МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

УДК 616

АНАЛИЗ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА. РОССИЙСКИЙ И ЗАРУБЕЖНЫЙ ОПЫТ

Юдин С.М., Егорова А.М., Макаров В.В.

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, e-mail: info@cspmz.ru

Микробиота человека играет важную роль в обеспечении нормальной жизнедеятельности организма. Она защищает от патогенов, поддерживает иммунитет, участвует в переваривании пищи и обеспечивает производство важных компонентов питания. Разнообразие и численность микробного состава человека изменяется под действием разных факторов внешней среды, условий проживания, пола и возраста, а также при появлении различных патологических состояний. Появляются новые исследовательские данные о взаимосвязи состава микробиоты с разными патологиями, такими как воспалительные заболевания кишечника, ожирение, сердечно-сосудистые, аутоиммунные и аллергические заболевания. Раньше для определения состава микробиоты использовали в основном бактериологические методы, которые основывались на выделении чистой культуры бактерий. Однако в последние годы ученые стали отдавать предпочтение более точным и быстрым молекулярно-генетическим методам. Понимание роли микробиоты в патологических процессах стало ключевым фактором в разработке и усовершенствовании методов анализа микробиома человека. В обзоре рассмотрены основные современные молекулярно-генетические методы оценки качественного и количественного состава микробиоты кишечника. Проведен анализ результатов масштабных отечественных и международных проектов и исследований, связанных с оценкой и изучением микробного профиля человека.

Ключевые слова: микробиота, микробиом, метаболом, секвенирование, метагеномика

ANALYSIS OF HUMAN MICROBIOTA. RUSSIAN AND FOREIGN EXPERIENCE

Yudin S.M., Egorova A.M., Makarov V.V.

Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, e-mail: info@cspmz.ru

Human microflora plays an important role in ensuring the normal functioning of the body. The microbiota protects us from pathogens, hardwires our immunity, participates in the digestion of food and engages in the production of essential micronutrient components. The quantitative and qualitative diversity of human microorganisms can change under the influence of external factors of the environment, gender and age of the person, habitat conditions, and also under different pathological conditions. There are new research data on the relationship of the composition of microbiota with different pathologies, such as: inflammatory bowel disease, obesity, cardiovascular, autoimmune and allergic diseases. Previously, to determine the composition of microbiota used mainly bacteriological methods, which were based on the isolation of a pure culture of bacteria. However, in recent years, scientists began to prefer more accurate and rapid molecular genetic methods. Understanding the role of microbiota in pathological processes has become a key factor in the development and improvement methods of analysis of human microbiome. The review considered the main modern molecular genetic methods for evaluating the qualitative and quantitative composition of intestinal microflora. The analyzed of the results of large-scale national and international projects and studies related to the assessment and study of the microbial profile of human.

Keywords: microbiota, microbiome, metabolome, DNA sequencing, metagenomics

Совокупность микроорганизмов, обитающих в условиях симбиоза с организмом-хозяином, называют микробиотой, микрофлорой или нормофлорой. Микробиота состоит из различных микробиоценозов (сообществ микроорганизмов), представленных определенным таксономическим составом и обитающих в определенных биотопах (место обитания) в организме человека и животных. Всего определено несколько основных биотопов, а именно: кожа, слизистые оболочки верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы. Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) – самый большой биотоп в организме человека, общее количество микроорганизмов, населяющих толстую кишку, составляет около 10^{14}–10^{15} КОЕ/мл [1]. Микробиота ЖКТ играет основную роль в обеспечении нормальной жизнедеятельности организма человека, влияет на рост и развитие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (колонизационная резистентность), участвует в поддержании нормальной «напряженности» иммунитета человека [2, 3]. За последние годы сильно возрос интерес к изучению состава микроорганизмов, появились новые научные данные о взаимосвязи изменений состава микробного профиля с патологическими состояниями желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистыми заболеваниями (хроническая сердечная недостаточность), нарушениями обмена веществ (ожирение, сахарный диабет 2-го типа), аллергическими (атопический дерматит, бронхиальная

астма) и аутоиммунными заболеваниями (целиакия, ВЗК, болезнь Крона, язвенный колит, сахарный диабет 1-го типа) [4–6].

