

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Садеков Т.Ш.¹, Бойко А.Н.^{2,3}, Омарова М.А.^{2,3}, Роговский В.С.^{2,3}, Жиленкова О.Г.¹, Затевалов А.М.¹, Миронов А.Ю.^{1,4}

ОЦЕНКА СТРУКТУРЫ МИКРОБИОМА ЧЕЛОВЕКА ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ ПО КОНЦЕНТРАЦИЯМ МИКРОБНЫХ МАРКЁРОВ В КРОВИ

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

²ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России, 117513, Москва, Россия;

³ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, 117997, Москва, Россия;

⁴Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА, 115682, Москва, Россия

Исследована взаимосвязь рассеянного склероза (РС) и состояния микробиома человека, а именно: изменение представленности филоэтипов микробиоты, доли кокковой микрофлоры, доли анаэробной, грамотрицательной, протеолитически активной микрофлоры, концентрации маркёров бактериального плазмалогена и эндотоксина в крови. Микробиом исследован методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС) микробных маркёров (ММ) в крови. При РС определено статистически значимое увеличение в крови концентраций общего уровня ММ бактериальных плазмалогена и эндотоксина, что может быть связано с увеличением проницаемости стенки кишечника. При РС увеличивается доля кокков, грамотрицательной, анаэробной микрофлоры с протеолитическим типом метаболической активности. Изменяются корреляционные связи представленности филоэтипов микробиоты, за счёт переключения прямой связи Proteobacteria-Bacteroidetes на Proteobacteria-Firmicutes. При РС увеличивается количество Actinobacteria и Proteobacteria, снижается количество Firmicutes. Заболевание РС может быть связано с патологическими изменениями структуры микробиома и нарастанием эндотоксемии, что может являться одним из факторов патогенеза заболевания. Предложены новые лабораторные маркёры для диагностики и прогнозирования течения РС.

Ключевые слова: микробиота; рассеянный склероз; ГХ-МС; кровь; эндотоксемия; микробные маркёры; бактериальный эндотоксин и плазмалоген.

Для цитирования: Садеков Т.Ш., Бойко А.Н., Омарова М.А., Роговский В.С., Жиленкова О.Г., Затевалов А.М., Миронов А.Ю. Оценка структуры микробиома человека при рассеянном склерозе по концентрациям микробных маркёров в крови. Клиническая лабораторная диагностика. 2022; 67 (10): 600-606. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-10-600-606>

Для корреспонденции: Садеков Тимур Шамилович., мл. науч. сотр. лаб. биологии бифидобактерий; e-mail: sadekov@gabrich.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора. Статья выполнена при финансовой поддержке РНФ, грант № 22-15-00284.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 30.06.2022

Принята к печати 20.07.2022

Опубликовано 14.10.2022

Sadekov T.Sh.¹, Boyko A.N.^{2,3}, Omarova M.A.^{2,3}, Rogovskii V.S.^{2,3}, Zhilenkova O.G.¹, Zatevalov A.M.¹, Mironov A.Yu.^{1,4}

EVALUATION OF THE STRUCTURE OF THE HUMAN MICROBIOME IN MULTIPLE SCLEROSIS IN BLOOD MICROBIAL MARKER CONCENTRATIONS

¹G.N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology, Rospotrebnadzora, Moscow, Russia;

²Federal State Budgetary Institution «Federal center of brain research and neurotechnologies» of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia;

³Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia;

⁴Federal Research and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation

The relationship between multiple sclerosis and the state of the human microbiome was studied, namely, the change in the representation of microbiota phylotypes, the proportion of coccal flora, the proportion of anaerobic, gram-negative, proteolytically active microflora, as well as the concentration of markers of bacterial plasmalogen and endotoxin in the blood. Microbiome studies were carried out by gas chromatography – mass spectrometry of microbial markers in the blood. A statistically significant increase in blood concentrations of the total level of microbial markers of bacterial plasmalogen and endotoxin was determined in multiple sclerosis, which may be associated with an increase in the permeability of the intestinal wall. In multiple sclerosis, the proportion of coccal, gram-negative, anaerobic microflora with a proteolytic type of metabolic activity increases. The correlations of the representation of microbiota phylotypes change due to the switching of the direct relationship Proteobacteria-Bacteroides to Proteobacteria-Firmicutes. In multiple sclerosis, Actinobacteria and Proteobacteria increase and Firmicutes decrease. Conclusion. The multiple sclerosis disease may be associated with pathological changes in the structure of the microbiome and the growth of endotoxemia, which may be one of the factors in the pathogenesis of the disease. New laboratory markers for diagnosing and predicting the course of MS have been proposed.

