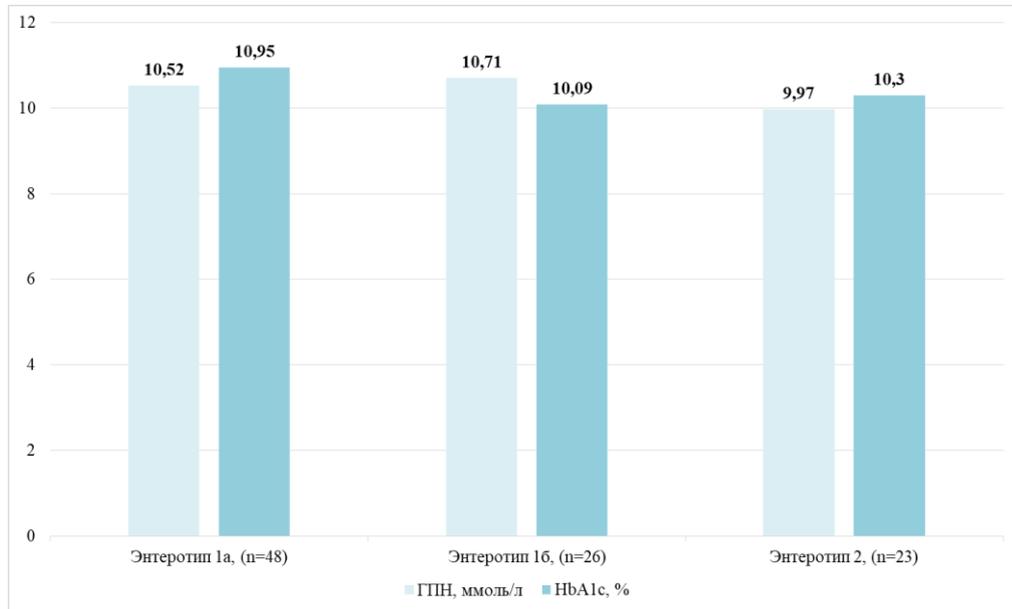


Рисунок 19. Уровни ГПН и HbA1c в зависимости от значения F/B

Таблица 37. Уровни ГПН и HbA1c в зависимости от ЭТ

Параметр	Значение параметра Энтеротип 1а, (n=48)	Значение параметра Энтеротип 1б, (n=26)	Значение параметра Энтеротип 2, (n=23)	Значение р
ГПН, ммоль/л	10,52±0,54 (95% ДИ 9,42 - 11,61)	10,71±0,74 (95% ДИ 9,17 - 12,24)	9,97±0,65 (95% ДИ 8,63 - 11,31)	p>0,05
HbA1c, %	10,95 [8,3; 12,5]	10,09±0,47 (95% ДИ 9,13 - 11,05)	10,3±0,58 (95% ДИ 9,11 - 11,49)	p>0,05

**Рисунок 20.** Уровни ГПН и HbA1c в зависимости от ЭТ

Несмотря на то, что достоверных различий в уровнях ГПН и HbA1c между четырьмя основными МК выявлено не было, обращают на себя внимание более низкие показатели углеводного обмена в МК-3 и МК-4 по сравнению с МК-1 и МК-2. При этом в МК-4 уровень ГПН соответствует пограничному значению, связанному с СД2, а уровень HbA1c соответствует диапазону преддиабетических значений (5,7-6,4%) согласно Американской Диабетической Ассоциации [171]. Стоит отметить, что МК-1 и МК-2 представлены бактериями, положительно ассоциированными с риском развития СД2 в то время, как МК-3 и МК-4 представлены бактериями, отрицательно связанными с возникновением данного заболевания. Вероятно, доминирование МК-3 и МК-4 определяет более мягкое течение СД2 в то время, как наибольшая представленность МК-1 и МК-2 связана с выраженными углеводными нарушениями. Тем не менее при проведении корреляционного анализа каких-либо достоверных связей между МК и показателями ГПН и HbA1c выявлено не было. Это говорит о том, что полученные нами данные не позволяют предсказывать метаболическую активность КМ в отношении углеводного обмена на основании доминантного МК. Однако полученные нами результаты дают основания полагать, что изучение взаимосвязи МК с углеводными показателями – это перспективный путь поиска

маркеров риска развития СД2. Уровни ГПН и HbA1c в зависимости от МК представлены в Таблице 38 и на Рисунке 21.

Таблица 38. Уровни ГПН и HbA1c в зависимости от МК

Параметр	Значение параметра МК-1, (n=62)	Значение параметра МК-2, (n=9)	Значение параметра МК-3, (n=24)	Значение параметра МК-4, (n=2)	Значение P
ГПН, ммоль/л	10,77±0,48 (95% ДИ 9,82 - 11,73)	10,83±1,36 (95% ДИ 7,69 - 13,97)	8,79 [7,49; 11,7]	7,04 [6,47; 7,6]	p>0,05
HbA1c, %	10,62±0,35 (95% ДИ 9,92 - 11,31)	10,68±0,79 (95% ДИ 8,85 - 12,51)	9,88±0,5 (95% ДИ 8,84 - 10,91)	5,8 [5,8; 5,8]	p>0,05

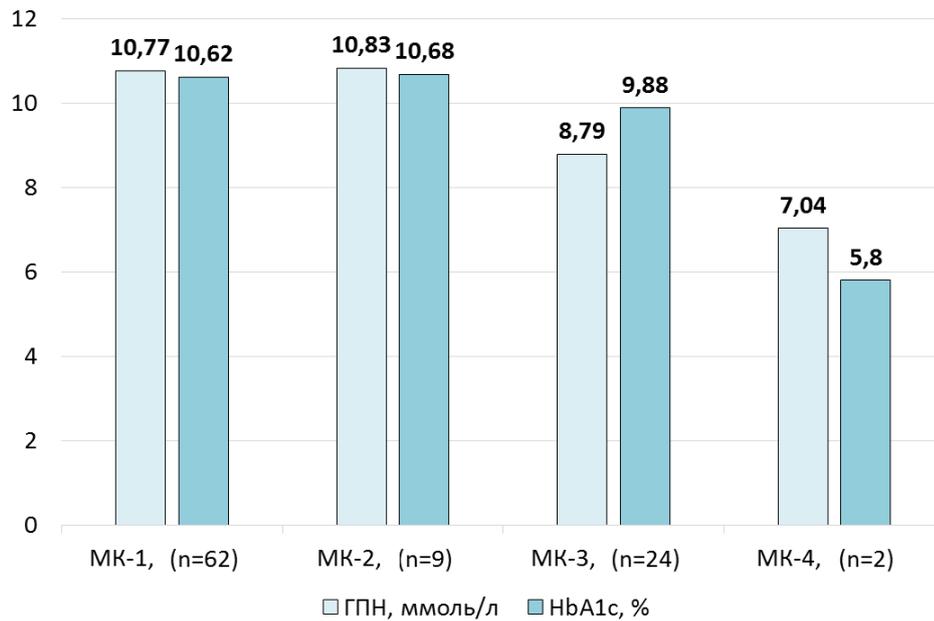


Рисунок 21. Уровни ГПН и HbA1c в зависимости от МК

При оценке взаимосвязи показателей α -разнообразия с уровнями HbA1c и ГПН не было установлено каких-либо корреляций между углеводными показателями и индексами Шеннона и Чао. Следовательно, использование данных характеристик КМ как маркеров развития углеводных нарушений не представляется возможным.

Важно, что из всех характеристик КМ именно метаболические пути синтеза КЦЖК коррелировали с гликемическими показателями. Так в нашем исследовании была выявлена прямая связь между такими метаболическими путями синтеза бутирата как 4-aminobutyrate/Succinate и Acetyl-CoA и уровнями ГПН и HbA1c. Более того прямая корреляция отмечалась между глутаратным путем синтеза бутирата, акрилатным путем синтеза пропионата и уровнем HbA1c. Следовательно, увеличение относительных значений путей продукции, в большей степени, бутирата и, в меньшей степени, пропионата вероятно ассоциировано с риском развития СД2. Таким образом, стоит предположить, что гиперактивация продукции КЦЖК КМ может

приводить к развитию гипергликемии. С другой стороны, резкое снижение продукции КЦЖК, по данным литературы, ассоциировано со снижением выработки инкретиновых гормонов, дисфункцией механизма «кишечник-мозг-периферия», нарушением контроля центральной регуляции аппетита, что также может приводить к возникновению ожирения и углеводных нарушений. Таким образом, мы предполагаем наличие U-образного влияния КЦЖК на развитие гипергликемии и СД2. Корреляционный анализ между основными характеристиками КМ и показателями углеводного обмена представлен в Таблице 39.

Таблица 39. Корреляционный анализ между основными характеристиками КМ и показателями углеводного обмена

Общая группа	ГПН	HbA1c
F/B	p>0,05	p>0,05
МК-1	p>0,05	p>0,05
МК-2	p>0,05	p>0,05
МК-3	p>0,05	p>0,05
МК-4	p>0,05	p>0,05
Показатели α-разнообразия		
Индекс Шеннона	p>0,05	p>0,05
Индекс Чао	p>0,05	p>0,05
Метаболические пути синтеза бутирата		
4-aminobutyrate/ Succinate	0,199981	0,319779
Acetyl-CoA	0,243086	0,321480
Glutarate	p>0,05	0,253017
Метаболические пути синтеза пропионата		
Succinate a	p>0,05	p>0,05
Succinate b	p>0,05	p>0,05
acrylate	p>0,05	0,276395
propanediol	p>0,05	p>0,05

Примечание: выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне $p<0,05$. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p>0,05$.

Полученные нами данные указывают на то, что в настоящее время F/B, ЭТ, МК, относительные значения индексов α -разнообразия не позволяют предсказать характер углеводных нарушений. Единственной характеристикой КМ, способной прогнозировать характер выраженности углеводных нарушений является относительная представленность метаболических путей синтеза бутирата и пропионата. При этом стоит отметить, что достоверных корреляций между путями синтеза КЦЖК и ИМТ, ОТ выявлено не было. Это может являться подтверждением ранее выдвинутого предположения о том, что представленность метаболических путей КЦЖК патогенетически больше связана с дисфункцией β -клеток ПЖЖ, чем с риском развития ИР.

3.4.3 Влияние кишечной микробиоты на показатели липидного обмена у пациентов с впервые выявленным СД2

Дислипидемия – это дисбаланс физиологического соотношения липидов крови. Триггерами развития дислипидемии являются ИР и хроническая гипергликемия. Под действием этих факторов активируется процесс синтеза липидов в печени и нарушается метаболизм жирных кислот на уровне жировой ткани. Дислипидемия является неотъемлемым спутником углеводных нарушений, увеличивающим риск прогрессирования СД2 и развития как макрососудистых, так и микрососудистых осложнений [172, 173]. Изучение влияний КМ на показатели липидного спектра позволило бы определить роль кишечных бактерий в регуляции риска развития и прогрессирования СД2, а также в возникновении осложнений данного заболевания.

При оценке показателей липидного спектра в группах пациентов с $F/V \geq 1$ и $F/V < 1$ было выявлено клинически значимое повышение ОХ, ЛПНП и ТГ соответствующее диагнозу дислипидемии в обеих группах. При этом достоверной разницы между фракциями липидов при $F/V \geq 1$ и $F/V < 1$ выявлено не было. Тем не менее стоит отметить, что среди пациентов с доминированием типа *Bacteroidetes* по сравнению с пациентами, у которых доминирующим типом бактерий являлись *Firmicutes*, отмечался более высокий уровень ТГ, что может указывать на более выраженную липотоксичность, ассоциированную с ИР метаболически активных тканей. Ранее мы определили более высокие показатели ИМТ и ОТ при $F/V < 1$ по сравнению с $F/V \geq 1$. Это говорит о том, что в нашем исследовании пациенты с доминированием типа *Bacteroidetes* по всей видимости действительно имели более высокий риск развития абдоминального ожирения, и, следовательно, ИР и липотоксичности.

Значения показателей липидного спектра в зависимости от F/V представлены в Таблице 40.

Таблица 40. Значения показателей липидного спектра в зависимости от F/V .

Параметр	Значение параметра $F/V \geq 1$, (n=63)	Значение параметра $F/V < 1$, (n=33)	Значение p
ОХ, ммоль/л	6,29±0,2 (95% ДИ 5,88 - 6,69)	6,5 [5,52; 7,2]	p>0,05
ЛПНП, ммоль/л	4,18±0,14 (95% ДИ 3,91 - 4,46)	4,26±0,19 (95% ДИ 3,87 - 4,65)	p>0,05
ТГ, ммоль/л	1,87 [1,25; 2,67]	2,18 [1,53; 4,86]	p>0,05
ЛПВП, ммоль/л	1,1±0,06 (95% ДИ 0,97 - 1,22)	0,96±0,1 (95% ДИ 0,75 - 1,18)	p>0,05

При оценке показателей липидного спектра между ЭТ было определено, что дислипидемия была характерна для всех ЭТ. Тем не менее риск развития атеросклеротических ССЗ был различен между ЭТ. Так, в ЭТ-1б по сравнению с ЭТ-1а отмечался более высокий уровень наиболее атерогенной фракции липидов – ЛПНП: 4,4 ммоль/л [3,8; 4,8] против 3,8±0,2

ммоль/л (95% ДИ 3,38 - 4,21), $p=0,025$. Также в ЭТ-1б был выявлен более высокий уровень ОХ по сравнению со значениями в ЭТ-1а и ЭТ-2, однако достоверность не была подтверждена. Полученные результаты указывают на то, что пациенты с доминированием ЭТ-1б имели более высокий риск развития атеросклеротических ССЗ, в связи с тем, что у них отмечался более высокий уровень ЛПНП по сравнению с другими ЭТ. Важно отметить, что ЭТ-1б характеризуется высоким уровнем рода *Blautia*. Род *Blautia* в свою очередь ассоциирован с развитием как углеводных нарушений, так и ССЗ атеросклеротического генеза.

Несмотря на то, что достоверно значимо уровень ТГ не различался между ЭТ, стоит отметить, что наименьшее значение ТГ отмечалось в ЭТ-2 по сравнению с ЭТ-1а и ЭТ-1б, следовательно, ЭТ-1а и ЭТ-1б имели более выраженную липотоксичность. Учитывая тот факт, что липотоксичность приводит к развитию ИР на уровне метаболически активных тканей, а также к дисфункции β -клеток ПЖЖ, более выраженная липотоксичность в ЭТ-1а и ЭТ-1б увеличивает риск развития СД2 в данных ЭТ [188]. Напротив, менее выраженная липотоксичность в ЭТ-2 определяет ЭТ-2 как наиболее благоприятный с точки зрения развития углеводных нарушений. Значения показателей липидного спектра в зависимости от ЭТ представлены в Таблице 41 и на Рисунке 22.

Таблица 41. Значения показателей липидного спектра в зависимости от ЭТ

Параметр	Значение параметра ¹ Энтеротип 1а, (n=48)	Значение параметра ² Энтеротип 1б, (n=26)	Значение параметра ³ Энтеротип 2, (n=23)	Значение p
ОХ, ммоль/л	5,7 [5,21; 7,4]	6,3 [5,4; 7,14]	6,13±0,27 (95% ДИ 5,57 - 6,68)	$p>0,05$
ЛПНП, ммоль/л	3,8±0,2 (95% ДИ 3,38 - 4,21)	4,4 [3,8; 4,8]	4,18±0,21 (95% ДИ 3,75 - 4,62)	$p_{12}=0,025795$
ТГ, ммоль/л	2,07 [1,55; 4,86]	2,07 [1,38; 3,15]	1,69 [1,4; 3,23]	$p>0,05$
ЛПВП, ммоль/л	1,2±0,11 (95% ДИ 0,96 - 1,44)	1,03±0,07 (95% ДИ 0,88 - 1,18)	0,94±0,11 (95% ДИ 0,72 - 1,16)	$p>0,05$

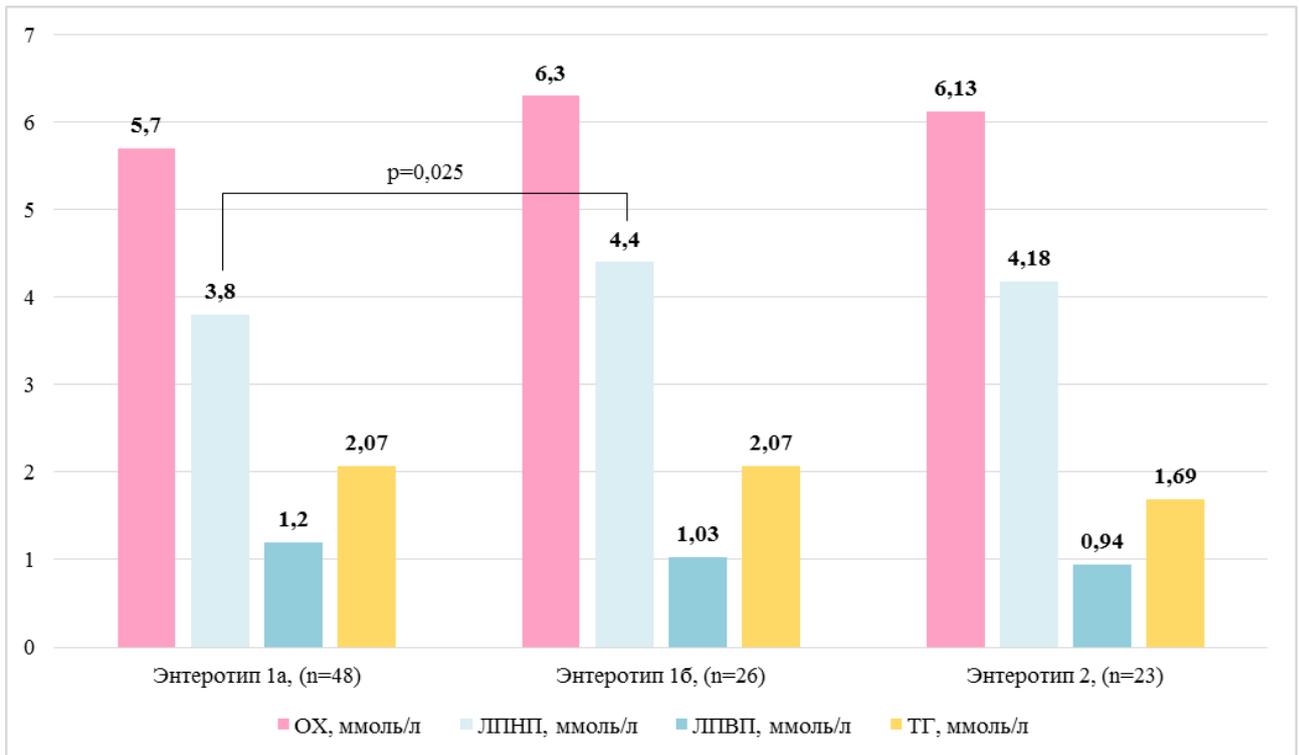


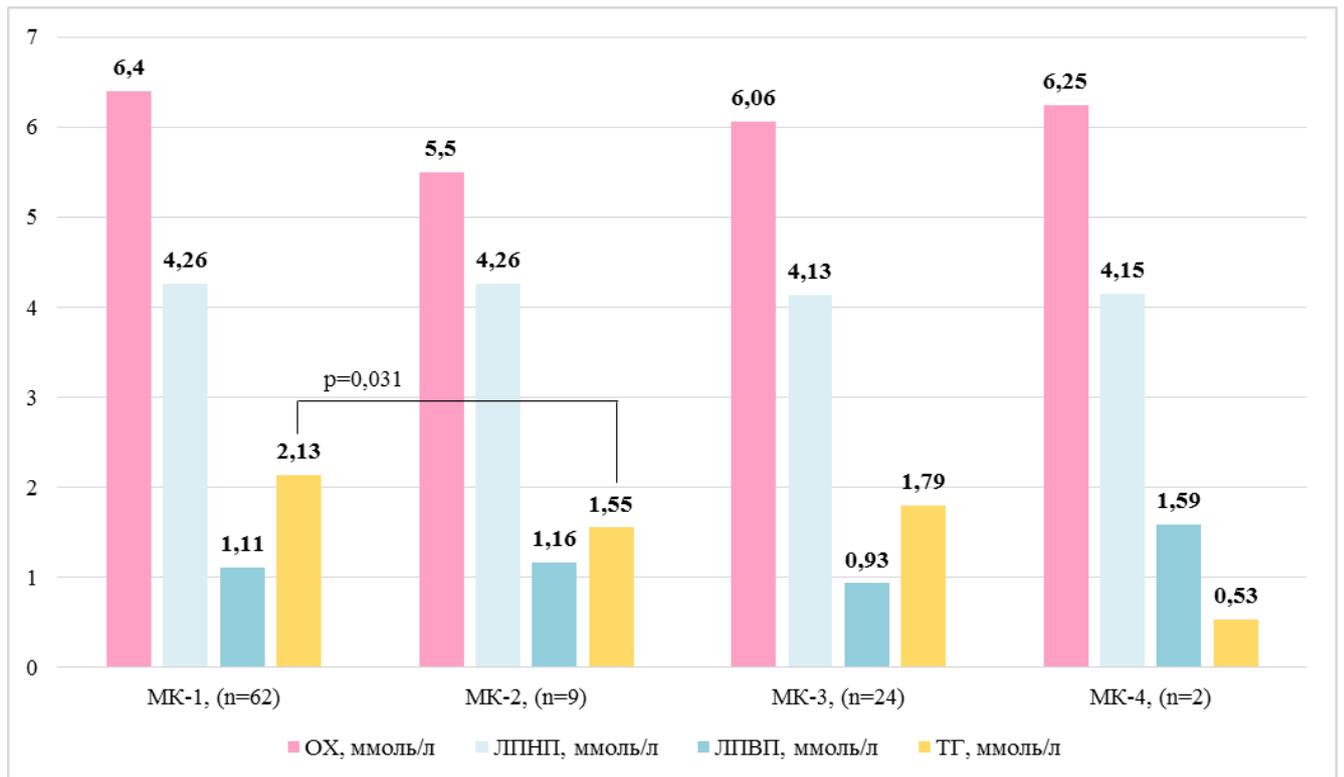
Рисунок 22. Значения показателей липидного спектра в зависимости от ЭТ

Достоверно значимых различий в показателях ОХ, ЛПНП и ЛПВП между четырьмя основными МК выявлено не было. Тем не менее уровень ТГ в МК-2 был существенно ниже, чем в МК-1: $1,55 \pm 0,25$ ммоль/л (95% ДИ 0,96 - 2,15) против 2,13 ммоль/л [1,57; 4,01], $p = 0,031$. Также низкий уровень ТГ отмечался в МК-4, представленным бактериями, отрицательно связанными с риском возникновения СД2, и составлял 0,53 ммоль/л [0; 1,05]. Таким образом, стоит предположить, что низкие уровни ТГ в МК-2 и МК-4 определяют менее выраженную липотоксичность в данных МК. При сравнении МК-1 и МК-2 обращает на себя внимание то, что МК-1 характеризуется более высоким ИМТ и ОТ, более высоким индексом НОМА-IR и более высоким уровнем ТГ. Можно предположить, что наличие липотоксичности в МК-1 объясняется тем, что пациенты, у которых доминирует данный МК, имеют абдоминальное ожирение и ИР жировой ткани. В свою очередь для пациентов с доминированием МК-2 характерны более низкий ИМТ, наименьший уровень индекса НОМА-IR и, соответственно, менее выраженная липотоксичность, что подтверждается уровнем ТГ в данном МК.

