https://doi.org/10.22416/1382-4376-2020-30-2-35-44

Кишечная микробиота у больных хронической сердечной недостаточностью с систолической дисфункцией

М.В. Фадеева[1,*], А.В. Кудрявцева[2], Г.С. Краснов[2], М.Р. Схиртладзе[1], В.Т. Ивашкин[1]

[1] *ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация*
[2] *ФГБУ «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Российская Федерация*

Цель исследования: изучение состава кишечной микробиоты у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), а также выявление взаимосвязи между особенностями клинического течения ХСН и изменениями микробного состава толстой кишки.
Материалы и методы. В исследование были включены 60 пациентов с ХСН с наличием систолической дисфункции по данным эхокардиографического исследования. В группу контроля вошли 20 пациентов, сопоставимых с основной группой по полу, возрасту и основным заболеваниям при отсутствии ХСН. У всех больных оценена выраженность симптомов ХСН по шкале оценки клинического состояния, исследован уровнь N-терминального фрагмента мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP), С-реактивного белка (СРБ), выполнены эхокардиографическое исследование, при наличии показаний — мониторирование ЭКГ по Холтеру. Исследование микробиоценоза кишечника в образцах кала было выполнено с помощью секвенирования генов 16S рибосомальной РНК.
Результаты. У пациентов с ХСН, в сравнении с лицами из группы контроля, на уровне бактериальных типов выявлено снижение относительного содержания *Tenericutes* (p = 0,02 по тесту Манна — Уитни), повышение доли *Euryarchaeota* (p = 0,02), *Firmicutes* (p = 0,03). На уровне семейств отмечено повышение доли *Methanobacteriaceae* (p = 0,03), уменьшение доли *Pseudomonadaceae* (p = 0,01), *Moraxellaceae* (p = 0,01). Не выявлено зависимости состава микрофлоры кишечника от функционального класса ХСН, однако отмечена корреляционная связь между относительной численностью ряда бактериальных семейств и выраженностью нарушения сократительной функции, уровнем воспалительного маркера и биохимического маркера сердечной недостаточности.
Выводы. Полученные данные свидетельствуют о различии в составе кишечной микробиоты у пациентов с ХСН и без нее, а также об ассоциации численности ряда бактериальных семейств с различными показателями лабораторно-инструментальных исследований при ХСН. Дальнейшее изучение влияния микробиоты кишки на течение ХСН может быть перспективным для улучшения методов лечения.
Ключевые слова: кишечная микробиота, секвенирование генов 16S рРНК, сердечная недостаточность
Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Фадеева М.В., Кудрявцева А.В., Краснов Г.С., Схиртладзе М.Р., Ивашкин В.Т. Кишечная микробиота у больных хронической сердечной недостаточностью с систолической дисфункцией. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2020;30(2):35–44. https://doi.org/10.22416/1382-4376-2020-30-2-35-44

Intestinal Microbiota in Patients with Chronic Heart Failure and Systolic Dysfunction

Maria V. Fadeeva[1,*], Anna V. Kudryavtseva[2], George S. Krasnov[2], Manana R. Skhirtladze[1], Vladimir T. Ivashkin[1]

[1] *I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation*

[2] *Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

Aim. To study the composition of the intestinal microbiota in patients with chronic heart failure (CHF), as well as a relationship between the features of the CHF clinical course and changes in the microbial composition of the colon.
Materials and methods. The study included 60 heart failure patients with systolic dysfunction diagnosed according to the results of echocardiographic examination. The control group consisted of 20 patients comparable to the main group by gender, age and underlying diseases in the absence of CHF. In all patients, the severity of CHF symptoms was assessed using a clinical assessment scale. The levels of the N-terminal fragment of the cerebral natriuretic

peptide (NT-proBNP) and C-reactive protein (CRP) were determined. Echocardiographic examination and, if indicated, Holter ECG monitoring were performed. The intestinal microbiota in stool samples was studied by sequencing the 16S gene of ribosomal RNA (rRNA).
Results. In comparison with the control group, CHF patients showed a decrease in the relative content of *Tenericutes* (p = 0.02, Mann—Whitney test) and an increase in the proportion of *Euryarchaeota* (p = 0.02) and *Firmicutes* (p = 0.03). At the family level, an increase in the proportion of *Methanobacteriaceae* (p = 0.03) and a decrease in the proportion of *Pseudomonadaceae* (p = 0.01) and *Moraxellaceae* (p = 0.01) were noted. No dependence of the intestinal microflora composition on the functional class of heart failure was observed. However, a correlation was revealed between the relative number of certain bacterial families and the severity of impaired contractile function, the level of the inflammatory marker and the biochemical marker of heart failure.
Conclusions. The obtained data indicate differences in the intestinal microbiota composition in patients with and without heart failure. A correlation between the number of some bacterial families and various laboratory and instrumental indicators assessed in heart failure patients was revealed. Further research into the effect of intestinal microbiota on the course of heart failure appears to be promising for improving treatment methods.
Keywords: intestinal microbiota, 16S rRNA gene sequencing, heart failure
Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Fadeeva M.V., Kudryavtseva A.V., Krasnov G.S., Skhirtladze M.R., Ivashkin V.T. Intestinal Microbiota in Patients with Chronic Heart Failure and Systolic Dysfunction. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2020;30(2):35–44. https://doi.org/10.22416/1382-4376-2020-30-2-35-44

Микробиотой называют сложное содружество микроорганизмов в организме человека. Таксономия любого представителя кишечной биоты может быть представлена следующим образом: Домен → Царство → Тип → Класс → Порядок → Семейство → Род → Вид → Штамм [1].

В составе кишечной биоты представлены все три домена жизни: *Bacteria*, *Eukaryota*, *Archaea*. Ключевыми типами в составе бактериального компонента кишечной микробиоты яляются *Firmicutes* (грамположительные), *Bacteriodetes* (грамотрицательные анаэробы), *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. Среди основных родов в составе типа *Firmicutes* выделяют *Clostridium*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, *Streptococcus* и *Lactobacillus*, *Blautia*, *Roseburium*; в составе *Bacteriodetes* — род *Bacteroides* и *Prevotella*. Типы *Actinobacteria* и *Proteobacteria* в кишке представлены в меньшей степени. Основными представителями типа *Actinobacteria* в кишке являются роды *Bifidobacteria*, *Atopobium* и *Collinsella*; типа *Proteobacteria* — преимущественно семейство *Enterobacteriaceae*, в том числе род *Escherichia* [2, 3].