Key words: microbiota; multiple sclerosis; GC-MS; blood; endotoxemia; microbial markers; bacterial endotoxin and plasmalogen.

For citation: Sadekov T.Sh., Boyko A.N., Omarova M.A., Rogovsky V.S., Zhilenkova O.G., Zatevalov A.M., Mironov A.Yu. Evaluation of the structure of the human microbiome in multiple sclerosis by the concentrations of microbial markers in the blood. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (10): 600-606 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-10-600-606>

For correspondence: Sadekov T.Sh.; junior researcher of the laboratory of *Bifidobacterium* biology; e-mail: sadekov@gabrigh.ru

Information about authors:

Sadekov T.Sh., <https://orcid.org/0000-0001-5337-0054>;
Boyko A.N., <https://orcid.org/0000-0002-2975-4151>;
Omarova M.A., <https://orcid.org/0000-0002-6744-2191>;
Rogovskii V.S., <https://orcid.org/0000-0002-3682-6571>;
Zhilenkova O.G., <https://orcid.org/0000-0003-3206-6648>;
Zatevalov A.M., <https://orcid.org/0000-0002-1460-4361>;
Mironov A.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>.

Acknowledgment. *The work was carried out within the framework of the industry program of Rospotrebnadzor. This research was funded by the Russian Science Foundation, grant 22-15-00284.*

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

Received 30.06.2022
Accepted 20.07.2022
Published 14.10.2022

Введение. Рассеянный склероз (РС) – хроническое иммуноопосредованное воспалительное заболевание ЦНС, являющееся одной из самых частых неврологических причин инвалидизации среди лиц молодого и среднего возраста [1]. Наблюдается тенденция к увеличению распространённости РС, в 2016 г. в мире зарегистрировано более 2 млн случаев РС, что на 10% больше, чем в 1990 г. [2]. Этиология и патогенез РС во многом остаются неясными. Принципиальной задачей становится поиск новых лабораторных маркеров для диагностики и прогнозирования течения РС.

Одним из перспективных подходов в изучении этиологии и патогенеза РС является изучение микробиологических нарушений в организме человека – анализ специфических маркеров микробиоты (ММ), составляющих широкий спектр жирных кислот с нечётным числом углеродных атомов, разветвлёнными цепями и гидроксильными группами. Известно более 250 таких маркеров (в организме человека их всего около 25). Они могут распределяться по всему организму и быть обнаружены даже в низких концентрациях при помощи метода газовой хроматографии с масс-селективным детектированием ионов (ГХ-МС) [3-5, 7]. Исследование микробиома человека при РС становится актуальной задачей современной медицины и практического здравоохранения.

Цель исследования – изучить структуру и состояние микробиома человека при РС по концентрациям ММ в крови.

Материал и методы. Проведено наблюдательное исследование образцов крови у 53 пациентов амбулаторного наблюдения консультативно-диагностического центра при Московском НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора. Возраст пациентов составил 48±17 лет. В основную группу включены пациенты с диагнозом РС, установленным на основании клинико-инструментальных данных (диагноз подтверждён данными магнитно-резонансной томографии по критериям McDonald 2017 г., наличием характерных олигоклональных полос в цереброспинальной жидкости). В группу сравнения включены пациенты, не имеющие

в анамнезе диагноза РС (Н). Группы сопоставимы по возрасту. Гендерные различия не учитывались. Работа проводилась в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г., «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждённой приказом Минздрава РФ № 226 от 19.06.2003 г. Пациенты дали информированное добровольное согласие на медицинское вмешательство и публикацию полученных результатов.