Значения показателей липидного спектра в зависимости от МК представлены в Таблице 42 и на Рисунке 23.

Таблица 42. Значения показателей липидного спектра в зависимости от МК.

Параметр	Значение параметра ¹ МК-1, (n=62)	Значение параметра ² МК-2, (n=9)	Значение параметра ³ МК-3, (n=24)	Значение параметра ⁴ МК-4, (n=2)	Значение p
ОХ, ммоль/л	6,4 [5,4; 7,4]	5,5 [5,04; 6,3]	6,06±0,25 (95% ДИ 5,55 - 6,57)	6,25 [5,9; 6,6]	p>0,05
ЛПНП, ммоль/л	4,26±0,14 (95% ДИ 3,97 - 4,54)	4,26±0,47 (95% ДИ 3,16 - 5,37)	4,13±0,19 (95% ДИ 3,74 - 4,52)	4,15 [3,9; 4,4]	p>0,05
ТГ, ммоль/л	2,13 [1,57; 4,01]	1,55±0,25 (95% ДИ 0,96 - 2,15)	1,79 [1,35; 3,23]	0,53 [0; 1,05]	p ₁₂ =0,031143
ЛПВП, ммоль/л	1,11±0,07 (95% ДИ 0,97 - 1,25)	1,16±0,13 (95% ДИ 0,84 - 1,48)	0,93±0,11 (95% ДИ 0,71 - 1,16)	1,59 [1,16; 2,02]	p>0,05

**Рисунок 23.** Значения показателей липидного спектра в зависимости от МК

По данным корреляционного анализа каких-либо достоверно значимых взаимосвязей между индексами α -разнообразия и показателями липидного спектра выявлено не было. Более того, достоверных корреляций между большинством метаболических путей бутирата, пропионата и показателями липидного спектра также получено не было. Однако основной путь синтеза бутирата, путь Acetyl-CoA, прямо коррелировал с ЛПВП ($r=0,226$, $p < 0,05$), что может указывать на положительные эффекты бутирата в отношении показателей липидного спектра. С другой стороны, была выявлена слабая прямая связь между одним из основных путей синтеза пропионата, путем Succinate A, и уровнем ТГ ($r=0,212$, $p < 0,05$). Следовательно, повышение относительных значений пути Succinate A вероятно может привести к гипертриглицеридемии, являющейся маркером липотоксичности. Таким образом, бутират и пропионат по-разному

вливают на показатели липидного спектра: бутират, вероятно, улучшает липидный обмен в то время, как пропионат приводит к увеличению концентрации ТГ в крови.

Корреляционный анализ между основными характеристиками КМ и показателями липидного спектра представлен в Таблице 43.

Таблица 43. Корреляционный анализ между основными характеристиками КМ и показателями липидного спектра

Общая группа	ОХ	ЛПНП	ТГ	ЛПВП
F/B	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
МК-1	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
МК-2	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
МК-3	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
МК-4	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Показатели α-разнообразия				
Индекс Шеннона	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Индекс Чао	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Метаболические пути синтеза бутирата				
4-aminobutyrate/ Succinate	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Acetyl-CoA	p>0,05	p>0,05	p>0,05	0,226900
Glutarate	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Метаболические пути синтеза пропионата				
Succinate a	p>0,05	p>0,05	0,212883	p>0,05
Succinate b	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
acrylate	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
propanediol	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Примечание: выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне $p<0,05$. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p>0,05$.

Таким образом, наиболее чувствительными маркерами развития липидных нарушений у пациентов с впервые выявленным СД2 являются ЭТ и МК и метаболические пути синтеза бутирата и пропионата. При этом ЭТ-16 ассоциирован с высоким уровнем ЛПНП и риском развития атеросклеротических ССЗ в то время, как ЭТ-2 и МК-1 связаны с липотоксичностью, приводящей к возникновению углеводных нарушений. В свою очередь продукция бутирата связана с ростом ЛПВП, обладающих антиатерогенными свойствами. Образование пропионата в просвете кишечника ассоциирована с гипертриглицеридемией, приводящей к липотоксичности, ИР и увеличению риска возникновения СД2.

3.5 Оценка эффективности сахароснижающей терапии в зависимости от состава кишечной микробиоты

Согласно Алгоритмам специализированной помощи больным СД, эффективность ССТ оценивается по уровню HbA1c через 3-6 месяцев после старта лечения [1]. В проведенном исследовании мы определяли влияние основных характеристик КМ на динамику снижения HbA1c через 3 месяца после инициации ССТ.

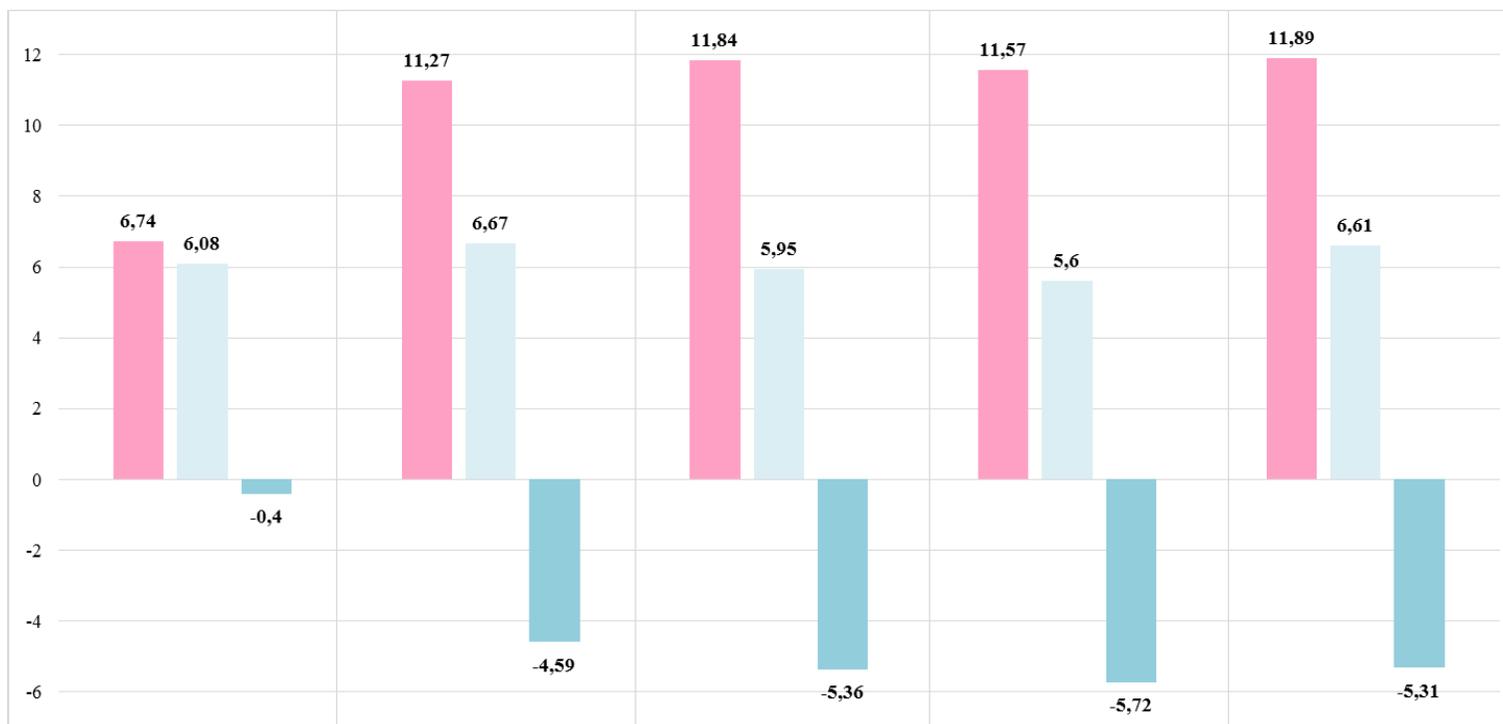
3.5.1 Оценка эффективности стартовой сахароснижающей терапии у пациентов с впервые выявленным СД2

Согласно Отечественным клиническим рекомендациям от 2019г., все пациенты были разделены на 5 групп в зависимости от получаемой терапии: монотерапия метформином (n=20), метформин+иНГЛТ-2 (n=20), метформин+иДПП-4 (n=20), метформин+арГПП-1 (n=20) и метформин+иДПП-4+Инсулин гларгин 300 ЕД/мл (n=20). Стоит отметить, что решение о добавлении к терапии метформин+иДПП-4 базального инсулина принималось в случае наличия у пациентов симптомов острой метаболической декомпенсации: жажды, частого мочеиспускания, снижения массы тела и др.

Через 3 месяца лечения повторное исследование, включающее оценку уровня HbA1c было проведено только 81 участнику. Из них n=20 получали терапию метформином, n=20 - метформин+иНГЛТ-2, n=15 - метформин+иДПП-4, n=16 - метформин+арГПП-1, n=10 - метформин+иДПП-4+ инсулин гларгин 300 ЕД/мл. Стоит отметить, что во всех группах ССТ удалось достичь целевые значения HbA1c. Тем не менее, динамика снижения уровня HbA1c отличалась между различными схемами лечения через 3 месяца терапии. Наименьший темп снижения HbA1c был выявлен в группе метформина: Δ HbA1c = -0,4% [-1,05; 0,05]. Это объясняется тем, что пациенты, которым назначалась монотерапия данным препаратом, имели незначительное повышение гликемии в дебюте заболевания (перед назначением лечения). Наибольший темп снижения HbA1c отмечался в группах пациентов, получающих комбинированную ССТ, в составе которой имелся препарат инкретинового ряда: метформин+арГПП-1 (Δ HbA1c = -5,72±0,31 (95% ДИ -6,37 - -5,07)) и метформин+иДПП-4 (Δ HbA1c = -5,36±0,64 % (95% ДИ -6,77 - -3,96)). Стоит отметить, что темпы снижения HbA1c на фоне комбинаций метформина с препаратом инкретинового ряда были сопоставимы с темпами снижения HbA1c в случае использования терапии, включающей инсулин гларгин 300 ЕД/мл (Δ

HbA1c = $-5,31 \pm 0,63$ (95% ДИ $-6,77 - -3,86$)), что доказывает высокую сахароснижающую способность арГПП-1 и иДПП-4. Сахароснижающий эффект терапии метформин+иНГЛТ-2 (Δ HbA1c = $-4,59 \pm 0,56$ (95% ДИ $-5,79 - -3,38$)) несколько уступал трем вышеописанным комбинациям, однако достоверность не была подтверждена. Таким образом, среди пациентов с впервые выявленным СД2 наиболее эффективной ССТ являлась комбинированная терапия с использованием метформина и препарата инкретинового ряда, а также терапия метформин+иДПП-4+инсулин гларгин 300 ЕД/мл.

Динамика HbA1c в зависимости от различных групп ССП представлена на Рисунке 24.



Параметр	Значение параметра ¹ Группа метформин (n=20)	Значение параметра ² Группа метформин +НГЛТ-2 (n=20)	Значение параметра ³ Группа метформин +иДПП-4 (n=15)	Значение параметра ⁴ Группа метформин +арГПП-1 (n=16)	Значение параметра ⁵ Группа метформин +иДПП-4+инсулин гларгин 300 ЕД/мл (n=10)	Значение p
■ НбА1с (до), %	6,74±0,23 (95% ДИ 6,52 - 7,22)	11,27±0,37 (95% ДИ 10,48 - 12,05)	11,84±0,45 (95% ДИ 10,85 - 12,82)	11,57±0,26 (95% ДИ 11,02 - 12,11)	11,89±0,51 (95% ДИ 10,75 - 13,03)	p=0,000000 p ₁₂ =0,000000 p ₁₃ =0,000000 p ₁₄ =0,000000 p ₁₅ =0,000000
■ НбА1с (после), %	6,08±0,15 (95% ДИ 5,76 - 6,4)	6,67±0,24 (95% ДИ 6,14 - 7,19)	5,95 [5,6; 6,8]	5,6 [5,3; 5,9]	6,61±0,14 (95% ДИ 6,29 - 6,93)	p=0,0135 p ₁₂ =0,039435 p ₁₅ =0,038632 p ₂₄ =0,005904 p ₄₅ =0,013536
■ Δ НбА1с	-0,4 [-1,05; 0,05]	-4,59±0,56 (95% ДИ -5,79 - -3,38)	-5,36±0,64 (95% ДИ -6,77 - -3,96)	-5,72±0,31 (95% ДИ -6,37 - -5,07)	-5,31±0,63 (95% ДИ -6,77 - -3,86)	p=0,0000 p ₁₂ =0,000001 p ₁₃ =0,000000 p ₁₄ =0,000000 p ₁₅ =0,000004

Рисунок 24. Динамика НбА1с в зависимости от различных групп ССП

С точки зрения патогенетической обоснованности проводимой ССТ, обращает на себя внимание наличие во всех группах лечения выраженной ИР и гиперглюкагонемии натощак, а также отсутствие динамики снижения глюкагона вне зависимости от значения ГПП-1. Имеющиеся гормональные нарушения у пациентов в дебюте СД2 определяют необходимость назначения комбинированной терапии метформина с препаратом инкретинового ряда как наиболее необходимой с точки зрения патогенетических особенностей СД2 у данных пациентов. Учитывая тот факт, что иНГЛТ-2 не способны оказывать влияния на уровни ГПП-1, глюкагона и инсулина, данные препараты могут быть предложены для этапов интенсификации ССТ или в качестве второго/третьего препарата в дебюте СД2, когда имеются дополнительные показания к назначению иНГЛТ-2 с учетом кардиоваскулярных и почечных потребностей. Гормональный профиль пациентов, получавших различное лечение, представлен в Таблице 44.

Таблица 44. Гормональный профиль пациентов, получавших различное лечение

Параметр	Значение параметра ¹ Группа метформин (n=20)	Значение параметра ² Группа метформин +НГЛТ-2 (n=20)	Значение параметра ³ Группа метформин +иДПП-4 (n=15)	Значение параметра ⁴ Группа метформин +арГПП-1 (n=16)	Значение параметра ⁵ Группа метформин +иДПП-4+инсулин гларгин 300 ЕД/мл (n=10)	Значение p
НОМА-IR	3,85±0,4 (95% ДИ 3,02 - 4,67)	4,66 [3,66; 10,18]	4,68 [3,66; 6,27]	6,78±0,67 (95% ДИ 5,35 - 8,21)	5,06±0,72 (95% ДИ 3,43 - 6,69)	p=0,0298 p ₁₂ =0,047606 p ₁₄ =0,000378
С-пептид, нг/мл	2,9±0,19 (95% ДИ 2,5 - 3,31)	2,18±0,29 (95% ДИ 1,57 - 2,78)	1,81±0,31 (95% ДИ 1,13 - 2,48)	2,18±0,27 (95% ДИ 1,61 - 2,75)	2,4±0,38 (95% ДИ 1,53 - 3,26)	p ₁₂ =0,040671 p ₁₃ =0,003505 p ₁₄ =0,031901
Инсулин 0 мин., мкМЕ/мл	12,4±1,08 (95% ДИ 10,12 - 14,67)	9,9 [6,2; 16,9]	10,09±1,31 (95% ДИ 7,27 - 12,92)	13,33±1,5 (95% ДИ 10,13 - 16,54)	10,41±1,44 (95% ДИ 7,15 - 13,66)	p>0,05
Инсулин 120 мин., мкМЕ/мл	35,05±5,06 (95% ДИ 24,11 - 45,99)	20,23±2,63 (95% ДИ 14,68 - 25,78)	15,53±2,48 (95% ДИ 10,21 - 20,86)	23,04±3,33 (95% ДИ 15,89 - 30,18)	19,46±4,72 (95% ДИ 8,58 - 30,35)	p=0,003896 p ₁₂ =0,009638 p ₁₃ =0,001494 p ₁₅ =0,046886
Глюкагон 0 мин., нг/мл	0,46 [0,16; 1,11]	0,91 [0,61; 1,33]	1,29 [0,14; 1,71]	0,24 [0,13; 0,89]	0,92±0,2 (95% ДИ 0,44 - 1,39)	p ₂₄ =0,035917
Глюкагон 30 мин., нг/мл	0,47 [0,38; 0,59]	0,55 [0,46; 1,48]	1,33 [0,41; 1,84]	0,45 [0,25; 1,37]	0,58 [0,2; 1]	p>0,05
ГПП-1 0 мин., нг/мл	0,01 [0,01; 0,02]	0,01 [0,01; 0,01]	0,01 [0,01; 0,02]	0,01 [0,01; 0,01]	0,01 [0,01; 0,02]	p>0,05
ГПП-1 30 мин., нг/мл	0,68 [0,2; 1,55]	0,78 [0,19; 2,18]	0,59 [0,2; 2,14]	1,59 [0,18; 2,89]	0,34 [0,25; 1,95]	p>0,05

Таким образом, по данным проведенного исследования пациентам с впервые выявленным СД2 с точки зрения потребностей в необходимости коррекции гипергликемии и патогенетических нарушений целесообразно назначать комбинированную терапию метформин+иДПП-4 или метформин+арГПП-1. Терапия метформин+иНГЛТ-2 по-видимому должна быть использована на этапах интенсификации или при наличии дополнительных

показаний со стороны сердечно-сосудистых и почечных рисков, что согласуется с Отечественными клиническими рекомендациями.

3.5.2 Оценка эффективности сахароснижающей терапии в зависимости от динамики снижения HbA1c и состава кишечной микробиоты

С целью определения влияний КМ на эффективность проводимой ССТ, пациентам, включенным в исследование, проводилась оценка динамики снижения HbA1c в зависимости от состава/функционального потенциала КМ и получаемого лечения.

Среди пациентов, получающих монотерапию метформином была выявлена прямая зависимость между соотношением F/B и Δ HbA1c ($r=0,452$, $p < 0,05$). Это говорит о том, что чем ниже значение F/B, тем более выраженное снижение HbA1c отмечается на фоне проводимой терапии. Следовательно, более высокий уровень типа Bacteroidetes у пациентов с впервые выявленным СД2 улучшает сахароснижающую способность метформина. Вероятно, более высокая эффективность терапии метформином при F/B < 1 объясняется тем, что доминирование типа Bacteroidetes по сравнению с доминированием Firmicutes среди пациентов с впервые выявленным СД2 по данным нашего исследования было ассоциировано с более высокими значениями индекса НОМА-IR, ИМТ и ОТ и более высоким уровнем ТГ, а, следовательно, и с более выраженной ИР, на коррекцию которой направлено основное действие бигуанидов. Корреляционная зависимость между F/B и Δ HbA1c среди пациентов, получающих монотерапию метформином представлена на Рисунке 25.

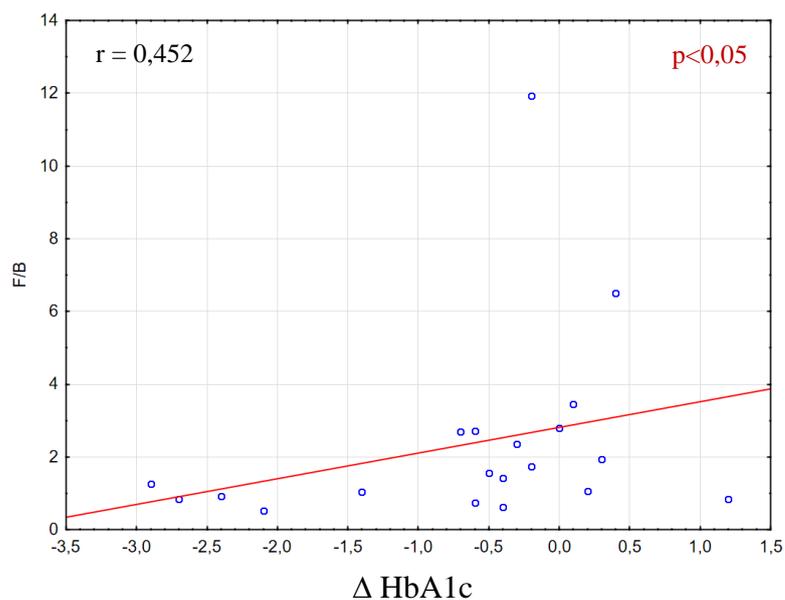


Рисунок 25. Корреляционная зависимость между соотношением F/B и Δ HbA1c среди пациентов, получающих монотерапию метформином

Среди пациентов, получающих терапию метформин+иНГЛТ-2, метформин+арГПП-1, метформин+иДПП-4 и метформин+иДПП-4+инсулин гларгин 300 ЕД-мл каких-либо достоверных корреляций между Δ HbA1c и F/V выявлено не было. Корреляционный анализ между F/V и Δ HbA1c в зависимости от различной ССТ представлен в Таблице 45.

Таблица 45. Корреляционный анализ между F/V и Δ HbA1c в зависимости от различной ССТ

Лечение	метформин	метформин + НГЛТ-2	метформин + арГПП-1	метформин + иДПП-4	метформин + иДПП-4+ инсулин гларгин 300 ЕД/мл
Параметр	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c
F/V	0,45239	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Примечание: выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне p<0,05. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение p>0,05.

Таким образом, F/V предсказывает характер динамики HbA1c на фоне терапии метформином, но не на фоне других ССП. Это говорит о том, что данный параметр КМ в настоящее время не может быть использован в качестве предиктора оценки эффективности стартовой ССТ, из-за широкого богатства кишечных бактерий с разным функциональным потенциалом, включенных как в тип Firmicutes, так и в тип Bacteroidetes. Полученные нами данные не исключают роль F/V в оценке эффективности ССТ, однако указывают на необходимость определения влияний КМ на сахароснижающую способность противодиабетических препаратов на более низком таксономическом уровне: на уровне рода (ЭТ), на уровне межродовых взаимодействий (МК), на уровне метаболического потенциала КМ (α -разнообразие и метаболические пути синтеза КЦЖК).