Функции нормальной кишечной микробиоты включают участие в процессах пищеварения, нормализацию моторики желудочно-кишечного тракта, регуляцию иммунных и метаболических процессов [4–6].

При ряде заболеваний (в том числе сердечно-сосудистой системы, таких как атеросклероз, ИБС и артериальная гипертензия) выявлены качественные и количественные изменения микробиоты кишки [7–9]. Имеются указания об изменениях микробиоты кишки и при ХСН. По данным одних исследователей, отмечается уменьшение пропорции представителей семейств *Coriobacteriaceae, Erysipelotrichaceae* и *Ruminococcaceae* [10]. Другие данные свидетельствуют об увеличении численности родов *Streptococcus* и *Veillonella* [11]. M. Kummen et al. у пациентов с ХСН в сравнении со здоровыми лицами отмечают изменения в 15 родах кишечных бактерий [12]. При ХСН в кишечной биоте также выявлено большее содержание патогенных бактерий и грибов [13].

Таким образом, данные о представленности различных таксонов при ХСН противоречивы. Целью данного исследования является определение особенности состава кишечной микробиоты у пациентов с ХСН, а также выявление взаимосвязи между особенностями клинического течения ХСН и изменениями микробного состава толстой кишки.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 60 пациентов с клинической картиной сердечной недостаточности. Критериями включения в исследование были возраст от 55 до 75 лет, наличие систолической дисфункции по данным эхокардиографического исследования (фракция выброса левого желудочка по Симпсону 50 %), подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании, отсутствие тяжелых заболеваний (нарушение функции печени и почек, онкологические заболевания, язвенная болезнь в стадии обострения, воспалительные заболевания кишечника), психические заболевания, злоупотребление алкоголем), отсутствие приема антибактериальных, пре- и пробиотических препаратов, ИПП в течение последних 3 месяцев.

Исследование проведено на базе кардиологического отделения (заведующая отделением — к.м.н. М.Р. Схиртладзе) Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко (директор Клиники — академик РАН, профессор В.Т. Ивашкин) ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет).

У пациентов оценивалась выраженность симптомов ХСН. Для этого, согласно действующим клиническим рекомендациям по хронической сердечной недостаточности, проводилась оценка функционального класса с применением шкалы оценки клинического состояния при ХСН (ШОКС) (модификация Мареева В.Ю., 2000) [14].

Всем больным были проведены стандартные биохимические и гематологические тесты, исследование уровня N-терминального фрагмента мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP), С-реактивного белка (СРБ), выполнено эхокардиографическое исследование. При наличии жалоб на сердцебиение и перебои в работе сердца или других показаний проводилось мониторирование ЭКГ по Холтеру.

Исследование микробиоценоза кишечника в образцах кала было выполнено с помощью секвенирования 16S рибосомальной РНК (рРНК) на базе ФГБУ «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН (заведующая лабораторией постгеномных исследований — к.б.н. А.В. Кудрявцева).

В группу контроля включены 20 пациентов, сопоставимых с основной группой по полу, возрасту и основным заболеваниям при отсутствии ХСН (нет клинических проявлений ХСН, сохраненная ФВ, отсутствие значимой диастолической дисфункции по результатам проведенного в стационаре эхокардиографического исследования, нормальные значения NT-proBNP). Пациентам контрольной группы также проводился анализ кала для последующего секвенирования 16S рРНК.

Исследование состава кишечной микробиоты

Образцы кала пациенты собирали самостоятельно в стерильные контейнеры, после чего пробы замораживались и хранились при температуре –80 °С. После разморозки, гомогенизации и центрифугирования получали 400 мкл супернатанта для последующего выделения нуклеиновых кислот. Тотальную ДНК выделяли в системе MagNA Pure LC. Для качественной и количественной оценки ДНК применяли NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, США). Подготовка 16S библиотек производилась по протоколу 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Illumina, США), рекомендованному производителем для секвенатора MiSeq. Проводилась ПЦР-амплификация вариабельных фрагментов V3 и V4 генов рРНК с использованием праймеров CCTACGGGNGGCWGCAG и GACTACHVGGGTATCTAATCC, характеризующихся хорошим покрытием для бактерий (более 95 % видов), но практически не охватывающих архей [15], и рекомендованных производителем Illumina. Длина ампликона составила порядка 450 п.н. С помощью флуориметра Qubit 2.0 (Invitrogen, США) и набора QuantiT dsDNA High-Sensitivity Assay Kit определяли концентрацию полученных библиотек 16S, затем эквимолярно смешивали очищенные ампликоны. Качество пула библиотек оценивали с использованием прибора Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, США) и набора Agilent DNA 1000 Kit. Секвенирование проводилось в режиме парно-концевых прочтений (2×300 нукл.) на приборе MiSeq (Illumina) с применением набора MiSeq Reagent Kit v2. Биоинформатическая обработка данных включала в себя фильтрацию ридов, коррекцию ошибок чтения, выделение RSV (Ribosomal Sequence Variant), слитие полученных RSV между прямыми и обратными прочтениями, удаление химерных RSV, таксономическую аннотацию последовательностей RSV с использованием баз данных RDP, Silva (версия 132) и пакета DADA2. Дальнейшая обработка данных проводилась с использованием собственных скриптов для среды Python и R (использованы пакеты vegan, fossil, ggplot и др.).

Статистическая обработка данных

Поскольку распределение показателей было отличным от нормального (гауссова распределения), сравнение групп проводилось с применением критерия Манна — Уитни для количественных показателей и точного критерия Фишера для сравнения по качественным признакам. Для выявления корреляций между показателями вычислялся ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Сила связи между двумя признаками менее 0,3 расценивалась как слабая, от 0,4 до 0,7 — как умеренная, более 0,7 — как сильная. Межгрупповые и иные отличия с $p \leq 0{,}05$ рассматривались как статистически значимые.

Результаты исследования

Микробный состав кишки у пациентов основной и контрольной группы

Основными доминантными типами бактерий в образцах пациентов основной и контрольной группы были *Firmicutes* (75,37 % от общего числа ридов, аннотированных до уровня типа) и *Bacteroidetes* (14,86 %). Менее представленными типами были *Verrucomicrobia* (4,52 %), *Proteobacteria* (3,45 %), *Actinobacteria* (1,15 %) (рис. 1).