Для определения концентрации химических соединений в венозной крови, относящихся к ММ, использован метод ГХ-МС. Из цельной венозной крови с помощью реакции кислого метанолиза и экстракции гексаном выделены жирнокислотные соединения. Разделение, идентификацию, расчёт концентрации проводили на хроматографе МАЭСТРО 7820А, совмещённым с квадрупольным селективным масс-спектрометром (Agilent Technologies, США) с диапазоном масс 2-1000 аем, имеющем разрешающую способность 0,5 аем во всём рабочем диапазоне. Чувствительность прибора 50 пг (пикограмм) по метил-стеарату 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 0,20 мм. Режим анализа – программированный, скорость нагрева термостата колонки – 5 град/мин в диапазоне 130-320° С. Масс-спектрометр квадрупольный, с ионизацией электронами (70 эВ) работает в режиме масс-фрагментографии (МФ) селективных ионов (multiple ions monitoring – МИМ), при периодическом детектировании до 30 ионов в пяти интервалах времени. Газ носитель – гелий. Расчёт концентраций проведён по методу внутреннего стандарта с использованием программы, поставляемой производителем хроматографа [6, 8].

Расчитанные концентрации группировали исходя из свойств ассоциированного с ними микроорганизма по следующим параметрам.

Распределение проводилось по 4-м основным флотипам: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*,

Firmicutes. Определены группы, относящиеся к коккам и бациллам. Отдельно выделено царство *Fungi*. В соответствии с типом дыхания определены группы ММ анаэробных и аэробных микроорганизмов, грамотрицательных и грамположительных, имеющих выраженную протеолитическую и сахаролитическую катаболическую активность. Чтобы снизить дисперсию значений, концентрацию рассчитывали как представленность определённой группы в общем пуле концентраций ММ в %. Для интегральных характеристик использованы соотношения: *Bacteroidetes* к *Firmicutes* (В/Ф) – характеристика структуры микробиома [9]; сумма концентраций ММ кокков к бациллам (С/В); Анаэробный индекс – анаэробы к аэробам (АИ); Соотношение концентраций ММ грамотрицательной микрофлоры к грамположительной (Гра-/Гра⁺); Протеолитический индекс (ПИ). Концентрация бактериального плазмалогена оценена по концентрации октадеценового альдегида (18:1a), входящего в состав клеточной стенки микроорганизмов индигенной нормобиоты, родов *Bifidobacterium spp.* и *Eubacterium spp.* Симбионтная микробиота является резервуаром плазмалогена, который входит в состав мембран анаэробных бактерий. Для оценки концентрации эндотоксина в крови методом ГХ-МС суммируются 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* [10].

Статистические методы, использованные в работе, относятся к методам простой описательной ста-

тистики. Для характеристики выборок генеральной совокупности использовано среднее – медианное значение и интерквартильный разброс. Для оценки статистической значимости средних значений сравниваемых групп использован U-критерий Манна-Уитни. Взаимосвязь показателей оценена с помощью корреляционного анализа Пирсона [11].

Результаты. Для оценки общего уровня концентраций ММ сравнена сумма концентраций всех определяемых ММ в крови в группе РС и группе норма (Н). Сравнена концентрация ММ бактериального плазмалогена и эндотоксина (рис. 1, а-в).

В группе РС статистически значимо увеличены концентрации в крови для общего уровня ММ (ОУ), концентрации ММ бактериального плазмалогена (Пл) и эндотоксина (Эн). Увеличение концентраций может быть связано с увеличением проницаемости стенки кишечника и развитием эндотоксемии. Рассмотрены взаимные корреляции этих показателей и критерия структуры микробиома (В/Ф). Результат представлен на рис. 2, а, б в виде схемы, указывающей силу и направленность корреляционных связей.

Тонкой чёрной линией обозначена статистически не значимая корреляционная связь, толстой чёрной линией – прямая корреляционная связь, пунктирной линией обозначена обратная корреляционная связь.

При РС изменяются корреляционные связи между исследуемыми критериями. В группе Н уровень плазмалогена связан с общим уровнем ММ в крови, уровень эндотоксина связан со структурой микробиома. Между общим уровнем ММ в крови и структурой микробиома отмечается обратная корреляционная связь, то есть увеличение общего уровня связано со снижением доли бактериоидов в микробиоме. При РС эта корреляция не отмечена, наблюдается прямая кор-

