

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Безродный С.Л.^{1,4}, Марданлы С.Г.^{1,2,3}, Затевалов А.М.⁴, Терёшина Е.В.⁶, Миронов А.Ю.^{4,5}, Помазанов В.В.¹

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА И ПЛАЗМАЛОГЕНА У ЛИЦ СТАРШЕГО ВОЗРАСТА С ПАТОЛОГИЕЙ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

¹ЗАО «Эколаб», 142530, Электрогорск, Россия;

²ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», 142611, Московская область, г.Орехово-Зуево, Россия;

³ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ, 119991, Москва, Россия;

⁴ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

⁵Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России; 125371, Москва, Россия;

⁶ММП «Международная медицинская помощь», 6317, Обервилл, Цуг, Фушлох, 6А, Швейцария

Исследована концентрация бактериальных плазмалогена 18а и эндотоксина в крови лиц старшего возраста 45-90 лет с патологией сахарного диабета 2 типа (СД 2) – основная группа и без сахарного диабета – группа сравнения. Концентрации как плазмалогена 18а, так и эндотоксина в крови лиц с патологией СД 2 статистически значимо больше, чем в крови лиц без патологии СД 2. Для оценки состояния микробиоценоза и прогнозирования СД 2 типа определены решающие правила, в виде пороговых значений концентраций плазмалогена 18а и эндотоксина в крови пожилых лиц с предполагаемым или установленным диагнозом СД 2 типа. С помощью ROC-анализа выявлено, что значения выше 20,66 мкг/мл для плазмалогена 18а, и 0,48 нмоль/мл – для эндотоксина, определяют наличие патологии СД 2 типа в возрастной группе 45-90 лет.

Ключевые слова: бактериальный эндотоксин и плазмалоген 18а; газовая хроматография масс-спектрометрия; микробные компоненты; сахарный диабет 2 типа; старший возраст

Для цитирования: Безродный С.Л., Марданлы С.Г., Затевалов А.М., Терешина Е.В., Миронов А.Ю., Помазанов В.В. Оценка состояния кишечного микробиоценоза на основе бактериального эндотоксина и плазмалогена у лиц старшего возраста с патологией сахарного диабета 2 типа. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (9): 565-570. <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-9-565-570>

Для корреспонденции: Безродный Святослав Леонидович, ЗАО «Эколаб»; e-mail: frebiotik@mail.ru

Bezrodny S.L.^{1,4}, Mardanly S.G.^{1,2,3}, Zatevalov A.M.⁴, Tereshina E.V.⁶, Mironov A.Yu.^{4,5}, Pomazanov V.V.¹

ASSESSMENT OF THE STATE OF INTESTINAL MICROBIOCENOSIS BASED ON BACTERIAL ENDOTOXIN AND PLASMALOGEN IN ELDERLY PERSONS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATHOLOGY

¹CJSC «Ecolab», 142530, Elektrogorsk, Russia;

²The «State Humanitarian and Technological University», 142611, Moscow region, Orekhovo-Zuevo, Russia;

³FGAOU VO «First MG MU named after I.M. Sechenov» Ministry of Health of Russia, 119991, Moscow, Russia;

⁴G.N. Gabricheskii Moscow research institute of epidemiology and microbiology of Rosпотребнадзор, 125212, Moscow, Russia;

⁵Federal research and clinical center of specialized medical care and medical technologies FMBA of Russia, 125371, Moscow, Russia;

⁶WWMA «World Wide Medical Assistance», 6317, Oberwill, Zug, Fuschloch, 6A, Switzerland

The concentration of bacterial plasmalogen 18a and endotoxin in the blood of elderly people 45-90 years old with the pathology of type 2 diabetes mellitus (DM 2) – the main group and without diabetes mellitus – the comparison group was investigated. The concentration of both plasmalogen 18a and endotoxin in the blood of individuals with DM 2 pathology is statistically significantly higher than in the blood of individuals without DM 2 pathology. To assess the state of microbiocenosis and predict type 2 diabetes mellitus, decisive rules have been determined in the form of threshold values of plasma concentrations 18a and endotoxin in the blood of elderly people with a suspected or established diagnosis of type 2 diabetes. Using ROC analysis, it was found that values above 20.66 µg / ml for plasmalogen 18a, and 0.48 nmol / ml for endotoxin, determine the presence of type 2 diabetes mellitus pathology in the 45-90 age group.