При оценке влияний доминирующего ЭТ на эффективность ССТ достоверных различий Δ HbA1c в зависимости от ЭТ выявлено не было. Тем не менее стоит отметить, что на фоне терапии метформином минимальная Δ HbA1c отмечалась в ЭТ-1а, что указывает на наименьшую эффективность бигуанидов среди пациентов с доминированием данного ЭТ. Вероятно, более низкий темп снижения HbA1c на фоне терапии метформином в ЭТ-1а объясняется менее выраженной ИР на фоне более низких значений ИМТ и ОТ в ЭТ-1а по сравнению с другими ЭТ. Однако достоверность между антропометрическими показателями, индексом НОМА-IR и ЭТ не была определена, что ограничивает возможность соотношения данных ИМТ и ОТ с выраженностью ИР между ЭТ.

Среди пациентов, получающих терапию метформин+иНГЛТ-2 было получено, что ЭТ-1б по сравнению с ЭТ-1а и ЭТ-2 характеризовался наименьшей Δ HbA1c, и, следовательно, более

низкой сахароснижающей способностью данной комбинации, однако достоверность также не была подтверждена. В настоящее время не представляется возможным определить по какой причине ЭТ-1б характеризовался более медленным темпом снижения HbA1c. Необходимо проведение дополнительных исследований, которые позволили бы определить роль ЭТ в качестве предсказательной модели эффективности терапии метформин+иНГЛТ-2.

Что касается комбинированной терапии метформина с препаратами инкретинового ряда, обращает на себя внимание более низкая Δ HbA1c в ЭТ-2 по сравнению с другими ЭТ на фоне терапии метформин+арГПП-1 и более высокая Δ HbA1c в ЭТ-2 по сравнению с другими ЭТ на фоне терапии метформин+иДПП-4. Стоит отметить, что по нашим данным ЭТ-2 характеризуется наибольшим уровнем ГПП-1 в точке 30 мин по сравнению с другими ЭТ, а также отсутствием влияний ГПП-1 на динамику снижения глюкозагона в точке 30 мин. и увеличения уровня инсулина в точке 120 мин. Таким образом, причина наименьшей эффективности терапии метформин+арГПП-1 в ЭТ-2 по сравнению с другими ЭТ по-видимому объясняется отсутствием должного ответа островкового аппарата ПЖЖ на эффекты ГПП-1. С другой стороны, стоит предположить, что причина более высокой эффективности терапии метформин+иДПП-4 в ЭТ-2 заключается в наибольшем уровне ГПП-1 в данном ЭТ по сравнению с другими ЭТ и пролонгировании эффектов уже выделенного L-клетками гормона во времени на фоне терапии иДПП-4.

Стоит отметить, что более низкая эффективность терапии метформин+иДПП-4+инсулин гларгин 300 ЕД/мл отмечалась в ЭТ-1а, так как в данном ЭТ по сравнению с другими ЭТ отмечалась наименьшая Δ HbA1c, равная -4,65 [-5,75; -2,45]. Определить предположительный механизм более медленного темпа снижения HbA1c в ЭТ-1а в настоящее время не представляется возможным. Значения Δ HbA1c в зависимости от получаемой ССТ и ЭТ представлены в Таблице 46.

Таблица 46. Значение Δ HbA1c в зависимости от ЭТ и различных групп ССП

Лечение	Энтеротип 1а	Энтеротип 1б	Энтеротип 2	Значение р
метформин	-0,1 [-0,65; 0,15]	-0,5 [-2,7; -0,2]	-0,4 [-2,1; -0,3]	p>0,05
метформин +НГЛТ-2	-5,1 [-5,9; -2,4]	-2,6 [-4,7; -1,5]	-4,7 [-6,9; -2,9]	p>0,05
метформин +иДПП-4	-5,2 [-6; -3,8]	-4,8 [-4,8; -4,8]	-7,5 [-8,5; -3,9]	p>0,05
метформин +арГПП-1	-6,4 [-7,5; -5,1]	-5,7 [-5,8; -4,5]	-4,5 [-5,5; -3,9]	p>0,05
метформин +иДПП-4 +Инсулин гларгин 300 ЕД/мл	-4,65 [-5,75; -2,45]	-6,8 [-7; -5]	-6,3 [-7; -5,6]	p>0,05

Несмотря на ряд выявленных закономерностей, в настоящее время трудно использовать классификацию КМ по ЭТ в качестве предсказательной модели эффективности наиболее часто используемых комбинаций ССТ в дебюте СД2. Тем не менее важно отметить, что выявленные нами ассоциации определяют необходимость дальнейшего изучения связи ЭТ с эффективностью стартовой ССТ.

Касательно влияния МК на темпы снижения HbA1c на фоне различных комбинаций ССП стоит отметить, что в группе пациентов, получающих метформин, отмечалась обратная зависимость между МК-3 и Δ HbA1c ($r = -0,462$, $p < 0,05$) и прямая зависимость между МК-4 и Δ HbA1c ($r = 0,514$, $p < 0,05$). Следовательно, при увеличении относительной представленности МК-3 у пациентов с впервые выявленным СД2 улучшался темп снижения HbA1c на фоне терапии метформином, а в случае высоких относительных значений МК-4 темп снижения HbA1c замедлялся. По-видимому, меньшая эффективность терапии метформином в МК-4 по сравнению с МК-3 объясняется тем, что МК-4, по данным нашего исследования, характеризуется более низкими показателями НОМА-IR, ОТ и, следовательно, менее выраженной ИР, на которую, в первую очередь, влияет данный ССП.

Корреляционная зависимость между МК-3, МК-4 и Δ HbA1c среди пациентов, получающих монотерапию метформином представлена на Рисунке 26.

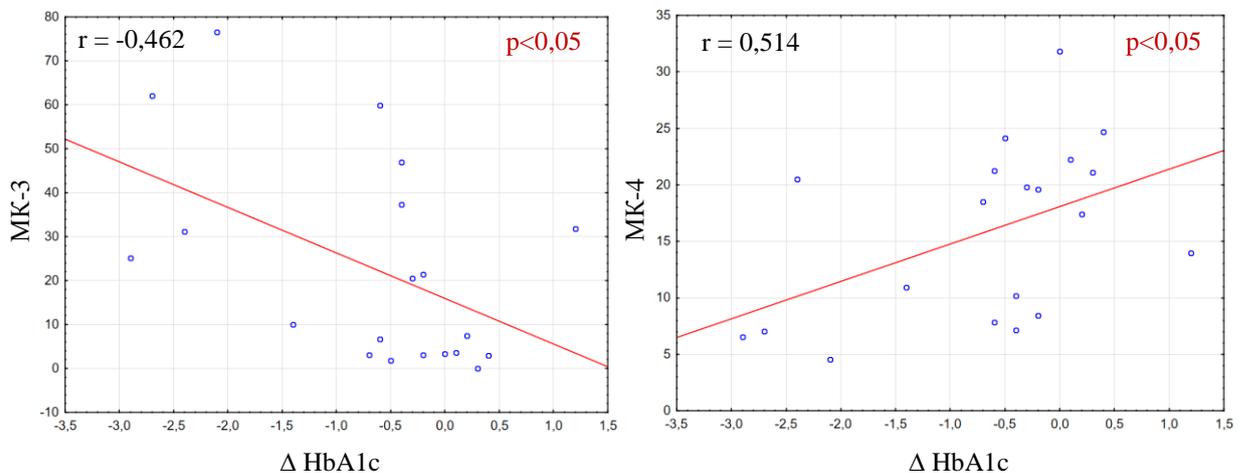


Рисунок 26. Корреляционная зависимость между МК-3, МК-4 и Δ HbA1c среди пациентов, получающих монотерапию метформином

На фоне терапии метформин+иНГЛТ-2 была выявлена обратная корреляционная связь между МК-4 и Δ HbA1c ($r = -0,695$, $p < 0,05$). Следовательно, более высокие значения МК-4 ассоциировались с более выраженной динамикой снижения HbA1c. Таким образом, высокая представленность МК-4 улучшала эффективность терапии метформин+иНГЛТ-2. Учитывая тот факт, что МК-4 отрицательно связан с эффективностью терапии метформином, благоприятный

эффект данного МК на фоне комбинации метформин+иНГЛТ-2 по всей видимости объясняется действием на сахароснижающую способность иНГЛТ-2. Предположить механизм, на основании которого МК-4 влияет на эффективность иНГЛТ-2 в настоящее время не представляется возможным, однако скорее всего улучшение сахароснижающего эффекта связано с действием кишечных представителей МК-4 на экспрессию и функциональную активность НГЛТ-1, расположенных в кишечнике. Корреляционная зависимость между МК-4 и Δ HbA1c среди пациентов, получающих терапию метформином и иНГЛТ-2 представлена на Рисунке 27.

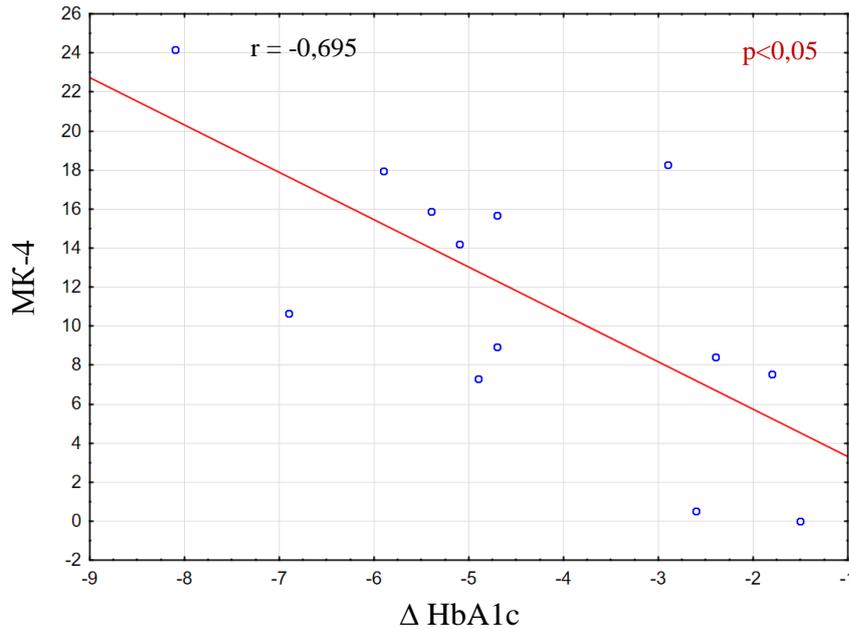


Рисунок 27. Корреляционная зависимость между МК-4 и Δ HbA1c среди пациентов, получающих терапию метформином и иНГЛТ-2

На фоне терапии метформин+арГПП-1 была выявлена прямая корреляционная связь МК-3 с Δ HbA1c ($r = 0,673$, $p < 0,05$). Это значит, что увеличение кишечных представителей МК-3 замедляло темп снижения HbA1c на фоне данной комбинации ССП. В связи с тем, что МК-3 ассоциирован с улучшением эффективности метформина, наличие более медленной динамики снижения HbA1c на фоне метформин+арГПП-1 объясняется влиянием МК-3 на сахароснижающую способность арГПП-1. Стоит отметить, что МК-3, по данным нашего исследования, характеризуется высоким уровнем постпрандиального ГПП-1, ассоциированным с более высоким уровнем инсулина в точке 120 мин. Это указывает на сохранный инкретиновый эффект в данном МК. Стоит отметить, что действие арГПП-1 направлено на коррекцию инкретинового дефекта, который наименее выражен в МК-3, что, по-видимому, объясняет снижение эффективности комбинации метформин+арГПП-1 у пациентов с доминированием МК-

3. Корреляционная зависимость между МК-3 и Δ HbA1c среди пациентов, получающих терапию метформином и арГПП-1, представлена на Рисунке 28.

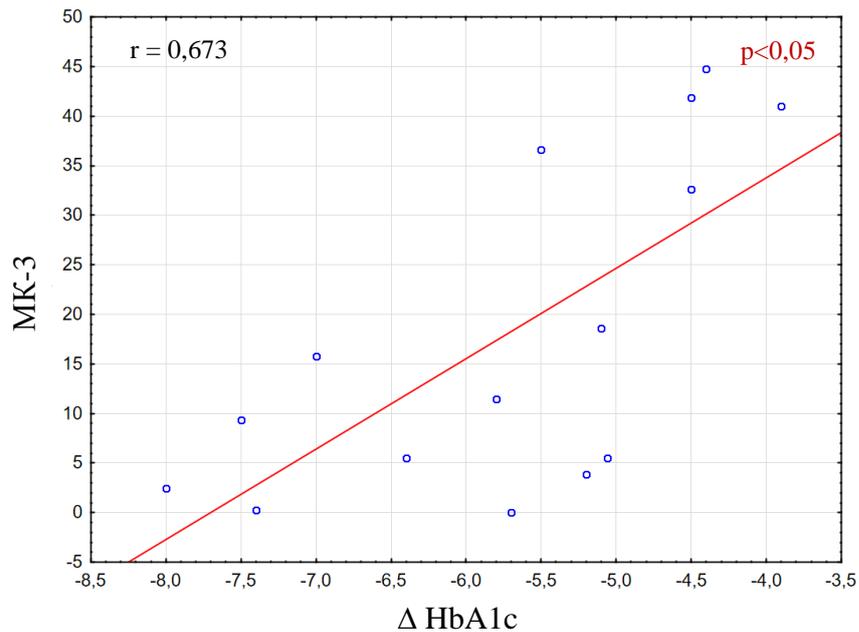


Рисунок 28. Корреляционная зависимость между МК-3 и Δ HbA1c среди пациентов, получающих терапию метформином и арГПП-1

Среди пациентов, получающих терапию метформин+иДПП-4 и метформин+иДПП-4+инсулин гларгин 300 ЕД/мл каких-либо корреляций между МК и Δ HbA1c выявлено не было. Следовательно, значимо ни один МК не влиял на эффективность терапии метформин+иДПП-4 и метформин+иДПП-4+Инсулин гларгин 300 ЕД/мл.

Результаты корреляционного анализа между основными МК и группами ССП представлены в Таблице 47.

Таблица 47. Корреляционный анализ между основными характеристиками КМ и группами ССП

Лечение	метформин	метформин + НГЛТ-2	метформин + арГПП-1	метформин + иДПП-4	метформин + иДПП-4+ Гларгин
Параметр	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c
МК-1	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
МК-2	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
МК-3	-0,462176	p>0,05	0,673816	p>0,05	p>0,05
МК-4	0,514867	-0,6959	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Примечание: выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне p<0,05. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение p>0,05.

Таким образом, МК влияют на эффективность большинства наиболее часто используемых групп ССП в дебюте СД2. При этом наиболее чувствительными МК в отношении влияний на

сахароснижающую способность ССП являются МК-3 и МК-4. Полученные нами данные указывают на возможность использования МК в качестве предикторов оценки эффективности стартовой ССТ.

При оценке влияний показателей α -разнообразия на эффективность проводимой ССТ, каких-либо достоверных корреляций между индексами Шеннона и Чао и Δ HbA1c на фоне различных групп противодиабетических препаратов выявлено не было, что исключает возможность использования α -разнообразия в качестве предиктора оценки эффективности стартовой ССТ. Корреляционный анализ между индексами α -разнообразия и Δ HbA1c в зависимости от используемой ССП представлен в Таблице 48.

Таблица 48. Корреляционный анализ между индексами α -разнообразия и Δ HbA1c в зависимости от используемой ССП

Лечение	метформин	метформин + НГЛТ-2	метформин + арГПП-1	метформин + иДПП-4	метформин + иДПП-4+ Гларгин
Параметр	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c
Индекс Шеннона	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
Индекс Чао	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Примечание: При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p > 0,05$.

Что касается оценки роли метаболических путей синтеза КЦЖК в эффективности стартовой ССТ было выявлено, что различные метаболические пути синтеза бутирата и пропионата по-разному влияли на динамику снижения HbA1c на фоне монотерапии метформином. Так, обратная корреляционная связь была выявлена между Δ HbA1c и Glutarate ($r = -0,459$, $p < 0,05$), Succinate a ($r = -0,575$, $p < 0,05$) и Succinate b ($r = -0,656$, $p < 0,05$). Прямая корреляционная связь отмечалась между propanediol и Δ HbA1c ($r = 0,566$, $p < 0,05$). Следовательно, увеличение представленности пути Glutarate, ответственного за синтез бутирата и путей Succinate a и Succinate b, связанных с синтезом пропионата, улучшали темп снижения HbA1c среди лиц, получающих терапию метформином. В случае, если увеличивалось относительное значение пути propanediol (синтез пропионата), отмечался рост уровня HbA1c на фоне терапии метформином. В настоящее время не представляется возможным ответить на вопрос, почему разные метаболические пути синтеза бутирата и пропионата противоположно влияют на эффективность бигуанидов. Для ответа на вышеставленный вопрос необходимо проведение дальнейших исследований, основанных на определении связей между генами метаболических путей синтеза КЦЖК и точками приложения действия метформина.

Корреляционная зависимость между Glutarate, Succinate a, Succinate b, propanediol и Δ HbA1c среди пациентов, получающих монотерапию метформином представлена на Рисунке 29.

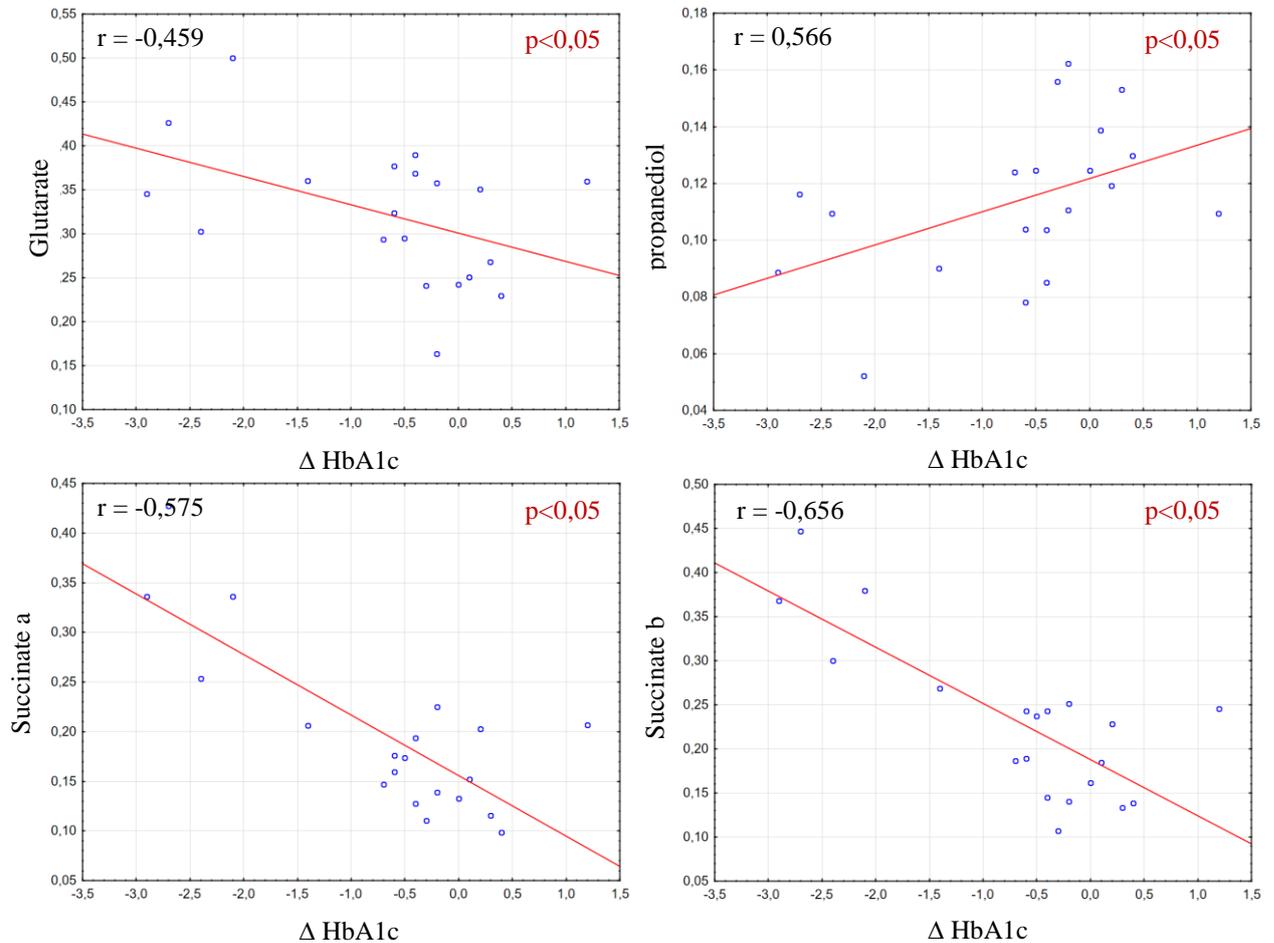


Рисунок 29. Корреляционная зависимость между Glutarate, Succinate a, Succinate b, propanediol и Δ HbA1c среди пациентов, получающих монотерапию метформином

Стоит отметить, что метаболические пути синтеза бутирата и пропионата не влияли на эффективность комбинированной ССТ: метформин+иНГЛТ-2, метформин+арГПП-1, метформин+иДПП-4, метформин+иДПП-4+инсулин гларгин 300 ЕД/мл. Корреляционный анализ между метаболическими путями синтеза КЦЖК и Δ HbA1c в зависимости от используемой ССТ представлен в Таблице 49.

Таблица 49. Корреляционный анализ между метаболическими путями синтеза КЦЖК и Δ HbA1c в зависимости от используемой ССТ

Лечение	метформин	метформин + НГЛТ-2	метформин + арГПП-1	метформин + иДПП-4	метформин + иДПП-4+ Гларгин
Параметр	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c	Δ HbA1c
Метаболические пути синтеза бутирата					
4-aminobutyrate/Succinate	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Acetyl-CoA	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Glutarate	-0,459917	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Метаболические пути синтеза пропионата					
Succinate a	-0,575085	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Succinate b	-0,65638	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
acrylate	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
propanediol	0,566052	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Примечание: выделенные красным цветом корреляции значимы на уровне $p < 0,05$. При отсутствии достоверности корреляционной связи указывалось значение $p > 0,05$.

Полученные нами данные показатели противоположные результаты различных метаболических путей синтеза КЦЖК в отношении эффективности монотерапии метформином. При этом на эффективность других ССП метаболические пути влияния не оказывали, что ограничивает их использование в качестве предикторов оценки эффективности ССТ.