У пациентов с ХСН в сравнении с лицами из группы контроля выявлено повышение содержания *Euryarchaeota* (0,48 % от всех ридов, успешно аннотированных до уровня типа у больных ХСН и 0,05 % в группе контроля, $p = 0{,}02$), *Firmicutes* (78 и 69 % соответственно, $p = 0{,}03$). Также отмечено снижение пропорции *Tenericutes* ($p = 0{,}02$), носившее мозаичный характер (данный таксон встречался у относительно небольшого числа пациентов).

Основными семействами бактерий в образцах фекалий пациентов контрольной и основной групп были *Ruminococcaceae* (34,4 %), *Lachnospiraceae* (21,4 %), *Bacteroidaceae* (8,9 %),

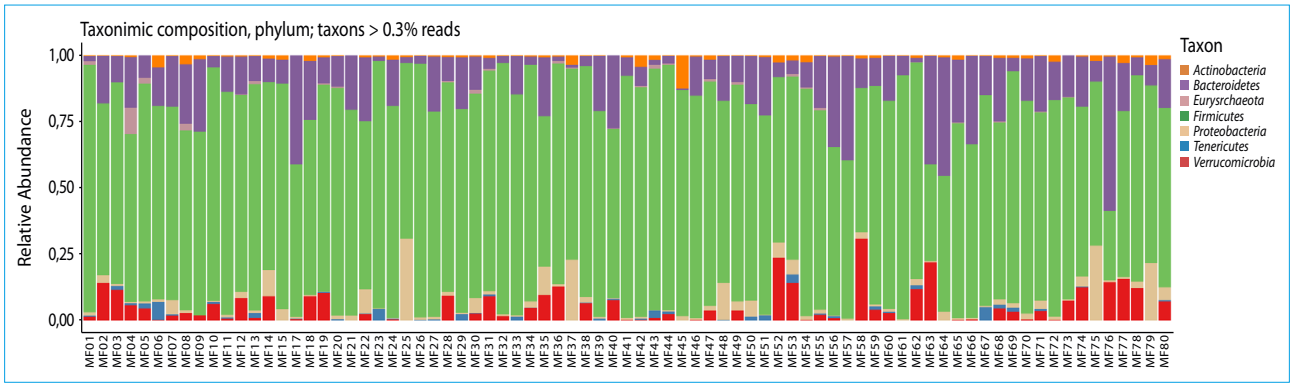

Рис. 1. Типы бактерий, представленные в образцах фекалий пациентов основной (MF1–60) и контрольной групп (MF61–80)

Fig. 1. Bacterial types in stool samples of the main (MF1–60) and control (MF61–80) groups

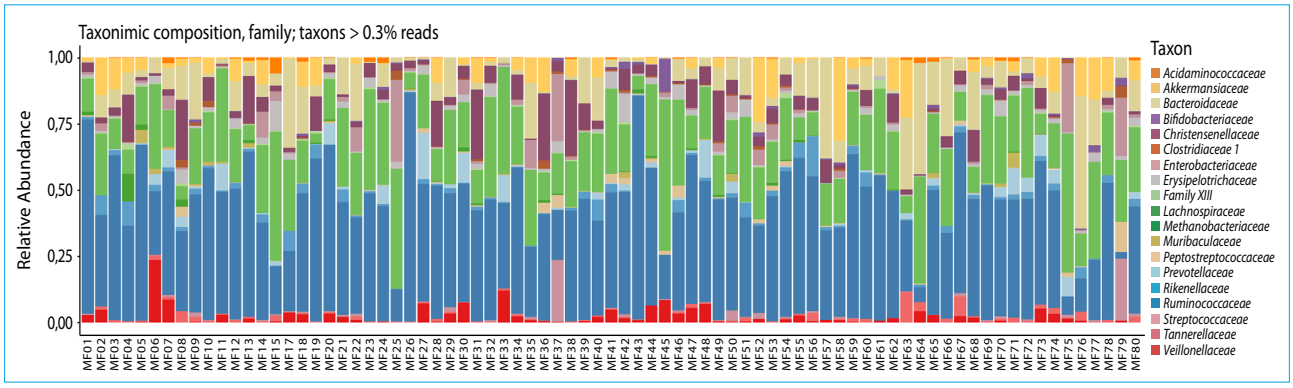

Рис. 2. Основные семейства бактерий, представленные в образцах фекалий пациентов контрольной и основной групп

Fig. 2. Bacterial families in stool samples of the main (MF1–60) and control (MF61–80) groups

Verrucomicrobiaceae (4,5 %), *Enterobacteriaceae* (2,5 %), *Prevotellaceae* (2,1 %), *Veillonellaceae* (2,0 %), *Erysipelotrichaceae* (1,9 %), *Rikenellaceae* (1,9 %), *Porphyromonadaceae* (1,8 %), *Eubacteriaceae* (1,1 %), *Streptococcaceae* (0,9 %), *Peptostreptococcaceae* (0,7 %), *Coriobacteriaceae* (0,6 %), *Bifidobacteriaceae* (0,5 %), *Acidaminococcaceae* (0,4 %), *Clostridiaceae* (0,4 %), *Methanobacteriaceae* (0,4 %), *Succinivibrionaceae* (0,3 %), *Desulfovibrionaceae* (0,3 %) (рис. 2).

У пациентов с ХСН в сравнении с пациентами из группы контроля выявлено повышение пропорции *Methanobacteriaceae* (0,56 % от всех ридов, успешно аннотированных до уровня семейства у больных ХСН и 0,05 % — в группе контроля, p = 0,03), тенденция к повышению доли *Bdellovibrionaceae* (0,27 % у пациентов с ХСН и 0,007 % — в группе контроля, p = 0,09), уменьшение пропорции *Pseudomonadaceae* (0,02 и 0,03 % соответственно, p = 0,01), *Moraxellaceae* (0,00304 и 0,00299 %, p = 0,01). Кроме того, отмечено уменьшение доли семейств *Anaeroplasmataceae* (p = 0,02), *Peptoniphilaceae* (0,00048 и 0,00049 %, p = 0,02), *Phyllobacteriaceae* (p = 0,02), *Brucellaceae* (p = 0,02), *Sphingobacteriaceae* (p = 0,01), однако в связи с тем, что данные таксоны были выявлены у единичных пациентов, эти изменения не учитывались. Распределение выявленных семейств между пациентами представлено на рисунке 3.

Кишечная микробиота и функциональное состояние больных ХСН

По полученным нами данным, состав кишечной микробиоты (на уровне типов, классов, порядков, семейств) не влиял на функциональный класс больных с сердечной недостаточностью (значимых корреляций с количеством баллов по шкале ШОКС, значением функционального класса ХСН не выявлено).

