

ВЗАИМОСВЯЗЬ СОСТОЯНИЯ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ, СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА И ПИТАНИЯ У ЛИЦ БЕЗ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Каштанова Д.А.¹, Ткачева О.Н.³, Егшатын Л.В.⁴, Плохова Е.В.¹, Попенко А.С.²,
Тяхт А.В.², Алексеев Д.Г.⁵, Котовская Ю.В.³, Бойцов С.А.¹

¹Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины,
Москва, Российская Федерация

²Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины,
Москва, Российская Федерация

³Российский геронтологический научно-клинический центр, Москва, Российская Федерация

⁴Эндокринологический научный центр, Москва, Российская Федерация

⁵Московский физико-химический институт,
Долгопрудный, Московская область, Российская Федерация

Цель исследования. Изучить взаимосвязь состава микробиоты кишечника с состоянием сосудистой стенки и потреблением нутриентов у лиц без клинических проявлений сердечно-сосудистых заболеваний.

Материалы и методы. В исследование были включены 92 жителя Москвы и Московской области, мужчины и женщины, в возрасте от 25 до 76 лет без клинических проявлений хронических заболеваний, не получающие никакой медикаментозной терапии, но с возможным наличием факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний. Всем участникам выполнены дуплексное сканирование сонных артерий с определением толщины комплекса интима-медиа (КИМ), наличия атеросклеротических бляшек, измерение каротидно-фemorальной скорости распространения пульсовой волны (СРПВ), измерение интерлейкина-6 (ИЛ-6) и С-реактивного белка (С-РБ), а также секвенирование переменных участков V3-V4 гена 16S рРНК микробиоты кишечника. Характер питания изучался частотным методом с количественной оценкой потребленных продуктов при помощи стандартизованной компьютерной программы «Анализ состояния питания человека» (версия 1.2.4 ГУ НИИ питания РАМН 2003-2006).

Результаты. В ходе исследования было обнаружено, что в исследуемой когорте толщина КИМ была больше у лиц с большим числом бактерий родов *Serratia* и *Blautia*. С ростом количества потребляемого крахмала представленность *Bifidobacterium* возрастала, а *Blautia* – падала.

Заключение. Состав кишечной микробиоты ассоциирован как с жесткостью сосудистой стенки, так и с атеросклерозом. Кроме того, бактерии, ассоциированные с субклиническим атеросклерозом, более представлены у лиц, потребляющих меньшее количество сложных углеводов.

Ключевые слова: микробиота кишечника, 16S рРНК секвенирование, скорость распространения пульсовой волны, атеросклероз.

VASCULAR WALL CONDITION, GUT MICROBIOTA COMPOSITION, AND DIET IN PATIENTS WITHOUT CARDIOVASCULAR DISEASES

Kashtanova D., Tkacheva O., Egshatyan L., Plokhova E., Popenko A., Tyakht A.,
Alexeev D., Kotovskaya Y., Boytsov S.

Purpose of the study. To study the relationship between the gut microbiota composition, the state of the vascular wall and nutrient intake in patients without clinical manifestation of cardiovascular disease.

Materials and methods. The study included 92 residents from Moscow and the Moscow region, men and women aged 25 to 76 y.o., without clinical manifestations of chronic diseases, with no medical treatment but with possible presence of cardiovascular risk factors. All the participants were examined with duplex scanning of the carotid arteries with the definition of the thickness of the intima-media complex (IMC), the presence of atherosclerotic plaques, measuring carotid-femoral pulse wave velocity (PWV), the measurement of interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (C-RP) and sequencing of the V3-V4 variable regions of 16S rRNA genes of the gut microbiota.

Diet was studied by quantitative assessment of consumer products using a standardized computer program «Analysis of Human Nutrition states» (version 1.2.4 Research Institute of Nutrition 2003-2006).

Results. The study revealed that in the investigated cohort IMC thickness was greater in those with a large number of bacterial genera *Serratia* and *Blautia*. *Bifidobacterium* representation was increased and *Blautia* representation was decreased in those who consumed a lot of starch.