Таким образом, наибольшее влияние КМ оказывает на сахароснижающую способность метформина: на улучшение эффективности терапии метформином в отношении снижения HbA1c оказывают значения F/B, представленность МК-3 и МК-4, относительные показатели метаболических путей Glutarate, Succinate a, Succinate b и propanediol. В меньшей степени КМ влияет на эффективность терапии метформин+иНГЛТ-2 и метформин+арГПП-1. При этом стоит отметить, что в настоящее время в качестве предиктора эффективности стартовой ССТ стоит использовать МК, которые влияли на эффективность большинства наиболее часто используемых комбинаций ССП в дебюте СД2.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В течение последнего десятилетия отмечается стремительный рост публикаций, посвященных изучению состава КМ у пациентов с различными заболеваниями, в том числе, метаболическими. Изучение особенностей таксономического разнообразия КМ у пациентов с СД2 не является исключением. Тем не менее масштабного исследования, изучающего состав КМ у пациентов с впервые выявленным СД2 в Российской Федерации не проводилось. Более того, не проводилось и изучение влияний КМ на основные причины развития данного заболевания: ИР, дисфункцию α - и β клеток ПЖЖ и L-клеток кишечника. Также в мире отсутствуют данные о влиянии основных характеристик КМ на эффективность стартовой ССТ. Таким образом, основными задачами нашего исследования являлись определение таксономического разнообразия КМ, свойственного для пациентов с СД2, проживающих в г. Москве, установление патогенетических связей между составом КМ и развитием СД2, а также выявление микробиотических маркеров оценки эффективности стартовой ССТ.

4.1 Состав кишечной микробиоты у пациентов с впервые выявленным СД2

Изучение состава КМ, свойственного для пациентов с СД2 является первостепенной задачей в связи с тем, что выявленные особенности таксономической представленности кишечных бактерий помогли бы разработать диагностические критерии, посредством которых в будущем можно было бы предсказывать риск развития и прогрессирования СД2 на основании полученного анализа 16S РНК-секвенирования кишечного метагенома человека. В проведенном исследовании оценивался таксономический состав КМ на уровне типа, класса, отдела, семейства, рода и вида.

Стоит отметить, что по данным нашего исследования состав КМ на уровне типа, класса, отдела и семейства практически не отличается от состава КМ здорового человека, наиболее полно описанного в исследованиях MetaHIT (Европа) и HMP (США) [8, 51]. Существенные изменения выявлялись на более низких таксономических ступенях: на уровне рода и вида. Так, на родовом уровне помимо высокого разнообразия *Bacteroides* и *Faecalibacterium*, характерных для здоровой популяции, в нашем исследовании отмечалось преобладание таких родов бактерий, как *Alistipes* и *Blautia* на фоне позитивной подавленности рода *Prevotella*, доминирующего у метаболически здоровой когорты пациентов. Важно, что род *Alistipes* связан с развитием атеросклеротических ССЗ, род *Blautia* - с ожирением, предиабетом и СД2, а род *Prevotella*

ассоциирован со снижением риска развития углеводных нарушений [29, 32, 156, 169]. Говоря про видовое разнообразие, обращает на себя внимание то, что в нашем исследовании отмечалась высокая представленность таких видов бактерий, как *B. vulgatus* и *P. Copri*, характерных для здоровой популяции, на фоне широкого разнообразия безымянных ранее не описанных видов, что предполагает наличие уникального видового разнообразия КМ среди пациентов с СД2, проживающих в г. Москве. Тем не менее мы не можем достоверно определить насколько полученные нами данные отличаются от состава КМ здоровой популяции из-за отсутствия полного описания таксономического состава КМ на примере российской выборки. Более того, мы не можем с уверенностью утверждать, что видовой состав КМ пациентов с СД2 является уникальным для данной когорты пациентов несмотря на ряд выявленных ранее не идентифицируемых штаммов в связи с тем, что в настоящее время отсутствует детальное описание видового разнообразия на примере здоровой популяции, и биобанк таксономической представленности бактерий на уровне вида постоянно обновляется, реклассифицируется и совершенствуется. Поэтому в последующем мы отходим от описания таксономической модели и описания видового разнообразия КМ и пытаемся разработать универсальную систему поиска взаимосвязей КМ с СД2 через систему доминирующего типа бактерий (F/B), рода бактерий (ЭТ), межродовых взаимодействий (МК), функционального и метаболического потенциала КМ (α -разнообразие и метаболические пути синтеза бутирата и пропионата).

Так, по данным нашего исследования, у 65,98% пациентов с впервые выявленным СД2 доминировали Firmicutes (F/B ≥ 1), а у 34,02% - Bacteroidetes (F/B < 1). В настоящее время считается, что количество Firmicutes и Bacteroidetes существенно различается между этническими группами, а также внутри одной популяции. Вероятно, это связано с тем, что два этих филума являются наиболее богатыми в отношении родового и видового многообразия. Именно поэтому как среди Firmicutes, так и среди Bacteroidetes имеются рода бактерий, ассоциированные как с увеличением, так и со снижением риска развития СД2 и ожирения [175]. Действительно, в крупных опубликованных исследованиях, оценивающих связь F/B с развитием СД2 имеются противоречивые данные в отношении доминирования Firmicutes или Bacteroidetes. В одних исследованиях для пациентов с СД2 характерно увеличение типа Firmicutes [32, 36]. В других исследованиях уровни Bacteroidetes являются господствующим типом бактерий среди пациентов с СД2 [38, 39]. Таким образом, использовать F/B как высоко специфический маркер риска развития углеводных нарушений не представляется возможным. Необходимо проводить оценку кишечного разнообразия на более низком таксономическом уровне.

В 2011г. Agumugam и соавт., была предпринята попытка классифицировать КМ на три основных ЭТ в зависимости от доминирующего рода. У метаболически здоровых добровольцев было выделено 3 ЭТ. В ЭТ-1 наиболее представленным родом бактерий являлись Bacteroides, в

ЭТ-2 - *Prevotella*, в ЭТ-3 – *Ruminococcus* и *Faecalibacterium* [177]. Позже в исследовании Jiajia и соавт., у пациентов с СД2 было выделено только два ЭТ: *Bacteroides* и *Prevotella*. При этом ЭТ-1 (*Bacteroides*) в отличие от ЭТ-2 (*Prevotella*) был положительно связан с риском развития СД2 [32]. В нашем исследовании было выявлено три ЭТ: ЭТ *Bacteroides* подтип 1a (ЭТ-1a), ЭТ *Bacteroides* подтип 1б (ЭТ-1б) и ЭТ *Prevotella*. При этом разделение ЭТ *Bacteroides* на ЭТ-1a и ЭТ-1б ранее не было описано ни среди здоровой популяции, ни среди пациентов с СД2.

Разный бактериальный состав выявленных ЭТ позволил предположить особенности течения и прогрессии СД2 и определить вероятность развития осложнений в зависимости от доминирующего ЭТ. Так, ЭТ-1a за счет высокой представленности бутират-продуцирующих бактерий и бактерий, ассоциированных с нормальной массой тела (*Faecalibacterium*, *Subdoligranulum*, *Christensenella* и др.) на фоне высокого уровня родов, связанных с развитием СД2 и атеросклеротических ССЗ (*Bacteroides*, *Blautia*) по-видимому предполагает средний риск развития СД2 на фоне нормального или незначительно повышенного ИМТ, умеренно выраженное прогрессирование СД2 и средний риск развития основных осложнений данного заболевания. ЭТ-1б за счет скудной представленности кишечных бактерий на фоне высокого уровня СД2-ассоциированных *Blautia* и *Bacteroides* предполагает высокий риск развития СД2 и атеросклеротических ССЗ у пациентов с ожирением и дислипидемией. Более того, данный ЭТ вероятно предопределяет быстрое прогрессирование СД2 и высокий риск развития его осложнений. ЭТ-2 за счет высокой представленности бутират-продуцирующих бактерий и бактерий, отрицательно связанных с СД2 на фоне минимальной встречаемости СД2-ассоциированных *Blautia* и *Bacteroides* по сравнению с ЭТ-1a и ЭТ-1б предсказывает низкую вероятность развития СД2. В случае развития СД2 среди пациентов с данным ЭТ, СД2 по-видимому характеризуется наименьшим риском прогрессирования заболевания и развития осложнений.

Важно отметить, что полученные нами результаты о предполагаемых рисках развития углеводных нарушений в зависимости от ЭТ косвенно согласуются с ранее опубликованным исследованием, в котором ЭТ *Bacteroides* был связан с развитием СД2, а ЭТ *Prevotella* наиболее часто встречался среди метаболически здоровых пациентов [32]. Тем не менее, важно отметить, что используемый нами метод кластеризации хоть и разделил ЭТ на три группы, но не позволил четко распределить рода бактерий между этими ЭТ, поэтому одни и те же бактерии в разных пропорциях встречались в каждом ЭТ. Эта погрешность ограничивает возможность ориентации на доминантный ЭТ как на достоверный маркер развития СД2.

Немаловажной особенностью КМ является взаимодействие одних родов бактерий с другими и объединение этих бактерий в группы, которые называются МК. В нашем исследовании мы провели кластерный анализ совместной встречаемости таксонов в образцах стула пациентов

подобно тому, что был выполнен Volokh и соавт. [33]. В исследовании Volokh и соавт. у метаболически здоровых пациентов определялось три ключевых МК. МК-1 был представлен бутират-продуцирующими бактериями (*Eubacterium*, *Anaerostipes*, *Blautia*, *Dorea*); МК-2 – семействами *Bacteroidaceae* и *Porphyromonadaceae*, а МК-3 – *Clostridia*, *Christensenella* и *Methanobrevibacter*, обладающими выраженным противовоспалительным и бутират-продуцирующим потенциалами [33]. В нашем исследовании было выявлено 10 МК, из которых только 4 доминировали у пациентов с СД2. При этом в составе МК-1 присутствовали *Bacteroides* и *Blautia*, ассоциированные с риском развития СД2 [168, 169], в МК-2 – бактерии, связанные со снижением массы тела (*Christensenellaceae_R-7_group*) и развитием СД2 (UCG-005, UCG-002 из семейства *Ruminococcaceae*) [170], в МК-3 и МК-4 – бактерии, отрицательно связанные с возникновением углеводных нарушений [6, 32]. Таким образом, при сравнении результатов исследования Volokh и соавт., проведенного на здоровых людях, с нашими данными было установлено, что родовой состав МК у пациентов без углеводных нарушений и у пациентов с СД2 существенно различался. Однако мы не можем с уверенностью говорить об уникальности выявленных МК и их бактериальном составе у пациентов с впервые выявленным СД2 в связи с недостаточностью опубликованных в настоящее время данных. Тем не менее важно отметить, что мы впервые в мире выявили четыре доминирующих МК у пациентов с дебюте СД2 и определили бактериальный состав этих МК. На основании полученных нами данных об уникальном родовом составе свойственном для каждого МК, мы определили, что пациенты с доминирующим МК-1 по-видимому характеризуются наличием типичной триады, свойственной большинству пациентов с СД2 (избыточная масса тела или ожирение, гипергликемия и дислипидемия). Напротив, отличительной фенотипической особенностью пациентов с доминирующим МК-2 является отсутствие избыточной массы тела или ожирения за счет высокой представленности рода *Christensenella*, связанного с нормальным ИМТ. Следовательно, у данных пациентов ожирение не имеет ведущей роли в патогенезе СД2. Стоит предположить, что развитие СД2 у таких пациентов объясняется доминирующей ролью других звеньев патогенеза данного заболевания: β -клеточной дисфункцией, нарушением инкретинового ответа, активацией системного метаболического воспаления и др. Промежуточным в отношении риска развития СД2 и его осложнений является МК-3, включающий в себя как бактерии, ассоциированные с нормогликемией и повышением антиатерогенных фракций липидов (ЛПВП), так и бактерии, увеличивающие риск развития углеводных нарушений. Наиболее благоприятным в отношении риска развития СД2 является МК-4, представленный высоким количеством бутират-продуцирующих бактерий. По всей видимости наличие данного МК у пациентов с манифестным СД2 ассоциировано с низким риском прогрессирования данного заболевания и низким риском развития осложнений.

Важно отметить, что вышеописанное предположение о возможности использования МК как маркеров риска развития СД2 выдвинуто на основании современного представления о том, что наиболее часто представленные рода бактерий в конкретном МК задают вектор функциональной активности для всего микробного сообщества [76]. Тем не менее полученные нами данные установили связь МК с патофизиологическими особенностями развития СД2, что подтверждает возможность использования МК в качестве основы предсказательной модели оценки риска развития СД2.

С целью понимания характера разнообразия микробного сообщества пациентов с впервые выявленным СД2, всем участникам исследования рассчитывались индексы α -разнообразия: индекс Шеннона и индекс Чао. Индекс Шеннона составлял $5,21 \pm 0,08$ (95% ДИ 5,05 - 5,38), индекс Чао - $222,65 \pm 6,69$ (95% ДИ 209,37 - 235,94). Однако оценить насколько полученные результаты соответствуют нормальным значениям не представляется возможным, в связи с отсутствием общепризнанных референсов для индексов α -разнообразия. Тем не менее, в среднем среди здоровых пациентов индекс Шеннона колеблется в диапазоне от 3 до 6 [182]. Следовательно, полученные нами значения индекса Шеннона существенно не отличаются от ранее опубликованных результатов.

Говоря про уровни α -разнообразия у пациентов с СД2, то в настоящее время имеются дискордантные данные. В большинстве исследований уровень α -разнообразия не различается между пациентами с СД2 и контрольной группой [35, 36, 40, 48]. Однако в одном исследовании α -разнообразия было выше в группе пациентов с СД2 по сравнению с метаболически здоровыми пациентами, в то время как по результатам нескольких других исследований, наоборот, отмечалось снижение α -разнообразия среди пациентов с СД2 [32, 34, 38, 39]. Таким образом, в настоящее время сложно определить влияние значения индекса α -разнообразия на развитие углеводных нарушений из-за большого количества разрозненных результатов. Однако стоит отметить, что индекс α -разнообразия связан с возрастом, характером питания и особенностями получаемой терапии [182], следовательно, значения индексов α -разнообразия могут существенно различаться даже внутри одной выборки пациентов. Тем не менее важно отметить, что в ранее опубликованном российском исследовании Егшатын Л. В. и соавт., сопоставимым с нашими данными по возрастной категории, различий в уровне индекса Шеннона между группами пациентов без углеводных нарушений, с предиабетом и впервые выявленным СД2 выявлено не было. При этом уровень индекса Шеннона в группе пациентов с СД2 был несколько ниже, чем в нашем исследовании и составлял $3,71 \pm 0,56$ [48]. Таким образом, для пациентов с СД2, проживающих в г. Москве, вероятно характерны нормальные значения α -разнообразия.

Немаловажной функциональной характеристикой КМ является способность к продукции КЦЖК, которая может быть косвенно оценена путем определения относительной

представленности путей образования пропионата и бутирата. В связи с тем, что гены, ассоциированные с путями синтеза ацетата неспецифичны, оценить относительную представленность путей ацетата не представляется возможным.

По данным нашего исследования доминирующим биохимическим путем образования бутирата являлся путь Acetyl-CoA. Менее представленными являлись 4-aminobutyrate/ Succinate и Glutarate. Стоит отметить, что один из основных путей синтеза бутирата, лизиновый путь, не был представлен среди участников нашего исследования, что может указывать на снижение способности КМ к продукции бутирата среди пациентов с впервые выявленным СД2 [183]. При этом все основные пути синтеза пропионата присутствовали у пациентов с впервые выявленным СД2, следовательно, снижение продукции пропионата, по всей видимости, не отмечалось. Тем не менее мы не можем оценить характер продукции КЦЖК КМ, так как в настоящее время целевые диапазоны для бутирата и пропионата не определены, а в литературе отсутствуют данные об уровнях метаболических путей синтеза КЦЖК у здоровых пациентов и пациентов с СД2. Поэтому мы считаем возможным сравнивать относительные значения метаболических путей синтеза бутирата и пропионата между наиболее значимыми характеристиками КМ, ассоциированными с развитием СД2 (ЭТ и МК) для того, чтобы идентифицировать метаболически активные и пассивные кишечные сообщества на уровне рода и межродовых взаимодействий.

Так мы определили наибольшую активность в отношении продукции КЦЖК в ЭТ-1а, который характеризуется высокой представленностью бактерий из типа Firmicutes, являющихся основными поставщиками бутирата и пропионата. Отсутствие различий в продукции КЦЖК между ЭТ-1б и ЭТ-2 несмотря на противоположные предполагаемые метаболические эффекты данных ЭТ выявлено не было, что указывает на второстепенную роль продукции КЦЖК в определении риска развития СД2 на уровне ЭТ.

Напротив, говоря про представленность метаболических путей синтеза КЦЖК между МК, обращает на себя внимание существенное увеличение продукции бутирата и пропионата в МК-1 и МК-2 и выраженное снижение продукции данных метаболитов в МК-3 и МК-4. Важно отметить, что МК-1 и МК-2 ассоциированы с высоким риском развития СД2 в то время, как МК-3 и МК-4 – с низким риском. Совпадение эффектов бактериального состава МК с функциональной активностью КМ позволяет не только оценить фенотипический образ пациентов в зависимости от доминирующего МК, но и выделять инструменты, через которые МК осуществляют свои метаболические эффекты. Так, стоит предположить, что увеличение продукции КЦЖК по мере роста представленности МК-1 и МК-2 у пациентов с СД2 ассоциировано не только с высоким ферментативным потенциалом по отношению к поступившим в ЖКТ углеводам, но и с избыточным транспортом жирных кислот из кишечника

в кровотока. Эти жирные кислоты накапливаются в метаболически активных органах, приводят к развитию ИР и способствуют возникновению и прогрессированию углеводных нарушений. Тем не менее не совсем понятна причина снижения относительных значений путей синтеза КЦЖК по мере увеличения представленности МК-3 и МК-4, при том, что доминирующими родами бактерий в данных МК являются бутират-продуцирующие бактерии. Вероятно, у пациентов с СД2 с целью предотвращения повышенного метаболизма сложных углеводов в толстом кишечнике и уменьшения поступления жирных кислот из ЖКТ в кровоток, КМ снижает свои функциональные возможности в отношении продукции КЦЖК. Этот «защитный» механизм по-видимому обеспечивает более мягкое течение СД2 и медленное прогрессирование заболевания. Важно отметить, что до нашего исследования связь МК с метаболическими путями синтеза бутирата и пропионата не оценивалась, в связи с чем не представляется возможным полноценно интерпретировать полученные нами результаты.

Итак, по данным проведенного исследования для пациентов с впервые выявленным СД2 характерны достаточно высокое кишечное разнообразие, отсутствие существенных изменений состава КМ по сравнению со здоровыми пациентами на уровне типа, класса, отдела и семейства на фоне характерных изменений на уровне рода и вида. Более того, на основании родовой представленности бактерий в ЭТ и МК мы предположили функциональный потенциал трех выявленных ЭТ и четырех основных МК, которые в той или иной пропорции доминировали у пациентов с впервые выявленным СД2. Так, ЭТ-1б, в меньшей степени ЭТ-1а, а также МК-1 и МК-2 по всей видимости были ассоциированы с высоким риском развития СД2, тогда как ЭТ-2, МК-3 и МК-4 были связаны с низким риском развития и прогрессирования данного заболевания. Для подтверждения выдвинутой гипотезы, а также для определения других характеристик КМ, ассоциированных с СД2, в дальнейшем мы выявляли связь КМ с ключевыми звеньями развития СД2 и клинико-лабораторными показателями пациентов.

4.2 Влияние кишечной микробиоты на звенья патогенеза СД2: инсулинорезистентность, дисфункцию α - β -клеток поджелудочной железы и L-клеток кишечника

В настоящее время описано 11 звеньев патогенеза СД2, из которых ключевыми являются ИР и дисфункция β -клеток ПЖЖ. Однако важно отметить, что гиперглюкагонемия, развивающаяся в результате нарушения функционирования α -клеток островкового аппарата ПЖЖ, а также инкретиновый дефект также являются ключевыми звеньями патогенеза данного заболевания [3, 4, 109, 110, 111].

Имеются данные, что КМ через механизм «кишечник-мозг-периферия», а также за счет взаимодействий своих активных метаболитов с соответствующими рецепторами, способна регулировать ИР метаболических тканей и функцию α - и β -клеток ПЖЖ и L-клеток кишечника [6, 81, 112]. Следовательно, дисбиоз КМ, ассоциированный с выраженным снижением функционального потенциала кишечных бактерий, потенциально может увеличивать риск развития СД2 [6, 112, 113]. В связи с тем, что в задачи нашего исследования входило изучение влияний КМ на развитие ключевых причин возникновения СД2, мы оценили взаимосвязь микробиотического состава кишечника с индексом ИР (НОМА-IR), уровнями инсулина, С-пептида (дисфункция β -клеток ПЖЖ), глюкагона (дисфункция α -клеток ПЖЖ) и ГПП-1 (дисфункция L-клеток кишечника).

Стоит отметить, что достоверно определить влияние отдельных родов или видов бактерий на развитие ИР, дисфункции α - β -клеток ПЖЖ и L-клеток кишечника затруднительно в связи с многообразием кишечных представителей, различным набором метаболических функций бактерий и наличием способности некоторых кишечных представителей к мимикрии – подражанию эффектов одних микроорганизмов другим. Именно поэтому при определении влияний КМ на развитие СД2, оценивалась роль не конкретных бактерий, а устойчивых сообществ: на уровне типа - F/B, на уровне рода – ЭТ, на уровне межродовых взаимодействий – наиболее часто представленные МК (МК-1, МК-2, МК-3, МК-4), на уровне функционального потенциала КМ - показатели α -разнообразия и относительные значения метаболических путей синтеза бутирата и пропионата.

4.2.1 Влияние кишечной микробиоты на развитие инсулинорезистентности

В настоящее время имеется ограниченное количество исследований, в которых оценивалась связь КМ с показателями ИР (НОМА-IR и др.). Тем не менее в исследовании Chen и соавт., было показано, что значение α -разнообразия коррелирует с выраженностью ИР периферических тканей: более низкий уровень индекса Шеннона связан с более высоким уровнем НОМА-IR [42]. В другом исследовании было продемонстрировано, что ЭТ *Bacteroides* в отличие от ЭТ *Prevotella* ассоциирован с более низкой чувствительностью периферических тканей к инсулину [32]. А по данным исследования Chen и соавт. большое количество представителей семейства *Ruminococcaceae* (UCG-005, UCG-008, UCG-010, NK4A214 и др.) отрицательно коррелируют с уровнем НОМА-IR [42]. Таким образом, можно предположить, что увеличение α -разнообразия, а также увеличение рода *Bacteroides* положительно связаны с

развитием ИР в то время, как высокая представленность семейства Ruminosoccasae и доминирование рода *Prevotella* отрицательно связаны с развитием ИР.