Кишечная микробиота и значения NT-proBNP

В нашем исследовании получена обратная корреляционная связь средней силы между пропорцией *Proteobacteria* и значениями NT-proBNP (r = –0,554, p = 0,011) (рис. 4).

У пациентов с ХСН выявлена обратная корреляционная связь средней силы между уровнем NT-proBNP и пропорцией семейства *Bdellovibrionaceae* (r = –0,573, p = 0,008), в контрольной группе эта зависимость не была статистически значимой.

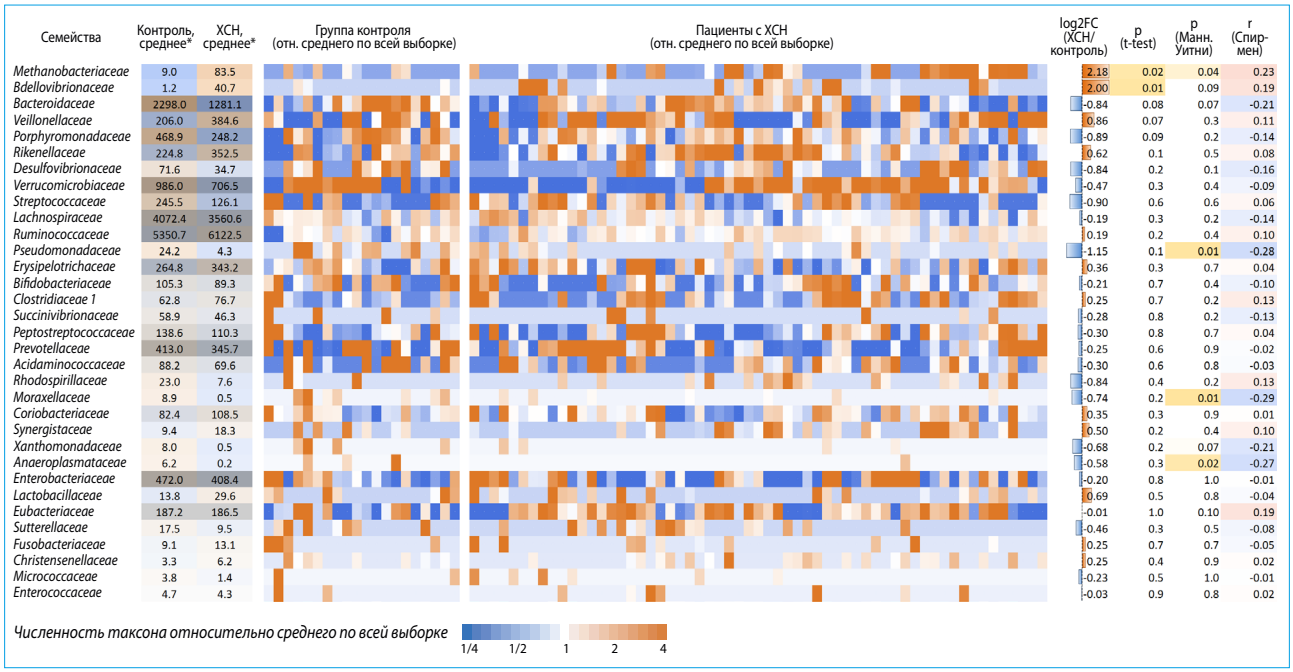

Рис. 3. Сравнительный анализ семейств бактерий в образцах фекалий пациентов с ХСН и группы контроля. LogFC — двоичный логарифм отношения средней доли бактерий данного семейства у группы пациентов с ХСН к средней доле бактерий того же семейства в контрольной группе. Представлена тепловая карта, иллюстрирующая мозаичность выявленных изменений. Синим цветом выделены значения ниже среднего (по всей выборке, в рамках данного таксона), красным цветом — выше среднего

* Среднее число ридов в рамках каждой группы (контрольная группа, больные ХСН). Представлены таксоны, прошедшие порог от 5 ридов.

Fig. 3. Comparative analysis of bacterial families in the stool samples of CHF and control group patients. LogFC is the binary logarithm for the ratio of the average family bacteria proportion in CHF patients to the same in the control group. A heat map is provided illustrating the mosaicity of the identified changes. Blue values are below average (throughout the sample, within the framework of this taxon), red are above average

* The average number of reads within each group (control group, CHF patients). Taxons passed the threshold of 5 reeds are presented.

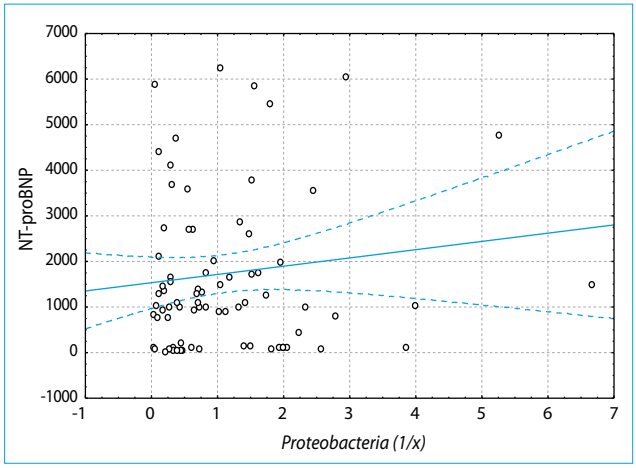

Рис. 4. Корреляция между значениями NT-proBNP и пропорцией типа *Proteobacteria* в составе кишечной микробиоты больных с ХСН. Значения доли *Proteobacteria* представлены в виде $1/x$

Fig. 4. The correlation between NT-proBNP and the *Proteobacteria* type proportion in the intestinal microbiota of CHF patients. The values of the *Proteobacteria* proportion are presented as $1/x$

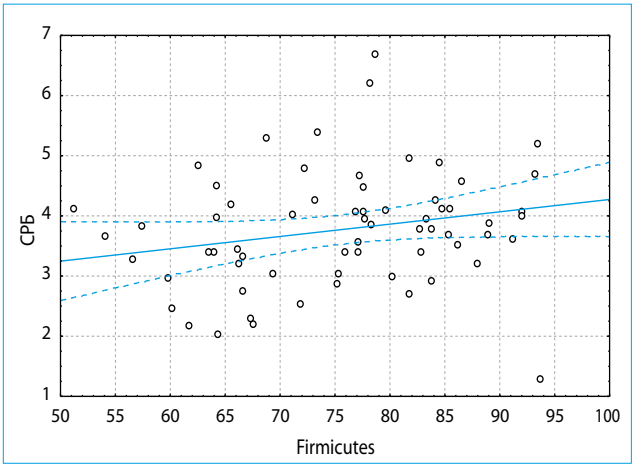

Рис. 5. Корреляция между значениями СРБ и пропорцией типа *Firmicutes* в составе кишечной микробиоты пациентов