Conclusion. The composition of the gut microbiota is associated with both vascular wall stiffness and atherosclerosis. In addition, the bacteria associated with subclinical atherosclerosis were more represented among those who consumed smaller amounts of complex carbohydrates.

Keywords: gut microbiota, 16S rRNA sequencing, pulse wave velocity, atherosclerosis

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания по-прежнему занимают первое место в структуре смертности как во всем мире, так и в России. Субстратом развития ССЗ является увеличение жесткости сосудистой стенки и атеросклероз [1], которые отражаются в повышении скорости распространения пульсовой волны (СРПВ), увеличении толщины комплекса интима-медиа (КИМ).

Сегодня в этиологии развития изменений сосудистой стенки выделяют нового «игрока» – микробиоту кишечника. Микроорганизмы, населяющие организм человека, обладают огромным метаболическим потенциалом, число генов в метагеноме значительно превосходит число генов генома человека. Микробиота оказывает влияние на иммунитет, на процессы воспаления, в том числе вялотекущее воспаление, лежащее в основе развития атеросклероза и других нарушений. Недавно были обнаружены различия в составе кишечной микробиоты здоровых людей и пациентов с симптоматическим атеросклерозом. Большое содержание бактерий рода *Collinsella* было более характерно для клинической группы, а *Eubacterium*, *Roseburia* и *Bacteroides* – для здоровых испытуемых. Метагеном пациентов с клиническим атеросклерозом содержал много генов, отвечающих за регуляцию синтеза пептидогликанов, что может быть одной из причин вялотекущего воспаления, в то время как метагеномы здоровых испытуемых содержали больше генов, ответственных за выработку противовоспалительных веществ и антиоксидантов [2].

В 2014 году исследователем Jill Gregory и соавт. был проведен интересный эксперимент:

микробиота кишечника пересаживалась от доноров-мышей с атеросклерозом и без него мышам-реципиентам с дефицитом аполипопротеина Е (склонным к развитию атеросклероза) и подавленной антибактериальными препаратами микрофлорой. У мышей, которым была пересажена микробиота от доноров с атеросклерозом, атерогенез был намного более выраженным, нежели во второй группе, которой был пересажен кал от животных без атеросклеротических изменений. Таким неочевидным образом мыши были «заражены» атеросклерозом [3].

Большинство работ, в которых изучался вопрос взаимосвязи сосудов и микробиоты кишечника были посвящены клинически выраженным атеросклеротическим изменениям, и единичные исследования – жесткости сосудистой стенки или субклиническому атеросклерозу. Было обнаружено, что метаболиты некоторых бактерий ассоциированы с ускорением СРПВ и являются «кардиоваскулярными токсинами» [4], позже эти данные были подтверждены в работе Gulhan и соавт.[5]. Однако в исследованиях не оценивался состав микробиоты, а метаболиты измерялись прицельно, не в составе метаболома.

В настоящей работе впервые описана взаимосвязь состава самой кишечной микробиоты не только с атеросклерозом, но и с жесткостью сосудов. Кроме того, в ряду первых изучался состав микробиоты кишечника у когорты из Москвы и Московской области.

Цель: Изучить взаимосвязь состава микробиоты кишечника с состоянием сосудистой стенки и потреблением макронутриентов у

лиц без клинических проявлений сердечно-сосудистых заболеваний.

Материал и методы

В одномоментное исследование были включены пациенты с различным состоянием сосудистой стенки, но без клинических проявлений атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний, в возрасте старше 25 лет, прошедшие амбулаторное обследование в ФГБУ «ГНИЦПМ» в 2013–2014 гг.

