

«Кинурениновый переключатель» и ожирение

**Шестопалов А.В.^{1,2}, Шатова О.П.², Карбышев М.С.², Гапонов А.М.¹, Москалева Н.Е.³,
Апполонова С.А.³, Тутельян А.В.⁴, Макаров В.В.⁵, Юдин С.М.⁵, Румянцев С.А.²**

¹ *Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) Детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева*

Россия, 117997, г. Москва, ул. Саморы Машела, 1

² *Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) им. Н.И. Пирогова*
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

³ *Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)*

Россия, 119991, г. Москва, ул. Большая Пироговская, 2/4

⁴ *Центральный научно-исследовательский институт (НИИ) эпидемиологии Роспотребнадзора Российской Федерации (РФ)*

Россия, 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а

⁵ *Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью*
Россия, 119121, г. Москва, ул. Погодинская, 10/1

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить содержание метаболитов бактериального и эукариотического происхождения индолного, кинуренинового и серотонинового путей обмена триптофана у пациентов с ожирением.

Материалы и методы. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием изучили концентрации сывороточных метаболитов: кинуренина, кинуреновой кислоты, антралиновой кислоты, ксантуреновой кислоты, хинолиновой кислоты, 5-гидроксииндол-3-ацетата, триптамина, серотонина, индол-3-лактата, индол-3-ацетата, индол-3-бутирата, индол-3-карбоксальдегида, индол-3-акрилата, индол-3-пропионата у пациентов с ожирением в сравнении с группой здоровых добровольцев.

Результаты. Установлено, что у пациентов с ожирением в сыворотке крови статистически значимо повышен уровень метаболитов триптофанового обмена микробиотического и эукариотического происхождения. Концентрация кинуренина в сыворотке крови у больных с ожирением составляла $2\,413 \pm 855$ нмоль/л, тогда как у здоровых добровольцев такой же возрастной группы – $2\,122 \pm 863$ нмоль/л. Также у пациентов с ожирением в сыворотке крови были повышены две кислоты, которые образуются в результате метаболизма кинуренина – кинуреновая и хинолиновая. Концентрация кинуреновой кислоты в сыворотке крови у пациентов с ожирением составляла $21,1 \pm 9,26$ нмоль/л, а у здоровых $16,8 \pm 8,37$ нмоль/л соответственно. Тогда как концентрация хинолиновой кислоты в сыворотке крови при ожирении – $73,1 \pm 54,4$ нмоль/л, а у здоровых добровольцев – $56,8 \pm 34,1$ нмоль/л. В норме концентрация хинолиновой кислоты в 3,4 раза выше, чем концентрация кинуреновой кислоты, а при ожирении происходит сопоставимое их повышение.

Из производных индола, которые имеют преимущественно микробиотическое происхождение, в сыворотке крови пациентов с ожирением статистически значимо повышена концентрация индол-3-лактата, индол-3-бутирата и индол-3-ацетата. У пациентов с ожирением концентрация в сыворотке крови метаболита серотонина – 5-гидроксииндол-3-ацетата – была повышена и составляла $74,6 \pm 75,8$ нмоль/л (у здоровых добровольцев – $59,4 \pm 36,6$ нмоль/л); индол-3-лактата – 523 ± 251 нмоль/л (у здоровых добровольцев

✉ Шатова Ольга Петровна, e-mail: shatova.op@gmail.com

433 ± 208 нмоль/л); индол-3-ацетата – 1 633 ± 1166 нмоль/л (у здоровых добровольцев 1 186 ± 826 нмоль/л); индол-3-бутирата – 4,61 ± 3,31 нмоль/л (у здоровых добровольцев 3,85 ± 2,51 нмоль/л).

Заключение. При ожирении происходит интенсификация утилизации триптофана как микробиотической популяцией кишечника, так и макроорганизмом. Установлено, что больные с ожирением имеют более высокие концентрации кинуренина, хинолиновой и кинуреновой кислот, индол-3-ацетата, индол-3-лактата, индол-3-бутирата и 5-гидроксииндол-3-ацетата. Видимо, на фоне гиперпродукции провоспалительных цитокинов адипоцитами у пациентов с ожирением срабатывает «кинурениновый переключатель», что и обеспечивает гиперпродукцию метаболитов триптофанового обмена, которые вовлечены в иммунологическую функцию макроорганизма.

Ключевые слова: микробиота, триптофан, ожирение, кинуренины, индолы, метаболический синдром.

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках договора № 0373100122119000041 по проекту «Создание банка биообразцов сыворотки крови и фекалий от здоровых доноров и пациентов с ожирением, метаболическим синдромом, сахарным диабетом II типа, нарушением мукозального барьера желудочно-кишечного тракта с целью выявления кандидатных видонеспецифических медиаторов систем quorum sensing микробиоты человека, модулирующих эндокринную и метаболическую функцию жировой ткани».

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № от 86 от 26.06.2019).