Key words: bacterial endotoxin and plasmalogen; gas chromatography mass spectrometry of microbial components; intestinal microbiocenosis; pathology of type 2 diabetes; older age

For citation: Bezrodny S.L., Mardanly S.G., Tereshina E.V., Pomazanov V.V. Microbial endotoxin and plasmalogen in senile persons with pathology of diabetes mellitus type 2. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (9): 565-570 (in Russ.). <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-9-565-570>

For correspondence: Bezrodny Svyatoslav Leonidovich; e-mail: frebiotik@mail.ru

Information about authors:

Bezrodny S.L., <https://orcid.org/0000-0001-5869-2503>

Mardanly S.G., <https://orcid.org/0000-0003-3650-2363>

Zatevalov A.M., <https://orcid.org/0000-0002-1460-4361>

Tereshina E.V., <https://orcid.org/0000-0002-9022-044X>

Mironov A. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>
Pomazanov V. V., <https://orcid.org/0000-0002-9811-9450>

Acknowledgment. *The study had no sponsorship.*

Conflict of interest. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Received 31.05.2021
Accepted 29.06.2021

Введение. Сахарный диабет – одна из серьёзных проблем здравоохранения XXI века. По данным Международной федерации диабета, в мире насчитывается более 425 млн людей, больных диабетом, к 2045 г. прогнозируется рост до 629 миллионов [1]. Несмотря на то, что сахарный диабет 2 типа (СД 2) встречается во всех возрастных группах, включая детей и подростков [2], он по-прежнему считается заболеванием, характерным для людей старшего возраста [3]. Число новых случаев СД 2 скачкообразно увеличивается после 45 лет [4]. Особое внимание уделяется исследованиям взаимосвязи возрастных нарушений системного метаболизма и микробиома кишечника [5–11].

Термин «микробиом» введен в 2001 году молекулярным биологом и генетиком Джошуа Ледербергом [12]. В современных представлениях, микробиом – совокупность всех микробов и их генов, находящихся в различных биотопах организма [13]. Взрослый человек колонизирован примерно 100 триллионами микробов, основное количество (более 600 родов, более 2 кг биомассы) которых локализуется преимущественно в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) [14, 15]. В кишечнике человека присутствуют бактерии, археи, вирусы, грибы. Подавляющее большинство микробного разнообразия (90%) кишечника представлено бактериальными филлами *Firmicutes* и *Bacteroidetes* (семейства *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*), при этом 50-80% бактерий филогенетически принадлежат к типу *Firmicutes*, родам *Ruminococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*. Другие типы микроорганизмов, колонизирующих кишечник человека, представлены *Actinobacteria* (3-15%), *Proteobacteria* (1-20%), *Verrucomicrobia* (0,1%), *Fusobacteria*, *Cyanobacteria*, *Spyrochaetes*, *Lentisphaerae* [16–18].

Нарушения микробиологии кишечника отражаются изменениями в соотношении бактериальных типов, родов, видов. Основным источником эндотоксина в организме являются грамотрицательные патогенные и оппортунистические бактерии, в первую очередь, энтеробактерии и бактероиды, широко представленные в составе фекальной микробиоты; их количество увеличивается с возрастом и развитием возраст-ассоциированных патологий [19]. При старении увеличивается кишечная проницаемость, ослабевает барьерная функция кишечника, бактериальные эндотоксины транслоцируются через кишечную стенку в кровотоки и способствуют хроническому системному воспалению [20, 21]. Хроническое системное воспаление связано с развитием возрастных метаболических нарушений и патологических процессов, которым часто сопутствует дисбиоз кишечника, сопровождающийся развитием эндотоксемии [19, 22, 23].

Эндотоксин – термостабильный компонент наружной мембраны клеточной стенки грамотрицательных микроорганизмов, т. е. липополисахарид (ЛПС), состоящий из частей: гидрофобного липида А – гликолипида Ре-хемотипа, гидрофильного ядра и полисахарида [24, 25].

Образ-распознающие рецепторы – белки, присутствующие на поверхности иммунокомпетентных

клеток, способные распознавать стандартные молекулярные паттерны, такие как липополисахарид (ЛПС), пептидогликан, липопептиды и липотейхоевые кислоты, флагеллин, бактериальную и вирусную ДНК, вирусная двухцепочечную РНК [22, 26]. Липотейхоевые кислоты являются важными компонентами клеточной стенки грамположительных, липополисахариды (ЛПС) – грамотрицательных бактерий. Они высвобождаются при лизисе бактериальных клеток, распознаются клетками организма через Toll-подобные рецепторы (TLR) 2 и 4, что вызывает синтез провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухоли TNF- α , интерлейкин IL-1, IL-6), которые путём рекрутирования макрофагов и эозинофилов вызывают воспаление и боль, затем, полный бактериальный лизис и клиренс [27, 28]. Образ-распознающие рецепторы TLR₄, TLR₂, TLR₉ взаимодействуют с лигандами кишечной микробиоты и осуществляют функции защиты от инфекции и поддержания тканевого гомеостаза [29, 30]. Комплекс TLR₄ является ключевым элементом клеточной связи для распознавания ЛПС. Биологические эффекты обусловлены взаимодействием ЛПС с рецептором TLR₄, который распознает эндотоксин в кооперации с внеклеточными белками MD₂, CD₁₄, LBP [31].