Критерии включения

Мужчины и женщины в возрасте старше 25 лет без клинических проявлений сердечно-сосудистых заболеваний (но с возможным наличием факторов кардиоваскулярного риска) и других хронических неинфекционных заболеваний, подписавшие информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения

Клинические проявления атеросклероза (ишемическая болезнь сердца, включая инфаркт миокарда; церебро-васкулярная болезнь, включая инсульт; перемежающаяся хромота и др.), наличие сердечно-сосудистых заболеваний, наличие клапанных пороков сердца. Регулярный прием любых препаратов (в т.ч. антибактериальных в течение последних 3-х месяцев и др.), СД1 и другие специфические типы СД, тяжелые диабетические микроангиопатии, СД2 в анамнезе (кроме впервые выявленного СД2). Наличие хронической печеночной и почечной недостаточности, онкологических заболеваний, беременности, период лактации, анемия средней и тяжелой степени тяжести, инфекционные заболевания, заболевания желудочно-кишечного тракта в стадии обострения, операции на органах брюшной полости, диагностированная лактазная непереносимость, диагностированная аллергическая реакция любого типа на пищевые продукты, трансплантация органов в анамнезе, заболевания ротовой полости, зубочелюстной системы, отказ от участия в исследовании.

Этические аспекты

Всеми пациентами было подписано информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России. Протокол заседания ЛЭК № 8 от 29 ноября 2011 г. Конфиденциальность данных пациента была обеспечена использованием кодовых идентификационных номеров, что позволяет соотнести пациента с электрон-

ными базами данных.

Скрининг пациентов

На этапе скрининга всем пациентам проводилось стандартное клиническое обследование: сбор анамнеза, клинический осмотр, в том числе измерение веса и роста с расчетом индекса массы тела (ИМТ), измерение систолического и диастолического артериального давления. Участникам проводили забор крови и мочи для лабораторных анализов (клинический и биохимический). Участникам была проведена регистрация ЭКГ с помощью электрокардиографа SCHILLER CARDIOOVIT AT-10 в 12 отведениях. С целью исключения ишемии миокарда проводилась проба с физической нагрузкой (тредмил-тест по протоколу BRUCE (Intertrack, SCHILLER)). Биохимический анализ крови включал в себя определение уровней глюкозы, креатинина, мочевины, мочевой кислоты, калия, натрия, АСТ, АЛТ, билирубина, также определяли общий холестерин (ОХС), триглицериды (ТГ), ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП) и уровень тиреотропного гормона. Содержание ОХС, ТГ и ХС-ЛПВП в сыворотке крови определяли ферментативным колориметрическим методом с помощью наборов фирмы «DIASYS» (Германия). Результаты выражены в ммоль/л. Содержание ХС-ЛПНП вычисляли по формуле Фридвальда и соавт.:

$$\text{ХС-ЛПНП} = \text{ОХС} - (\text{ТГ}/2,2 + \text{ХС-ЛПВП}),$$

$$\text{где } \text{ТГ}/2,2 = \text{ХС-ЛПОНП}.$$

Лица с отклонениями в анализах крови, и по данным ЭКГ считались не соответствовавшими критериям включения в исследование.

По результатам скрининга 92 участника были включены в исследование.

Всеим обследуемым, которые соответствовали критериям включения/исключения, были проведены основные методы исследования. При выявлении критериев исключения участник выбывал из исследования на любом этапе. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом и все участники дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Оценка состояния сосудов

Измерение СРПВ: Измерение жесткости артериальной стенки проводили с помощью прибора SphygmoCor (AtCorMedical, Австралия). Пульсовые волны регистрировались последовательно высокоточным аппланационным тонометром, который накладывался на проксимальную (сонную) и, с коротким промежутком, на дистальную (бедренную) артерии, при этом одновременно

регистровалась ЭКГ. Ускоренной СРПВ считалось значение 10 м/с и более [6].

Оценку толщины КИМ и субклинического атеросклероза проводили в В-режиме при параллельной записи ЭКГ с использованием программы Q-LAB (Philips, Нидерланды). Согласно стандартам Европейского общества кардиологов, нормальным считалась толщина КИМ < 0,9 мм. Значения КИМ 0,9-1,3 мм считались утолщением комплекса. Наличие атеросклеротических бляшек идентифицировали как увеличение КИМ более 1,3 мм для общей сонной артерии или как локальное увеличение КИМ на 0,5 мм или на 50% от значения близлежащего участка КИМ [7].