По данным проведенного исследования, значения F/V, представленность ЭТ, значения индекса α -разнообразия и метаболических путей синтеза бутирата и пропионата не были ассоциированы с риском развития ИР. Однако индекс НОМА-IR был несколько выше при F/V < 1 (доминирование рода *Bacteroides*), в ЭТ-1а и ЭТ-1б, преимущественно представленными *Bacteroides*, по сравнению с ЭТ-2, в котором доминирующим родом выступали *Prevotella*. Таким образом, полученные нами данные косвенно соотносятся с ранее опубликованными исследованиями, но не позволяют использовать данные характеристики МК в качестве предсказательных критериев развития ИР в связи с отсутствием достоверности между показателями [32].

Взаимосвязь МК с показателями, оценивающими выраженность ИР, ранее не изучалась. Результаты нашей работы впервые установили наличие четырех доминирующих МК у пациентов с СД2 и определили связь МК-1 с более выраженной ИР. Следовательно, МК-1 может быть использован в качестве предсказательного критерия развития нечувствительности периферических тканей к инсулину.

4.2.2 Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции β -клеток поджелудочной железы

Стоит отметить, что дисфункция β -клеток ПЖЖ является одним из ключевых звеньев развития СД2. Таким образом, изучение влияний характеристик КМ на ухудшение или улучшение функции данных клеток позволило бы, с одной стороны, определить кишечные биомаркеры риска развития СД2, а, с другой стороны, выявить новые возможные пути предотвращения развития β -клеточной дисфункции за счёт коррекции КМ.

Нами было получено, что на β -клеточную функцию ПЖЖ влияли МК, α -разнообразие и метаболически пути синтеза бутирата (путь Acetyl-CoA) и пропионата (acrylate). Более чувствительными маркерами оценки функциональной способности β -клеток ПЖЖ являлись МК. Так по данным нашего исследования МК-3 был ассоциирован с улучшением функциональной способности, а МК-2 – с дисфункцией β -клеток ПЖЖ. Также снижение функциональной активности β -клеток ПЖЖ отмечалось по мере увеличения индексов Шеннона и Чао, а также по мере роста представленности метаболических путей синтеза бутирата (путь Acetyl-CoA) и пропионата (acrylate). Важно отметить, что более высокое значение индексов α -разнообразия, а также МК-2, по данным нашего исследования, ассоциированы с повышенной продукцией КЦЖК.

Это может указывать на то, что избыточное образование в просвете кишечника бутирата и пропионата может приводить к снижению секреции инсулина островковым аппаратом ПЖЖ.

4.2.3 Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции α -клеток поджелудочной железы

Гиперглюкагонемия - это признак дисфункции α -клеток ПЖЖ, характерный для пациентов с СД2. Касательно влияния КМ на функцию α -клеток ПЖЖ мы определили, что бактерии из типа Firmicutes ($F/V \geq 1$) ассоциированы с более выраженной гиперглюкагонемией натощак. Однако ввиду включения большого количества кишечных бактерий, обладающих различным функциональным потенциалом в тип Firmicutes, мы предполагаем, что использовать значение F/V в качестве биомаркера риска развития α -клеточной дисфункции не совсем корректно. Также в качестве предсказательных признаков развития α -клеточной дисфункции не могут выступать ЭТ, индексы α -разнообразия и метаболические пути синтеза КЦЖК, в связи с тем, что уровень глюкагона достоверно не коррелировал с вышеописанными признаками. Наиболее достоверными маркерами развития дисфункции α -клеток ПЖЖ, по данным нашего исследования, могут являться МК. Так нами было выявлено, что МК-2 по сравнению с МК-3, характеризовался наличием дисфункции α -клеток ПЖЖ и имел более высокие значения глюкагона натощак. Это определяет МК-2 как наиболее неблагоприятный с точки зрения развития гиперглюкагонемии.

4.2.4 Влияние кишечной микробиоты на развитие дисфункции L-клеток кишечника

В настоящее время большое внимание в отношении причины развития СД2 отводится инкретиновому дефекту. Именно поэтому мы оценили взаимосвязь между характеристиками КМ и уровнем ГПП-1 в крови натощак и на фоне стандартного завтрака.

Говоря про функцию L-клеток кишечника обращает на себя внимание то, что F/V , индексы α -разнообразия и метаболические пути синтеза КЦЖК не влияли на уровень ГПП-1. Напротив, достоверные различия между показателями ГПП-1 отмечались в различных ЭТ и МК. Так, ЭТ-2, по данным нашего исследования, характеризовался наибольшим постпрандиальным значением ГПП-1, ЭТ-1б обладал самым низким уровнем ГПП-1 в точке 30 мин, а ЭТ-1а характеризовался значением ГПП-1 выше, чем в ЭТ-1б, но ниже, чем в ЭТ-2. При этом важно отметить, что уровни

инсулина и глюкагона достоверно не различались между ЭТ. Это доказывает тот факт, что ЭТ влияют на функцию L-клеток кишечника и не оказывают действия на островковый аппарат ПЖЖ. Полученные нами результаты могут указывать на то, что ЭТ-2 характеризуется сохранной функциональной активностью L-клеток кишечника. Однако секретируемый этими клетками ГПП-1 не оказывает должного глюкагонопенического и инсулинопотного эффектов на уровне островкового аппарата ПЖЖ. Принимая во внимание сохранную секрецию ГПП-1 и бактериальный состав ЭТ-2, представленный преимущественно бутират-продуцирующим родом *Faecalibacterium*, а также высоким уровнем рода *Prevotella* отрицательно связанным с развитием СД2, ЭТ-2 является наиболее благоприятным с точки зрения прогрессирования данного заболевания и развития его осложнений. Напротив, ЭТ-1а и, особенно, ЭТ-1б характеризуются сниженным функциональным потенциалом L-клеток кишечника по отношению к секреции ГПП-1, что косвенно проявляется более низкими уровнями инсулина в точке 120 мин в этих ЭТ по сравнению с ЭТ-2. Стоит отметить, что ЭТ-1б характеризуется самым скудным бактериальным разнообразием на фоне высокой представленности родов *Bacteroides* и *Blautia*, связанных с развитием СД2. Таким образом, сопоставляя бактериальный состав с гормональными особенностями данного ЭТ, стоит предположить, что ЭТ-1б выступает в качестве наиболее яркого маркера развития и прогрессирования СД2 и развития осложнений данного заболевания.

Также чувствительным маркером оценки функциональной способности L-клеток кишечника по данным нашего исследования являлись МК. Так, МК-3 и МК-4 характеризовались сохранной функциональной активностью L-клеток кишечника. Стоит отметить, что данные МК представлены бактериями, отрицательно связанными с развитием СД2. МК-1 был связан со снижением секреции ГПП-1, но с сохранными эффектами данного гормона по отношению к β -клеткам ПЖЖ. Важно, что бактериальный состав МК-1 ассоциирован не только с риском развития СД2, но и с развитием ожирения и атеросклеротических ССЗ, шанс развития которых резко увеличивается при снижении секреции инкретиновых гормонов. По данным нашего исследования МК-2 обладал сохранной секрецией ГПП-1, однако гормон не осуществлял своих эффектов на уровне β -клеток ПЖЖ. Это объясняет полученные нами результаты об ассоциации МК-2 с β -клеточной дисфункцией ПЖЖ. Следовательно, в качестве маркеров развития дисфункции L-клеток кишечника на основании наших данных могут быть использованы ЭТ и МК.

Суммируя влияние КМ на патогенетические механизмы развития СД2 хочется отметить, что наиболее чувствительными кишечными биомаркерами оценки функциональной способности клеток островкового аппарата ПЖЖ и L-клеток кишечника являются ЭТ, МК, индексы α -разнообразия и метаболические пути синтеза КЦЖК. Так по данным нашего исследования МК-

2 был ассоциирован с дисфункцией α - и β -клеток ПЖЖ, а МК-3 с сохранной функциональной способностью клеток островкового аппарата ПЖЖ и L-клеток кишечника.

Что касается функционального потенциала островкового аппарата ПЖЖ, стоит предположить, что избыточное образование в просвете кишечника КЦЖК может приводить как к дисфункции α -клеток ПЖЖ (при $F/V \geq 1$), так и к дисфункции β -клеток ПЖЖ (при высоких значениях α -разнообразия, при высокой представленности метаболических путей синтеза бутирата и пропионата). Так, гиперпродукция КЦЖК может приводить к резкому увеличению концентрации жирных кислот в кровотоке, возникновению ИР, и как следствие, к прогрессивному развитию дисфункции островкового аппарата ПЖЖ [127].

Сохранная функциональная активность L-клеток кишечника отмечалась в ЭТ-2, в котором доминирующим родом бактерий являются *Prevotella*, отрицательно связанные с риском развития СД2. Напротив, дисфункция L-клеток была характерна для ЭТ-1б, обладающего самым скудным микробным разнообразием и высокой численностью рода *Blautia*. Важно отметить, что наше исследование является первым в мире, в котором оценивался функциональный потенциал клеток островкового аппарата ПЖЖ и L-клеток кишечника в зависимости от характеристик КМ. Следовательно, полученные нами данные являются уникальными и подлежат последующему более глубокому изучению.

4.3 Влияние кишечной микробиоты на клинические характеристики пациентов с впервые выявленным СД2

С целью определения влияний КМ на клинические характеристики пациентов с впервые выявленным СД2, мы оценили взаимосвязь основных микробиотических характеристик (F/V , ЭТ, МК, индексы α -разнообразия и метаболические пути синтеза бутирата и пропионата) с антропометрическими показателями (ИМТ, ОТ, ОБ, ОТ/ОБ), а также с показателями углеводного (ГПН, HbA1c) и липидного (ОХ, ЛПНП, ТГ, ЛПВП) обменов.

4.3.1 Влияние кишечной микробиоты на антропометрические характеристики пациентов с впервые выявленным СД2

Стоит отметить, что ведущими факторами риска развития СД2 являются избыточная масса тела или ожирение, а также ОТ более 94 см у мужчин и более 88 см у женщин [164].

Следовательно, в нашем исследовании мы определили влияние основных характеристик КМ на ИМТ, ОТ, ОБ и ОТ/ОБ для лучшего понимания роли кишечных бактерий в развитии углеводных нарушений.

При оценке влияния F/V на значения ИМТ и ОТ было выявлено, что доминирование типа *Bacteroidetes* ($F/V < 1$) ассоциировано с более высокими показателями ИМТ, ОТ и ОТ/ОБ. Наши данные согласуются с ранее опубликованным исследованием Schwartz и соавт., в котором развитие ожирения также было связано с увеличением типа *Bacteroidetes* и снижением типа *Firmicutes* [184]. Однако важно отметить, что в большинстве опубликованных результатов, наоборот, тип *Firmicutes* был ассоциирован с риском развития ожирения [185, 186, 187]. Наличие разрозненных данных говорит о том, что в настоящее время не представляется возможным использовать F/V в качестве маркера риска развития ожирения как одного из ключевых факторов возникновения ИР и углеводных нарушений.

Достоверных различий в показателях ИМТ, ОТ, ОБ, ОТ/ОБ в зависимости от ЭТ выявлено не было. Следовательно, ЭТ не оказывали существенного влияния на динамику массы тела у пациентов с впервые выявленным СД2. Однако среди пациентов, имеющих ЭТ-1б по сравнению с пациентами, имеющими ЭТ-1а отмечалось более высокое значение ОТ/ОБ: $1,01 \pm 0,02$ (95% ДИ 0,98 - 1,05) против $0,97 \pm 0,01$ (95% ДИ 0,95 - 0,99), достоверность не подтверждена. Полученные нами данные указывают на то, что ЭТ-1б, обладающий скудным кишечным разнообразием по сравнению с ЭТ-1а, имел более высокий риск развития абдоминального ожирения. Важно отметить, что по результатам нашего исследования ЭТ-1б также характеризовался снижением секреции ГПП-1, что косвенно может объяснять причину более высокого риска развития абдоминального ожирения в данном ЭТ. Тем не менее важно отметить, что в нашем исследовании среди пациентов с впервые выявленным СД2 не было выявлено ЭТ *Ruminococcus*, представители которого (преимущественно *Firmicutes*) способствуют набору массы тела за счет улучшения поглощения глюкозы колоноцитами и активации транспорта КЦЖК в кровотока [190]. Это может частично объяснять отсутствие существенного влияния ЭТ на динамику массы тела пациентов. Более того, полученные нами данные о связи ЭТ-1б с более высоким ОТ/ОБ по сравнению с ЭТ-1а не может расцениваться как достоверный признак ассоциации данного ЭТ с риском развития ожирения из-за того, что в настоящее время ставится под сомнение ранее выдвинутая концепция об устойчивости ЭТ в течение жизни пациентов [191]. Также важно отметить, что метод кластеризации, по средством которого бактерии распределяются между ЭТ имеет ряд ограничений в связи с чем одни и те же рода бактерий могут присутствовать в разной пропорции во всех выявленных ЭТ. Совокупность всех вышеописанных факторов ограничивает использование ЭТ как кишечного биомаркера развития не только ожирения, но и углеводных нарушений.

При сравнении антропометрических показателей между основными четырьмя МК было выявлено, что МК-1 и МК-3 были ассоциированы с развитием ожирения в то время, как МК-2 и МК-4 обладали более низкими ИМТ. Так, МК-1 по данным нашего исследования характеризовался не только достоверно более высоким ИМТ, но и более низким уровнем постпрандиального ГПП-1, а также высокой представленностью родов *Bacteroides* и *Blautia*, ассоциированных не только с развитием СД2, но и с ожирением. Таким образом, совокупность бактериального состава и гормональных особенностей МК-1 определяет данный МК как наиболее неблагоприятный с точки зрения развития ожирения, что подтверждает выдвинутое ранее нами предположение о связи бактериального состава МК-1 с развитием СД2 у пациентов, имеющих ИМТ > 30 кг/м².

МК-2 отличался от МК-1 более низким значением ИМТ. Также в МК-2 по сравнению с МК-1 отмечалась тенденция к более низким значениям ОТ и ОБ. Вероятно, более низкие антропометрические показатели в МК-2 объясняются тем, что МК-2 помимо бактерий, ассоциированных с повышенным риском развития СД2 представлен родом *Christensenella*, связанным с нормальным ИМТ. Более того по данным нашего исследования МК-2 характеризовался высоким постпрандиальным значением ГПП-1, что косвенно может указывать на сохранное влияние инкретиновых гормонов на процессы центральной регуляции аппетита у данных пациентов. Следовательно, МК-2 по данным нашего исследования не был ассоциирован с развитием ожирения, что подтверждает ранее выдвинутое нами предположение о том, что у пациентов с доминирующим МК-2 ожирение не имеет ведущей роли в патогенезе СД2.

МК-3, как и МК-1, был ассоциирован с высоким ИМТ, равным 32,68 кг/м² [27,72; 36,05], а также более высокими показателями ОТ, ОБ и ОТ/ОБ. Однако бактериальный состав данного МК не характеризовался наличием бактерий, положительно связанных с развитием ожирения. Более того, МК-3 был широко представлен родом *Sutterella*, ассоциированным с увеличением ЛПВП в крови. Также стоит отметить, что данный МК состоял как из бактерий, увеличивающих риск развития СД2 (*Alloprevotella*), так и из бактерий, снижающих риск возникновения данного заболевания (*Prevotella*, *Megamonas* и *Sutterella*). Следовательно, стоит предположить, что данный МК, хоть и был ассоциирован с развитием ожирения, но имеющееся ожирение не являлось ведущей причиной развития углеводных нарушений.

МК-4 имел более низкие показатели ИМТ, ОТ, ОБ по сравнению с МК-1 и МК-3. Тем не менее ИМТ данного МК соответствовал наличию ожирения: 30,41 кг/м² [25,83; 35]. Важно отметить, что МК-4 представлен преимущественно бутират-продуцирующими бактериями, что может определять данный МК как наиболее благоприятный с точки зрения развития ожирения и СД2. Развитие ожирения в данном МК вероятно не является ведущей причиной возникновения углеводных нарушений.

Таким образом, наиболее значимыми маркерами риска развития ожирения по данным нашего исследования являлись МК-1, МК-2 и МК-3. При этом МК-1 и МК-3 были связаны с развитием ожирения, а МК-2 - со снижением риска развития данного патологического состояния.

Наличие слабой корреляционной связи между индексами Шеннона и Чао и ИМТ, ОТ, ОТ/ОБ, наличие корреляции между представленностью только одного из имеющихся семи метаболических путей синтеза бутирата и пропионата с ИМТ, а также отсутствие ранее опубликованных исследований, в которых бы оценивалась роль α -разнообразия и метаболических путей синтеза КЦЖК в развитии ожирения не дают основания говорить о роли данных характеристик КМ в контроле массы тела пациентов.

Подводя итог, хочется отметить, что в настоящее время не представляется возможным использовать F/B, ЭТ, индексы α -разнообразия и относительные значения метаболических путей синтеза бутирата и пропионата в качестве предикторов риска развития абдоминального ожирения. Тем не менее, по данным нашего исследования получены результаты о влиянии МК на ИМТ. Таким образом, мы впервые в мире определили роль МК в развитии ожирения и установили, что МК-1 и МК-3 по сравнению с МК-2 ассоциированы с более высоким ИМТ.

4.3.2 Влияние кишечной микробиоты на показатели углеводного обмена у пациентов с впервые выявленным СД2

С целью оценки влияний КМ на развитие СД2 проводилось исследование связи основных характеристик КМ с ключевыми показателями углеводного обмена (ГПН и HbA1c), используемыми для подтверждения диагноза СД2 [164].

Полученные нами данные указывают на то, что в настоящее время F/B, ЭТ, МК, относительные значения индексов α -разнообразия не позволяют предсказать риск развития СД2. Тем не менее, в ранее опубликованном исследовании была подтверждена положительная связь ЭТ *Bacteroides* и отрицательная связь ЭТ *Prevotella* с показателями углеводного обмена [32]. Важно отметить, что в исследовании Jiājia и соавт., ЭТ *Bacteroides* не был кластеризован на два подтипа как это было сделано в нашем исследовании. Имеющееся различие не дает возможности к сопоставлению полученных нами результатов с результатами исследования Jiājia и соавт. [32]. Таким образом, на основании полученных нами данных мы не можем использовать ЭТ в качестве кишечных биомаркеров развития СД2. Необходимо более детальное изучение связи ЭТ с показателями ГПН и HbA1c.

Касательно МК стоит подчеркнуть, что в МК, представленных бактериями, положительно ассоциированными с риском развития СД2 (МК-1 и МК-2) показатели углеводного обмена были

несколько выше, чем в МК, имеющих в своем составе бактерии, отрицательно связанные с возникновением СД2 (МК-3 и МК-4). Вероятно, достоверность не была получена из-за малого количества пациентов в исследовательских группах. Необходимо проведение последующих исследований, результаты которых позволили бы более точно определить возможность использования МК в качестве предикторов более высоких уровней ГПН и HbA1c.

Единственной характеристикой КМ, ассоциированной с гипергликемией, по данным нашего исследования, является относительная представленность метаболических путей синтеза бутирата и пропионата. Так в нашем исследовании была выявлена прямая связь между такими метаболическими путями синтеза бутирата как 4-aminobutyrate/ Succinate и Acetyl-CoA и уровнями ГПН и HbA1c. Более того прямая корреляция отмечалась между глутаратным путем синтеза бутирата, акрилатным путем синтеза пропионата и уровнем HbA1c. Следовательно, увеличение относительных значений путей продукции, в большей степени, бутирата и, в меньшей степени, пропионата вероятно ассоциировано с риском развития СД2. Таким образом, стоит предположить, что гиперактивация продукции КЦЖК КМ может приводить к развитию гипергликемии. С другой стороны, важно понимать, что резкое снижение продукции КЦЖК, по данным литературы, может приводить к снижению выработки инкретиновых гормонов, дисфункции механизма «кишечник-мозг-периферия», нарушению контроля центральной регуляции аппетита, что также может быть ассоциировано с возникновением СД2. Таким образом, мы предполагаем наличие U-образного влияния КЦЖК на развитие гипергликемии и СД2.

Стоит отметить, что исследований, оценивающих связь метаболических путей синтеза КЦЖК с показателями углеводного обмена ранее не проводилось. Наше исследование является первым в мире, показывающим связь функционального потенциала, а не бактериального состава КМ с уровнем HbA1c.

4.3.3 Влияние кишечной микробиоты на показатели липидного обмена у пациентов с впервые выявленным СД2

Оценка липидного спектра у пациентов с СД2 является важнейшей задачей в связи с тем, что, с одной стороны, на основании значения ЛПНП можно предположить характер выраженности атеросклеротического процесса и риск развития как макрососудистых, так и микрососудистых осложнений, а с другой стороны, по уровню ТГ можно оценить выраженность липотоксичности, влияющей на функциональную активность островкового аппарата ПЖЖ и способствующей прогрессированию данного заболевания [172, 173, 192]. В проведенном нами

исследовании мы определили характер динамики липидного спектра в зависимости от основных характеристик КМ для того, чтобы установить какие характеристики КМ влияют на развитие атеросклеротического процесса, а какие в большей степени связаны с липотоксичностью.

В нашем исследовании достоверных различий показателей липидного спектра в зависимости от F/V выявлено не было. Тем не менее среди пациентов с $F/V < 1$ отмечался более высокий уровень ТГ, что может указывать на более выраженную липотоксичность среди данной когорты пациентов. Ранее мы определили, что $F/V < 1$ по сравнению с $F/V \geq 1$ характеризуется более высокими показателями ИМТ. Также мы выявили более высокие значения индекса НОМА-IR среди пациентов с доминированием бактерий из типа *Bacteroidetes*. Суммируя выше сказанное напрашивается вывод о том, что по данным нашего исследования тип *Bacteroidetes* в большей степени, чем тип *Firmicutes* ассоциирован с возникновением абдоминального ожирения, являющегося триггером развития ИР и липотоксичности, которые в свою очередь приводят к углеводным нарушениям. Выше мы описывали, что в настоящее время имеются дискордантные данные о влиянии типа *Bacteroidetes* и типа *Firmicutes* на развитие абдоминального ожирения. Вероятно, это связано с этническими и генетическими особенностями, характером питания жителей различных регионов, в результате чего бактериальное разнообразие внутри типов бактерий существенно различается и меняет функциональный потенциал целого филума бактерий. Таким образом, по всей видимости, ориентироваться на F/V как на маркер риска развития абдоминального ожирения, ИР, липотоксичности и СД2 в настоящее время не представляется возможным. Необходимо определять биомаркеры на более низком таксономическом уровне.