Системное воспаление связано с ионными каналами с транзиторным рецепторным потенциалом (TRP), которые являются значимыми в воспалительных реакциях не только посредством нейровозмущения, но и через функции эндотелиальных, эпителиальных и провоспалительных иммунокомпетентных клеток [32]. TRP-каналы являются белковыми рецепторами, которые ответственны за ряд физиологических процессов – сенсорных функций: трансдукция вкуса и запаха, термочувствительность, ноцицепция; гомеостатических функций: проницаемость катионов Ca²⁺ и реабсорбция катионов Mg²⁺, осморегуляция; подвижных функций: сокращение мышц и вазомоторика [33, 34, 35].

Исследование, посвящённое распознаванию эндотоксина через TRP-каналы, привело к открытию ионного канала с транзиторным рецепторным потенциалом анкиринового подсемейства, представитель 1 (TRPA₁), как первого эндотоксинового сенсора [36]. Показано, что активация ЛПС в сенсорных нейронах не зависит от TLR₄, а связана с функциональной экспрессией TRPA₁ [36]. TRPA₁ является не единственным сенсором чувствительным к ЛПС, отмечается чувствительность других TRP-каналов подсемейств: ванилоидного – представитель 1 (TRPV₁), меластатинового – представитель 3 (TRPM₃) и представитель 8 (TRPM₈) [37]. TLR₄-опосредованные эффекты в различных типах клеток требуют введения ионов Ca²⁺ путём активации других представителей семейства каналов TRP, а именно, TRPC₆ и TRPM₇ [38, 39]. В эндотелиальных клетках ЛПС связывается с TLR₄-ассоциированной комплексной молекулой CD₁₄ [40], что вызывает гидролиз фосфатидилхолина с последующим образованием диацилглицерола (ДАГ) [41, 42]. Впоследствии ДАГ

активирует TRPC₆, что ведёт к увеличению концентрации внутриклеточного Ca²⁺, и к взаимодействию с адапторным белком первичного ответа миелоидной дифференциации 88 (MyD88), индукции воспаления и активации пути NF-κB [39]. Вместе с нарушением Ca²⁺-зависимого эндотелиального барьера [43, 44, 45], TRPC₆-опосредованное увеличение Ca²⁺ связано с воспалительными реакциями.

Цель исследования: определить концентрации бактериального плазмалогена 18a и эндотоксина в крови лиц старшего возраста с патологией СД 2 типа и без неё.

Материал и методы. Объектом исследования являлись 168 человек в возрасте 45-90 лет, отобранных методом случайной выборки в НКЦ геронтологии из различных клинических отделений. Постановка диагноза СД 2 типа осуществлялась врачами-специалистами на основании клинико-anamnestических данных и результатов лабораторных исследований. На основании поставленного диагноза сформированы основная группа (СД 2) – 105 пациентов и группа сравнения (ГС) – 63 пациента. Средний возраст пациентов в основной группе составил 68±11,3 лет, в группе сравнения 68±11,5 лет. Группы сопоставимы по возрасту. Гендерные различия не учитывались.

Материалом для исследования служила цельная кровь из вены, которую отбирали в пробирку с ЭДТА, хранили при 2-8° С и/или незамедлительно транспортировали в лабораторию в течение 30-60 мин. для анализа. Кровь отбирали согласно Методическим указаниям «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории» МУ 4.2.2039-05 пункт 3. Доставленные пробы подвергали анализу на состав микробных маркёров. Определение концентрации бактериального плазмалогена 18a и эндотоксина в крови проводили методом ГХ-МС. Анализ состоял в прямом извлечении с помощью экстракции жирно-кислотных соединений из образцов. Разделение проводили на хроматографе МАЭСТРО 7820А, совмещённым с квадрупольным селективным масс-спектрометром Agilent Technologies 5975 с диапазоном масс 2-1000 а.е.м., имеющем разрешающую способность 0,5 а.е.м. во всём рабочем диапазоне. Чувствительность прибора 50 пг (пикограмм) по метилстеарату в режиме непрерывного сканирования и 1 пг в режиме селективных ионов, на

капиллярной колонке с метилсиликоновой привитой фазой Ультра-1 Хьюлетт-Паккард длиной 25 м и внутренним диаметром 0.2 мм. Режим анализа 120° С – 2 мин, далее программированное изменение температуры – 5 град/мин до 300-320°С градусов. При определении состава основных липидных компонентов, карбоновых, фенилкарбоновых кислот и спиртов пробы использован режим полного сканирования [12, 47].