Оценка характера питания

Характер питания изучался частотным методом с количественной оценкой потребленных продуктов при помощи стандартизованной компьютерной программы «Анализ состояния питания человека» (версия 1.2.4 ГУ НИИ питания РАМН 2003-2006). Оценивали качественный состав и объем потребляемых продуктов, общую калорийность рациона, химический состав, риски недостатка и избытка потребления основных витаминов и минеральных веществ с учетом «Норм физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» (Методические рекомендации МР 2.3.1.2432-08).

Оценка состояния микробиоты кишечника:

Собранные у участников образцы кала, хранящиеся при температуре -20°C , были разморожены, из 2 мл образцов выделены ДНК, после выделения тотальной ДНК и подготовки библиотеки для секвенирования было выполнено секвенирование переменных участков V3-V4 гена 16S рРНК с использованием набора MiSeq Reagent Kit v2 (300 циклов) и прибора MiSeq (Illumina, США) согласно рекомендациям производителя. Фильтрация ридов по качеству и их таксономическая классификация по байесовскому алгоритму против БД Greengenes V13.5 были произведены с помощью ПО QIIME [8].

Биоинформатическая обработка

Фильтрация ридов по качеству и таксономическая классификация происходили с использованием встроенного программного комплекса QIIME [8]. Таксономический состав образцов был оценен путем классификации по базе данных 16S рРНК генов Greengenes v. 13.5 с помощью байесовского классификатора. Результатом классификации являются количества лег-

ших ридов на операционные таксономические единицы (ОТЕ). Специальными программами выдача классификатора была приведена к виду матрицы образцов ОТЕ, с описанной филогенией последних.

Весь статистический анализ выполнен на языке программирования R, версия 3.1.0. Статистический анализ сравнения групп образцов был выполнен с использованием теста Манна-Уитни (поправка на множественное сравнение false discovery rate, FDR) и построение обобщенных линейных моделей [9].

При построении графиков многомерного шкалирования было использовано расстояние UniFrac [10]. Для иллюстраций был использован пакет ggplot. На графиках «ящики с усами» горизонтальной чертой отмечены медианы, нижняя и верхняя грань прямоугольника отвечают первой и третьей квантили соответственно, «усы» соответствуют расстоянию между квантилями помноженному на 1,5. Значения, выходящие за пределы «усов» считаются выбросами и отмечаются точками.

Результаты

В исследование было включено 92 человека (26 мужчин и 66 женщин) в возрасте от 25 до 76 лет. Средний возраст всех участников 57 ± 34 лет. Доля мужчин составила 29% ($n=28$), женщин 71% ($n=69$).

1. Общая картина микробиоты секвенированных образцов кала

После секвенирования образцов кала в среднем получили 102582 ± 46284 ридов на образец. В обсчете были задействованы $102,581 \pm 39,210$ высококачественных ридов, $87\% \pm 2\%$ от общего числа. Из них классифицированы $87,40 \pm 7,4\%$. Средний процент классификации с точностью до рода составил $97,41 \pm 0,9\%$.

Результатом классификации ридов стала таблица представленности операционных таксономических единиц ОТЕ (англ. operational taxonomic units) – условная таксономическая единица, соответствующая таксону по 16S рРНК генам [10]. Тепловая карта относительной представленности ОТЕ отображена на рис. 1.

1.1. Индекс альфа-разнообразия Шеннона

Для оценки разнообразия микробиоты мы использовали индекс альфа-разнообразия Шеннона. В нашем исследовании индекс альфа-разнообразия оказался достаточно высоким и составил $3,71 \pm 0,56$, что является довольно высоким показателем. Для сравнения была взята выборка здоровых добровольцев исследования Turnbaugh