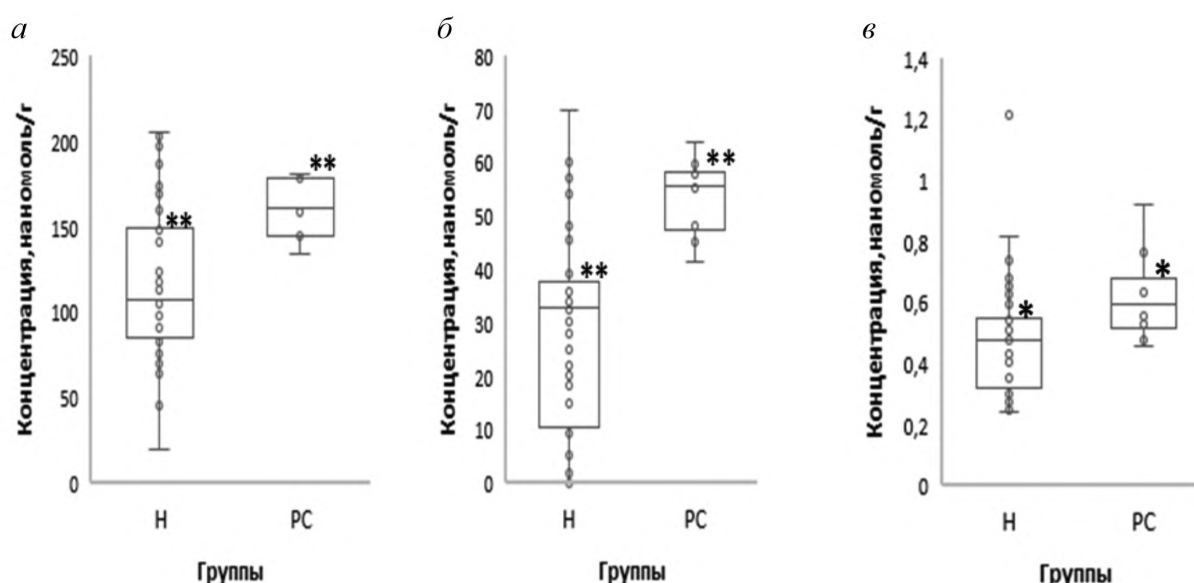


Рис. 1. Концентрации общего уровня ММ, ММ бактериальных плазмалогена и эндотоксина в крови у пациентов с РС и в группе сравнения. а – общий уровень; б – плазмалоген; в – эндотоксин.

Здесь и на рис.3: * – статистически значимые отличия от группы сравнения ($p < 0,05$), ** – статистически значимые отличия от группы сравнения ($p < 0,01$).

реляция общего уровня и концентрации эндотоксина, уровень эндотоксина коррелирует с уровнем плазмалогена. Повышение суммарной концентрации ММ в крови, маркёров бактериального плазмалогена и эндотоксина с учётом их взаимной корреляции с общим уровнем концентрации ММ в крови может указывать на увеличенную проницаемость кишечника.

Для оценки структуры микробиома исследована представленность основных филоотипов (рис. 3, а-г).

При РС статистически значимо повышается представленность *Actinobacteria* и *Firmicutes*, представленность *Proteobacteria* статистически значимо снижается относительно группы Н. Показатель *Bacteroidetes* в исследуемых группах не изменяется.

При РС прямая корреляционная связь *Proteobacteria-Bacteroidetes* меняется на прямую корреляционную связь *Proteobacteria-Firmicutes* и филоотип *Bacteroidetes* оказывается не связан корреляцией с другими филоотипами. При нарушении структуры микробиома характерно снижение представленности *Bacteroidetes* в микробиоме, но при РС, как следует из рис. 3, статистически значимого снижения не наблюдается. Происходит

снижение представленности *Proteobacteria* и рост *Firmicutes* и *Actinobacteria*, сопровождающийся обратными корреляциями представленности этих филоотипов.

Для характеристики микробиома рассмотрено соотношение кокков и палочковидной микрофлоры. При РС отмечается рост представленности кокков и снижение представленности бацилл в микробиоме.

Соотношение кокков и палочковидной микрофлоры не связаны с другими показателями структуры микробиома корреляционной связью. Смещение соотношения С/В в область высоких значений происходит вне зависимости от изменения структуры микробиома. При РС увеличивается представленность грамположительной микрофлоры и снижается представленность грамотрицательной. Для выявления взаимосвязи с другими показателями структуры микробиома проведён корреляционный анализ (табл. 1).