Цель обзора: представить основные современные молекулярно-генетические методы анализа микробиоты. Рассмотреть результаты зарубежных и отечественных проектов по изучению микробного профиля человека, а также взаимосвязи микроорганизмов с патологическими состояниями.

На сегодняшний день молекулярно-генетические методы позволяют быстро и с высокой точностью идентифицировать микроорганизмы, населяющие разные биотопы. К основным молекулярно-генетическим методам относятся: ПЦР-диагностика, хроматография, секвенирование и метагеномика.

С помощью ПЦР-диагностики можно идентифицировать микроорганизмы с внутриклеточной или мембранной локализацией, а также те бактерии, которые невозможно или крайне сложно культивировать на питательных средах [7]. Хроматографическими методами анализа, такими как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая жидкостная хроматография (ГЖХ) и ГЖХ с масс-спектрометрией (ГХ–МС), изучают конечные продукты обмена веществ бактерий – метаболиты микроорганизмов (метаболом). Изучение метаболома микробиоты кишечника позволяет получить уникальную информацию о химическом составе клеток микроорганизмов и их метаболитов [8].

С помощью методов секвенирования определяют нуклеотидные последовательности маркерных генов (16S рРНК у бактерий и архей, 18S рРНК у эукариотов) или всего генома (полногеномное секвенирование, WGS). Данные методы обеспечивают более точную характеристику микроорганизмов, так как они позволяют определять не только видовое разнообразие в исходном образце, но и оценивать их количественные соотношения. Быстрое развитие технологии секвенирования и появление секвенаторов с высокой пропускной способностью привело к значительному снижению стоимости данного метода. Это послужило мощным толчком для масштабного изучения микроорганизмов в различных образцах и развитию нового направления исследований – метагеномики [9]. Метагеномика представляет собой исследования генетического материала (геномов) различных микробиоценозов. Целями метагеномики является пополнение представлений о реальном разнообразии микроорганизмов, их функциях, экологических взаимодействиях и эволюции. Изучают разные микробиоценозы, обитающие в самых разнообразных по питанию и условиям средах, от воды до органов человеческого организма. Метагеномные исследования позволяют всецело изучать функциональное влияние микробиоты ЖКТ на организм-хозяина и дают подробную информацию обо всех генах в сообществе микроорганизмов [10]. Методом метагеномного анализ можно определять патогенетическую роль микробиоты при различных заболеваниях [11, 12].

В 2008 г. Национальным институтом здравоохранения США (National Institutes of Health) был запущен Проект человеческого микробиома The Human Microbiome Project (HMP). Целью проекта являлось создание ресурсов, позволяющих обеспечить всестороннюю характеристику человеческого микробиома и анализ его роли в формировании здоровья и болезней человека [9, 13]. В ходе масштабных исследований были охарактеризованы микробные сообщества примерно 300 здоровых людей, образцы отбирались из пяти биотопов человека: ротовой полости, слизистых оболочек верхних дыхательных путей, кожи, желудочно-кишечного и урогенитального трактов. Для определения характеристик микробных сообществ каждого образца было проведено 16S рРНК-секвенирование. Комплексный проект микробиома человека (iHMP), созданный в 2014 г., является вторым этапом программы Национального фонда здравоохранения Национального института здоровья (NIH) по человеческому микробиому (HMP). На этом этапе проводятся комплексные исследования микробиома с использованием «омиксных технологий», которые включают в себя протеномику, метаболомику, эпигеномику, фармакономику и другие высокопроизводительные современные научные методы.