Для цитирования: Шестопалов А.В., Шатова О.П., Карбышев М.С., Гапонов А.М., Москалева Н.Е., Апполонова С.А., Тутельян А.В., Макаров В.В., Юдин С.М., Румянцев С.А. «Кинурениновый переключатель» и ожирение. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (4): 103–111. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-103-111>.

“Kynurenine switch” and obesity

Shestopalov A.V.^{1,2}, Shatova O.P.², Karbyshev M.S.², Gaponov A.M.¹, Moskaleva N.E.³, Appolonova S.A.³, Tutelyan A.V.⁴, Makarov V.V.⁵, Yudin S.M.⁵, Roumiantsev S.A.²

¹ Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology
1, Samory Mashela Str., Moscow, 117997, Russian Federation

² Pirogov Russian National Research Medical University
1, Ostrovityanova Str., Moscow, 117997, Russian Federation

³ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
2/4 Bolshaya Pirogovskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation

⁴ Central Research Institute of Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being
3A, Novogireevskaya Str., Moscow, 111123, Russian Federation

⁵ Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks
10/1, Pogodinskaya Str., Moscow, 119121, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the concentrations of bacterial and eukaryotic metabolites mainly involved in indole, kynurenine, and serotonin pathways of tryptophan metabolism in a cohort of patients with obesity.

Materials and methods. Using high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection, the concentrations of several serum metabolites, such as kynurenine, kynurenic acid, anthranilic acid, xanthurenic acid, quinolinic acid, 5-hydroxyindole-3-acetate, tryptamine, serotonin, indole-3-lactate, indole-3-acetate, indole-3-butyrate, indole-3-carboxaldehyde, indole-3-acrylate, and indole-3-propionate, were analyzed in a cohort of obese patients compared with healthy volunteers.

Results. It was found that serum levels of tryptophan metabolites of microbial and eukaryotic origin were significantly increased in obese patients. Therefore, the concentration of kynurenine in the blood serum in obese patients was $2,413 \pm 855$ nmol / l, while in healthy volunteers of the same age group, the level of kynurenine in the blood serum was $2,122 \pm 863$ nmol / l. In obese patients, two acids formed due to kynurenine metabolism; the concentrations of kynurenic and quinolinic acids were increased in the blood serum. The concentration of kynurenic acid in the blood serum in obese patients was 21.1 ± 9.26 nmol / l, and in healthy patients, it was 16.8 ± 8.37 nmol / l. At the same time, the level of quinolinic acid in the blood serum in obese patients was 73.1 ± 54.4 nmol / l and in healthy volunteers – 56.8 ± 34.1 nmol / l. Normally, the level of quinolinic acid is 3.4 times higher than the concentration of kynurenic acid, and in case of obesity, there is a comparable increase in these acids in the blood serum.

From indole derivatives, mainly of microbial origin, the concentrations of indole-3-lactate, indole-3-butyrate, and indole-3-acetate were significantly increased in the blood serum of obese patients. In obese patients, the serum concentration of 5-hydroxyindole-3-acetate was elevated to 74.6 ± 75.8 nmol / l (in healthy volunteers – 59.4 ± 36.6 nmol / l); indole-3-lactate – to 523 ± 251 nmol / l (in healthy volunteers – 433 ± 208 nmol / l); indole-3-acetate – to $1,633 \pm 1,166$ nmol / l (in healthy volunteers – $1,186 \pm 826$ nmol / l); and indole-3-butyrate – to 4.61 ± 3.31 nmol / l (in healthy volunteers – 3.85 ± 2.51 nmol / l).

Conclusion. In case of obesity, the utilization of tryptophan was intensified by both the microbiota population and the macroorganism. It was found that obese patients had higher concentrations of kynurenine, quinolinic and kynurenic acids, indole-3-acetate, indole-3-lactate, indole-3-butyrate, and 5-hydroxyindole-3-acetate. Apparently, against the background of increased production of proinflammatory cytokines by adipocytes in obese patients, the “kynurenine switch” was activated which contributed to subsequent overproduction of tryptophan metabolites involved in the immune function of the macroorganism.

Key words: microbiota, tryptophan, obesity, kynurenines, indoles, metabolic syndrome.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out under the agreement No.0373100122119000041 within the project “Creation of a bank of blood serum and fecal samples from healthy donors and patients with obesity, metabolic syndrome, type II diabetes mellitus, and breach in the gastrointestinal mucosal barrier to identify candidate species-nonspecific mediators of the human microbiota quorum sensing systems that modulate the endocrine and metabolic function of adipose tissue”.

Conformity with the principles of ethics. All participants signed an informed consent to take part in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Pirogov Russian National Research Medical University (Protocol No. 186 of 26.06.2019).

For citation: Shestopalov A.V., Shatova O.P., Karbyshev M.S., Gaponov A.M., Moskaleva N.E., Appolonova S.A., Tutelyan A.V., Makarov V.V., Yudin S.M., Roumiantsev S.A. “Kynurenine switch” and obesity. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (4): 103–111. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-103-111>.