Статистическую обработку результатов одноименных показателей в каждой группе сравнения проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0, построение диаграмм осуществлялось с помощью программы Microsoft Excel 2016 и Statistica 10.0.

Результаты. Для выбора критерия оценки статистической значимости отличия выборок проведена оценка нормальности распределения с помощью критериев Шапиро-Уилка (W) и Колмогорова-Смирнова (K-S) с модификацией Лиллиефорса (Лилл). Значения критериев для концентрации плазмалогена 18a в крови составили K-S d=0,1636, p<0,01; Лилл p<0,01 и W=0,9198, p=0,000001. Для концентрации эндотоксина в крови значения критериев составили K-S d=0,0744, p>0,20; Лилл p<0,05 W=0,9499; p=0,00001. Из представленных данных следует, что распределение значений концентраций плазмалогена и эндотоксина в крови не соответствует нормальному. Для проверки статистически значимых различий двух независимых групп, распределение значений в которых не является нормальным, использован U-критерий Манна-Уитни. Результаты представлены в табл. 1.

Содержание плазмалогена 18a в крови в основной группе статистически значимо выше, чем в группе сравнения (табл. 1). Концентрация бактериального эндотоксина в крови в основной группе статистически значимо выше, чем в группе сравнения. Значения концентраций бактериального эндотоксина и плазмалогена 18a в крови пациентов можно использовать в качестве дополнительного параметра прогноза развития СД 2 типа.

Для расчёта решающих правил – пороговых значений концентраций бактериального эндотоксина и плазмалогена 18a в крови пациентов использовали ROC-анализ. Результаты ROC-анализа для концентраций бактериального эндотоксина и плазмалогена в крови пациентов представлены в табл. 2.

Таблица 1

Концентрация бактериального плазмалогена 18a и эндотоксина в крови в опытной и контрольной группе

Показатель	Значения в группах		Уровень значимости, p<0,05
	СД 2, n=105	ГС, n=63	
Концентрация плазмалогена 18a в крови, мкг/мл	25,6 (13,2-38,0)	14,1 (7,2-16,3)	0,000002
Концентрация эндотоксина в крови, нмоль/мл	0,52 (0,38-0,71)	0,37 (0,22-0,50)	0,000048

Примечание. Результат представлен в виде медианы, 25 и 75 перцентиля в скобках.

Таблица 2

Результаты ROC-анализа для концентраций бактериального плазмалогена 18a и эндотоксина в крови пациентов исследуемых групп

Параметры	Значения для	
	плазмалогена 18a	эндотоксина
AUC (Площадь ограниченная ROC-кривой)	0,74	0,75
CutOff (Порог отсечения)	0,39	0,46
Пороговая концентрация	20,66 мкг/мл	0,48 нмоль/мл

Таблица 3

Качественная характеристика прогностической модели при СД 2 типа по концентрациям бактериального плазмалогена 18а и эндотоксина

Параметры	Значения для	
	плазмалогена 18а	эндотоксина
Чувствительность, %	89,38	80,52
Специфичность, %	54,90	52,75
Прогностическая точность, %	68,45	65,48

В табл. 2 показано, что значения AUC для представленных параметров выше 0,5, что указывает на возможность классификации диагноза СД 2 типа по значениям концентраций бактериального плазмалогена 18а и эндотоксина в крови, используя пороговые значения 20,66 мкг/мл плазмалогена 18а в крови и 0,48 нмоль/мл эндотоксина. Концентрации бактериального плазмалогена 18а и эндотоксина в крови обладают одинаковой прогностической точностью, на что указывает равенство значений AUC.

Для оценки прогностических характеристик решающих правил определим их прогностическую точность, специфичность и чувствительность для пациентов исследуемых групп. Результаты представлены в табл. 3.

В табл. 3 показано, что концентрация плазмалогена 18а в крови 20,66 мкг/мл может с 68,45% точностью прогнозировать СД 2 типа. Для концентрации эндотоксина 0,48 нмоль/мл прогностическая точность ниже и составляет 65,48%. Два исследуемых параметра обладают более высокой чувствительностью, чем специфичностью.

Обсуждение. Методом ГХ-МС крови концентрацию плазмалогена 18а (мкг/мл) определяют по концентрации октадеценowego альдегида (18:1а), который входит в состав клеточной стенки микроорганизмов, представителей индигенной нормобиоты, родов *Bifidobacterium spp.* и *Eubacterium spp.* [49, 50]. Повышенная концентрация октадеценowego альдегида может указывать на высокую интенсивность обсеменённости кишечника микроорганизмами родов *Bifidobacterium spp.* и *Eubacterium spp.*, что является показателем присутствия представителей нормобиоценоза в физиологически достаточном количестве.