Увеличение представленности грамположительных микроорганизмов в микробиоме при РС связано с увеличением представленности *Bacteroidetes* и *Proteobacteria*. В группе сравнения снижение представленности грамположительных микроорганизмов связано с увеличением

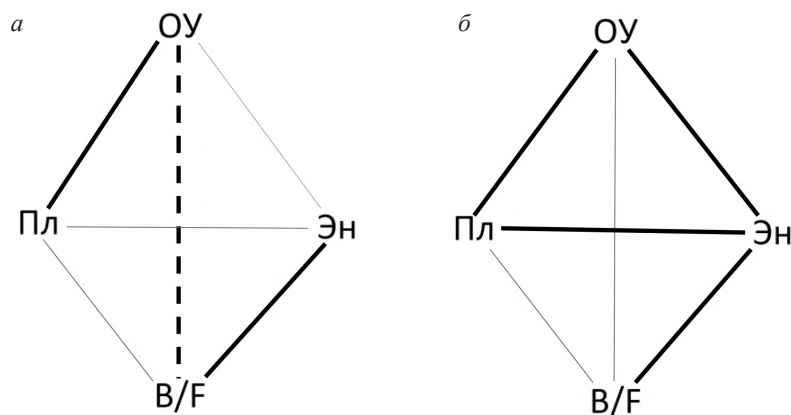


Рис. 2. Схема взаимных корреляций общего уровня, концентраций ММ бактериального плазмалогена и эндотоксина в крови, показателя В/Ф у пациентов с РС и в группе сравнения.

а – группа сравнения; б – рассеянный склероз.

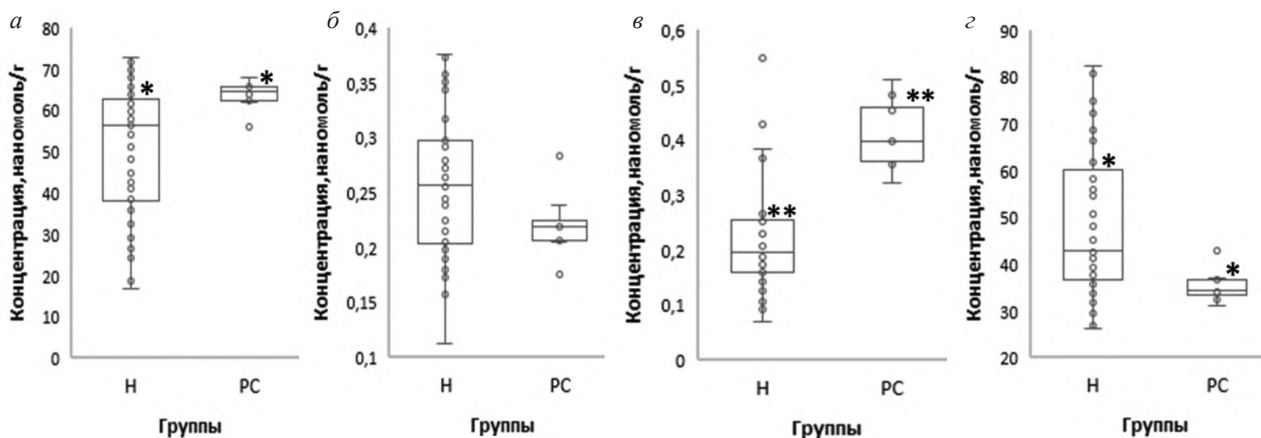


Рис. 3. Представленность ММ филоотипов микробиома у пациентов с РС и группы сравнения.

а – *Actinobacteria*; б – *Bacteroidetes*; в – *Proteobacteria*; г – *Firmicutes*.

Таблица 1

Корреляционный анализ соотношения грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов в микробиоме человека при РС и в группе сравнения

Показатели структуры микробиома	Группа сравнения	РС
Общий уровень микробных маркёров	-0,363	0,109
ММ бактериального плазмалогена	-0,356	0,121
ММ бактериального эндотоксина	0,616	0,655
Представленность <i>Actinobacteria</i>	-0,252	-0,696
Представленность <i>Bacteroidetes</i>	0,960	0,727
Представленность <i>Firmicutes</i>	0,198	0,684
Представленность <i>Proteobacteria</i>	0,959	0,945
Соотношение структуры микробиома В/Г	0,929	0,265
Представленность <i>Fungi</i>	-0,109	0,251
Соотношение С/В	0,062	0,504
Анаэробный индекс	-0,364	-0,590
Протеолитический индекс	-0,289	-0,509

Примечание. Здесь и в табл. 2,3: полужирным курсивом отмечены статистически значимые коэффициенты корреляции ($p < 0,05$).