ВВЕДЕНИЕ

Триптофан – незаменимая аминокислота для организма человека [1]. Однако микробиота кишечника имеет ферментативную систему шикиматного пути синтеза триптофана и может обеспечить макроорганизм как аминокислотой, так и ее производными. В числе этих метаболитов – производные кинуренинового, индольного и серотонинового путей обмена триптофана [2]. Синтез ароматических аминокислот возможен в микробиотической популяции благодаря наличию универсальных метаболических путей – гликолиза и пентозо-фосфатного цикла (ПФЦ). Так, гликолиз является источником фосфоенолпирувата (ФЕП), тогда как ПФЦ – это донор эритрозо-4-фосфата для шикиматного пути синтеза триптофана и антраниловой кислоты (рис. 1, *a, b*).

Доминирующий механизм утилизации триптофана для эукариот – это кинуреновый путь превращения. Более 90% из не затраченного на биосинтез белка триптофана превращается в метаболиты кинуренинового пути [2]. Они играют антиоксидантную роль в организме, участвуют в регуляции иммунных реакций, являются токсинами, выполняют противовоспалительную функцию, выполняют роль сигнальных молекул в молекулярном диалоге макроорганизма и микробиома и т.д. [2]. К примеру, антраниловая кислота (антранилат) является важным звеном в метаболическом сопряжении микробиома и макроорганизма: имеет смешанное происхождение, является предшественником в синтезе хинолиновой кислоты и, соответственно, НАД⁺, а также участвует в образовании хинолиновых регуляторов quorum sensing (QS) микробиоты [3]. Пока нет све-

дений о роли микробиотических ферментов в синтезе непосредственно хинолиновой кислоты и НАД⁺ из триптофана [4]. Однако и хинолиновая кислота и НАД⁺ не являются видоспецифичными метаболитами и их синтез происходит как в эукариотах, так и в прокариотах.

Важно отметить, что хинолиновая кислота в эукариотах образуется из триптофана, тогда как в прокариотах ее образование идет из аспарагиновой кислоты [5].