Проект человеческого микробиома выполнялся в соответствии с требованиями законодательства и прошел экспертизу этических, правовых и социальных последствий (ELSI). С помощью молекулярно-генетических методов было установлено, что около 10000 видов различных микроорганизмов населяют организм человека. Ученые сделали выводы о высокой вариабельности микробного состава у разных людей и на разных участках тела [9]. Были запущены базовые и трансляционные исследования по изучению функций микробиома человека, а также возможностей использования полученных научных результатов исследования для сохранения здоровья и профилактики различных патологий человека. Большинство научных исследований сосредоточены на выявлении связи основных

процессов жизнедеятельности микробиоты кишечника с патологическими состояниями, такими как воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), рак толстой кишки, диабет 2 типа и ожирение [14–16]. В ходе трансляционных исследований началось изучение вариантов альтернативной терапии при желудочно-кишечных заболеваниях, которые основываются на поддержании жизнедеятельности «полезных» бактерий с помощью про-, пре- и метабиотиков, а не на применении антибактериальных препаратов [13, 17].

Также в 2008 г. стартовал Проект MetaHIT (Метагеномика кишечного тракта человека), финансируемый Европейской комиссией (European Commission) [18]. Основной целью проекта являлось изучение геномов всех бактерий, составляющих кишечную микробиоту человека, а также характеристика их функционального состояния в норме и при патологии (главным образом ВЗК и ожирение). Для достижения целей исследования ученые создали обширный справочный каталог микробных генов, присутствующих в кишечнике человека; разработали биоинформатические программы для хранения, сортировки и интерпретации полученных результатов; собрали когорты больных и здоровых людей, отобрали пробы фекальной микробиоты и определили видовой состав их микробиома; разработали методы изучения функции бактериальных генов, связанных с патологиями, с целью понять основные механизмы взаимодействий между организмом-«хозяином» и микроорганизмами [19–21].

В ходе Проекта MetaHIT были проанализированы 124 образца фекальной микробиоты человека. Обширный биоинформатический анализ полученных образцов показал, что в сумме насчитывается около 3,3 миллионов различных генов микроорганизмов. Ученым удалось идентифицировать по крайней мере 85% всех часто встречаемых генов, и около 99% этих генов имели бактериальное происхождение, что обусловлено преобладанием бактериальной среды в кишечнике человека. Учеными был сделан вывод, что в кишечнике одного человека обитает не менее 160 бактериальных видов. Также было сформулировано предположение, что они составляют «минимальный кишечный геном». По результатам проекта был создан каталог стандартных референсных последовательностей для метагеномных исследований. На основании таксономического разнообразия микробиоты ученые в 2011 г. открыли 3 энтеротипа микрофлоры. В целом первый энтеротип характеризовался преобладанием рода *Bacteroides* в микробиоте кишечника человека, второй – *Prevotella*, третий – *Ruminococcus* и ряда других. Теория о существовании энтеротипов до сих пор является предметом активных споров и дискуссий, однако их практическая польза может заключаться в разработке персонализированного подхода при лечении и профилактике различных патологий [22].

Стоит отметить, что кроме анализа геномных данных бактериального профиля кишечника, было определено 1200 функциональных особенностей жизнедеятельности бактерий. Изучение их будет способствовать лучшему пониманию механизмов взаимодействия микробиоты и организма-хозяина в норме и при различных патологиях [10, 23, 24].

Еще одним проектом, направленным на изучение микробиоты человека, является «Метаболом человека» (Human Metabolome Project), стартовавший в Канаде. Данный проект преследовал сразу несколько целей: создания новых методов диагностики заболеваний; прогнозирование и наблюдение за метаболизмом лекарственных препаратов; поиск взаимосвязей между метаболомом человека и его геномом; разработка программного обеспечения для исследования метаболитного профиля [25]. В качестве основных задач проекта можно выделить идентификацию, количественную оценку, систематизацию и разработку условий хранения всех метаболитов тканей и биологических жидкостей человека. Сыворотка крови, моча и спинномозговая жидкость использовались для исследования метаболома человека. 2500 метаболитов, 1200 лекарственных препаратов и 3500 пищевых компонентов были идентифицированы в организме человека и охарактеризованы научной группой Университета Альберты. Ученые убеждены в том, что эти результаты открывают новые возможности в диагностике и терапии различных болезней человека [26]. Несомненно, детальная расшифровка метаболомного профиля микроорганизмов, живущих в ЖКТ человека, поможет в разработке новых подходов к диагностике различных патологий и создании новых лекарственных препаратов, например метабиотиков [27, 28]. Исследования в области изучения микробиоты также проводятся в Российской Федерации. Однако на сегодняшний день на территории России отсутствуют проекты, сопоставимые по масштабам с HMP и MetaHIT. Стоит отметить, что в последние годы интерес российских ученых к данной тематике возрос, появились новые научные исследования микробиоты у людей с разными патологи-