Несмотря на то, что на уровне ЭТ достоверных различий между уровнями ТГ выявлено не было, обращают на себя внимание более низкие показатели ТГ в ЭТ-2 по сравнению с другими ЭТ. В нашем исследовании ЭТ-2 представлен преимущественно родом *Prevotella*, отрицательно связанным с развитием углеводных нарушений в то время, как в ЭТ-1а и ЭТ-1б доминантным родом бактерий являются *Bacteroides*, ассоциированные с риском возникновения СД2. Также важно отметить, что в нашем исследовании индекс НОМА-IR в ЭТ-2 по сравнению с ЭТ-1а и ЭТ-1б имел более низкое значение, однако достоверность не была подтверждена. Совокупность имеющихся данных дает основание полагать, что ЭТ-2 в отличие от ЭТ-1а и ЭТ-1б характеризуется более низким риском развития ИР и липотоксичности, однако для подтверждения данного предположения необходимо проведение исследований на группах пациентов с ранними углеводными нарушениями, что позволило бы установить более точную связь между ЭТ и риском развития нечувствительности периферических тканей к инсулину и следствию этого процесса – липотоксичности.

Также говоря про липидный профиль пациентов на уровне ЭТ обращает на себя внимание то, что ЭТ-1б в отличие от ЭТ-1а характеризуется более высоким уровнем ЛПНП.

Следовательно, пациенты с доминированием ЭТ-1б имеют более высокий риск развития атеросклеротических ССЗ. Важно отметить, что ЭТ-1б характеризуется высоким уровнем рода *Blautia* на фоне скудной представленности бутират-продуцирующих бактерий. Род *Blautia* в свою очередь ассоциирован с развитием как углеводных нарушений, так и ССЗ атеросклеротического генеза. Более того, ЭТ-1б в отличие от других ЭТ характеризуется минимальным постпрандиальным уровнем ГПП-1, являющимся кардиопротектором и вазодилататором. Следовательно, наиболее обедненный кишечными представителями ЭТ-1б по всей видимости связан с возникновением атеросклероза и ССЗ. Однако необходимо проведение ряда исследований, которые смогли бы подтвердить полученные нами выводы.

На уровне межродовых взаимодействий обращает на себя внимание то, что МК-1 в отличие от МК-2 характеризуется достоверно более высоким уровнем ТГ, а значит, более выраженной липотоксичностью. Важно отметить, что по данным нашего исследования, для МК-1 в отличие от МК-2 свойственны более высокий ИМТ и ОТ и более высокий индекс НОМА-IR несмотря на то, что показатели углеводного обмена сопоставимы между данными МК. Можно предположить, что наличие более выраженной липотоксичности в МК-1 объясняется тем, что пациенты, у которых доминирует данный МК, имеют абдоминальное ожирение и ИР жировой ткани, которая и определяет развитие липотоксичности, приводящей к распространению нечувствительности тканей к инсулину на другие метаболически активные ткани. В свою очередь для пациентов с доминированием МК-2 характерны более низкий ИМТ, наименьший уровень индекса НОМА-IR по сравнению с другими МК и, соответственно, менее выраженная липотоксичность, что подтверждается более низким уровнем ТГ в данном МК. Также важно отметить, что МК-2 в отличие от МК-1 представлен не только бактериями, положительно связанными с риском развития СД2, но и бактериями (род *Christensenella*) ассоциированными с нормальным ИМТ. Следовательно, на основании доминирующих МК возможно описать фенотип пациентов с СД2. Так пациенты с доминированием МК-1 характеризуются наличием абдоминального ожирения и более выраженной ИР, являющейся, по всей видимости, первопричиной развития СД2 в то время, как пациенты с высокой представленностью МК-2 имеют низкий риск развития ожирения, ИР и липотоксичности. Развитие СД2 среди когорты с доминантным МК-2 вероятно связано с выраженной дисфункцией островкового аппарата ПЖЖ, что подтверждается более низкими уровнями инсулина натощак и постпрандиального инсулина и более высоким уровнем глюкозы натощак по сравнению с МК-3.

Что касается функциональных характеристик КМ и риска развития дислипидемии, важно отметить, что α -разнообразие и метаболические пути синтеза КЦЖК не коррелировали с показателями липидного спектра. Тем не менее данных проведенного исследования

недостаточно для того, чтобы установить отрицательную роль индексов Шеннона и Чао, а также метаболических путей синтеза бутирата и пропионата в развитии липидных нарушений.

Таким образом, наиболее чувствительными маркерами развития липидных нарушений у пациентов с впервые выявленным СД2 являются ЭТ и МК. При этом ЭТ-16 ассоциирован с высоким уровнем ЛПНП и риском развития атеросклеротических ССЗ в то время, как ЭТ-2 и МК-1 связаны с гипертриглицеридемией и, соответственно, с липотоксичностью, приводящей к возникновению СД2.

4.4 Влияние кишечной микробиоты на эффективность проводимой сахароснижающей терапии

Согласно Алгоритмам специализированной помощи больным СД, эффективность ССТ оценивается по уровню HbA1c через 3-6 месяцев после старта лечения [164]. В нашем исследовании мы определяли уровень HbA1c через 3 месяца после инициации ССТ. В дальнейшем мы проводили сравнение полученных значений HbA1c на фоне различных групп ССП с характеристиками КМ для того, чтобы определить какие параметры КМ влияют на эффективность проводимого лечения.

Стоит отметить, что F/B предсказывает характер динамики HbA1c на фоне терапии метформином, но не на фоне других ССП. Так среди пациентов, получающих монотерапию метформином была выявлена прямая зависимость между соотношением F/B и Δ HbA1c ($r=0,452$, $p < 0,05$). Это говорит о том, что более высокий уровень типа Bacteroidetes у пациентов с впервые выявленным СД2 улучшает сахароснижающую способность метформина. Вероятно, более высокая эффективность терапии метформином при F/B <1 объясняется тем, что доминирование типа Bacteroidetes по сравнению с доминированием Firmicutes среди пациентов с впервые выявленным СД2 по данным нашего исследования было ассоциировано с более высокими значениями индекса НОМА-IR, ИМТ и ОТ и более высоким уровнем ТГ, а, следовательно, и с более выраженной ИР, на коррекцию которой направлено основное действие бигуанидов. В отличие от метформина, терапия метформин+иНГЛТ-2, метформин+арГПП-1, метформин+иДПП-4 и метформин+иДПП-4+инсулин гларгин 300 ЕД-мл не была ассоциирована с наличием каких-либо достоверных корреляций между Δ HbA1c и F/B. Таким образом, полученные нами данные не исключают роль F/B в оценке эффективности ССТ, однако указывают на необходимость определения влияний КМ на сахароснижающую способность противодиабетических препаратов на более низком таксономическом уровне: на уровне рода

(ЭТ), на уровне межродовых взаимодействий (МК), на уровне метаболического потенциала КМ (α -разнообразие и метаболические пути синтеза КЦЖК).

Несмотря на ряд выявленных закономерностей, в настоящее время трудно использовать классификацию КМ по ЭТ в качестве предсказательной модели эффективности наиболее часто используемых комбинаций ССТ в дебюте СД2 в связи с тем, что достоверных различий Δ HbA1c между ЭТ в зависимости от групп ССП выявлено не было. Тем не менее важно отметить, что на фоне терапии метформином минимальная Δ HbA1c отмечалась в ЭТ-1а, что указывает на наименьшую эффективность бигуанидов среди пациентов с доминированием данного ЭТ. Вероятно, более низкий темп снижения HbA1c на фоне терапии метформином в ЭТ-1а объясняется менее выраженной ИР на фоне более низких значений ИМТ и ОТ в ЭТ-1а по сравнению с другими ЭТ.

Среди пациентов получающих терапию метформин+иНГЛТ-2 было получено, что ЭТ-1б по сравнению с ЭТ-1а и ЭТ-2 характеризовался наименьшей Δ HbA1c, и, следовательно, более низкой сахароснижающей способностью данной комбинации, однако достоверность также не была подтверждена.

Что касается комбинированной терапии метформина с препаратами инкретинового ряда, обращает на себя внимание более низкая Δ HbA1c в ЭТ-2 по сравнению с другими ЭТ на фоне терапии метформин+арГПП-1 и более высокая Δ HbA1c в ЭТ-2 по сравнению с другими ЭТ на фоне терапии метформин+иДПП-4. Стоит отметить, что по нашим данным ЭТ-2 характеризуется наибольшим уровнем ГПП-1 в точке 30 мин по сравнению с другими ЭТ, а также отсутствием влияний ГПП-1 на динамику снижения глюкозы в точке 30 мин. и увеличения уровня инсулина в точке 120 мин. Таким образом, причина наименьшей эффективности терапии метформин+арГПП-1 в ЭТ-2 по сравнению с другими ЭТ по-видимому объясняется отсутствием должного ответа островкового аппарата ПЖЖ на эффекты ГПП-1. С другой стороны, стоит предположить, что причина более высокой эффективности терапии метформин+иДПП-4 в ЭТ-2 заключается в наибольшем уровне ГПП-1 в данном ЭТ по сравнению с другими ЭТ и пролонгировании эффектов уже выделенного L-клетками гормона во времени на фоне терапии иДПП-4.

Стоит отметить, что более низкая эффективность терапии метформин+иДПП-4+инсулин гларгин 300 ЕД/мл отмечалась в ЭТ-1а, так как в данном ЭТ по сравнению с другими ЭТ отмечалась наименьшая Δ HbA1c, равная -4,65 [-5,75; -2,45].

Таким образом, выявленные нами закономерности пусть и не позволяют в настоящее время использовать ЭТ в качестве биомаркеров эффективности стартовой ССТ, но определяют необходимость дальнейшего изучения связи ЭТ с сахароснижающей способностью противодиабетических препаратов.

МК влияют на эффективность большинства наиболее часто используемых групп ССП в дебюте СД2. При этом наиболее чувствительными МК в отношении влияний на сахароснижающую способность ССП являются МК-3 и МК-4. Так, МК-3 ассоциирован с улучшением сахароснижающего эффекта метформина, но с ухудшением эффективности комбинированной терапии метформин+арГПП-1. Вероятно, улучшение сахароснижающей способности на фоне МК-3 объясняется выраженной ИР, на коррекцию которой направлен механизм действия бигуанидов. Снижение эффективности комбинации метформин+арГПП-1 у пациентов с доминированием МК-3 предположительно объясняется действием ГПП-1, направленным на коррекцию инкретинового дефекта, который наименее выражен в МК-3 по сравнению с другими МК.

В отношении МК-4 хочется отметить, что МК-4 был ассоциирован с улучшением сахароснижающей способности метформина, но ухудшением эффективности терапии метформин+иНГЛТ-2. По-видимому, меньшая эффективность терапии метформином в МК-4 по сравнению с МК-3 объясняется тем, что МК-4, по данным нашего исследования, характеризуется более низкими показателями НОМА-IR, ОТ и, следовательно, менее выраженной ИР, на которую, в первую очередь, влияет данный ССП. Предположить механизм, на основании которого МК-4 влияет на эффективность иНГЛТ-2 в настоящее время не представляется возможным, однако скорее всего улучшение сахароснижающего эффекта связано с действием кишечных представителей МК-4 на экспрессию и функциональную активность НГЛТ-1, расположенных в кишечнике.

Таким образом, полученные нами данные указывают на возможность использования МК в качестве предикторов оценки эффективности стартовой ССТ.

При оценке влияний показателей α -разнообразия на эффективность проводимой ССТ, каких-либо достоверных корреляций между индексами Шеннона и Чао и Δ HbA1c на фоне различных групп противодиабетических препаратов выявлено не было, что исключает возможность использования α -разнообразия в качестве предиктора оценки эффективности стартовой ССТ.

Что касается оценки роли метаболических путей синтеза КЦЖК в эффективности стартовой ССТ было выявлено, что метаболические пути синтеза бутирата и пропионата не влияли на эффективность терапии метформин+иНГЛТ-2, метформин+арГПП-1, метформин+иДПП-4, метформин+иДПП-4+инсулин гларгин 300 ЕД/мл. Однако различные метаболические пути синтеза бутирата и пропионата по-разному влияли на динамику снижения HbA1c на фоне монотерапии метформином. Так, обратная корреляционная связь была выявлена между Δ HbA1c и Glutarate ($r = -0,459$, $p < 0,05$), Succinate a ($r = -0,575$, $p < 0,05$) и Succinate b ($r = -0,656$, $p < 0,05$). Прямая корреляционная связь отмечалась между propanediol и Δ HbA1c ($r = 0,566$,

$p < 0,05$). Следовательно, увеличение представленности пути Glutarate, ответственного за синтез бутирата и путей Succinate a и Succinate b, связанных с синтезом пропионата, улучшали темп снижения HbA1c среди лиц, получающих терапию метформином. В случае, если увеличивалось относительное значение пути propanediol (синтез пропионата), отмечался рост уровня HbA1c на фоне терапии метформином. В настоящее время не представляется возможным ответить на вопрос, почему разные метаболические пути синтеза бутирата и пропионата противоположно влияют на эффективность бигуанидов. При этом на эффективность других ССП метаболические пути синтеза КЦЖК влияний не оказывают, что ограничивает их использование в качестве предикторов оценки эффективности ССТ.

Таким образом, наибольшее влияние КМ оказывает на сахароснижающую способность метформина: на улучшение эффективности терапии метформином в отношении снижения HbA1c оказывают значения F/B, представленность МК-3 и МК-4, относительные показатели метаболических путей Glutarate, Succinate a, Succinate b и propanediol. В меньшей степени КМ влияет на эффективность терапии метформин+иНГЛТ-2 и метформин+арГПП-1. При этом стоит отметить, что в настоящее время в качестве предиктора эффективности стартовой ССТ стоит использовать МК, которые влияли на эффективность большинства наиболее часто используемых комбинаций ССП в дебюте СД2.

В большинстве случаев объяснением наличия связи КМ с эффективностью ССП являются гормональные и клинические особенности конкретных микробных сообществ. Следовательно, за счёт определения роли КМ на развитие дефекта одного из ключевых звеньев патогенеза СД2 по-видимому можно предположить влияние кишечных бактерий на эффективность ССП. Важно отметить, что полученные нами данные являются первыми в мире, что определяет необходимость дальнейшего изучения взаимосвязи КМ с эффективностью стартовой ССТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование является первым исследованием в России, в котором наиболее полно описан таксономический состав КМ пациентов с манифестным СД2 ранее не получавших ССТ. Наши результаты указывают на то, что для данной когорты пациентов не характерны существенные отличия в составе КМ на уровне типа, класса, отдела и семейства, но свойственны изменения бактериального состава на уровне рода и вида по сравнению с данными наиболее крупных опубликованных исследований, проведенных на здоровых выборках пациентов (MetaHIT и HMP). Тем не менее, мы не можем достоверно определить насколько полученные нами данные отличаются от состава КМ здоровой популяции из-за отсутствия масштабного описания состава КМ на примере российской выборки пациентов. Важно отметить, что из-за богатства кишечного многообразия мы разработали модель описания КМ через систему доминирующего типа бактерий (F/B), рода бактерий (ЭТ), межродовых взаимодействий (МК), функционального и метаболического потенциала КМ (α -разнообразие и метаболические пути синтеза бутирата и пропионата). На основании данной модели мы идентифицировали три ЭТ, при этом ранее описанный ЭТ *Bacteroides* был кластеризован на два подтипа. Также мы впервые в мире определили количество и бактериальный состав МК у пациентов с впервые выявленным СД2 и отметили, что у пациентов с СД2 отсутствует один из ключевых путей синтеза бутирата, *acrylate*, что косвенно указывает на снижение продукции бутирата КМ, свойственной для пациентов с впервые выявленным СД2.

Помимо описания таксономического состава КМ, мы определили взаимосвязь КМ с основными патогенетическими звеньями развития СД2, а также с клинико-лабораторными характеристиками пациентов, имеющих данное заболевание. По нашим результатам МК-1 был ассоциирован с риском развития ИР. Касательно функциональной способности островкового аппарата ПЖЖ и L-клеток кишечника было выявлено, что наиболее чувствительным маркером дисфункции α - и β клеток ПЖЖ являлся МК-2, в то время, как ЭТ-16 и МК-1 были ассоциированы с дисфункцией L-клеток кишечника. Более того стоит отметить, что избыточное образование в просвете кишечника КЦЖК также приводило к дисфункции α -клеток ПЖЖ (при $F/B \geq 1$) и β -клеток ПЖЖ (при высоких значениях α -разнообразия, при высокой представленности метаболических путей синтеза бутирата и пропионата). Полученные нами данные являются первыми в России и в мире. Это определяет необходимость проведения дальнейших исследований, которые позволили бы подтвердить или опровергнуть полученные нами результаты.

Что касается влияний КМ на антропометрические показатели, показатели углеводного и липидного обмена, было выявлено, что МК-1 и МК-3 по сравнению с МК-2 ассоциированы с более высоким ИМТ; МК-1 и МК-2 по сравнению с МК-3 и МК-4, а также более высокая представленность метаболических путей синтеза бутирата и пропионата связаны с более выраженными повышениями ГПН и HbA1c; ЭТ-16 ассоциирован с высоким уровнем ЛПНП и риском развития атеросклеротических ССЗ в то время, как МК-1 связан с липотоксичностью, приводящей к возникновению углеводных нарушений.

Таким образом, наиболее чувствительной характеристикой КМ в отношении дисфункции островкового аппарата ПЖЖ и L-клеток кишечника, массы тела, показателей углеводного и липидного обмена являются МК. При этом на основании проведенного исследования представляется возможным использовать МК в качестве предикторов развития СД2. Более того, на основании доминирующего МК представляется возможным предсказывать клинико-лабораторные и гормональные особенности заболевания, которые необходимо учитывать при персонализации терапии пациентов с впервые выявленным СД2.

Описательная характеристика МК и предполагаемый фенотип пациентов в зависимости от доминирующего МК представлены в Таблице 50.

Таблица 50. Характеристика доминирующих МК

МК	Клинико-лабораторные особенности СД2	Гормональные особенности СД2	Фенотип
МК-1	Выраженная гипергликемия и гипертриглицеридемия	Инсулино-резистентность. Дефект L-клеток.	– Пациенты с СД2 и ожирением.
МК-2	Выраженная гипергликемия	Дисфункция α - и β -клеток ПЖЖ	– Пациенты с СД2 худощавого телосложения.
МК-3	«Лёгкая» гипергликемия	-	– Пациенты с ожирением и высокой вероятностью наличия СД2.
МК-4	«Лёгкая» гипергликемия	-	-

Что касается влияний КМ на эффективность ССТ, хочется отметить, что КМ по большей части оказывает действие на сахароснижающую способность метформина. В меньшей степени КМ влияет на эффективность терапии метформин+иНГЛТ-2 и метформин+арГПП-1. При этом стоит отметить, что наиболее достоверными маркерами эффективности ССТ являются МК-3 и МК-4.

Полученные нами данные о таксономическом составе КМ пациентов с впервые выявленным СД2, проживающих в г. Москве, а также о влияниях основных характеристик КМ на патогенетические звенья развития СД2, на клинико-лабораторные данные и эффективность стартовой ССТ являются уникальными, что определяет необходимость проведения дальнейших исследований, которые позволили бы более детально и глубоко изучить роль КМ в развитии СД2, предсказании риска прогрессирования данного заболевания и предсказании эффективности ССТ.

ВЫВОДЫ

1. Таксономический состав кишечной микробиоты у пациентов с впервые выявленным СД2 характеризуется высоким видовым разнообразием бактерий и преобладанием на родовом уровне *Bacteroides*, *Alistipes* и *Blautia*. На основании определения доминирующего рода бактерий выявлены три специфических энтеротипа: энтеротип-1а, энтеротип-1б, энтеротип-2, которые можно использовать в качестве прогностического критерия риска развития и прогрессирования заболевания.
2. На основании анализа функциональной и метаболической активности преобладающих бактерий, описаны четыре специфических для СД2 «микробиотических кооператива», которые определяют клинико-лабораторные и гормональные особенности заболевания, а также обладают высокой предсказательной значимостью в отношении прогноза развития и прогрессирования СД2: «микробиотические кооперативы-1 и -2» ассоциированы с высоким риском, «микробиотический кооператив-3» – со средним риском; «микробиотический кооператив-4» – с низким риском.
3. Доказана патогенетическая роль кишечной микробиоты в развитии СД2: «микробиотический кооператив-1» ассоциирован с развитием тканевой инсулинорезистентности и дисфункции L-клеток кишечника, а «микробиотический кооператив-2» связан с дисфункцией α - и β -клеток островкового аппарата поджелудочной железы.
4. Характерные для СД2 энтеротипы и «микробиотические кооперативы» не оказывали прямого влияния на уровни глюкозы плазмы натощак и HbA_{1c}, однако были ассоциированы с показателями липидного обмена: энтеротип-1б - с высоким уровнем ЛПНП, а «микробиотический кооператив-1» - с высоким уровнем триглицеридов и липотоксичностью.
5. «Микробиотические кооперативы -1 и -3» чаще определялись у пациентов с СД2 и ожирением, в то время как «микробиотический кооператив-2» был характерен для пациентов с СД2 без ожирения, однако прямого влияния энтеротипов или «микробиотических кооперативов» на висцеральный тип жировоголожения выявлено не было.
6. «Микробиотические кооперативы» влияют на эффективность стартовой сахароснижающей терапии: «микробиотический кооператив -3» ассоциирован с высокой эффективностью монотерапии метформином и низкой эффективностью его комбинации с арГПП-1 тогда, как «микробиотический кооператив-4» связан с низкой эффективностью монотерапии метформином и высокой эффективностью его комбинации с иНГЛТ-2.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Определение доминирующих энтеротипов и «микробиотических кооперативов» может быть использовано при оценке риска развития и прогрессирования СД2: энтеротип-1б и «микробиотические кооперативы -1 и -2» ассоциированы с высоким риском; энтеротип-1а и «микробиотический кооператив-3» – со средним риском; энтеротип-2 и «микробиотический кооператив-4» – с низким риском.

При анализе результатов 16S рРНК секвенирования кишечного метагенома у пациентов с впервые выявленным СД2 рекомендуется выявлять доминирующий «микробиотический кооператив», определяющий фенотипические, клинико-лабораторные и гормональные особенности заболевания, на основании комплексной оценки которых осуществляется выбор стартовой сахароснижающей терапии.