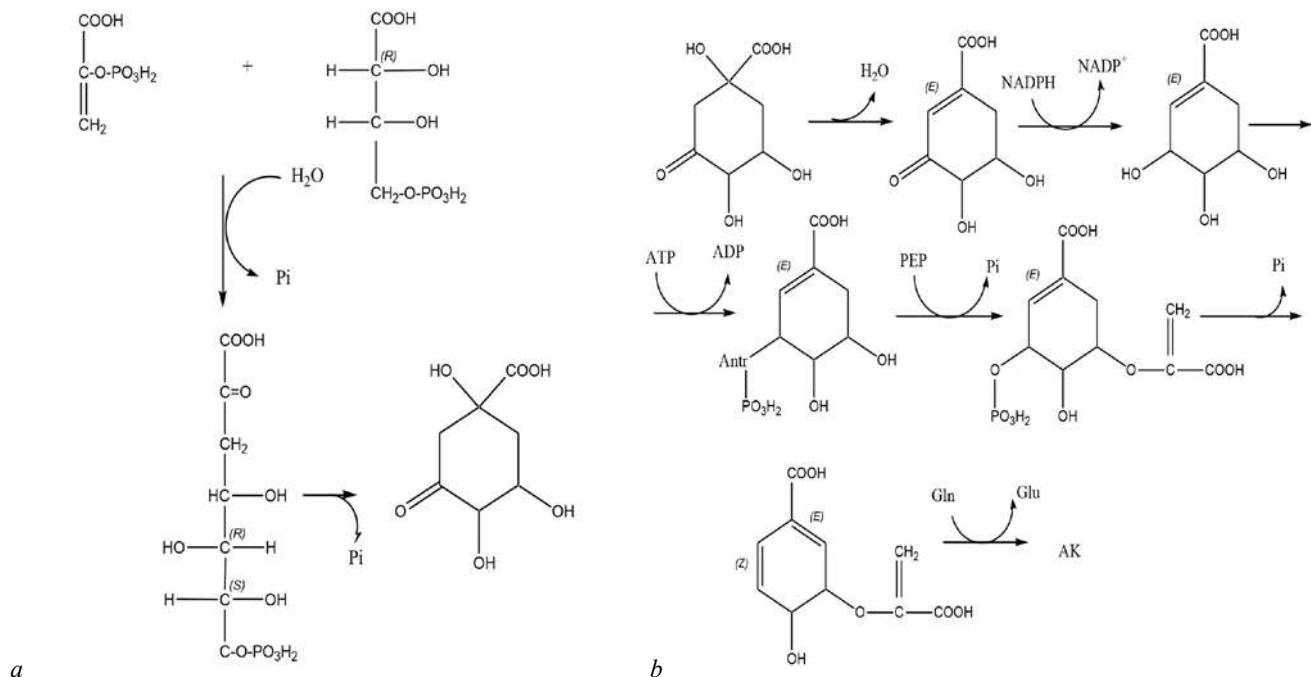


Рис. 1. Шикиматно-хоризматный путь: *a* – на первом этапе синтезируется 3-дегидрохиннат: ФЕП и эритрозо-4-фосфат, превращаются в дезокси-d-арабино-гепт-2-улозонат-7-фосфат (ДАГФ) при участии ДАГФ-синтазы, а затем ДАГФ превращается в 3-дегидрохиннат (3-ДХ) при участии 3-ДХ-синтазы; *b* – на втором этапе 3-ДХ в реакции дегидратации превращается в 3-дегидрошикимат, а затем происходит восстановление до шикимата, с последующей реакцией фосфорилирования до шикимата-3-фосфата. При взаимодействии с ФЕП (РЕР) шикимат-3-фосфат превращается в енолпируват-шикимат-3-фосфат специфической синтазой, а затем после дефосфорилирования становится хоризматом, который при взаимодействии с глутамином (Gln) превращается в антралиловую кислоту (АК)

Показано, что после нагрузки триптофаном или после иммунной стимуляции гепатоциты, которые конститутивно ответственны за синтез НАД⁺, транзиторно накапливают хинолиновую кислоту. Тогда как клетки иммунной системы, в том числе макрофаги, дендритные клетки, клетки Лангерганса, клетки Купфера и другие, генерируют высокие, устойчивые уровни внутриклеточной хинолиновой кислоты в ответ на различные иммунные стимуляторы. Данное событие вовлечено в регуляцию подвижности иммунных клеток, так как индуцирует в них синтез белков цитоскелета [8]. Важно отметить, что в печени весь триптофан, который не был вовлечен в синтез белка, превращается в НАД⁺ или подвергается окислению до CO₂ и H₂O, а при иммунной стимуляции в ткани

Хинолиновая кислота является нейро- и глиотоксичной и повышается у животных с рассеянным склерозом в тканях мозга и сыворотке крови [6]. Хинолиновая кислота является антагонистом ионотропного рецептора глутамата, селективно связывающего N-метил-D-аспартат, тогда как кинуреновая кислота – агонистом глутаматергических и холинергических рецепторов и обладает антиоксидантными свойствами [7]. Следовательно, кинуреновая кислота будет оказывать нейропротекторное действие.

легких происходит активация индоламин-2,3-диоксигеназы (И-2,3-ДО), что способствует срабатыванию «кинуренинового переключателя» и системный кинуренин начинают активно поглощать иммунокомпетентные клетки с целью гиперпродукции НАД⁺ [8].

Внутриклеточные уровни хинолиновой кислоты резко увеличиваются в ответ на иммунную стимуляцию липополисахаридом в макрофагах, микроглии, дендритных клетках и других клетках иммунной системы [8]. Дальнейшая судьба хинолиновой кислоты зависит от активности фермента хинолинат фосфорибозилтрансферазы (ХФРТ), который катализирует образование мононуклеотида никотиновой кислоты из хинолиновой кислоты и 5-фосфорибозил-1-пиррофосфата (рис. 2).



Рис. 2. Биологическая роль НАД⁺ в иммунокомпетентных клетках

Известно, что воспалительная реакция требует более высоких уровней НАД⁺ в иммунокомпетентных клетках. Так, НАД⁺ выполняет многочисленные функции (см. рис. 2): участие в «респираторном взрыве», реакции полимеризации поли-АДФ-рибозы (которая участвует в репарации ДНК), регуляции активности НАД⁺-зависимых деацетилаз (сиртуинов) и НАД⁺-зависимых гидролаз, в том числе CD38, CD157, цАДФ-рибозо-гидролазы. Последняя экспрессируется на многих иммунных клетках, включая CD4⁺, CD8⁺, В-лимфоциты и натуральные киллеры, CD157 – АДФ-рибозил циклаза 2 экспрессируется пре-В-лимфоцитами [8].

Показано, что ожирение является системным воспалительным заболеванием, при котором отмечается гиперэкспрессия И-2,3-ДО как в белой жировой ткани, так и в печени, индуцируемая провоспалительными адипоцитарными цитокинами [9]. В ответ на активацию регуляторного фермента кинуренинового пути интенсифицируется и весь кинурениновый путь обмена триптофана. Интересно, что активация И-2,3-ДО в кишечнике приводит к повышению концентрации кинуренина, который обладает антимикробным действием [2], и таким образом воздействует на микробиотическую популяцию в кишечнике.

Возможно, что при ожирении интенсификация шикиматного пути в кишечнике сопровождается избыточным образованием триптофана, который может быть метаболизирован различными микробиотическими популяциями в производные индола. При этом следует отметить, что индол-3-лактат регулирует кинурениновый путь превращения триптофана в клетках макроорганизма [10], а индол-3-ацетат (и триптамин) является агонистом арил-гидрокарбоновых рецепторов [11].