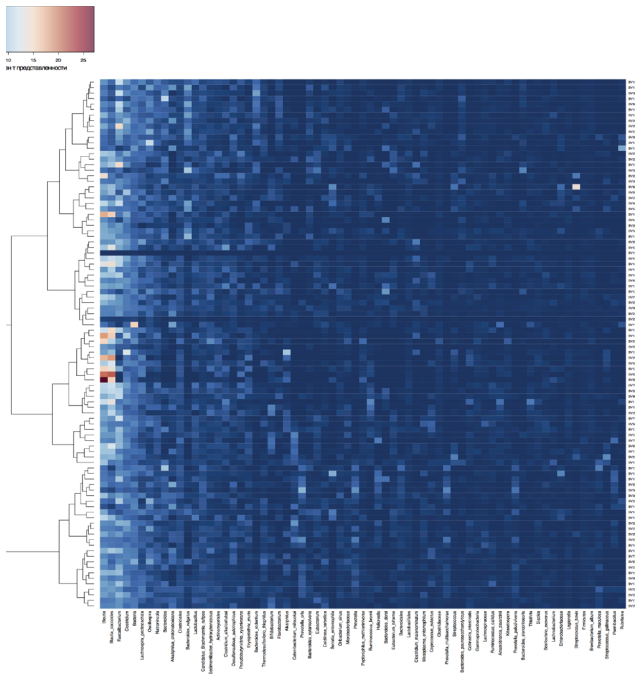


Рис. 1. Тепловая карта относительной представленности ОТЕ в образцах в процентах, составляющих 85% суммарной представленности.

и соавт. [11], индекс альфа-разнообразия для которой составил $2,46 \pm 0,29$ (рис. 2).

Нами не было найдено отличий в разнообразии микробиоты у людей разного возраста, пола, и среди испытуемых с различными клиническими показателями или различным питанием.

1.2. Доминирующие бактерии

Самыми представленными оказались бактерии двух крупных филумов – Bacteroidetes ($12,7 \pm 9,86\%$) и Firmicutes ($57,09 \pm 13,6\%$).

Среди всех этих бактерий в среднем 50% составили представители пяти родов: Blautia, Bacteroides, Prevotella, Faecalibacterium, Clostridium. Наиболее представленным оказался род Blautia, в частности, Blautia coccoides.

2. Оценка состояния стенки сосудов и взаимосвязи его с составом микробиоты кишечника.

Целью нашего исследования было выявление

взаимосвязей между составом микробиоты кишечника и состоянием сосудистой стенки. Для этого нами были выбраны следующие критерии: атеросклеротического поражения сосудов – толщина комплекса интима-медиа, а также жесткости сосудистой стенки – скорости распространения пульсовой волны.

2.1. Субклинический атеросклероз и микробиота кишечника

Среднее значение толщины КИМ (наибольшее из двух) среди всех участников составило $0,84 \pm 0,4$ мм. У 20 человек толщина КИМ превышала 0,9 мм. В таблице 1 представлена характеристика испытуемых с различными показателями толщины комплекса интима-медиа.

Толщина комплекса была ассоциирована с большим числом бактерий родов Blautia ($p=0,004$) и Serratia ($p=0,009$) (рис. 3). Бактерии рода Prevotella, напротив были более представлены у лиц с нормальной толщиной КИМ ($p=0,0003$).

2.2. Жесткость сосудистой стенки и микробиота кишечника

В таблице 2 представлена характеристика испытуемых с различной СРПВ. Жесткость артерий коррелировала с возрастом, систолическим артериальным давлением, уровнями глюкозы и мочевины, а также показателем SCORE.

Среднее значение СРПВ составляло $11 \pm 2,76$ м/с. Значение СРПВ более 10 м/с наблюдалось у 55 человек. В нашем исследовании при первом рассмотрении всей выборки не было достоверных различий в составе микробиоты кишечника у пациентов с разной СРПВ.

После разделения пациентов и изучения взаимосвязи СРПВ с составом микробиоты у испытуемых без СД2, было обнаружено, что представленность Bacteroides была достоверно выше у лиц с СРПВ=10 м/с и более.

Результаты по анализу взаимосвязей состояния сосудистой стенки с составом микробиоты кишечника представлены в таблице 3.