ческими состояниям, а также у разных этногеографических когорт.

Дубинкина с соавторами [29] проводили метагеномный анализ таксономических и функциональных особенностей микробиоты кишечника у пациентов с синдромом алкогольной зависимости (САЗ). В ходе таксономического анализа у пациентов с САЗ было обнаружено увеличение количества бактерий, ассоциированных с воспалением (в том числе повышение количества видов *Ruminococcus gnavus* и *R. torques*, а также понижение количества родов *Faecalibacterium* и *Akkermansia*). В микробиоте пациентов с САЗ было выявлено большое количество условно-патогенных микроорганизмов, которые редко встречаются у здоровых людей, к ним относятся провоспалительные представители семейства *Enterobacteriaceae*. У пациентов с САЗ также был повышен уровень экспрессии двух специфических групп генов, кодирующих ферменты, участвующие в метаболизме алкоголя. Сильные изменения в составе бактериального сообщества и метаболическом профиле свидетельствовали о выраженном отрицательном влиянии алкогольной зависимости и связанной с ней дисфункции печени на кишечную микробиоту. Таксономический и функциональный анализ показал склонность микробиоты кишечника пациентов САЗ к синтезу токсичного ацетальдегида, что указывает на высокий риск развития колоректального рака и других патологий у данной когорты. Исследователи предполагают, что изменение состава микробиоты кишечная у пациентов с САЗ играет важную роль во влиянии алкоголя на организм человека [29].

Огородова с соавторами проводили сравнительный анализ орофарингеальной микробиоты у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и бронхиальной астмой (БА) различной степени тяжести. В исследовании приняли участие 138 пациентов, из них 88 пациентов с ХОБЛ, 50 пациентов с БА. При сравнительном анализе были обнаружены незначительные различия в составе орофарингеальной микробиоты. Отсутствие больших различий в количественном и качественном составе орофарингеальной микробиоты у пациентов с тяжелыми формами ХОБЛ и БА указывает на сходство состояния дыхательной системы при данных патологиях [30].

Помимо изучения орофарингеальной микробиоты пациентов с ХОБЛ, группа исследователей во главе с Федосенко, провела таксономический анализ состава их кишечной микробиоты. Всего в ходе эксперимента было проведено секвенирование 52 образцов фекалий больных ХОБЛ II–IV степени тяжести. Кишечная микробиота у пациентов с ХОБЛ, в отличие от микробиоты здоровых добровольцев, характеризовалась присутствием *Proteobacteria, Pseudomonas, Enterobacter, Citrobacter, Proteus, Salmonella, Eggerthella, Anaerococcus, Clostridium difficile,* а также высокой обсемененностью грибками рода *Candida* (*Candida dubliniensis* и *Candida albicans*) [31].