Таблица 2

Корреляционный анализ соотношения анаэробных и аэробных микроорганизмов в микробиоме человека при РС и в группе сравнения

Показатели структуры микробиома	Группа сравнения	РС
Общий уровень ММ	0,313	0,446
ММ бактериального плазмалогена	0,552	0,140
ММ бактериального эндотоксина	-0,301	-0,009
Представленность <i>Actinobacteria</i>	0,542	0,511
Представленность <i>Bacteroidetes</i>	-0,369	-0,190
Представленность <i>Firmicutes</i>	-0,528	-0,505
Представленность <i>Proteobacteria</i>	-0,352	-0,688
Соотношение структуры микробиома В/Г	-0,268	0,145
Представленность <i>Fungi</i>	-0,407	-0,264
Соотношение С/В	0,132	0,121
Протеолитический индекс	0,516	0,566
Соотношение Грам ⁺ /Грамм ⁻	-0,364	-0,590

ем общего уровня ММ в крови и бактериального плазмалогена и снижением концентрации бактериального эндотоксина. В группе сравнения отмечается обратная корреляционная связь представленности анаэробной и грамположительной микрофлоры.

Для оценки структуры микробиома относительно функции дыхания микроорганизмов определено соотношение анаэробных (факультативные анаэробы) и аэробных микроорганизмов. При РС увеличивается представленность анаэробных микроорганизмов и снижается представленность аэробных. Увеличивается анаэробный индекс, представляющий соотношение концентраций ММ анаэробных и аэробных микроорганизмов. Для оценки взаимосвязи анаэробного индекса с другими показателями структуры микро-

биома проведён корреляционный анализ, результаты которого представлены в табл. 2.

Соотношение анаэробной и аэробной микрофлоры не связаны с другими показателями структуры микробиома корреляционной связью. Смещение соотношения анаэробного индекса в область высоких значений происходит вне зависимости от изменения структуры микробиома. В группе сравнения анаэробный индекс связан с общим уровнем ММ и концентрацией плазмалогена в крови прямой корреляционной связью, с концентрацией ММ эндотоксина – обратной. Прямая корреляционная связь отмечается для анаэробного индекса и представленности *Actinobacteria* и обратные корреляционные связи с другими флотипами и царством *Fungi*. Прямая корреляционная связь отмечается для анаэробного ин-

Корреляционный анализ соотношения протеолитически активных и сахаролитически активных микроорганизмов в микробиоме человека при РС и в группе сравнения

Показатели структуры микробиома	Группа сравнения	РС
Общий уровень ММ	0,173	0,417
ММ бактериального плазмалогена	0,583	0,407
ММ бактериального эндотоксина	-0,204	0,172
Представленность <i>Actinobacteria</i>	0,748	0,856
Представленность <i>Bacteroidetes</i>	-0,231	-0,123
Представленность <i>Firmicutes</i>	-0,741	-0,858
Представленность <i>Proteobacteria</i>	-0,332	-0,537
Соотношение структуры микробиома В/Ф	-0,095	0,420
Представленность <i>Fungi</i>	0,091	0,454
Соотношение С/В	-0,216	0,134
Соотношение Грам/Грамм ⁺	-0,289	-0,509
Анаэробный индекс	0,516	0,566

декса и протеолитического индекса и обратная корреляционная связь для соотношения Грам/Грамм⁺.

Для оценки протеолитической активности микробиоты рассмотрена представленность микроорганизмов проявляющих в большинстве случаев протеолитическую активность и микроорганизмов, с броодильным метаболизмом.

При РС увеличивается представленность протеолитически активных микроорганизмов и снижается представленность сахаролитических. Увеличивается протеолитический индекс, представляющий соотношение концентраций ММ протеолитически активных и сахаролитически активных микроорганизмов. Для оценки взаимосвязи протеолитического индекса с другими показателями структуры микробиома проведен корреляционный анализ (табл. 3).