В толстокишечном микробиоценозе пациентов в возрасте 18-22 года с предрасположенностью к СД 2 обнаружено увеличение на несколько порядков количества лактозонегативных *E. coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.* и *Candida albicans* на фоне снижения уровня представителей нормобиоценоза – *Lactobacillus spp.*, по сравнению с толстокишечным микробиоценозом лиц без предрасположенности к СД 2, количество *Bifidobacterium spp.* практически одинаково в обеих группах [57], что подтверждается увеличением количества плазмалогена 18а в нашем исследовании, который входит в состав клеток некоторых представителей рода *Bifidobacterium spp.*, что может указывать на наличие повышенной кишечной проницаемости.

Плазмалогены представляют собой глицерофосфолипиды с алкенильной связью в положении sn-1 глицериновой основной цепи [51]. Алифатические фрагменты в положении sn-1 в основном представляют собой C_{16:0}, C_{18:0} или C_{18:1} жирные кислоты. В положении sn-2 в основном расположены полиненасыщенные жирные кислоты, такие как арахидоновая кислота (C_{20:4}) или докозагексаеновая кислота (C_{22:6}) [52]. Плазмалогены об-

наруживаются почти во всех тканях млекопитающих и составляют около 20% от общего количества фосфолипидов [51]. Наличие плазмалогенов в клетках грибов и растений не установлено [55]. Плазмалогены встречаются у ряда бактерий кишечного биоценоза. Плазмалогены обнаружены у некоторых видов *Clostridium spp.*, штаммов *Bifidobacterium longum* [53, 54, 56].

Плазмалогены важны для управления выбросом холестерина из клеток, поскольку они являются протектором окисления полиненасыщенных жиров, и поддержания нормальной нервной деятельности. Плазмалогены стимулируют нервные клетки и осуществляют межклеточные функции. Увеличение концентрации плазмалогена 18а является положительным фактором и отражает количество представителей нормобиоценоза. Симбионтная микробиота является резервуаром плазмалогенов, которые входят в состав мембран анаэробных бактерий. Увеличение концентрации плазмалогена 18а в крови лиц с патологией СД 2 может указывать на увеличение проницаемости кишечной стенки.

Для определения концентрации эндотоксина в крови методом ГХ-МС суммируют концентрации компонентов липида А – гидроксикислот: 3h12, 2h12, hi13, 3h13, 3h14, 2h14, 2hi15, 3hi15, h16, 3hi17, h18, h15, ЛПС клеточной стенки грамотрицательных бактерий: *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacteroides hypermegas*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Sphingomonas*, *Flavobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Bacteroides fragilis*, *Helicobacter pylori* [49, 50]. Увеличение концентрации бактериального эндотоксина в крови свидетельствует об увеличении количества условно-патогенных грамотрицательных микроорганизмов в микробиоценозе лиц с патологией СД 2 по сравнению с микробиоценозом лиц без СД 2. Умеренная активация клеток при низких дозах эндотоксина с увеличением дозы переходит в гиперактивацию, которая сопровождается усиленной продукцией воспалительных цитокинов, активацией системы комплемента и факторов свертывания крови, что способствует развитию системного воспаления.

Заключение. Микробиота кишечника принимает участие в патогенезе СД 2 типа. Более высокие значения концентрации фосфолипида-плазмалогена 18а и ЛПС при СД 2 типа указывают на то, что при СД 2 типа в микробиоценозе преобладают представители нормобиоценоза и условно-патогенные микроорганизмы, продуцирующие эндотоксин. Более высокие концентрации плазмалогена 18а и эндотоксина в системном кровотоке указывают на увеличение кишечной проницаемости для грамотрицательных микроорганизмов, нарушение функции колонизационной резистентности и выраженный дисбиоз у пациентов основной группы. Для оценки состояния микробиоценоза и прогнозирования СД 2 типа определены решающие правила, в виде пороговых значений концентраций плазмалогена 18а и эндотоксина в крови пожилых лиц с предполагаемым или установленным диагнозом СД 2 типа. С помощью ROC-анализа выявлено, что значения выше 20,66 мкг/мл для плазмалогена 18а и 0,48 нмоль/мл – для эндотоксина, определяют наличие патологии СД 2 типа, при сопутствующих клинико-анамнестических данных.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-18, 20, 23, 25-45, 49-56
см. REFERENCES)