Поэтому целью нашего исследования было изучение концентрации метаболитов кинуренинового и индольного путей обмена триптофана в сыворотке крови у пациентов с ожирением.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 266 пациентов, средний возраст которых составил $39,9 \pm 4,2$ лет. Сформированы две клинические группы. Группа 1 ($n = 138$) – контрольная группа здоровых добровольцев, не имеющих ожирения и (или) метаболического синдрома со средним индексом массы тела (ИМТ) $22,7 \text{ кг/м}^2$ и объемом талии (ОТ) $79,8 \text{ см}$. Группа 2 ($n = 128$) – группа наблюдения с ожирением и (или) метаболическим синдромом со средним ИМТ $32,96 \text{ кг/м}^2$ и ОТ $108,98 \text{ см}$.

От всех участников исследования были получены образцы цельной крови, сыворотки крови согласно протоколу исследования. Транспортировка и хранение образцов осуществляются с соблюдением холодной цепи при температуре не выше $-40 \text{ }^\circ\text{C}$.

Количественный анализ метаболитов обмена триптофана в сыворотке крови проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Анализ проводили при помощи жидкостного хроматографа Agilent 1200 (Agilent Inc., США) с системой автоматического ввода образцов, термостатом колонки и дегазатором. Хроматографическое разделение проводили с использованием аналитической колонки Discovery PFP HS F5 ($2,1 \times 150 \text{ мм}$; 3 мкм). Состав подвижной фазы: фаза А – 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в воде дионизированной; фаза В – 100%-й ацетонитрил для хроматографии. Градиент подвижной фазы 1–10% в течение 4 мин, далее до 90% к 9-й мин анализа. Скорость потока подвижной фазы $0,40 \text{ мл/мин}$.

Для детектирования использован масс-спектрометрический детектор на основе тройного квадруполя Agilent 6460 (Agilent Inc., США), MRM и ионизацией. Характеристические для каждого соединения родительские и дочерние ионы для режима MRM, а также параметры ионизации и диссоциации оптимизированы с использованием стандартов исследуемых метаболитов. Полученный сигнал обрабатывали при помощи программного обеспечения Masshunter (Agilent Inc., США).

Расчет концентраций метаболитов проводили методом внутреннего стандарта (2-гидроксиникотиновая кислота). Стандарты определяемых соединений готовили с использованием искусственной матрицы, содержащей бычий сывороточный альбумин и хлорид натрия. В матрицу добавляли исследуемые

метаболиты и проводили подготовку согласно методике анализа.

Для подготовки пробы сыворотки крови к 100 мкл сыворотки добавляли внутренний стандарт (2-гидроксиникотиновую кислоту), осаждали белки ацетонитрилом, супернатант упаривали и перерабатывали в 10%-м метаноле в воде с аскорбиновой кислотой для предотвращения окисления анализов. Для подготовки пробы кала ее лиофилизировали до сухого остатка, далее навеску около 5 мг экстрагировали 50%-м метанолом в воде с добавлением внутреннего стандарта и аскорбиновой кислоты. После центрифугирования образец анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС.

Методика была валидирована по показателям селективности, линейности, точности, воспроизводимости, матричному эффекту и стабильности анализа. Валидация проводилась в соответствии с руководством по валидации биоаналитических методов FDA.

Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием пакета программы Stastica 12.0 (StatSoft Inc., США). Данные приведены в виде средней величины и стандартного отклонения $M \pm \sigma$. Статистическую значимость различий средних величин независимых выборок оценивали с помощью параметрического анализа после проверки распределения данных на нормальность. Оценка на нормальность распределения признаков в группах проводилась при помощи критерия Шапиро – Уилка. Для сравнительного анализа независимых выборок использовали критерий Манна – Уитни и зависимых – критерий Вилкоксона. Статистически значимое различие принимали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе содержания в сыворотке крови метаболитов кинуренинового и индольного путей в контрольной группе исследуемых пациентов нами установлено, что при ожирении статистически значимо повышаются концентрации хинолиновой кислоты, кинуреновой кислоты, кинуренина, 5-гидросиндол-3-ацетата, индол-3-лактата, индол-3-ацетата и индол-3-бутирата (таблица).

Т а б л и ц а

Содержание в сыворотке крови метаболитов триптофанового обмена, нмоль/л, $M \pm \sigma$		
Показатель	Контрольная группа, $n = 138$	Группа наблюдения, $n = 128$
Хинолиновая кислота	56,8 ± 34,1	73,1 ± 54,4*
Кинуренин	2 122 ± 863	2 413 ± 855**
5-гидросиндол-3-ацетат	59,4 ± 36,6	74,6 ± 75,8*
Кинуреновая кислота	16,8 ± 8,37	21,1 ± 9,26*

Окончание табл.

Показатель	Контрольная группа, $n = 138$	Группа наблюдения, $n = 128$
Индол-3-лактат	433 ± 208	523 ± 251**
Индол-3-ацетат	1 186 ± 826	1 633 ± 1 166*
Индол-3-бутират	3,85 ± 2,51	4,61 ± 3,31*
Серотонин	809 ± 356	782 ± 434
Антралиловая кислота	33,3 ± 20,7	37,5 ± 20,9
Ксантуреновая кислота	4,31 ± 3,11	4,18 ± 2,91
Триптамин	0,818 ± 0,541	0,731 ± 0,314
Индол-3-карбоксальдегид	40,4 ± 19,3	44,3 ± 25,7
Индол-3-акрилат	5,01 ± 14,6	4,29 ± 15,7
Индол-3-пропионат	650 ± 845	753 ± 736

* различия статистически значимы относительно контрольной группы при $p < 0,01$; ** различия статистически значимы относительно контрольной группы добровольцев при $p < 0,05$.