Fig. 5. Correlation between CRP values and the *Firmicutes* type proportion in the patients' intestinal microbiota

Микробный состав кишки и значения С-реактивного белка

У пациентов, включенных в исследование (основная + контрольная группа), выявлена прямая корреляционная связь средней силы между пропорцией типа *Firmicutes* и уровнем СРБ (r = 0,308, p = 0,006) (рис. 5). Схожие данные получены для основной группы (r = 0,318, p = 0,014). В группе контроля корреляция между *Firmicutes* и значениями СРБ не была значимой.

Уровень СРБ в основной группе коррелировал с численностью семейств *Acidaminococcaceae* (прямая корреляционная связь средней силы, r = 0,370, p = 0,004), *Desulfovibrionaceae* (слабая прямая корреляционная связь, r = 0,285, p = 0,029), *Enterobacteriaceae* (слабая обратная корреляционная связь, r = –0,248, p = 0,027), *Streptococcaceae* (слабая обратная корреляционная связь, r = –0,305, p = 0,019). В контрольной группе выявлены схожие корреляции для семейств *Enterobacteriaceae* (r = –0,664, p = 0,001), *Desulfovibrionaceae* (r = 0,285, p = 0,029) *Streptococcaceae* (r = –0,305, p = 0,019). Значимой корреляции с *Acidaminococcaceae* не выявлено.

Кишечная микробиота и показатели эхокардиографического исследования

Для всех пациентов, включенных в исследование (пациенты с ХСН + группа контроля), численность *Euryarchaeota* коррелировала с конечным диастолическим (r = 0,303, p = 0,007) и конечным систолическим объемом левого желудочка (r = 0,320, p = 0,004), фракцией выброса левого желудочка (r = –0,224, p = 0,048). Также выявлена прямая корреляционная связь между численностью *Firmicutes* и конечным систолическим объемом левого желудочка (r = 0,235, p = 0,037), обратная связь между *Fusobacteria* и толщиной межжелудочковой перегородки (r = –0,246, p = 0,029) и *Proteobacteria* и размерами правого желудочка (r = –0,236, p = 0,036).

В группе пациентов с ХСН наибольшее число корреляций с показателями эхокардиографического исследования также получено для типа *Euryarchaeota*. У больных ХСН отмечена обратная корреляционная связь между численностью представителей типа *Euryarchaeota* и размерами левого предсердия (r = –0,268, p = 0,040) и правого предсердия (r = –0,336, p = 0,009), а также прямая корреляционная связь с конечным диастолическим (r = 0,273, p = 0,036) и конечным систолическим объемом левого желудочка (r = 0,272, p = 0,037), ударным объемом (r = 0,271, p = 0,037). В контрольной группе значимых корреляций с показателями ЭХО КГ для *Euryarchaeota* не получено. Кроме того, содержание типа *Actinobacteria* у больных ХСН коррелирует с толщиной задней стенки левого желудочка (обратная корреляционная связь, r = –0,298, p = 0,022), *Fusobacteria* с толщиной межжелудочковой перегородки (r = –0,258, p = 0,049), *Proteobacteria* с размерами правого желудочка (r = –0,276, p = 0,034), *Synergistetes* с размерами правого предсердия ПП (r = –0,276, p = 0,034). В группе контроля выявлена прямая корреляционная связь между представленностью типа *Proteobacteria* и фракцией выброса левого желудочка (r = 0,451, p = 0,046), а также обратная корреляционная связь между *Firmicutes*, конечным диастолическим объемом левого желудочка (r = –0,546, p = 0,013) и ударным объемом (r = –0,565, p = 0,009).

Корреляции эхокардиографических данных и бактериальных семейств представлены в табл. 1.

Кишечная микробиота и нарушения сердечного ритма

У пациентов с желудочковыми тахикардиями (ЖТ) в сравнении с пациентами без ЖТ отмечено увеличение пропорции порядка *Actinomycetales* (p = 0,02), относящихся к типу *Actinobacteria*, вероятно, обусловленное увеличением представителей семейства *Micrococcaceae* (p = 0,05).

У пациентов с фибрилляцией предсердий наблюдалось уменьшение доли бактериальных представителей, относящихся к типам *Synergistetes* (p = 0,008) и *Euryarchaeota* (p = 0,04). Выявлено увеличение пропорции семейств *Catabacteriaceae* (p = 0,03), *Enterobacteriaceae* (p = 0,04), *Lachnospiraceae* (p = 0,01), *Streptococcaceae* (p = 0,02), уменьшение пропорции семейств *Synergistaceae* (p = 0,008) и *Methanobacteriaceae* (p = 0,04).

Выявлена корреляционная связь между числом наджелудочковых экстрасистол и пропорцией семейства *Streptococcaceae* (r = 0,35, p = 0,03). Кроме того, выявлена положительная корреляционная связь средней силы с представленностью семейств *Defluviitaleaceae* (r = 0,41, p = 0,01), *Phyllobacteriaceae* (r = 0,32, p = 0,05), отрицательная корреляционная связь средней силы с численностью *Desulfovibrionaceae* (r = –0,34, p = 0,04).

Кроме того, существует отрицательная корреляционная связь между пропорцией класса *Deltaproteobacteria* (r = –0,33, p = 0,01), в частности семейства *Desulfovibrionaceae* (r = –0,29, p = 0,04), и числом желудочковых экстрасистол.

На уровне типов бактерий значимых корреляций для наджелудочковых и желудочковых экстрасистол не получено.

Обсуждение полученных результатов

В нашем исследовании впервые в российской популяции оценивался микробный состав образцов кала с помощью секвенирования 16S РНК для выявления возможной взаимосвязи с особенностями клинического течения ХСН.