19. Безродный С.Л., Шендеров Б.А. Кишечная микробиота как источник новых биомаркеров старения. *Вестник восстановительной медицины*. 2015; 2: 40-7.
21. Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В. Роль дисфункции кишечного барьера в поддержании хронического воспалительного процесса различной локализации. *Журнал микробиологии*. 2010; 1: 92-100.
22. Бондаренко В.М., Лиходед В.Г. Роль эндотоксина кишечной микрофлоры в физиологии и патологии человека. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал)*, 2012; 3: 2-7.
24. Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин и воспаление. *Национальное руководство по дерматовенерологии*. М.: ГЭОТАР-медиа; 2011; 8: 99-414.
46. Осипов Г.А. Способ определения родового (видового) состава ассоциации микроорганизмов. Патент РФ № 2086642; 1997.
47. Осипов Г.А., Бойко Н.Б., Новикова В.П. и др. Методика масс-спектрометрии микробных маркеров как способ оценки пристеночной кишечной микробиоты при заболеваниях органов пищеварения. Учебно-методическое пособие. СПб: Изд-во «Левша». 2013; 60(2): 54-95.
48. Осипов Г.А. Хромато-масс-спектрометрический анализ микроорганизмов и их сообществ в клинических пробах при инфекциях и дисбиозах. *Химический анализ в медицинской диагностике*. М.: Наука; 2010: 293-368.
57. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Беляева Е.А., Мурашова Л.А., Чаркова А.Р., Миронов А.Ю. Влияние уровня глюкозы в крови на микробиоценоз кишечника и качество жизни людей с предрасположенностью к сахарному диабету 2-го типа. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (12): 857-60.
- within a Defined Gut Microbiota. *Cell Syst*. 2018 Sep 26; 7(3): 245-257.e7.
12. Lederberg J., McCray A. 'Ome sweet 'omics – A genealogical treasury of words. *Scientist*. 2001; 15: 8.
13. Ursell L.K., Metcalf J.L., Parfrey L.W., Knight R. Defining the human microbiome. *Nutr Rev*. 2012 Aug; 70 Suppl 1: S38-44.
14. Falony G., Joossens M., Vieira-Silva S., Wang J., Darzi Y., Faust K. et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science*. 2016 Apr 29; 352 (6285): 560-4.
15. De Vos W.M., de Vos E.A. Role of the intestinal microbiome in health and disease: From correlation to causation. *Nutr. Rev*. 2012; 70 (Suppl. 1): S45-56.
16. Eckburg P.B., Bik E.M., Bernstein C.N., Purdom E., Dethlefsen L., Sargent M., Gill S.R., Nelson K.E., Relman D.A. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005 Jun 10; 308(5728): 1635-8.
17. Mahowald M.A., Rey F.E., Seedorf H., Turnbaugh P.J., Fulton R.S. et al. Characterizing a model human gut microbiota composed of members of its two dominant bacterial phyla. *Proc. Natl. Acad. Sci U S A*. 2009 Apr 7; 106(14): 5859-64.
18. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012 Jun 13; 486(7402): 207-14.
19. Bezrodny S.L., Shenderov B.A. Intestinal microbiota as a source of new biomarkers of aging. *Vestnik vosstanovitel'noy meditsiny*. 2015; 2: 40-7. (in Russian)
20. Tran L., Greenwood-Van Meerveld B. Age-associated remodeling of the intestinal epithelial barrier. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci* (2013) 68: 1045-56.
21. Bondarenko V.M., Ryabichenko E.V. The role of intestinal barrier dysfunction in maintaining a chronic inflammatory process of various localization. *Zhurnal mikirobiologii*. 2010; 1: 92-100. (in Russian)
22. Bondarenko V.M., Likhoded V.G. The role of intestinal microflora endotoxin in human physiology and pathology. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN (elektronnyi zhurnal)* 2012; 3: 2-7. (in Russian)
23. Hayes C.L., Dong J., Galipeau H.J., Jury J., McCarville J., Huang X. et al. Commensal microbiota induces colonic barrier structure and functions that contribute to homeostasis. *Sci Rep*. 2018 Sep 21; 8(1): 14184.
24. Yakovlev M.Yu. Intestinal endotoxin and inflammation. National Dermatovenerology Manual [Natsional'noe rukovodstvo po dermatovenerologii]. Moscow: GEOTAR-Media; 2011; 8: 99-414. (in Russian)
25. Whitfield C., Trent M.S. Biosynthesis and export of bacterial lipopolysaccharides. *Annu Rev Biochem*. 2014; 83(0): 99-128.
26. Mahla R.S., Reddy M.C., Prasad D.V., Kumar H. Sweeten PAMPs: Role of Sugar Complexed PAMPs in Innate Immunity and Vaccine Biology. *Front Immunol*. 2013 Sep 2; 4: 248.
27. Abbas A.K., Lichtman A.H., Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. *Elsevier Philadelphia, PA, USA*: 2014; 64(3): 487-505.
28. Akira S. & Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat. Rev. Immunol*. 2004; 4: 499-511.
29. Rakoff-Wahoum S., Paglino J., Esmali-Varzaeh F. et al. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*. 2004; 118 (2): 229-41.
30. Abreu M.T. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat. Rev. Immunol*. 2010 Feb; 10(2): 131-44.
31. Park B.S., Lee J.O. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. *Exp. Mol. Med*. 2013 Dec 6; 45: e66.
32. Sousa-Valente J., Brain S.D. A historical perspective on the role of sensory nerves in neurogenic inflammation. *Semin. Immunopathol*. 2018; 40: 229-36.
33. Alonso-Carbajo L., Kecskes M., Jacobs G., Pironet A., Syam N., Talavera K., Vennekens R. Muscling in on TRP channels in vascular smooth muscle cells and cardiomyocytes. *Cell Calcium*. 2017; 66: 48-61.
34. Laing R.J., Dhaka A. ThermoTRPs and pain. *The Neuroscientist*. 2016; 22: 171-87.
35. Mulier M., Vriens J., Voets T. TRP channel pores and local calcium signals. *Cell Calcium*. 2017; 66: 19-24.