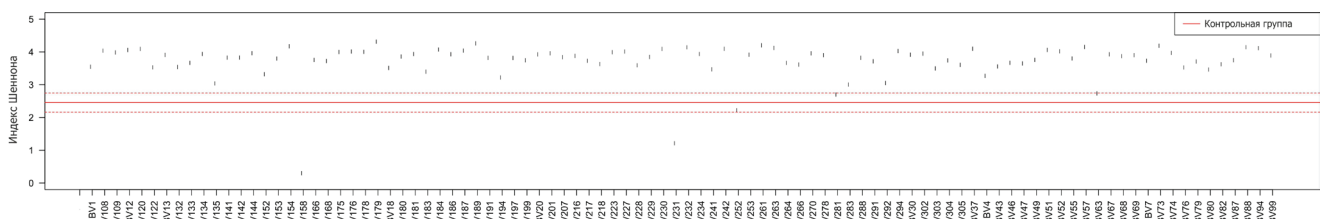


Рис. 2. Разнообразие видового состава микробиоты кишечника по индексу альфа-разнообразия в исследуемой группе (черные точки) и в работе Turnbaugh и соавт. Красная линия – среднее альфа-разнообразие ± стандартное отклонение для образцов из исследования Turnbaugh и соавт.

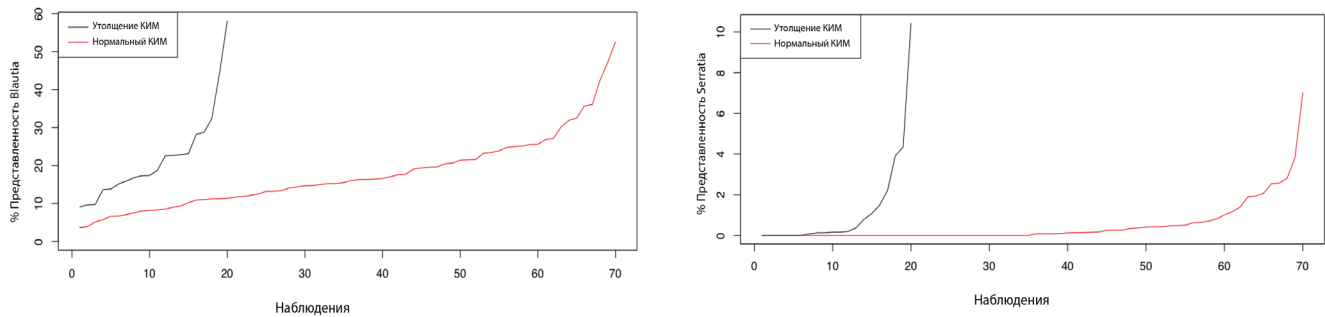


Рис. 3. Представленность родов *Blautia* и *Serratia* у лиц с нормальным и утолщенным КИМ

Таблица 1

Сравнительная характеристика лиц в группах с толщиной КИМ < и \geq 0,9 мм

Показатель	КИМ < 0,9 мм		КИМ \geq 0,9 мм		p
	среднее	станд.откл.	среднее	станд.откл.	
Возраст (лет)	49,9286	12,14564	62,7500	6,68758	0,0000
САД (мм рт.ст.)	123,7714	15,90294	136,9500	16,09340	0,0029
ДАД (мм рт.ст.)	77,6657	9,76368	79,7500	8,76521	0,3674
ИМТ (кг/м ²)	27,1695	5,41872	28,1970	5,27166	0,4506
ОТ/ОБ (см)	0,8469	0,09382	0,7829	0,42083	0,5077
ИЛ-6 (пг/мл)	11,0281	25,85051	5,3310	5,16649	0,0878
SCORE	1,5714	2,81080	3,8000	3,39659	0,0123
СРПВ (м/с)	10,3235	2,15075	12,9300	3,24526	0,0024
Мочевина (ммоль/л)	5,0943	1,58104	6,3500	2,33925	0,0333
Глюкоза натощак	5,4800	1,26004	6,7515	2,01230	0,0133
вчС-РБ (мг/л)	2,9637	2,74844	5,4450	7,71914	0,1729
HbA1c (%)	5,2870	0,96630	6,1005	1,13411	0,0069

3. Микробиота кишечника и питание

86 участникам был проведен анализ питания. Средняя калорийность питания составила $2176,16 \pm 654,21$ ккал. Среднее суточное потребление углеводов $209,27 \pm 91,81$ г; белков $76,62 \pm 22,63$ г; жиров $101,52 \pm 33,04$ г.