При РС протеолитический индекс имеет прямую корреляционную связь с представленностью *Actinobacteria* и обратную с *Firmicutes*. В группе Н, кроме вышеописанной корреляционной связи отмечается прямая корреляционная связь протеолитического индекса с концентрациями ММ бактериального плазмалогена и анаэробного индекса. При РС происходит увеличение корреляции, следовательно, увеличение протеолитической активности *Actinobacteria* и усиление сахаролитической активности *Firmicutes*.

Обсуждение. РС – иммуноопосредованное заболевание ЦНС, сопровождающееся повреждением аксона [11] и дисбиозом кишечника [12]. Уровень всех измеряемых ГХ-МС ММ, ММ бактериальных плазмалогена и эндотоксина превышают значения показателей группы Н (см. рис. 1). Взаимные корреляции общего уровня плазмалогена и эндотоксина становятся статистически значимыми, и разрывается корреляция общего уровня с показателем структуры микробиома (см. рис. 2), что может свидетельствовать о таком состоянии слизистой оболочки, когда количество ММ уже не зависит от состава микробного сообщества.

Изменения структуры микробного сообщества сопровождаются увеличением представленности *Actinobacteria* и *Firmicutes* за счёт снижения представленности *Proteobacteria* (см. рис. 3). Микроорганизмы фило типа *Actinobacteria* связаны с протеолитической активностью микробиома, *Firmicutes* с сахаролитической (см. табл. 3). При РС прогрессирует протеолитически активная, агрессивная микрофлора при доминировании *Actinobacteria*. Снижение численности *Bacteroidetes* не происходит, но разрывается корреляционная связь с *Proteobacteria*. Филотипы *Bacteroidetes* и *Proteobacteria* связаны прямой корреляцией с представленностью грамположительных микроорганизмов. При РС корреляционная связь *Bacteroidetes* и представленность грамположительных микроорганизмов ослабевает, но остается статистически значимой. При сохранении представленности фило типа *Bacteroidetes* в микробиоме зависимость изменения численности не связана с изменением количества микроорганизмов других фило типов, то есть фило тип исключается из «социальной» структуры сообщества. Дезорганизация микробного сообщества сопровождается увеличением представленности кокков, доля представленности которых в группе Н в 3 раза ниже, чем при РС (см. рис. 1). Отсутствие корреляционной связи кокков с количеством основных фило типов микробиома человека, указывает на критическое снижение колонизационной резистентности микробиома и как следствие замещение эндогенной микрофлоры просветной, преимущественно анаэробной.

Заключение. Исследование состояния микробиома человека по концентрациям ММ в крови позволяет охарактеризовать структуру микробного сообщества как экстракорпорального органа организма человека. Изменения, регистрируемые по соотношениям концентраций ММ не менее информативны, чем молекулярно-генетические методы, несмотря на более ограниченный набор базовых микроорганизмов. Из-

мерение концентраций ММ в крови позволяет охарактеризовать не столько структуру микробиома, но и оценить взаимосвязь микробиоты и организма, охарактеризовать барьерную функцию слизистых оболочек.

Показана важная роль барьерной функции слизистой оболочки ЖКТ в развитии эндотоксемии и закономерности изменения структуры микробиома. РС сопровождается 1,5-кратным увеличением концентраций ММ в крови, ММ бактериального плазмалогена и эндотоксина. Обратная корреляционная связь суммарной концентрации ММ и структуры микробного сообщества разрывается. Структура микробного сообщества при РС изменяется и характеризуется ростом *Actinobacteria*, протеолитической, анаэробной грамположительной микрофлоры. Трёхкратное увеличение представленности кокков, не имеющих корреляции с другими показателями структурности микробного сообщества указывает на развитие дисбиоза, то есть неуправляемого роста просветной микрофлоры при снижении колонизационной резистентности эндогенной микрофлоры, что подтверждается снижением корреляции «индикаторного» фило типа *Bacteroidetes*.