У пациентов с ХСН, в сравнении с лицами из группы контроля, выявлены изменения

Таблица 1. Корреляции между пропорцией бактериальных семейств и основными показателями эхокардиографического исследования

Table 1. Correlation between the proportion of bacterial families and the main parameters of echocardiographic examination

Показатели эхокардиографии Echocardiography paramenetrs	Типы бактерий, в составе которых выявлены корреляции показателей с относительной численностью семейств Bacterial types with the revealed correlation of parameters with the relative number of families	Наличие корреляции с относительной численностью бактериальных семейств The presence of correlation with the relative number of bacterial families
Левое предсердие Left atrium	*Firmicutes*	*Peptostreptococcaceae (–)*
	Actinobacteria	*Bifidobacteriaceae (–)*
	Euryarchaeota	*Methanobacteriaceae (–)*
Толщина межжелудочковой перегородки Interventricular septum thickness	*Firmicutes*	*Streptococcaceae (–)*
	Actinobacteria	*Bifidobacteriaceae (–)*
Толщина задней стенки левого желудочка Left ventricular posterior wall thickness	*Firmicutes*	*Peptostreptococcaceae (–)*
	Actinobacteria	*Bifidobacteriaceae (–)*
Конечный диастолический объем левого желудочка Left ventricular end diastolic volume	*Firmicutes*	*Catabacteriaceae (–)*
	Euryarchaeota	*Methanobacteriaceae (–)*
Конечный систолический объем левого желудочка Left ventricular end systolic volume	*Proteabacteria*	*Pasteurellaceae (–)*
Конечный диастолический размер левого желудочка Left ventricular end diastolic dimension	*Proteabacteria*	*Pasteurellaceae (–)*
Конечный систолический размер левого желудочка Left venticular end systolic dimension	*Firmicutes*	*Lactobacillaceae (+)* *Xanthomonadaceae (–)*
	Proteabacteria	*Pasteurellaceae (–)*
Ударный объем левого желудочка Left ventricular stroke volume	*Proteabacteria*	*Enterobacteriaceae (–)*
Фракция выброса левого желудочка (по Симпсону) Left ventricular ejection fraction (Simpson's method)	*Firmicutes*	*Clostridiaceae (–)* *Peptostreptococcaceae (–)*

Примечание: в таблице представлены только статистически значимые корреляционные связи средней и большей силы. Положительная корреляционная связь отмечена как (+), отрицательная — как (–). Представлены таксоны, прошедшие порог от 5 ридов.

Note: only statistically significant correlations of medium and greater strength are provided. Positive and negative correlation is marked as (+) and (–), respectively. Taxons passed the threshold of 5 reeds are presented.

как в пропорции типов бактерий (снижение пропорции *Tenericutes*, повышение пропорции *Euryarchaeota* и *Firmicutes*), так и на уровне семейств (повышение пропорции *Methanobacteriaceae* внутри типа *Euryarchaeota*; уменьшение пропорции семейств *Pseudomonadaceae*, *Moraxellaceae, Phyllobacteriaceae*, *Brucellaceae* внутри типа *Proteobacteria*, семейства *Anaeroplasmataceae* внутри типа *Tenericute*, семейства *Peptoniphilaceae* (тип *Firmicutes*) ($p = 0{,}02$) и *Sphingobacteriaceae* ($p = 0{,}01$) (тип *Bacteroidetes*). Мы проанализировали результаты, полученные исследователями из других стран (табл. 2): данные по соотношению различных бактериальных семейств у больных ХСН противоречивы, вероятно, пропорция определенных бактериальных штаммов может определяться особенностями рациона питания.

В нашем исследовании проведена оценка связи состава кишечной микробиоты с тяжестью ХСН и результатами лабораторно-инструментальных исследований.

Данных в пользу влияния микробного состава на функциональный класс ХСН не получено. Однако получены данные об ассоциации типа

Таблица 2. Изменения пропорции бактериальных таксонов в составе кишечной микробиоты у пациентов с ХСН

Table 2. Changes in the proportion of bacterial taxa in the composition of the intestinal microbiota in CHF patients

Авторы Authors	T. Katsimichas и соавт. (Япония, 2018) [11] T. Katsimichas et al. (Japan, 2018) [11]	M. Kummen и соавт. (Норвегия, 2018) [12] M. Kummen et al. (Norway, 2018) [12]	S.M. Luedde и соавт. (Германия, 2017) [10] S.M. Luedde et al. (Germany, 2017) [10]	Фадеева М.В. и соавт. (Россия, 2020) Fadeeva M.V. et al. (Russia, 2020)
Изменения кишечной микробиоты Changes in the intestinal microbiota	↑ род *Eggerthella* (сем. *Coriobacteriaceae*) ↑ род *Fusobacterium* (сем. *Fusobacteriaceae*) ↑ род *Streptococcus* (сем. *Streptococcaceae*) ↑ род *Veillonella* (сем. *Veillonellaceae*) ↓ род *Prevotella* (сем. *Prevotellaceae*) ↓ род *Paraprevotella* (сем. *Prevotellaceae*) ↓ род *SMB53* (сем. *Clostridiaceae*) ↑ genus *Eggerthella* (fam. *Coriobacteriaceae*) ↑ genus *Fusobacterium* (fam. *Fusobacteriaceae*) ↑ genus *Streptococcus* (fam. *Streptococcaceae*) ↑ genus *Veillonella* (fam. *Veillonellaceae*) ↓ genus *Prevotella* (fam. *Prevotellaceae*) ↓ genus *Paraprevotella* (fam. *Prevotellaceae*) ↓ genus *SMB53* (fam. *Clostridiaceae*)	↓ сем. *Ruminococcaceae* ↓ сем. *Bifidobacteriaceae* ↑ сем. *Prevotellaceae* ↓↓ / ↑ сем. *Lachnospiraceae* (в зависимости от рода) ↑ сем. *Acidaminococcaceae* ↓ fam. *Ruminococcaceae* ↓ fam. *Bifidobacteriaceae (–)* ↑ fam. *Prevotellaceae* ↓↓ / ↑ fam. *Lachnospiraceae* (depending on genus) ↑ fam. *Acidaminococcaceae*	↓ сем. *Coriobacteriaceae* ↓ сем. *Erysipelotrichaceae* ↓ сем. *Ruminococcaceae* ↓ fam. *Coriobacteriaceae* ↓ fam. *Erysipelotrichaceae* ↓ fam. *Ru*	↑ сем. *Methanobacteriaceae* ↓ сем. *Pseudomonadaceae* ↓ сем. *Moraxellaceae* ↓ сем. *Anaeroplasmataceae* ↓ сем. *Peptoniphilaceae* ↓ сем. *Phyllobacteriaceae* ↓ сем. *Brucellaceae* ↓ сем. *Sphingobacteriaceae* ↑ fam. *Methanobacteriaceae (–)* ↓ fam. *Pseudomonadaceae* ↓ fam. *Moraxellaceae* ↓ fam. *Anaeroplasmataceae* ↓ fam. *Peptoniphilaceae* ↓ fam. *Phyllobacteriaceae* ↓ fam. *Brucellaceae* ↓ fam. *Sphingobacteriaceae*

Proteobacteria со значениями лабораторного маркера NT-proBNP, который, по данным исследований, коррелирует с тяжестью ХСН [16, 17]. Так, у пациентов с ХСН и высокими значениями NT-proBNP выявлено уменьшение пропорции типа *Proteobacteria*, в частности грамотрицательных бактерий семейства *Bdellovibrionaceae*.