Нами не установлено статистически значимых различий сывороточной концентрации следующих метаболитов триптофанового обмена: антралиловой и ксантуреновой кислот, триптамина, индол-3-карбоксальдегида, индол-3-акрилата, индол-3-пропионата между здоровыми добровольцами и пациентами с ожирением (см. таблицу).

Многими исследовательскими группами продемонстрировано увеличение концентрации кинуренина в сыворотке крови при ожирении [4]. Однако в нашем исследовании показанное статистически значимое повышение кинуренина в сыворотке крови не столь значимое в процентном соотношении, тогда как мы установили в большей степени увеличение концентрации хинолиновой и кинуреновой кислот у больных с ожирением.

Также нами показано, что из всех метаболитов кинуренинового пути в сыворотке крови в обеих группах наблюдения концентрация кинуренина была значимо выше в сравнении с другими метаболитами кинуренинового пути. Это наблюдение, на наш взгляд, закономерно, так как кинуренин – основной катаболит триптофана для макроорганизма. Однако кинуренин имеет смешанное происхождение, и остается непонятным, какая доля (%) сывороточного кинуренина всасывается из кишечника, образуется в других органах макроорганизма в норме и при ожирении.

Известно обеднение таксонов микробиотического сообщества кишечника при ожирении [12]. Также наблюдается гиперпродукция адипоцитами различных провоспалительных цитокинов [13], сопровождающаяся повышением концентрации кинуренина в сыворотке крови и, как следствие, хинолиновой кислоты. Видимо, повышенная концентрация хинолиновой кислоты в сыворотке крови отражает происходящее в клетках макроорганизма. Выше обсуж-

далось значение «кинуруенинового переключателя» и защитной роли НАД⁺, но существует скорость-лимитирующая реакция в синтезе НАД⁺ – ХФРТ [8]. Видимо, гиперпродукция хинолиновой кислоты у больных с ожирением связана с невысокой активностью данного фермента, в том числе и в иммунокомпетентных клетках.

Утилизация избытка кинуренина при ожирении идет и по пути превращения его в кинуреновую кислоту, о чем свидетельствуют и полученные нами данные о статистически значимом повышении уровня кинуреновой кислоты у пациентов с ожирением. Этот метаболит выполняет антиоксидантную роль, и, видимо, является функциональным антагонистом хинолиновой кислоты не только в нервной ткани. Возможно, именно поэтому увеличение сывороточной концентрации хинолиновой кислоты сопоставимо с повышением сывороточного показателя кинуреновой кислоты у пациентов с ожирением.

Установлено выраженное статистически значимое увеличение уровня индол-3-ацетата в сыворотке крови у пациентов группы наблюдения. Данный метаболит триптофана является преимущественно бактериального происхождения. При этом следует отметить, что сам индол подавляет образование *Pseudomonas* хинолонового сигнала (PQS) в кишечнике [14], предшественником которого является антраниловая кислота.

Показано, что индол-3-ацетат – это метаболит сопряжения индольного и кинуренинового путей обмена триптофана, он может быть образован и в эукариотических клетках из антраниловой кислоты. Данный метаболит является лигандом арилгидрокарбонных рецепторов и выполняет регуляторную функцию в организме человека, участвуя в иммунной функции [15]. Также агонистом арилгидрокарбонных рецепторов является и индол-3-лактат [16]. Известно, что индол-3-лактат снижает ответ на интерлейкин-8 после стимуляции интерлейкином-1 [17]. У пациентов с ожирением повышение индол-3-лактата является микробиотической метаболической компенсацией с целью снижения продукции провоспалительных цитокинов. В дальнейших исследованиях необходимо проанализировать взаимосвязь концентрации провоспалительных цитокинов и индол-3-лактата у больных с ожирением.

Индол-3-бутират, как и индол-3-лактат, является метаболитом бактериального происхождения и пока нет работ, которые бы показали эукариотическое происхождение данных метаболитов индольного пути обмена триптофана. Участие индол-3-бутирата в патогенезе ожирения еще предстоит изучить, пока нет исследований, которые бы демонстрировали

роль данного метаболита триптофана. Нами установлено, что у пациентов с ожирением концентрация индол-3-бутирата в сыворотке крови выше, чем у здоровых добровольцев.