REFERENCES

1. Haltbakk J., Graue M., Harris J., Kirkevold M., Dunning T., Sigurdardottir A.K. Integrative review: Patient safety among older people with diabetes in home care services. *J. Adv. Nurs*. 2019 Mar 5; 44(3): 11-9.
2. Fazeli Farsani S., van der Aa M.P., van der Vorst M.M., Knibbe C.A., de Boer A. Global trends in the incidence and prevalence of type 2 diabetes in children and adolescents: a systematic review and evaluation of methodological approaches. *A. Diabetologia*. 2013 Jul; 56 (7): 1471-88.
3. Medina Escobar P, Moser M, Risch L, Risch M, Nydegger UE, Stanga Z. Impaired glucose metabolism and type 2 diabetes in apparently healthy senior citizens. *Swiss Med. Wkly*. 2015 Nov 23; 145: w14209.
4. National Diabetes Statistics Report, 2014-CDC www.cdc.gov/diabetes/pubs/statsreport14/national-diabetes-report-web.pdf
5. Sekirov I, Russell S.L., Antunes L.C., Finlay B.B. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*. 2010 Jul; 90 (3): 859-904.
6. Kashtanova D.A., Tkacheva O.N., Doudinskaya E.N., Strazhesko I.D., Kotovskaya Y.V., Popenko A.S. et al. Gut Microbiota in Patients with Different Metabolic Statuses: Moscow Study. *Microorganisms*. 2018 Sep 25; 6(4): 3-4.
7. Lippert K., Kedenko L., Antonielli L., Kedenko I., Gemeier C., Leitner M. et al. Gut microbiota dysbiosis associated with glucose metabolism disorders and the metabolic syndrome in older adults. *Benef. Microbes*. 2017 Aug 24; 8(4): 545-56.
8. Navab-Moghadam F, Sedighi M, Khamseh ME, Alaei-Shahmiri F, Talebi M, Razavi S et al. The association of type II diabetes with gut microbiota composition. *Microb Pathog*. 2017 Sep; 110: 630-6.
9. Salamon D., Sroka-Oleksiak A., Kapusta P., Szopa M., Mrozińska S., Ludwig-Słomczyńska A.H. et al. Characteristics of gut microbiota in adult patients with type 1 and type 2 diabetes based on next-generation sequencing of the 16S rRNA gene fragment. *Pol. Arch. Intern. Med*. 2018 Jun 30; 128(6): 336-43.
10. Karlsson F.H., Tremaroli V., Nookaew I., Bergström G., Behre C.J., Fagerberg B. et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013 Jun 6; 498(7452): 99-103.
11. Medlock G.L., Carey M.A., McDuffie D.G., Mundy M.B., Giallourou N., Swann J.R. et al. Inferring Metabolic Mechanisms of Interaction