В исследованиях Каштановой с соавторами [32] изучалась взаимосвязь состава микробиоты кишечника с состоянием сосудистой стенки у людей без проявлений сердечно-сосудистых патологий. Исследование включало 92 добровольца из Москвы и Московской области, разного пола, в возрасте от 25 до 76 лет без клинических патологий, хронических заболеваний, не получающих медикаментозную терапию, но входящих в группу риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Всем участникам исследования провели дуплексное сканирование сонных артерий, определили толщину комплекса интима-медиа (КИМ), поиск атеросклеротических бляшек, измерили каротидно-феморальную скорость распространения пульсовой волны (СРПВ), определили количество интерлейкина-6 (ИЛ-6) и С-реактивного белка (С-РБ), а также провели секвенирование вариабельных участков V3-V4 гена бактериальной 16S рРНК микробиоты кишечника. Также учитывался рацион питания добровольцев, методом количественной оценки потребляемых продуктов при помощи компьютерной программы «Анализ состояния питания человека». Результаты исследования показали, что толщина КИМ была больше у добровольцев с большим содержанием бактерий родов *Serratia* и *Blautia*. Было выявлено, что у добровольцев с увеличением количества употребляемого крахмала количество представителей рода *Bifidobacterium* возрастало, а количество бактерий рода *Blautia* снижалось. В конце эксперимента исследователи пришли к заключению, что состав кишечной микробиоты ассоциирован с жесткостью сосудистой стенки и может напрямую влиять на развитие атеросклероза [32].

В 2013 г. Тяхт с соавторами [33] проводили исследования кишечной микробиоты населения России, проживающего в разных регионах. Такое исследование представляет огромный интерес, поскольку на территории России проживают люди разных этногеографических когорт и в разных экологических условиях. Ученные провели полногеномное секвенирование и метагеномный анализ 96 образцов кишечной микробиоты здоровых взрослых добровольцев из разных областей Российской федерации (50 образцов от людей, проживающих в городах, и 46 образ-

цов, проживающих в сельской местности). По результатам исследования было обнаружено, что состав профиля микробиоты сельского населения сходен в пределах каждого региона и представлен таксонами бактерий, ассоциированных со «здоровым» кишечником. У городского населения состав профиля микробиоты был менее разнообразный, чем у сельского населения, такое различие скорее всего связано с рационом питания людей. Стоит отметить, что состав микробиоты кишечника российского населения напрямую зависит от диеты и рациона питания, культурных привычек и стрессовых факторов, а также от социально-экономического статуса людей [33].

Выводы

В заключение стоит отметить, что полученные данные свидетельствуют о возрастающем интересе ученых к более детальному изучению влияния микробиоты на разные патологические состояния человека. дальнейшее изучение и расшифровка микробиома и метаболома человека позволит точно и эффективно диагностировать различные заболевания человека, их связь с микробиотой, а также разработать новые эффективные методы терапии различных заболеваний.

Основные исследования и проекты по изучению микробиоты человека проводятся в США, Великобритании, Германии и Китае. При исследовании ученые из этих стран используют передовые технологии, инновационное оборудование и современные молекулярно-генетические методы.

В настоящее время основным и самым точным молекулярно-генетическим методом для определения микробного профиля человека является метод секвенирования 16S – рРНК, который позволяет идентифицировать видовую принадлежность микроорганизма, и полногеномного секвенирования, который позволяет идентифицировать родовую принадлежность микроорганизма. Исследования метаболомного профиля проводят методами газожидкостной хроматографии, определяя активность анаэробных микроорганизмов по спектрам и уровням летучих жирных кислот, и газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией для выявления микроорганизмов по специфическим для них нелетучим жирным кислотам, альдегидам и стеринам [34].

Список литературы

1. Prakash S. Gut microbiota: next frontier in understanding human health and development of biotherapeutics. Biologics. 2011. Vol. 5. P. 71–86.

2. Ивашкин В.Т, Шептулин А.А., Склянская О.А. Синдром диареи. 2-е изд., расшир. и перераб. М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2002. С. 58–63.

3. Kuchumova S.Yu., Poluektova Ye.A., Sheptulin A.A., Ivashkin V.T. Physiological value of intestinal microflora. Ros. zhurn. gastroenterol. gepatol. koloproktol. 2011. Vol. 21. № 5. P. 17–27.

4. Isolauri E., Kalliomaki M., Laitinen K., Salminen S. Modulation of the maturing gut barrier and microbiota: a novel target in allergic disease. Curr. Pharm. Des. 2008. Vol. 14. P. 1368–1375.