Уровень С-реактивного белка, по нашим данным, коррелировал с численностью бактерий типа *Firmicutes* (прямая корреляционная связь средней силы). По данным литературы, некоторые представители типа *Firmicutes* ассоциированы с воспалением. Так, у пациентов с воспалительными заболеваниями кишки в стадии ремиссии отмечено снижение бутират-продуцирующих бактерий и увеличение числа энтеробактерий [18, 19]. В нашем исследовании более высокие значения воспалительного маркера были ассоциированы с повышением пропорции семейства *Acidaminococcaceae*, среди представителей которого встречаются бутират-продуцирующие бактерии [20, 21], и уменьшением пропорции семейств *Streptococcaceae* и *Enterobacteriaceae*. Также получена прямая корреляционная связь между значениями С-реактивного белка и пропорцией семейства *Desulfovibrionaceae* (тип *Proteobacteria*).

Нами получены корреляции ряда бактериальных таксонов с показателями эхокардиографии. Наибольший интерес представляет ассоциация представителей кишечной микробиоты и сократительной функции миокарда при сердечной недостаточности.

Значимой корреляции фракции выброса левого желудочка с общей численностью типа *Firmicutes* не получено, однако отмечено изменение соотношения некоторых семейств в составе этого типа. Так, у пациентов с более низкой фракцией выброса левого желудочка отмечались более высокие пропорции семейств *Clostridiaceae*, *Peptostreptococcaceae*.

При низких значениях ударного объема отмечалось уменьшение содержания типа *Euryarchaeota*. На уровне семейств отмечено повышение пропорции семейств *Catabacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*.

У пациентов с желудочковыми тахикардиями отмечено увеличение пропорции семейства грамположительных кокков *Micrococcaceae* (тип *Actinobacteria)*. Увеличение числа желудочковых и наджелудочковых экстрасистол было ассоциировано со снижением пропорции сульфатредуцирую-

щих грамотрицательных облигатных анаэробов семейства *Desulfovibrionaceae* (тип *Proteobacteria*). С большим числом наджелудочковых экстрасистол связано также увеличение пропорции семейства *Streptococcaceae*. Кроме того, выявлена положительная корреляционная связь числа наджелудочковых экстрасистол с представленностью семейств *Phyllobacteriaceae* (тип *Proteobacteria*) и *Defluviitaleacea*e (тип *Firmicutes*).

У пациентов с фибрилляцией предсердий наблюдалось уменьшение пропорции типа *Synergistetes* за счет семейства *Synergistaceae*, типа *Euryarchaeota* за счет семейства *Methanobacteriaceae*. Выявлено увеличение пропорции некоторых семейств в составе типов *Firmicutes* и *Proteobacteria*.

Полученные нами данные могут быть полезными для поиска про- и пребиотических препаратов, которые могли бы применяться с целью улучшения прогноза при ХСН. Требуются дальнейшие исследования, которые позволят оценить значение микробного состава кишки как фона для развития воспалительных реакций, для более высоких значений маркера сердечной недостаточности, ремоделирования сердца и нарушений ритма и проводимости.

Ограничением данного исследования является небольшой размер выборки, включение в исследование коморбидных пациентов, а также невозможность дифференцировать полостную и пристеночную микробиоту при исследовании образцов кала.

Заключение

Результаты нашего исследования свидетельствуют об изменениях в составе кишечной микробиоты у пациентов с ХСН. Получены данные об ассоциации некоторых бактериальных таксонов со значением воспалительного маркера СРБ, NT-proBNP, показателями эхокардиографии. Дальнейшее изучение взаимосвязи кишечной микробиоты и ХСН в более крупных исследованиях позволит раскрыть новые звенья патогенеза сердечной недостаточности и возможные механизмы воздействия на них.