MICROBIOLOGY

36. Meseguer V., Alpizar Y.A., Luis E. Tajada S., Denlinger B., Fajardo O. et al. TRPA1 channels mediate acute neurogenic inflammation and pain produced by bacterial endotoxins. *Nat. Commun.* 2014; 5: 3125.
37. Boonen B., Alpizar Y.A., Sanchez A., Lopez-Requena A., Voets T., Talavera K. Differential effects of lipopolysaccharide on mouse sensory TRP channels. *Cell Calcium.* 2018; 73: 72-81.
38. Schappe M.S., Szteyn K., Stremaska M.E., Mendu S.K., Downs T.K., Seegren P.V. et al. Chanzyme TRPM7 mediates the Ca²⁺ influx essential for lipopolysaccharide-induced toll-like receptor 4 endocytosis and macrophage activation. *Immunity.* 2018; 48: 59-74.
39. Tauseef M., Knezevic N., Chava K.R., Smith M., Sukriti S., Gianaris N. et al. TLR4 activation of TRPC6-dependent calcium signaling mediates endotoxin-induced lung vascular permeability and inflammation. *J. Exp. Med.* 2012; 209: 1953-68.
40. Andonegui G., Goyert S.M., Kubes P. Lipopolysaccharide-induced leukocyte-endothelial cell interactions: A role for CD14 versus Toll-like receptor 4 within microvessels. *J. Immunol.* 2002; 169: 2111-9.
41. Sands W.A., Clark J.S., Liew F.Y. The role of a phosphatidylcholine-specific phospholipase C in the production of diacylglycerol for nitric oxide synthesis in macrophages activated by IFN-gamma and LPS. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994; 199: 461-6.
42. Zhang L., Li H.Y., Li H., Zhao J., Su L., Zhang Y., Zhang S.L., Miao J.Y. Lipopolysaccharide activated phosphatidylcholine-specific phospholipase c and induced IL-8 and MCP-1 production in vascular endothelial cells. *J. Cell Physiol.* 2011; 226: 1694-701.
43. Mehta D., Malik A.B. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability. *Physiol. Rev.* 2006; 86: 279-367.
44. Kini V., Chavez A., Mehta D. A new role for PTEN in regulating transient receptor potential canonical channel 6-mediated Ca²⁺ entry, endothelial permeability, and angiogenesis. *J. Biol. Chem.* 2010; 285:33082-91.
45. Weissmann N., Sydykov A., Kalwa H., Storch U., Fuchs B., Mederos y Schnitzler M et al. Activation of TRPC6 channels is essential for lung ischaemia-reperfusion induced oedema in mice. *Nat. Commun.* 2012; 3: 649.
46. Osipov G.A. The method for determining the generic (species) composition of the association of microorganisms. [Sposob opredeleniya rodovogo vidovogo sostava assotsiatsii mikroorganizmov]. Patent RF № 2086642; 1997. (in Russian)
47. Osipov G.A., Boyko N.B., Novikova V.P. et al. Mass spectrometry techniques for microbial markers as a way to evaluate a parietal intestinal microbiota in diseases of the digestive organs [Metodika mass-spektrometrii mikrobn'ykh markerov kak sposob otsenki pristenochnoy kishhechnoy mikrobioty' pri zabolevaniyakh organov pishchevareniya]. Uchebnoe posobie. St. Petersburg: "Levsha"; 2013; 60 (2): 54-95. (in Russian)
48. Osipov G.A. Chromato-mass spectrometric analysis of microorganisms and their communities in clinical samples with infections and dysbiosis. Chemical analysis in medical diagnostics [Khimicheskiy analiz v meditsinskoj diagnostike]. Moscow: Nauka; 2010; 293-368. (in Russian)
49. Stead D.E., Sellwood J.E., Wilson J. Evaluation of a commercial microbial identification system based on fatty acid profiles for rapid, accurate identification of plant pathogenic bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 1992; 72: 315-21.
50. Moss C.W., Dees S.R. Identification of microorganisms by gas chromatographic – mass spectrometric analysis of cellular fatty acids. *J. Chromatogr.* 1985; 12: 595-604.
51. Nagan N., Zoeller R.A. Plasmalogens: biosynthesis and functions. *Prog. Lipid Res.* 2001; 40: 199-229.
52. Braverman N.E., Moser A.B. Functions of plasmalogen lipids in health and disease. *Biochim. Biophys. Acta.* 2012; 1822: 1442-52.
53. Atarashi K., Tanoue T., Oshima K., Suda W., Nagano Y., Nishikawa H. et al. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature.* 2013; 500: 232-6.
54. Ventura M., Turroni F., Lugli G.A., van Sinderen D. Bifidobacteria and humans: our special friends, from ecological to genomics perspectives. *J. Sci. Food Agric.* 2014; 94: 163-8.
55. Goldfine H. The appearance, disappearance and reappearance of plasmalogens in evolution. *Prog. Lipid Res.* 2010; 49: 493-8.
56. Řezanka T., Křesinová Z., Kolouchová I., Sigler K. Lipidomic analysis of bacterial plasmalogens. *Folia Microbiol.* 2012; 57: 463-72.
57. Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Belyaeva E.A., Murashova L.A., Charkova A.R., Mironov A.Yu. The effect of glucose level in blood on microbiocenosis of intestine and quality of life of people with predisposition to diabetes mellitus type II. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2016; 61 (12): 857- 60. (in Russian)

Поступила 31.05.21
Принята к печати 30.06.21