5. Ott S.J., Musfeldt M. et al. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. Gut. 2004. Vol. 53 (suppl. 5). P. 685–693.

6. Proal A.D., Albert P.J., Marshall T. Autoimmune disease in the era of the metagenome. Autoimmun. Rev. 2009. Vol. 8 (suppl. 8). P. 677–681.

7. Mariat D., Firmesse O., Levenez F., Guimarães V.D., Sokol H., Doré1 J., Corthier1 G., Furet. J-P The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. BMC Microbiology. 2009. Vol. 9. P. 123.

8. Dennemont J., Roupas A., Heitz M. Differentiation of Campylobacter jejuni, C. coli, C. lary and C. fetus fatty acid profiles obtained by gas chromatography mass spectrometry and by their hippurate hydrolysis. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. 1992. Vol. 83. № 2. P. 142–150.

9. Gevers D., Knight R., Petrosino J.F., Huang K., McGuire A.L., Birren B.W. The Human Microbiome Project: A Community Resource for the Healthy Human Microbiome. PLoS Biol. 2012. № 10(8).

10. Qin J., Li R., Raes J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. MetaHIT Consortium. Nature. 2010. Vol. 464 (suppl. 7285). P. 59–65.

11. Бабаев Э.А., Балмасова И.П.., Мкртумян А.М., Кострюкова С.Н., Вахитова Е.С., Ильина Е.Н., Царев В.Н., Габибов А.Г., Арутюнов С.Д. Метагеномный анализ микробиоты зубодесневой борозды и патогенез пародонтита, ассоциированного с сахарным диабетом 2–го типа. 2017. Т. 163. № 6. С. 682–686.

12. Петров В.А., Салтыкова И.В., Жукова И.А., Алифирова В.М., Жукова Н.Г., Дорофеева Ю.Б., Тяхт А.В., Коварский Б.А., Алексеев Д.Г., Кострюкова Е.С., Миронова Ю.С., Ижболдина О.П., Никитина М.А., Перевозчикова Т.В., Fait1 Е.А., Бабенко В.В., Вахитова М.Т., Говорун В.М., Сазонов А.Е. Анализ кишечной микробиоты у пациентов с болезнью Паркинсона // Экспериментальная биология и медицина. 2016. Т. 162. № 12. С. 700–703.

13. Human Microbiome Project. URL: http://www.hmpdacc.org (дата обращения: 17.09.2018).

14. Flint H.J., Scott K.P., Louis P., Duncan S.H. The role of gut microbiota in nutrition and health // Nat. Rev. Gastroenterol Hepatol. 2012. № 9 (10). P. 577–89.

15. Kinross J.M., von Roon A.C., Holmes E., Darzi A., Nicholson JK. The human gut microbiome: Implications for future health care. Curr. Gastroenterol Rep. 2008. № 10 (4). P. 396–403.

16. Pflughoeft K.J., Versalovic J. Human microbiome in health and disease. Annu Rev. Pathol. Mech. Dis. 2012; 7:99122.

17. Albenberg L.G, Wu G.D. Diet and the intestinal microbiome: Associations, functions, and implications for health and disease. Gastroenterology. 2014. № 146 (6). P. 1564–1572.

18. MetaHIT Project. URL: http://www.metahit.eu (дата обращения: 17.09.2018).

19. Gloux K., Leclerc M., Iliozer H. et al. Development of high-throughput phenotyping of metagenomic clones from the human gut microbiome for modulation of eukaryotic cell growth. Appl. Environ. Microbiol. 2007. V. 73. P. 3734–3737.

20. Jones B.V., Begley M., Hill C. et al. Functional and comparative metagenomic analysis of bile salt hydrolase activity in the human gut microbiome. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. P. 13580–13585.

21. Zoetendal E.G., Rajilic-Stojanovic M., de VosW. M. High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract micro biota. Gut. 2008. V. 57. P. 1605–1615.