Можно заключить, что РС может быть связан с патологическими изменениями структуры микробиома и ростом эндотоксемии, что может являться одним из факторов патогенеза заболевания. Предложены новые лабораторные маркёры для диагностики и прогнозирования течения РС.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-5, 11, 12 см. REFERENCES)

6. Митрука Б.М. Применение газовой хроматографии в микробиологии и медицине. М.: Медицина; 1978.
7. Миронов А. Ю., Зур Н.В. Молекулярные маркёры патогенов. М.: Тираж; 2013. ISBN 978-5-905463-13-6.
8. Осипов Г.А., Парфенов А.И., Верховцева Н.В., Ручкина И.Н., Бойко Н.Б. Количественный *in situ* анализ микробиоты кишечной стенки и фекалий методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2004; 9: 67-8.
9. Белобородова Н.В. Интеграция метаболизма человека и его микробиома при критических состояниях. *Общая реаниматология*. 2012; 8(4): 42-54.
10. Самойлова М.В., Косырева Т.Ф., Анурова А.Е., Абрамович Р.А., Миронов А.Ю., Жиленкова О.Г., Затевалов А.М., Воропаева Е.А. Оценка микробиоценоза полости рта на основе ГХ-МС-определения плазмалогена и бактериального эндотоксина в ротовой жидкости. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64(3): 186-92.

13. Боровиков В.П., Боровиков И.П. STATISTICA: Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. М.: Филин; 1998.

REFERENCES

1. Beer S., Khan F., Kesselring J. Rehabilitation interventions in multiple sclerosis: an overview. *J. Neurol.* 2012 Sep; 259(9):1994-2008. DOI: 10.1007/s00415-012-6577-4.
2. GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2019 May; 18(5):459-80. DOI: 10.1016/S1474-4422(18)30499-X.
3. Osipov G.A., Verkhovtseva N.V. Study of human microecology by mass spectrometry of microbial markers. *Benef. Microbes.* 2011 Mar; 2(1):63-78. DOI: 10.3920/BM2010.0017.
4. Yang Y., Misra B.B., Liang L., Bi D., Weng W., Wu W. et al. Integrated microbiome and metabolome analysis reveals a novel interplay between commensal bacteria and metabolites in colorectal cancer. *Theranostics.* 2019 May 31; 9(14):4101-14. DOI: 10.7150/thno.35186.
5. Ktsuyan Z.A., Beloborodova N.V., Sedrakyan A.M., Osipov G.A., Khachatryan Z.A., Kelly D. et al. Profiles of Microbial Fatty Acids in the Human Metabolome are Disease-Specific. *Front. Microbiol.* 2011 Jan 20;1:148. DOI: 10.3389/fmicb.2010.00148. eCollection 2010.
6. Mitruka B.M. Application of Gas Chromatography in Microbiology and Medicine. Moscow: Meditsina; 1978. (in Russian)
7. Mironov A. Yu., Zur N.V. Molecular markers of pathogens. Moscow: Tirazh; 2013. ISBN 978-5-905463-13-6. (in Russian)
8. Osipov G.A., Parfenov A.I., Verkhovtseva N.V., Ruchkina I.N., Boyko N.B. Quantitative *in situ* analysis of the microbiota of the intestinal wall and feces by Gas Chromatography – mass spectrometry. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2004; (9). 67-8. (in Russian)
9. Beloborodova N.V. Integration of human metabolism and its microbiome in critical conditions. *Obshchaya reanimatologiya*. 2012; 8(4): 42-54. (in Russian)
10. Samoylova M.V., Kosyreva T.F., Anurova A.E., Abramovich R.A., Mironov A. Yu., Zhilenkova O.G. et al. Evaluation of microbiocenosis of the oral cavity based on GC-MS determination of plasmalogen and bacterial endotoxin in the oral fluid. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 64(3): 186-92. (in Russian)
11. Borovikov V.P., Borovikov I.P. Statistica. Statisticheskii analiz i obrabotka dannykh v srede Windows (Statistica. Statistical Analysis and Data Processing in the Windows Environment), Moscow: Filin; 1998. (in Russian)
12. Moreno B., Jukes J.P., Vergara-Irigaray N., Errea O., Villoslada P., Perry V.H., Newman T.A.. Systemic inflammation induces axon injury during brain inflammation. *Ann. Neurol.* 2011 Dec; 70(6):932-42. DOI:10.1002/ana.22550.
13. Miyake S., Kim S., Suda W., Oshima K., Nakamura M., Matsuoka T. et al. Dysbiosis in the Gut Microbiota of Patients with Multiple Sclerosis, with a Striking Depletion of Species Belonging to Clostridia XIVa and IV Clusters. *PLoS One.* 2015 Sep 14; 10(9): e0137429. DOI:10.1371/journal.pone.0137429.