При персонализации сахароснижающей терапии у пациентов с впервые выявленным СД2 рекомендовано рассматривать «микробиотический кооператив-3» как дополнительный прогностический критерий высокой эффективности монотерапии метформином и низкой эффективности его комбинации с арГПП-1, а также «микробиотический кооператив-4» как дополнительный маркер низкой эффективности монотерапии метформином и высокой эффективности его комбинации с иНГЛТ-2.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- F/B – соотношение Firmicutes/Bacteroidetes
- FFAR – рецептор свободных жирных кислот
- FXR – рецептор Фарзеноида X
- GLUT-4 – инсулинзависимый белок-переносчик глюкозы 4 типа
- H₂S – сероводород
- HbA1c – гликированный гемоглобин
- IRAK – рецептор ИЛ-1
- NO – оксид азота
- OTU – таксономическая единица
- PXR – рецептор прегнана X
- TGR5 – мембранный рецептор жёлчных кислот 5 типа
- TLR4 – Toll-подобный рецептор 4 типа
- TRAF6 – рецептор ФНО- α
- АГ – артериальная гипертензия
- АЛТ – аланинаминотрансфераза
- АМФ – аденозинмонофосфат
- арГПП-1 – агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида-1
- АСТ – аспаратаминотрансфераза
- АТФ – аденозинтрифосфат
- ВЖК – вторичные жёлчные кислоты
- ГГНС – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система
- ГИП – глюкозозависимый инсулиноотропный полипептид
- ГМ – головной мозг
- ГПН – глюкоза плазмы натошак
- ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1
- Грам (+) – грамположительные бактерии
- Грам (-) – грамотрицательные бактерии
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
- ИБС – ишемическая болезнь сердца
- иДПП-4 – ингибиторы дипептидилпептидазы-4
- ИЛ – интерлейкин

ИМТ – индекс массы тела
иНГЛТ-2 – ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2 типа
ИР – инсулинорезистентность
КМ – кишечная микробиота
КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты
ЛПВП – липопротеины высокой плотности
ЛПНП – липопротеины низкой плотности
ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности
ЛПС – липополисахариды
МК – «микробиотический кооператив»
ОБ – окружность бедер
ОГТТ – оральная глюкозотолерантная проба
ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения
ОТ – окружность талии
ОТ/ОБ – соотношение окружности талии к окружности бедер
ОХ – общий холестерин
ПЖЖ – поджелудочная железа
ПЖК – первичная желчная кислота
ПССТ – пероральная сахароснижающая терапия
ПЦР – полимеразная цепная реакция
СД1 – сахарный диабет 1 типа
СД2 – сахарный диабет 2 типа
СКФ – скорость клубочковой фильтрации
СНС – симпатическая нервная система
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
ССП – сахароснижающие препараты
ССТ – сахароснижающая терапия
ТГ – триглицериды
ФНО- α – фактор некроза опухоли- α
ХБП – хроническая болезнь почек
цАМФ – циклический аденозинмонофосфат
ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота
ЭТ – энтеротип
ЭЭК – энтероэндокринные клетки

ГЛОССАРИЙ

α -разнообразие – отражение богатства представленных таксономических единиц в биологическом образце на конкретном филогенетическом уровне (вид) [77].

F/V – соотношение двух наиболее часто встречающихся типов бактерий: Firmicutes и Bacteroides. Является наиболее изученным маркером динамики изменения состава кишечной микробиоты [65, 66, 67, 68].

Кишечная микробиота – совокупность микроорганизмов желудочно-кишечного тракта. Наиболее часто под термином «кишечная микробиота» подразумевается сообщество бактерий толстого кишечника [49, 50].

«Микробиотический кооператив» – это устойчивое сообщество бактерий, обладающих схожим функциональным потенциалом [33, 75, 76].

Энтеротип – это устойчивый вариант микробного состава кишечника [31, 73].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. – 10-й выпуск (дополненный). – М.; 2021. doi: 10.14341/DM12802
2. Sun, Hong et al. “IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045.” *Diabetes research and clinical practice* vol. 183 (2022): 109119. doi:10.1016/j.diabres.2021.109119
3. Schwartz, Stanley S et al. “A Unified Pathophysiological Construct of Diabetes and its Complications.” *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* vol. 28,9 (2017): 645-655. doi:10.1016/j.tem.2017.05.005
4. Galicia-Garcia, Unai et al. “Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus.” *International journal of molecular sciences* vol. 21,17 6275. 30 Aug. 2020, doi:10.3390/ijms21176275
5. DeFronzo, Ralph A. “Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus.” *The Medical clinics of North America* vol. 88,4 (2004): 787-835, ix. doi:10.1016/j.mcna.2004.04.013
6. Gurung, Manoj et al. “Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology.” *EBioMedicine* vol. 51 (2020): 102590. doi:10.1016/j.ebiom.2019.11.051
7. Sharma, Sapna, and Prabhanshu Tripathi. “Gut microbiome and type 2 diabetes: where we are and where to go?.” *The Journal of nutritional biochemistry* vol. 63 (2019): 101-108. doi:10.1016/j.jnutbio.2018.10.003
8. Hugon, Perrine et al. “A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings.” *The Lancet. Infectious diseases* vol. 15,10 (2015): 1211-1219. doi:10.1016/S1473-3099(15)00293-5
9. Li, Junhua et al. “An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome.” *Nature biotechnology* vol. 32,8 (2014): 834-41. doi:10.1038/nbt.2942
10. Koh, Ara, and Fredrik Bäckhed. “From Association to Causality: the Role of the Gut Microbiota and Its Functional Products on Host Metabolism.” *Molecular cell* vol. 78,4 (2020): 584-596. doi:10.1016/j.molcel.2020.03.005
11. Federici, M. “Gut microbiome and microbial metabolites: a new system affecting metabolic disorders.” *Journal of endocrinological investigation* vol. 42,9 (2019): 1011-1018. doi:10.1007/s40618-019-01022-9
12. Parada Venegas, Daniela et al. “Corrigendum: Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases.” *Frontiers in immunology* vol. 10 1486. 28 Jun. 2019, doi:10.3389/fimmu.2019.01486

13. Salvi, Pooja S, and Robert A Cowles. "Butyrate and the Intestinal Epithelium: Modulation of Proliferation and Inflammation in Homeostasis and Disease." *Cells* vol. 10,7 1775. 14 Jul. 2021, doi:10.3390/cells10071775
14. Bilotta, Anthony J et al. "Propionate Enhances Cell Speed and Persistence to Promote Intestinal Epithelial Turnover and Repair." *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology* vol. 11,4 (2021): 1023-1044. doi:10.1016/j.jcmgh.2020.11.011
15. Rowland, Ian et al. "Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components." *European journal of nutrition* vol. 57,1 (2018): 1-24. doi:10.1007/s00394-017-1445-8
16. Kimura, Ikuo et al. "Free Fatty Acid Receptors in Health and Disease." *Physiological reviews* vol. 100,1 (2020): 171-210. doi:10.1152/physrev.00041.2018
17. He, Jin et al. "Short-Chain Fatty Acids and Their Association with Signalling Pathways in Inflammation, Glucose and Lipid Metabolism." *International journal of molecular sciences* vol. 21,17 6356. 2 Sep. 2020, doi:10.3390/ijms21176356
18. Hendriks, T, and B Schnabl. "Indoles: metabolites produced by intestinal bacteria capable of controlling liver disease manifestation." *Journal of internal medicine* vol. 286,1 (2019): 32-40. doi:10.1111/joim.12892
19. Banskota, Suhrid et al. "Serotonin in the gut: Blessing or a curse." *Biochimie* vol. 161 (2019): 56-64. doi:10.1016/j.biochi.2018.06.008
20. Salloum, Fadi N. "Hydrogen sulfide and cardioprotection--Mechanistic insights and clinical translatability." *Pharmacology & therapeutics* vol. 152 (2015): 11-7. doi:10.1016/j.pharmthera.2015.04.004
21. Гриневич В.Б., Сас Е.И. Физиологические эффекты желчных кислот // РМЖ. МЕДИЦИНСКОЕ ОБОЗРЕНИЕ. 2017. № 2. С. 87–91. Grinevich V.B., Sas E.I. Physiological effects of bile acids // RMJ. MEDICAL REVIEW. 2017. № 2. P. 87–91.
22. Pichette, Jennifer, and Jeffrey Gagnon. "Implications of Hydrogen Sulfide in Glucose Regulation: How H₂S Can Alter Glucose Homeostasis through Metabolic Hormones." *Oxidative medicine and cellular longevity* vol. 2016 (2016): 3285074. doi:10.1155/2016/3285074
23. Yabut, Julian M et al. "Emerging Roles for Serotonin in Regulating Metabolism: New Implications for an Ancient Molecule." *Endocrine reviews* vol. 40,4 (2019): 1092-1107. doi:10.1210/er.2018-00283
24. González-Regueiro, José Alberto et al. "The Role of Bile Acids in Glucose Metabolism and Their Relation with Diabetes." *Annals of hepatology* vol. 16,Suppl. 1: s3-105. (2017): 16-21. doi:10.5604/01.3001.0010.5672
25. Larsen, Nadja et al. "Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults." *PloS one* vol. 5,2 e9085. 5 Feb. 2010, doi:10.1371/journal.pone.0009085

26. Larsen, David A et al. "Barriers to insecticide-treated mosquito net possession 2 years after a mass free distribution campaign in Luangwa District, Zambia." *PloS one* vol. 5,11 e13129. 10 Nov. 2010, doi:10.1371/journal.pone.0013129
27. Zhao, Lijuan et al. "Comprehensive relationships between gut microbiome and faecal metabolome in individuals with type 2 diabetes and its complications." *Endocrine* vol. 66,3 (2019): 526-537. doi:10.1007/s12020-019-02103-8
28. Lippert, K et al. "Gut microbiota dysbiosis associated with glucose metabolism disorders and the metabolic syndrome in older adults." *Beneficial microbes* vol. 8,4 (2017): 545-556. doi:10.3920/BM2016.0184
29. Egshatyan, Lilit et al. "Gut microbiota and diet in patients with different glucose tolerance." *Endocrine connections* vol. 5,1 (2016): 1-9. doi:10.1530/EC-15-0094
30. Inoue, Ryo et al. "Prediction of functional profiles of gut microbiota from 16S rRNA metagenomic data provides a more robust evaluation of gut dysbiosis occurring in Japanese type 2 diabetic patients." *Journal of clinical biochemistry and nutrition* vol. 61,3 (2017): 217-221. doi:10.3164/jcbrn.17-44
31. Jandhyala, Sai Manasa et al. "Role of the normal gut microbiota." *World journal of gastroenterology* vol. 21,29 (2015): 8787-803. doi:10.3748/wjg.v21.i29.8787
32. Wang, Jiajia et al. "Enterotype *Bacteroides* Is Associated with a High Risk in Patients with Diabetes: A Pilot Study." *Journal of diabetes research* vol. 2020 6047145. 22 Jan. 2020, doi:10.1155/2020/6047145
33. Volokh, Olesya et al. "Human Gut Microbiome Response Induced by Fermented Dairy Product Intake in Healthy Volunteers." *Nutrients* vol. 11,3 547. 4 Mar. 2019, doi:10.3390/nu11030547
34. Maskarinec, Gertraud et al. "The gut microbiome and type 2 diabetes status in the Multiethnic Cohort." *PloS one* vol. 16,6 e0250855. 23 Jun. 2021, doi:10.1371/journal.pone.0250855
35. Zhang, Zewen et al. "Characteristics of the gut microbiome in patients with prediabetes and type 2 diabetes." *PeerJ* vol. 9 e10952. 24 Mar. 2021, doi:10.7717/peerj.10952
36. Ahmad, Aftab et al.394834 "Analysis of gut microbiota of obese individuals with type 2 diabetes and healthy individuals." *PloS one* vol. 14,12 e0226372. 31 Dec. 2019, doi:10.1371/journal.pone.0226372
37. Thingholm, Louise B et al. "Obese Individuals with and without Type 2 Diabetes Show Different Gut Microbial Functional Capacity and Composition." *Cell host & microbe* vol. 26,2 (2019): 252-264.e10. doi:10.1016/j.chom.2019.07.004
38. Doumatey, Ayo P et al. "Gut Microbiome Profiles Are Associated With Type 2 Diabetes in Urban Africans." *Frontiers in cellular and infection microbiology* vol. 10 63. 25 Feb. 2020, doi:10.3389/fcimb.2020.00063

39. Zhao, Xue et al. "The Alteration in Composition and Function of Gut Microbiome in Patients with Type 2 Diabetes." *Journal of diabetes research* vol. 2020 8842651. 11 Nov. 2020, doi:10.1155/2020/8842651
40. Que, Yanyan et al. "Gut Bacterial Characteristics of Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and the Application Potential." *Frontiers in immunology* vol. 12 722206. 12 Aug. 2021, doi:10.3389/fimmu.2021.722206
41. Umirah, Fatin et al. "Differential gut microbiota composition between type 2 diabetes mellitus patients and healthy controls: A systematic review." *Diabetes research and clinical practice* vol. 173 (2021): 108689. doi:10.1016/j.diabres.2021.108689
42. Chen, Zhangling et al. "Association of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes With Gut Microbial Diversity: A Microbiome-Wide Analysis From Population Studies." *JAMA network open* vol. 4,7 e2118811. 1 Jul. 2021, doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.18811
43. Yuan, Xingzhu et al. "Emerging trends and focus of human gastrointestinal microbiome research from 2010-2021: a visualized study." *Journal of translational medicine* vol. 19,1 327. 31 Jul. 2021, doi:10.1186/s12967-021-03009-8
44. Fassatoui, Meriem et al. "Gut microbiota imbalances in Tunisian participants with type 1 and type 2 diabetes mellitus." *Bioscience reports* vol. 39,6 BSR20182348. 18 Jun. 2019, doi:10.1042/BSR20182348
45. Balvers, Manon et al. "Analyzing Type 2 Diabetes Associations with the Gut Microbiome in Individuals from Two Ethnic Backgrounds Living in the Same Geographic Area." *Nutrients* vol. 13,9 3289. 21 Sep. 2021, doi:10.3390/nu13093289
46. Sedighi, Mansour et al. "Comparison of gut microbiota in adult patients with type 2 diabetes and healthy individuals." *Microbial pathogenesis* vol. 111 (2017): 362-369. doi:10.1016/j.micpath.2017.08.038
47. Díaz-Perdigones, Cristina Ma et al. "Gut microbiota of patients with type 2 diabetes and gastrointestinal intolerance to metformin differs in composition and functionality from tolerant patients." *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* vol. 145 (2022): 112448. doi:10.1016/j.biopha.2021.112448
48. Егшатын Л. В., Ткачева О. Н., Каштанова Д. А., Дудинская Е. Н., Бойцов С. А. «Маркерные» изменения состава микробиоты кишечника у пациентов с нарушениями углеводного обмена. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019;172(12): 51–60. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-172-12-51-60
49. Cani, Patrice D. "Human gut microbiome: hopes, threats and promises." *Gut* vol. 67,9 (2018): 1716-1725. doi:10.1136/gutjnl-2018-316723

50. Piewngam, Pipat et al. "Intestinal microbiota: The hidden gems in the gut?." *Asian Pacific journal of allergy and immunology* vol. 38,4 (2020): 215-224. doi:10.12932/AP-020720-0897
51. Human Microbiome Project Consortium. "Structure, function and diversity of the healthy human microbiome." *Nature* vol. 486,7402 207-14. 13 Jun. 2012, doi:10.1038/nature11234
52. Rinninella, Emanuele et al. "What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases." *Microorganisms* vol. 7,1 14. 10 Jan. 2019, doi:10.3390/microorganisms7010014
53. Кожевников А.А., Раскина К.В., Мартынова Е.Ю. и др. «Кишечная микробиота: современные представления о видовом составе, функциях и методах исследования». *РМЖ*. 2017;17:1244-1247.
54. Schmidt, Thomas S B et al. "Ecological consistency of SSU rRNA-based operational taxonomic units at a global scale." *PLoS computational biology* vol. 10,4 e1003594. 24 Apr. 2014, doi:10.1371/journal.pcbi.1003594
55. Rajilić-Stojanović, Mirjana, and Willem M de Vos. "The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota." *FEMS microbiology reviews* vol. 38,5 (2014): 996-1047. doi:10.1111/1574-6976.12075
56. Nagaenko, A V et al. "Multi-element ferroactive materials based on KNN-PZT compositions with fundamentally different physical properties." *Heliyon* vol. 6,2 e03497. 28 Feb. 2020, doi:10.1016/j.heliyon.2020.e03497
57. Johnson, Elizabeth L et al. "Microbiome and metabolic disease: revisiting the bacterial phylum Bacteroidetes." *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)* vol. 95,1 (2017): 1-8. doi:10.1007/s00109-016-1492-2
58. Monira, Shirajum et al. "Gut microbiota of healthy and malnourished children in bangladesh." *Frontiers in microbiology* vol. 2 228. 21 Nov. 2011, doi:10.3389/fmicb.2011.00228
59. O'Callaghan, Amy, and Douwe van Sinderen. "Bifidobacteria and Their Role as Members of the Human Gut Microbiota." *Frontiers in microbiology* vol. 7 925. 15 Jun. 2016, doi:10.3389/fmicb.2016.00925
60. Bottacini, Francesca et al. "Diversity, ecology and intestinal function of bifidobacteria." *Microbial cell factories* vol. 13 Suppl 1,Suppl 1 (2014): S4. doi:10.1186/1475-2859-13-S1-S4
61. Blachier, François et al. "Production of hydrogen sulfide by the intestinal microbiota and epithelial cells and consequences for the colonic and rectal mucosa." *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* vol. 320,2 (2021): G125-G135. doi:10.1152/ajpgi.00261.2020
62. Xiao, Ailin et al. "The Role of H2S in the Gastrointestinal Tract and Microbiota." *Advances in experimental medicine and biology* vol. 1315 (2021): 67-98. doi:10.1007/978-981-16-0991-6_4

63. Verbeure, Wout et al. "The Role of Gasotransmitters in Gut Peptide Actions." *Frontiers in pharmacology* vol. 12 720703. 20 Jul. 2021, doi:10.3389/fphar.2021.720703
64. Zhang, Ting et al. "Akkermansia muciniphila is a promising probiotic." *Microbial biotechnology* vol. 12,6 (2019): 1109-1125. doi:10.1111/1751-7915.13410
65. Ley, Ruth E et al. "Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity." *Nature* vol. 444,7122 (2006): 1022-3. doi:10.1038/4441022a
66. de Wit, Nicole et al. "Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine." *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* vol. 303,5 (2012): G589-99. doi:10.1152/ajpgi.00488.2011
67. Bervoets, Liene et al. "Differences in gut microbiota composition between obese and lean children: a cross-sectional study." *Gut pathogens* vol. 5,1 10. 30 Apr. 2013, doi:10.1186/1757-4749-5-10
68. Koliada, Alexander et al. "Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population." *BMC microbiology* vol. 17,1 120. 22 May. 2017, doi:10.1186/s12866-017-1027-1
69. Hu, Hae-Jin et al. "Obesity Alters the Microbial Community Profile in Korean Adolescents." *PloS one* vol. 10,7 e0134333. 31 Jul. 2015, doi:10.1371/journal.pone.0134333
70. Vaiserman, Alexander et al. "Differences in the gut Firmicutes to Bacteroidetes ratio across age groups in healthy Ukrainian population." *BMC microbiology* vol. 20,1 221. 22 Jul. 2020, doi:10.1186/s12866-020-01903-7
71. Castaner, Olga et al. "The Gut Microbiome Profile in Obesity: A Systematic Review." *International journal of endocrinology* vol. 2018 4095789. 22 Mar. 2018, doi:10.1155/2018/4095789
72. Stojanov, Spase et al. "The Influence of Probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Treatment of Obesity and Inflammatory Bowel disease." *Microorganisms* vol. 8,11 1715. 1 Nov. 2020, doi:10.3390/microorganisms8111715
73. Di Pierro, Francesco. "A Possible Perspective about the Compositional Models, Evolution, and Clinical Meaning of Human Enterotypes." *Microorganisms* vol. 9,11 2341. 12 Nov. 2021, doi:10.3390/microorganisms9112341
74. Cheng, Mingyue, and Kang Ning. "Stereotypes About Enterotype: the Old and New Ideas." *Genomics, proteomics & bioinformatics* vol. 17,1 (2019): 4-12. doi:10.1016/j.gpb.2018.02.004
75. Simonet, Camille, and Luke McNally. "Kin selection explains the evolution of cooperation in the gut microbiota." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 118,6 (2021): e2016046118. doi:10.1073/pnas.2016046118
76. Figueiredo ART and Kramer J. "Cooperation and Conflict Within the Microbiota and Their Effects On Animal Hosts" *Front. Ecol. Evol.* 8:132. doi: 10.3389/fevo.2020.00132

77. Kim, Bo-Ra et al. "Deciphering Diversity Indices for a Better Understanding of Microbial Communities." *Journal of microbiology and biotechnology* vol. 27,12 (2017): 2089-2093. doi:10.4014/jmb.1709.09027
78. Gail, Mitchell H et al. "Power of Microbiome Beta-Diversity Analyses Based on Standard Reference Samples." *American journal of epidemiology* vol. 190,3 (2021): 439-447. doi:10.1093/aje/kwaa204
79. Thursby, Elizabeth, and Nathalie Juge. "Introduction to the human gut microbiota." *The Biochemical journal* vol. 474,11 1823-1836. 16 May. 2017, doi:10.1042/BCJ20160510
80. Adak, Atanu, and Mojibur R Khan. "An insight into gut microbiota and its functionalities." *Cellular and molecular life sciences : CMLS* vol. 76,3 (2019): 473-493. doi:10.1007/s00018-018-2943-4
81. Richards, Paul et al. "The gut-brain axis: Identifying new therapeutic approaches for type 2 diabetes, obesity, and related disorders." *Molecular metabolism* vol. 46 (2021): 101175. doi:10.1016/j.molmet.2021.101175
82. Christiansen, Charlotte Bayer et al. "The impact of short-chain fatty acids on GLP-1 and PYY secretion from the isolated perfused rat colon." *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* vol. 315,1 (2018): G53-G65. doi:10.1152/ajpgi.00346.2017
83. Queipo-Ortuño, María Isabel et al. "Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels." *PloS one* vol. 8,5 e65465. 28 May. 2013, doi:10.1371/journal.pone.0065465
84. Yano, Jessica M et al. "Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis." *Cell* vol. 161,2 (2015): 264-76. doi:10.1016/j.cell.2015.02.047
85. Liu, Jun-Li et al. "Controversial Roles of Gut Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids (SCFAs) on Pancreatic β -Cell Growth and Insulin Secretion." *International journal of molecular sciences* vol. 21,3 910. 30 Jan. 2020, doi:10.3390/ijms21030910
86. Tomasova, Lenka et al. "The impact of gut microbiota metabolites on cellular bioenergetics and cardiometabolic health." *Nutrition & metabolism* vol. 18,1 72. 15 Jul. 2021, doi:10.1186/s12986-021-00598-5
87. Louis, Petra, and Harry J Flint. "Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota." *Environmental microbiology* vol. 19,1 (2017): 29-41. doi:10.1111/1462-2920.13589
88. Louis, Petra et al. "Diversity of human colonic butyrate-producing bacteria revealed by analysis of the butyryl-CoA:acetate CoA-transferase gene." *Environmental microbiology* vol. 12,2 (2010): 304-14. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.02066.x
89. Corrêa-Oliveira, Renan et al. "Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids." *Clinical & translational immunology* vol. 5,4 e73. 22 Apr. 2016, doi:10.1038/cti.2016.17