Литература / References

1. *Moore L., Moore E., Murray R., Stackebrandt E., Starr M.* Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. Int J Syst Bacteriol. 1987; 37:463–4.
2. *Wayne L.G., Brenner D.J., Colwell R., Grimont P., Krichevsky M., Moore L.H., et al.* Int J Syst Bacteriol. 1987;37:463–4. DOI: 10.1099/00207713-37-4-463
3. *Tap J., Mondot S., Levenez F., Pelletier E., Caron C., Furet J., et al.* Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. Environ Microbiol. 2009;11(10):2574–84. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.01982.x
4. *Walker A.W., Ince J., Duncan S.H., Webster L.M., Holtrop G., Ze X., et al.* Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. ISME J 2010;5(2):220–30. DOI: 10.1038/ismej.2010.118
5. *Purchiaroni F., Tortora A., Gabrielli M., Bertucci F., Gigante G., Ianiro G., et al.* The role of intestinal microbiota and the immune system. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2013;17:323–33.
6. *Rajilic-Stojanovic M.* Function of the microbiota. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2013;27(1):5–16. DOI: 10.1016/j.bpg.2013.03.006
7. *Sekirov I., Russell S.L., Antunes L.C., Finlay B.B.* Gut microbiota in health and disease. Physiol Rev 2010;90(3):859–904. DOI: 10.1152/physrev.00045.2009
8. *Koeth R.A., Wang Z., Levison B.S., Buffa J.A., Org E., Sheehy B.T., et al.* Intestinal microbiota metabolism of l-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. Nat Med. 2013;19:576–85.
9. *Wang Z., Klipfell E., Bennett B.J., Koeth R., Levison B.S., Dugar B., et al.* Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. Nature. 2011;472(7341):57–63. DOI: 10.1038/nature09922
10. *Yang T., Santisteban M.M., Rodriguez V., Li E., Ahmari N., Carvajal J.M., et al.* Gut dysbiosis is linked to hypertension. Hypertension. 2015;65(6):1331–40. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05315
11. *Luedde M., Winkler T., Heinsen F.A., Rühlemann M.C., Spehlmann M.E., Bajrovic A., et al.* Heart failure is associated with depletion of core intestinal microbiota. ESC Heart Fail. 2017;4(3):282–90. DOI: 10.1002/ehf2.12155
12. *Katsimichas T., Ohtani T., Motooka D., Tsukamoto Y., Kioka H., Nakamoto K., et al.* Non-Ischemic Heart Failure With Reduced Ejection Fraction Is Associated With Altered Intestinal Microbiota. Circ J. 2018;82(6):1640–50. DOI: 10.1253/circj.CJ-17-1285
13. *Kummen M., Mayerhofer C.C.K., Vestad B., Broch K., Awoyemi A., Storm-Larsen C., et al.* Gut Microbiota Signature in Heart Failure Defined from Profiling of 2 Independent Cohorts. J Am Coll Cardiol. 2018;71(10):1184–6. DOI: 10.1016/j.jacc.2017.12.057
14. *Pasini E., Aquilani R., Testa C., Baiardi P., Angioletti S., Boschi F., et al.* Pathogenic gut flora in patients with chronic heart failure. J Am Coll Cardiol H F. 2016;4(3):220–7. DOI: 10.1016/j.jchf.2015.10.009
15. *Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Беграмбекова Ю.Л., Беленков Ю.Н. и др.* Клинические рекомендации. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН). Журнал Сердечная Недостаточность. 2017;18(1):3–40. DOI: 10.18087/rhfj.2017.1.2346 [*Mareev V.Yu., Fomin I.V., Ageev F.T., Arutyunov G.P., Begrambekova Yu.L., Belenkov Yu.N. et al.* Clinical recommendations. Chronic heart failure (CHF). J Serdechnaya nedostatochnost'. 2017;18(1):3–40. DOI: 10.18087/rhfj.2017.1.2346 (In Russ.)].
16. *Herlemann D.P., Labrenz M., Jürgens K., Bertilsson S., Waniek J.J., Andersson A.F.* Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. ISME J. 2011;5(10):1571–9. DOI: 10.1038/ismej.2011.41
17. *Karabulut A., Kaplan A., Aslan C., Iltumur K., Toprak G., Toprak N.* The association between NT-proBNP levels, functional capacity and stage in patients with heart failure. Acta Cardiol. 2005;60(6):631–8.
18. *Barac A., Wang H., Shara N.M., de Simone G., Carter E.A., Umans J.G., et al.* Markers of inflammation, metabolic risk factors, and incident heart failure in American Indians: the Strong Heart Study. J Clin Hypertens (Greenwich). 2012;14(1):13–9. DOI: 10.1111/j.1751-7176.2011.00560.x
19. *Sokol H., Seksik P., Furet J.P., Firmesse O., Nion-Larmurier I., Beaugerie L., et al.* Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. Infl amm Bowel Dis. 2009;15(8):1183–9. DOI: 10.1002/ibd.20903
20. *Miquel S., Martin R., Rossi O., Bermudez-Humaran L.G., Chatel J.M., Sokol H., et al. Faecalibacterium prausnitzii* and human intestinal health. Curr Opin Microbiol. 2013;16(3):255–61. DOI: 10.1016/j.mib.2013.06.003

21. *Vital M., Penton C.R., Wang Q., Young V.B., Antonopoulos D.A., Sogin M.L., et al.* A gene-targeted approach to investigate the intestinal butyrate producing bacterial community. Microbiome. 2013;1(1):8. DOI: 10.1186/2049-2618-1-8

22. *Bui T.P., de Vos W.M., Plugge C.M.* Anaerostipes rhamnosivorans sp. nov., a human intestinal, butyrate forming bacterium. Int J Syst Evol Microbiol. 2014;64(3):787–93. DOI: 10.1099/ijs.0.055061-0. Epub 2013 Nov 11.

Сведения об авторах

Фадеева Мария Вадимовна* — врач отделения кардиологии Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Контактная информация: maria.fad@yandex.ru;
119435, г. Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1.
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5467-2625

Кудрявцева Анна Викторовна — кандидат биологических наук, заведующая лабораторией постгеномных исследований ФГБУ «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» Российской академии наук; научный сотрудник патологоанатомического отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Контактная информация: risamoeba@rambler.ru;
119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32.
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3722-8207

Краснов Георгий Сергеевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФГБУ «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» Российской Академии наук.
Контактная информация: gskrasnov@mail.ru;
119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32.
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6493-8378

Схиртладзе Манана Ревазовна — кандидат медицинских наук, заведующая отделением кардиологии Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Контактная информация: manana.sh@mail.ru;
119435, г. Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1.
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6946-7771

Ивашкин Владимир Трофимович — доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации; главный специалист-гастроэнтеролог Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Контактная информация: kont07@yandex.ru;
119435, г. Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1.
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6815-6015

Information about the authors

Maria V. Fadeeva* — Cardiologist, Cardiology Department, V.Kh. Vasilenko Clinic of Internal Disease Propaedeutics, Gastroenterology and Hepatology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University.
Contact Information: maria.fad@yandex.ru; 119435, Moscow, Pogodinskaya str., 1, building 1.
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5467-2625

Anna V. Kudryavtseva — Cand. Sci. (Biol.), Laboratory Head, Postgenomic Research Laboratory, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences; Researcher, Pathology Department, National Medical Research Centre for Radiology.
Contact information: risamoeba@rambler.ru; 119991, Moscow, Vavilova str., 32.
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3722-8207

Georgy S. Krasnov — Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences.
Contact Information: gskrasnov@mail.ru; 119991, Moscow, Vavilova str., 32.
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6493-8378

Manana R. Skhirtladze — Cand. Sci. (Med.), Departmental Head, Cardiology Department, V.Kh. Vasilenko Clinic of Internal Disease Propaedeutics, Gastroenterology and Hepatology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University.
Contact Information: manana.sh@mail.ru; 119435, Moscow, Pogodinskaya str., 1, building 1.
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6946-7771

Vladimir T. Ivashkin — RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Prof., Departmental Head, Department of Internal Disease Propaedeutics, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; Chief Gastroenterologist of the Ministry of Health of the Russian Federation.
Contact information: kont07@yandex.ru; 119435, Moscow, Pogodinskaya str., 1, building 1.
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6815-6015

Поступила: 30.01.2020 Принята: 30.03.2020 Опубликована: 30.04.2020
Submitted: 30.01.2020 Accepted: 30.03.2020 Published: 30.04.2020

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author