При метаболизме серотонина образуется 5-гидроксииндол-3-ацетат, который статистически значимо повышен в сыворотке крови у пациентов с ожирением, при этом сывороточная концентрация самого серотонина значимо не изменяется. Следует заметить, что основной уровень сывороточного серотонина обусловлен его гиперпродукцией в энтероцитах. Можно предположить, что избыток триптофана в кишечнике метаболизируется как в серотонин, так и в индол-3-ацетат, индол-3-бутират, индол-3-лактат и кинуренин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Следует отметить, что у пациентов с ожирением интенсифицированы все пути метаболизма триптофана в организме. Утилизация избыточного триптофана происходит как микробиотой кишечника, так и клетками макроорганизма. Увеличение сывороточного уровня хинолиновой кислоты имеет не только негативное влияние на макроорганизм, но и является непрямым следствием иммунной стимуляции. Повышение концентрации кинуреновой кислоты в сыворотке крови пациентов с вялотекущим воспалением при ожирении – это непрямоусловное условие симультанного образования функционального антагониста хинолиновой кислоты.

У пациентов с ожирением нами установлено увеличение скорости обмена триптофана кишечной микробиотой и пока остается не изученным – это триптофан экзогенного происхождения или продукт шикиматного пути. Повышенная концентрация кинуренина, хинолиновой кислоты, кинуреновой кислоты в сыворотке крови может быть проявлением «кинуруенинового переключения» гиперпродукции НАД⁺ в иммунокомпетентных клетках при ожирении. Резкое возрастание индол-3-ацетата в сыворотке крови пациентов с ожирением имеет компенсаторно-приспособительную роль, в том числе через подавление активности некоторых ферментов кинуренинового пути в разных тканях макроорганизма. Рост концентрации индол-3-лактата и индол-3-бутирата в сыворотке крови больных с ожирением отражает именно микробиотическую активацию утилизации избытка триптофана возможно и шикиматного происхождения. У пациентов с ожирением происходит интенсификация утилизации серотонина и статистически значимо повышается концентрация 5-гидроксииндол-3-ацетата в сыворотке крови.

ЛИТЕРАТУРА

- Comai S., Bertazzo A., Brughera M., Crotti S. Tryptophan in health and disease. *Adv. Clin. Chem.* 2020; 95: 165–218. DOI: 10.1016/bs.acc.2019.08.005.
- Dehghani M., Kazemi Shariat P.H., Guillemin G.J. Microorganisms, tryptophan metabolism, and kynurenine pathway: a complex interconnected loop influencing human health status. *Int. J. Tryptophan Res.* 2019; 12: 1178646919852996. DOI: 10.1177/1178646919852996.
- Sas K., Szabo E., Vecsei L. Mitochondria, oxidative stress and the kynurenine system, with a focus on ageing and neuroprotection. *Molecules.* 2018; 23 (1): 191. DOI: 10.3390/molecules23010191.
- Agus A., Planchais J., Sokol H. Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease. *Cell Host. Microbe.* 2018; 23 (6): 716–724. DOI: 10.1016/j.chom.2018.05.003.
- Katoh A., Uenohara K., Akita M., Hashimoto T. Early steps in the biosynthesis of NAD in Arabidopsis start with aspartate and occur in the plastid. *Plant Physiol.* 2006; 141 (3): 851–857. DOI: 10.1104/pp.106.081091.
- Sundaram G., Lim C.K., Brew B.J., Guillemin G.J. Kynurenine pathway modulation reverses the experimental autoimmune encephalomyelitis mouse disease progression. *J. Neuroinflammation.* 2020; 17 (1): 176. DOI: 10.1186/s12974-020-01844-y.
- Ferreira F.S., Schmitz F., Marques E.P., Siebert C., Wyse A.T. Intraatrial quinolinic acid administration impairs redox homeostasis and induces inflammatory changes: prevention by kynurenic acid. *Neurotox. Res.* 2020; 38 (1): 50–58. DOI: 10.1007/s12640-020-00192-2.
- Moffett J.R., Arun P., Puthillathu N., Vengilote R., Ives J.A., Badawy A.A., Namboodiri A.M. Quinolinic acid as a marker for kynurenine metabolite formation and the unresolved question of NAD(+) synthesis during inflammation and infection. *Front. Immunol.* 2020; 11: 31. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00031.
- Wolowczuk I., Hennart B., Leloire A., Bessede A., Soichot M., Taront S., Caiazza R., Raverdy V., Pigeyre M., Guillemin G.J., Allorge D., Pattou F., Froguel P., Poulain-Godefroy O. Tryptophan metabolism activation by indoleamine 2,3-dioxygenase in adipose tissue of obese women: an attempt to maintain immune homeostasis and vascular tone. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2012; 303 (2): R135–R143. DOI: 10.1152/ajp-regu.00373.2011.
- Han Q., Robinson H., Cai T., Tagle D.A., Li J. Structural insight into the inhibition of human kynurenine aminotransferase I/glutamine transaminase. *K. J. Med. Chem.* 2009; 52 (9): 2786–2793. DOI: 10.1021/jm9000874.
- Jin U.H., Lee S.O., Sridharan G., Lee K., Davidson L.A., Jayaraman A., Chapkin R.S., Alaniz R., Safe S. Microbiome-derived tryptophan metabolites and their aryl hydrocarbon receptor-dependent agonist and antagonist activities. *Mol. Pharmacol.* 2014; 85 (5): 777–788. DOI: 10.1124/mol.113.091165.
- Sitkin S., Pokrotnieks J. Gut microbiota as a host defender and a foe: the 2 faces of commensal *Bacteroides thetaiotaomicron* in inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 2019; 25 (6): e71. DOI: 10.1093/ibd/izy377.
- Brandacher G., Hoeller E., Fuchs D., Weiss H.G. Chronic immune activation underlies morbid obesity: is IDO a key player? *Curr. Drug Metab.* 2007; 8 (3): 289–295. DOI: 10.2174/138920007780362590.
- Tashiro Y., Toyofuku M., Nakajima-Kambe T., Uchiyama H., Nomura N. Bicyclic compounds repress membrane vesicle production and *Pseudomonas* quinolone signal synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2010; 304 (2): 123–130. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2010.01897.x.
- Pernomian L., Duarte-Silva M., de Barros Cardoso C.R. The aryl hydrocarbon receptor (AHR) as a potential target for the control of intestinal inflammation: insights from an immune and bacteria sensor receptor. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2020; 59 (3): 382–390. DOI: 10.1007/s12016-020-08789-3.
- Li X., Lu C., Fan D., Lu X., Xia Y., Zhao H., Xu H., Zhu Y., Li J., Liu H., Xiao C. Human umbilical mesenchymal stem cells display therapeutic potential in rheumatoid arthritis by regulating interactions between immunity and gut microbiota via the aryl hydrocarbon receptor. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020; 8: 131. DOI: 10.3389/fcell.2020.00131.
- Meng D., Sommella E., Salviati E., Campiglia P., Ganguli K., Djebali K., Zhu W., Walker W.A. Indole-3-lactic acid, a metabolite of tryptophan, secreted by *Bifidobacterium longum* subspecies *infantis* is anti-inflammatory in the immature intestine. *Pediatr. Res.* 2020; 88 (2): 209–217. DOI: 10.1038/s41390-019-0740-x.