22. Koren O. at al. A Guide to Enterotypes across the Human Body: Meta-Analysis of Microbial Community Structures in Human Microbiome Datasets. PLoS Comput. Biol. 2013. T. 9. № 1.

23. Dicksved J., Halfvarson J., Rosenquist M. et al. Molecular analysis of the gut microbiota of identical twins with Crohn's disease. ISME J. 2008. V.2. P. 716–727.

24. Nagarajan N., Pop M. Review Sequencing and genome assembly using next-generation technologies. Met. Mol. Biol. 2010. V. 673. P. 1–17.

25. Human Metabolome Project. URL: www.hmdb.ca (дата обращения: 17.09.2018).

26. Wishart D.S., Tzur D., Knox G. et al. HMDB: The Human Metabolome Database. Nucleic Acids Research. 2007. V. 35. P. 521–526.

27. German J.B., Hammock B.D., Watkins S.M. Metabolomics: building on a century of biochemistry to guide human health. Metabolomics. 2005. V. 1. P. 3–9.

28. Hamosh A., Scott A.F., Amberger J.S. et al. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders. Nucl. Acids Res. 2005. V. 33. P. D514–D517.

29. Dubinkina V.B., Tyakht A.V., Ilina E.N., Ischenko D.S., Kovarsky B.A., Yarygin K.S., Pavlenko A.V., Popenko A.S., Alexeev D.G., Taraskina A.E., Nasyrova R.F., Krupitski E.M., Skorodumova L.O., Larin A.K., Kostryukova E.S., Govorun V.M. Metagenomic Analysis of Taxonomic and Functional Changes in Gut Microbiota of Patients with the Alcohol Dependence Syndrome. Biomedical Chemistry. 2016. Vol. 10. № 2. P. 184–190.

30. Огородова Л.М., Федосенко С.В., Попенко А.С., Петров В.А., Тяхт А.В., Салтыкова И.В., Деев И.А., Куликов Е.С., Кириллова Н.А., Говорун В.М., Кострюкова Е.С. Сравнительный анализ орофарингеальной микробиоты у больных хронической обструктивной болезнью легких и бронхиальной астмой различной степени тяжести // Вестник РАМН. 2015. № 70 (6). С. 669–678.

31. Федосенко С.В., Огородова Л.М., Говорун В.М., Карнаушкина М.А., Салтыкова И.В., Алексеев Д.Г., Кострюкова Е.С., Тяхт А.В., Попенко А.С. Анализ таксономического состава кишечной микробиоты больных хронической обструктивной болезнью легких // Уральский медицинский журнал. 2014. № 6. С. 168–173.

32. Каштанова Д.А., Ткачева О.Н., Егшатян Л.В., Плохова Е.В., Попенко А.С., Тяхт А.В., Алексеев Д.Г., Котовская Ю.В., Бойцов С.А. Взаимосвязь состояния сосудистой стенки, состава микробиоты кишечника и питания у лиц без сердечно-сосудистых заболеваний // Клиническая практика. 2016. № 3. С. 62–72.

33. Tyakht A.V., Kostryukova E.S., Popenko A.S., Belenikin M.S., Pavlenko A.V., Larin A.K., Karpova I.Y., Selezneva O.V., Semashko T.A., Ospanova E.A., Babenko V.V., Maev I.V., Cheremushkin S.V., Kucheryavyy Y.A., Shcherbakov P.L., Grinevich V.B., Efimov O.I., Sas EI., Abdulkhakov R.A., Abdulkhakov S.R., Lyalyukova E.A., Livzan M.A., Vlassov V.V., Sagdeev R.Z., Tsukanov V.V., Osipenko M.F., Kozlova I.V., Tkachev A.V., Sergienko V.I., Alexeev D.G., Govorun V.M. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia. Nat Commun. 2013. Vol. 4. P. 2469.

34. Полуэктова Е.А., Ляшенко О.С., Шифрин О.С., Шептулин А.А., Ивашкин В.Т. Современные методы изучения микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологиию. 2014. № 2. С. 85–91.