90. Reichardt, Nicole et al. "Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota." *The ISME journal* vol. 8,6 (2014): 1323-35. doi:10.1038/ismej.2014.14
91. Parada Venegas, Daniela et al. "Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases." *Frontiers in immunology* vol. 10 277. 11 Mar. 2019, doi:10.3389/fimmu.2019.00277
92. Frost, Gary et al. "The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism." *Nature communications* vol. 5 3611. 29 Apr. 2014, doi:10.1038/ncomms4611
93. Bilotta, Anthony J, and Yingzi Cong. "Gut microbiota metabolite regulation of host defenses at mucosal surfaces: implication in precision medicine." *Precision clinical medicine* vol. 2,2 (2019): 110-119. doi:10.1093/pcmedi/pbz008
94. Shen, Xinggui et al. "Microbial regulation of host hydrogen sulfide bioavailability and metabolism." *Free radical biology & medicine* vol. 60 (2013): 195-200. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.024
95. Pichette, Jennifer et al. "Hydrogen Sulfide and Sulfate Prebiotic Stimulates the Secretion of GLP-1 and Improves Glycemia in Male Mice." *Endocrinology* vol. 158,10 (2017): 3416-3425. doi:10.1210/en.2017-00391
96. Zhang, Heng et al. "Hydrogen sulfide regulates insulin secretion and insulin resistance in diabetes mellitus, a new promising target for diabetes mellitus treatment? A review." *Journal of advanced research* vol. 27 19-30. 26 Feb. 2020, doi:10.1016/j.jare.2020.02.013
97. Dilek, Nahzli et al. "Hydrogen sulfide: An endogenous regulator of the immune system." *Pharmacological research* vol. 161 (2020): 105119. doi:10.1016/j.phrs.2020.105119
98. Zhang, Linda S, and Sean S Davies. "Microbial metabolism of dietary components to bioactive metabolites: opportunities for new therapeutic interventions." *Genome medicine* vol. 8,1 46. 21 Apr. 2016, doi:10.1186/s13073-016-0296-x
99. Chimere, Catalin et al. "Bacterial metabolite indole modulates incretin secretion from intestinal enteroendocrine L cells." *Cell reports* vol. 9,4 (2014): 1202-8. doi:10.1016/j.celrep.2014.10.032
100. Camilleri, Michael. "Serotonin in the gastrointestinal tract." *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity* vol. 16,1 (2009): 53-9. doi:10.1097/med.0b013e32831e9c8e
101. Winston, Jenessa A, and Casey M Theriot. "Diversification of host bile acids by members of the gut microbiota." *Gut microbes* vol. 11,2 (2020): 158-171. doi:10.1080/19490976.2019.1674124
102. Xie, Cong et al. "Role of Bile Acids in the Regulation of Food Intake, and Their Dysregulation in Metabolic Disease." *Nutrients* vol. 13,4 1104. 28 Mar. 2021, doi:10.3390/nu13041104
103. Zhang, Yanqiao et al. "Loss of FXR protects against diet-induced obesity and accelerates liver carcinogenesis in ob/ob mice." *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* vol. 26,2 (2012): 272-80. doi:10.1210/me.2011-1157

- 104.Houten, Sander M et al. "Endocrine functions of bile acids." *The EMBO journal* vol. 25,7 (2006): 1419-25. doi:10.1038/sj.emboj.7601049
- 105.Li, Pengzhou et al. "Farnesoid X receptor interacts with cAMP response element binding protein to modulate glucagon-like peptide-1 (7-36) amide secretion by intestinal L cell." *Journal of cellular physiology* vol. 234,8 (2019): 12839-12846. doi:10.1002/jcp.27940
- 106.Kaska, Lukasz et al. "Improved glucose metabolism following bariatric surgery is associated with increased circulating bile acid concentrations and remodeling of the gut microbiome." *World journal of gastroenterology* vol. 22,39 (2016): 8698-8719. doi:10.3748/wjg.v22.i39.8698
- 107.Parker, H E et al. "Molecular mechanisms underlying bile acid-stimulated glucagon-like peptide-1 secretion." *British journal of pharmacology* vol. 165,2 (2012): 414-23. doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01561.x
- 108.Chen, Jiezhong, and Luis Vitetta. "Gut Microbiota Metabolites in NAFLD Pathogenesis and Therapeutic Implications." *International journal of molecular sciences* vol. 21,15 5214. 23 Jul. 2020, doi:10.3390/ijms21155214
- 109.Solis-Herrera, Carolina, et al. "Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus." *Endotext*, edited by Kenneth R Feingold et. al., MDText.com, Inc., 27 September 2021.
- 110.Ayse Nur T, and Derun Taner E. "Incretin System in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes and the Role of Incretin Based Therapies in the Management of Type 2 Diabetes", *Treatment of Type 2 Diabetes*, April 1st 2015doi: 10.5772/59241
- 111.Hædersdal, Sofie et al. "The Role of Glucagon in the Pathophysiology and Treatment of Type 2 Diabetes." *Mayo Clinic proceedings* vol. 93,2 (2018): 217-239. doi:10.1016/j.mayocp.2017.12.003
- 112.Muñoz-Garach, Araceli et al. "Gut microbiota and type 2 diabetes mellitus." "Microbiota y diabetes mellitus tipo 2." *Endocrinologia y nutricion : organo de la Sociedad Espanola de Endocrinologia y Nutricion* vol. 63,10 (2016): 560-568. doi:10.1016/j.endonu.2016.07.008
- 113.Cunningham, A L et al. "Gut microbiota influence in type 2 diabetes mellitus (T2DM)." *Gut pathogens* vol. 13,1 50. 6 Aug. 2021, doi:10.1186/s13099-021-00446-0
- 114.Демидова Т.Ю., Зенина С.Г. "Роль инсулинорезистентности в развитии сахарного диабета и других состояний. Современные возможности коррекции." *РМЖ «Медицинское обозрение» №10(II) от 30.10.2019 стр. 116-122*
- 115.Straub, Rainer H. "Insulin resistance, selfish brain, and selfish immune system: an evolutionarily positively selected program used in chronic inflammatory diseases." *Arthritis research & therapy* vol. 16 Suppl 2,Suppl 2 S4. 13 Nov. 2014, doi:10.1186/ar4688
- 116.Petersen, Max C, and Gerald I Shulman. "Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance." *Physiological reviews* vol. 98,4 (2018): 2133-2223. doi:10.1152/physrev.00063.2017

117. Stolarczyk, Emilie. "Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response?." *Current opinion in pharmacology* vol. 37 (2017): 35-40. doi:10.1016/j.coph.2017.08.006
118. Joseph, Joshua J, and Sherita H Golden. "Cortisol dysregulation: the bidirectional link between stress, depression, and type 2 diabetes mellitus." *Annals of the New York Academy of Sciences* vol. 1391,1 (2017): 20-34. doi:10.1111/nyas.13217
119. Carabotti, Marilia et al. "The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems." *Annals of gastroenterology* vol. 28,2 (2015): 203-209
120. Lee, Clare J et al. "Gut microbiome and its role in obesity and insulin resistance." *Annals of the New York Academy of Sciences* vol. 1461,1 (2020): 37-52. doi:10.1111/nyas.14107
121. Holst, Jens Juul. "The incretin system in healthy humans: The role of GIP and GLP-1." *Metabolism: clinical and experimental* vol. 96 (2019): 46-55. doi:10.1016/j.metabol.2019.04.014
122. Massey, William, and J Mark Brown. "The Gut Microbial Endocrine Organ in Type 2 Diabetes." *Endocrinology* vol. 162,2 (2021): bqaa235. doi:10.1210/endocr/bqaa235
123. Lin, Yao et al. "Gut ghrelin regulates hepatic glucose production and insulin signaling via a gut-brain-liver pathway." *Cell communication and signaling : CCS* vol. 17,1 8. 25 Jan. 2019, doi:10.1186/s12964-019-0321-y
124. Cani, P D et al. "Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability." *Gut* vol. 58,8 (2009): 1091-103. doi:10.1136/gut.2008.165886
125. Saad, M J A et al. "Linking Gut Microbiota and Inflammation to Obesity and Insulin Resistance." *Physiology (Bethesda, Md.)* vol. 31,4 (2016): 283-93. doi:10.1152/physiol.00041.2015
126. Caricilli, Andrea M, and Mario J A Saad. "The role of gut microbiota on insulin resistance." *Nutrients* vol. 5,3 829-51. 12 Mar. 2013, doi:10.3390/nu5030829
127. Esteve, Eduardo et al. "Gut microbiota interactions with obesity, insulin resistance and type 2 diabetes: did gut microbiote co-evolve with insulin resistance?." *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* vol. 14,5 (2011): 483-90. doi:10.1097/MCO.0b013e328348c06d
128. Huang, Yanping et al. "Maternal butyrate supplementation induces insulin resistance associated with enhanced intramuscular fat deposition in the offspring." *Oncotarget* vol. 8,8 (2017): 13073-13084. doi:10.18632/oncotarget.14375
129. Gonzalez, Frank J et al. "An Intestinal Microbiota-Farnesoid X Receptor Axis Modulates Metabolic Disease." *Gastroenterology* vol. 151,5 (2016): 845-859. doi:10.1053/j.gastro.2016.08.057
130. Wei, Jue et al. "Bile acids and insulin resistance: implications for treating nonalcoholic fatty liver disease." *Journal of digestive diseases* vol. 10,2 (2009): 85-90. doi:10.1111/j.1751-2980.2009.00369.x

131. Martin, Alyce M et al. "The Diverse Metabolic Roles of Peripheral Serotonin." *Endocrinology* vol. 158,5 (2017): 1049-1063. doi:10.1210/en.2016-1839
132. Hernández, Manuel A González et al. "The Short-Chain Fatty Acid Acetate in Body Weight Control and Insulin Sensitivity." *Nutrients* vol. 11,8 1943. 18 Aug. 2019, doi:10.3390/nu11081943
133. Grubelnik, Vladimir et al. "Mitochondrial Dysfunction in Pancreatic Alpha and Beta Cells Associated with Type 2 Diabetes Mellitus." *Life (Basel, Switzerland)* vol. 10,12 348. 14 Dec. 2020, doi:10.3390/life10120348
134. Rachdaoui, Nadia. "Insulin: The Friend and the Foe in the Development of Type 2 Diabetes Mellitus." *International journal of molecular sciences* vol. 21,5 1770. 5 Mar. 2020, doi:10.3390/ijms21051770
135. Elsayed, Ahmed K et al. "Insulin resistance in diabetes: The promise of using induced pluripotent stem cell technology." *World journal of stem cells* vol. 13,3 (2021): 221-235. doi:10.4252/wjsc.v13.i3.221
136. Priyadarshini, Medha et al. "SCFA Receptors in Pancreatic β Cells: Novel Diabetes Targets?." *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* vol. 27,9 (2016): 653-664. doi:10.1016/j.tem.2016.03.011
137. Villa, Stephanie R et al. "Loss of Free Fatty Acid Receptor 2 leads to impaired islet mass and beta cell survival." *Scientific reports* vol. 6 28159. 21 Jun. 2016, doi:10.1038/srep28159
138. McNelis, Joanne C et al. "GPR43 Potentiates β -Cell Function in Obesity." *Diabetes* vol. 64,9 (2015): 3203-17. doi:10.2337/db14-1938
139. Perry, Rachel J et al. "Acetate mediates a microbiome-brain- β -cell axis to promote metabolic syndrome." *Nature* vol. 534,7606 (2016): 213-7. doi:10.1038/nature18309
140. Renga, Barbara et al. "The bile acid sensor FXR regulates insulin transcription and secretion." *Biochimica et biophysica acta* vol. 1802,3 (2010): 363-72. doi:10.1016/j.bbadis.2010.01.002
141. Utzschneider, Kristina M et al. "Mechanisms Linking the Gut Microbiome and Glucose Metabolism." *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* vol. 101,4 (2016): 1445-54. doi:10.1210/jc.2015-4251
142. Zhang, Jing et al. "Decreased Abundance of *Akkermansia muciniphila* Leads to the Impairment of Insulin Secretion and Glucose Homeostasis in Lean Type 2 Diabetes." *Advanced science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)* vol. 8,16 (2021): e2100536. doi:10.1002/advs.202100536
143. Oh, Chang Myung et al. "Serotonin as a New Therapeutic Target for Diabetes Mellitus and Obesity." *Diabetes & metabolism journal* vol. 40,2 (2016): 89-98. doi:10.4093/dmj.2016.40.2.89
144. Zhang, Yuxi, and Daniel Hesselson. "From bugs to beta cells." *eLife* vol. 5 e23065. 13 Dec. 2016, doi:10.7554/eLife.23065

145. Mishra, Sidharth P et al. "Free Fatty Acid Receptors 2 and 3 as Microbial Metabolite Sensors to Shape Host Health: Pharmacophysiological View." *Biomedicines* vol. 8,6 154. 8 Jun. 2020, doi:10.3390/biomedicines8060154
146. Цыганкова О.В., Веретюк В.В., Аметов А.С. "Инкретины сегодня: множественные эффекты и терапевтический потенциал" // *Сахарный диабет*. — 2019. — Т. 22. — №1. — С. 70-78. doi: 10.14341/DM9841
147. Bagger, Jonatan I et al. "Impaired regulation of the incretin effect in patients with type 2 diabetes." *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* vol. 96,3 (2011): 737-45. doi:10.1210/jc.2010-2435
148. Smith, Nicholas K et al. "GLP-1: Molecular mechanisms and outcomes of a complex signaling system." *Neurochemistry international* vol. 128 (2019): 94-105. doi:10.1016/j.neuint.2019.04.010
149. Gérard, Céline, and Hubert Vidal. "Impact of Gut Microbiota on Host Glycemic Control." *Frontiers in endocrinology* vol. 10 29. 30 Jan. 2019, doi:10.3389/fendo.2019.00029
150. Tolhurst, Gwen et al. "Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2." *Diabetes* vol. 61,2 (2012): 364-71. doi:10.2337/db11-1019
151. Gao, Zhanguo et al. "Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice." *Diabetes* vol. 58,7 (2009): 1509-17. doi:10.2337/db08-1637
152. Trabelsi, Mohamed-Sami et al. "Farnesoid X receptor inhibits glucagon-like peptide-1 production by enteroendocrine L cells." *Nature communications* vol. 6 7629. 2 Jul. 2015, doi:10.1038/ncomms8629
153. Pascale, Alessia et al. "The role of gut microbiota in obesity, diabetes mellitus, and effect of metformin: new insights into old diseases." *Current opinion in pharmacology* vol. 49 (2019): 1-5. doi:10.1016/j.coph.2019.03.011
154. Gu, Yanyun et al. "Analyses of gut microbiota and plasma bile acids enable stratification of patients for antidiabetic treatment." *Nature communications* vol. 8,1 1785. 27 Nov. 2017, doi:10.1038/s41467-017-01682-2
155. Leite, Aline Zazeri et al. "Detection of Increased Plasma Interleukin-6 Levels and Prevalence of *Prevotella copri* and *Bacteroides vulgatus* in the Feces of Type 2 Diabetes Patients." *Frontiers in immunology* vol. 8 1107. 15 Sep. 2017, doi:10.3389/fimmu.2017.01107
156. Parker, Bianca J et al. "The Genus *Alistipes*: Gut Bacteria With Emerging Implications to Inflammation, Cancer, and Mental Health." *Frontiers in immunology* vol. 11 906. 9 Jun. 2020, doi:10.3389/fimmu.2020.00906
157. Koh, Ara et al. "Microbial Imidazole Propionate Affects Responses to Metformin through p38γ-Dependent Inhibitory AMPK Phosphorylation." *Cell metabolism* vol. 32,4 (2020): 643-653.e4. doi:10.1016/j.cmet.2020.07.012

158. Minamii, Takahiro et al. "Mechanisms of metformin action: In and out of the gut." *Journal of diabetes investigation* vol. 9,4 (2018): 701-703. doi:10.1111/jdi.12864
159. Whang, Andrew et al. "Bi-directional drug-microbiome interactions of anti-diabetics." *EBioMedicine* vol. 39 (2019): 591-602. doi:10.1016/j.ebiom.2018.11.046
160. Forslund, Kristoffer et al. "Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota." *Nature* vol. 528,7581 (2015): 262-266. doi:10.1038/nature15766
161. Демидова Т.Ю., Ардатская М.Д. "Дисфункция филлометаболического ядра микробиоты в патогенезе сахарного диабета 2-го типа". *FOCUS Эндокринология*. 2021; 3: 16–23. DOI: 10.47407/ef2021.2.3.0030
162. Grasset, Estelle et al. "A Specific Gut Microbiota Dysbiosis of Type 2 Diabetic Mice Induces GLP-1 Resistance through an Enteric NO-Dependent and Gut-Brain Axis Mechanism." *Cell metabolism* vol. 25,5 (2017): 1075-1090.e5. doi:10.1016/j.cmet.2017.04.013
163. LeValley, Stephanie L et al. "Degradation of the Incretin Hormone Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) by *Enterococcus faecalis* Metalloprotease GelE." *mSphere* vol. 5,1 e00585-19. 12 Feb. 2020, doi:10.1128/mSphere.00585-19
164. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. – 9-й выпуск (дополненный). – М.; 2019. DOI: 10.14341/DM221S1
165. Herrmann, C et al. "Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients." *Digestion* vol. 56,2 (1995): 117-26. doi:10.1159/000201231
166. Tura, Andrea et al. "Altered pattern of the incretin effect as assessed by modelling in individuals with glucose tolerance ranging from normal to diabetic." *Diabetologia* vol. 57,6 (2014): 1199-203. doi:10.1007/s00125-014-3219-7
167. Matthews, D R et al. "Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man." *Diabetologia* vol. 28,7 (1985): 412-9. doi:10.1007/BF00280883
168. Rajilić-Stojanović, Mirjana, and Willem M de Vos. "The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota." *FEMS microbiology reviews* vol. 38,5 (2014): 996-1047. doi:10.1111/1574-6976.12075
169. Ozato, Naoki et al. "Blautia genus associated with visceral fat accumulation in adults 20-76 years of age." *NPJ biofilms and microbiomes* vol. 5,1 28. 4 Oct. 2019, doi:10.1038/s41522-019-0101-x
170. Waters, Jillian L, and Ruth E Ley. "The human gut bacteria Christensenellaceae are widespread, heritable, and associated with health." *BMC biology* vol. 17,1 83. 28 Oct. 2019, doi:10.1186/s12915-019-0699-4

171. American Diabetes Association. "2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018." *Diabetes care* vol. 41, Suppl 1 (2018): S13-S27. doi:10.2337/dc18-S002
172. Eid, Stephanie et al. "New insights into the mechanisms of diabetic complications: role of lipids and lipid metabolism." *Diabetologia* vol. 62,9 (2019): 1539-1549. doi:10.1007/s00125-019-4959-1
173. Hirano, Tsutomu. "Pathophysiology of Diabetic Dyslipidemia." *Journal of atherosclerosis and thrombosis* vol. 25,9 (2018): 771-782. doi:10.5551/jat.RV17023
174. Салухов В.В., Кицышин В.П., и соавт. Рациональное применение показателей вариабельности глюкозы в практике эндокринолога. Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. Том 19, эндокринология, 2018
175. Magne, Fabien et al. "The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio: A Relevant Marker of Gut Dysbiosis in Obese Patients?." *Nutrients* vol. 12,5 1474. 19 May. 2020, doi:10.3390/nu12051474
176. Yang, Jing et al. "Species-Level Analysis of Human Gut Microbiota With Metataxonomics." *Frontiers in microbiology* vol. 11 2029. 26 Aug. 2020, doi:10.3389/fmicb.2020.02029
177. Arumugam, Manimozhiyan et al. "Enterotypes of the human gut microbiome." *Nature* vol. 473,7346 (2011): 174-80. doi:10.1038/nature09944
178. Van Hul, Matthias et al. "From correlation to causality: the case of *Subdoligranulum*." *Gut microbes* vol. 12,1 (2020): 1-13. doi:10.1080/19490976.2020.1849998
179. Kovatcheva-Datchary, Petia et al. "Dietary Fiber-Induced Improvement in Glucose Metabolism Is Associated with Increased Abundance of *Prevotella*." *Cell metabolism* vol. 22,6 (2015): 971-82. doi:10.1016/j.cmet.2015.10.001
180. Zhang, Xiuying et al. "Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance." *PloS one* vol. 8,8 e71108. 27 Aug. 2013, doi:10.1371/journal.pone.0071108
181. Gaike, Akshay H et al. "The Gut Microbial Diversity of Newly Diagnosed Diabetics but Not of Prediabetics Is Significantly Different from That of Healthy Nondiabetics." *mSystems* vol. 5,2 e00578-19. 31 Mar. 2020, doi:10.1128/mSystems.00578-19
182. Odamaki, Toshitaka et al. "Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study." *BMC microbiology* vol. 16 90. 25 May. 2016, doi:10.1186/s12866-016-0708-5
183. Vital, Marius et al. "Revealing the bacterial butyrate synthesis pathways by analyzing (meta)genomic data." *mBio* vol. 5,2 e00889. 22 Apr. 2014, doi:10.1128/mBio.00889-14
184. Schwartz, Andreas et al. "Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects." *Obesity (Silver Spring, Md.)* vol. 18,1 (2010): 190-5. doi:10.1038/oby.2009.167
185. Ley, Ruth E et al. "Obesity alters gut microbial ecology." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 102,31 (2005): 11070-5. doi:10.1073/pnas.0504978102

186. Turnbaugh, Peter J et al. "A core gut microbiome in obese and lean twins." *Nature* vol. 457,7228 (2009): 480-4. doi:10.1038/nature07540
187. Turnbaugh, Peter J et al. "An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest." *Nature* vol. 444,7122 (2006): 1027-31. doi:10.1038/nature05414
188. Абдулкадирова Ф.Р., Аметов А.С., и соавт. "Роль липотоксичности в патогенезе сахарного диабета 2 типа и ожирении". *Ожирение и метаболизм*, выпуск 2, 2014. doi: 10.14341/OMET201428-12
189. McCreight, Laura J et al. "Metformin and the gastrointestinal tract." *Diabetologia* vol. 59,3 (2016): 426-35. doi:10.1007/s00125-015-3844-9
190. Кайбышева В.О., Жарова М.Е., и соавт. Микробиом человека: возрастные изменения и функции. *Доказательная гастроэнтерология*. 2020;9(2):42-55. doi.org/10.17116/dokgastro2020902142
191. Knights, Dan et al. "Rethinking "enterotypes"." *Cell host & microbe* vol. 16,4 (2014): 433-7. doi:10.1016/j.chom.2014.09.013
192. Yazıcı, Dilek, and Havva Sezer. "Insulin Resistance, Obesity and Lipotoxicity." *Advances in experimental medicine and biology* vol. 960 (2017): 277-304. doi:10.1007/978-3-319-48382-5_12