Вклад авторов

Шестопалов А.В. – разработка дизайна исследования, формирование базы данных, проверка содержания, участие в написании всех разделов, утверждение рукописи для публикации. Шатова О.П. – отбор выборки обследованных, обзор публикаций по теме статьи, статистический анализ данных и написание ее разделов, подготовка таблиц и рисунков, финальная вычитка версии рукописи. Карбышев М.С. – написание раздела обсуждение, подготовка английской версии статьи. Гапонов А.М. – разработка дизайна исследования, участие в написании раздела материалы и методы. Москалева Н.Е. – выполнение биохимических анализов, участие в обсуждении полученных результатов. Апполонова С.А. – выполнение биохимических анализов, коррекция раздела материалы и методы. Тутельян А.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Макаров В.В. – участие в обсуждении дизайна исследования и полученных данных. Юдин С.М. – участие в редакции концепции исследования, интерпретация результатов исследования. Румянцев С.А. – разработка дизайна исследования, проверка содержания статьи, участие в написании всех разделов, утверждение рукописи для публикации.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

Сведения об авторах

Шестопалов Александр Вячеславович, д-р мед. наук, профессор, директор управления последипломного образования, ординатуры, аспирантуры, НМИЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева; зав. кафедрой биохимии и молекулярной биологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва. ORCID 0000-0002-1428-7706.

Шатова Ольга Петровна, канд. мед. наук, доцент, кафедра биохимии и молекулярной биологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва. ORCID 0000-0003-4265-1293.

Карбышев Михаил Сергеевич, канд. биол. наук, доцент, кафедра биохимии и молекулярной биологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва. ORCID 0000-0001-5588-3259.

Гапонов Андрей Михайлович, канд. мед. наук, зав. лабораторией инфекционной иммунологии, НМИЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, г. Москва. ORCID 0000-0002-3429-1294.

Москалева Наталья Евгеньевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, Центр биофармацевтического анализа и метаболомных исследований, Институт трансляционной медицины и биотехнологии, Сеченовский университет, г. Москва. ORCID 0000-0002-7309-8913.

Апполонова Светлана Александровна, канд. хим. наук, руководитель Центра биофармацевтического анализа и метаболомных исследований, Институт трансляционной медицины и биотехнологии, Сеченовский университет, г. Москва. ORCID 0000-0002-9032-1558.

Тутельян Алексей Викторович, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зав. лабораторией инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора РФ, г. Москва. ORCID 0000-0002-2706-6689.

Макаров Валентин Владимирович, канд. биол. наук, аналитик, Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью, г. Москва. ORCID 0000-0001-9495-0266.

Юдин Сергей Михайлович, д-р мед. наук, профессор, генеральный директор Центра стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью, г. Москва. ORCID 0000-0002-7942-8004.

Румянцев Сергей Александрович, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зав. кафедрой онкологии, гематологии и лучевой терапии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва. ORCID 0000-0002-7418-0222.

(✉) **Шатова Ольга Петровна**, e-mail: shatova.op@gmail.com

Поступила в редакцию 29.09.2020

Подписана в печать 28.12.2020