Примечательно, что с особенностями питания были обнаружены зависимости для «полезных» бактерий рода *Bifidobacterium*, а также для ранее упомянутых представителей рода *Blautia*, которые были в большей степени представлены у лиц с утолщением КИМ. Представленность рода молочнокислых бактерий *Bifidobacterium* значительно снижалась у доноров, потребляющих большое количество холестерина или этанола. С ростом количества потребляемого крахмала представленность *Bifidobacterium* возрастала, а *Blautia* – падала. Кроме того, были выявлены и другие ассоциации, которые представлены в таблице 3.

Питание – мощнейший фактор воздействия на кишечную микрофлору. И, как оказалось, потребление сложных углеводов ассоциировано

с меньшим содержанием бактерий, в большей степени представленных у лиц с изменениями сосудистой стенки.

Обсуждение

В ходе нашего исследования впервые были показаны различия в составе микробиоты не только в зависимости от субклинических атеросклеротических поражений сосудов, но и от жесткости сосудистой стенки.

После секвенирования всех образцов мы обнаружили, что в микробиоте кишечника испытуемых жителей Москвы и Московской области преобладали филумы Firmicutes и Bacteroidetes. Схожие результаты получены и в зарубежных исследованиях [12]. Что примечательно, состав микробиоты у испытуемых оказался довольно богатым, индекс альфа-разнообразия был выше среднего показателя в исследованиях с использованием метода 16 sPНК секвенирования в западных странах (рис. 2) [11, 13]. Индекс Шеннона, который мы использовали для проведения этого анализа, учитывает не только непо-

Таблица 2

**Сравнительная характеристика клинических параметров пациентов
и их питания с высокой и нормальной СРПВ.**

Показатель	СРПВ < 12 м/с		СРПВ ≥ 12 м/с		p
	среднее	станд.откл.	среднее	станд.откл.	
Возраст (лет)	50,0794	12,32006	59,2692	10,02221	0,0005
САД (мм рт.ст.)	124,3492	16,07659	133,1154	16,68131	0,0275
ДАД (мм рт.ст.)	77,0730	10,38642	80,5769	6,39483	0,0570
ИМТ (кг/м ²)	27,0251	5,00529	28,6948	6,03555	0,2204
ОТ/ОБ (см)	0,8456	0,09159	0,8115	0,37306	0,6495
ИЛ-6 (пг/мл)	9,7911	24,53268	10,4212	19,66157	0,8989
SCORE	1,3333	1,68485	3,9231	4,63830	0,0098
Мочевина (ммоль/л)	5,0222	1,68566	6,2692	1,95464	0,0069
Глюкоза натощак	5,4497	1,22687	6,5615	1,93330	0,0104
вчС-РБ (мг/л)	2,6756	1,71845	5,5846	7,49966	0,0611
НbA1c (%)	5,2331	0,72785	6,0446	1,46343	0,0115

Таблица 3

Взаимосвязь состояния сосудистой стенки и состава микробиоты кишечника

Параметр	Оценка	Ст.ошибка	Значение p	Род
Утолщение КИМ ≥ 0,9мм	0,2109	0,0555	0,004	Blautia
	0,9009	0,2586	0,0092	Serratia
КИМ < 0,9мм	-0,7592	0,1668	0,0003	Prevotella
Повышение СРПВ = 10 м/с и более	0,3735	0,0782	0,0001	Bacteroides

средственно видовое богатство, но и выравненность (равномерность распределения видов по их обилию) сообщества. Богатое разнообразие флоры говорит о ее стабильности как экосистемы, а отобранные нами пациенты, в свою очередь, не имели тяжелых нарушений или заболеваний. В дальнейшем при оценке разнообразия микробиоты мы не нашли различий в группах с и без изменений сосудистой стенки.

Наиболее представленными родами в нашей

выборке оказались Blautia, Bacteroides, Prevotella, Faecalibacterium, Clostridium. Род Blautia (в частности spp Blautia coccoides) оказался самым распространенным. В нашем исследовании именно с Blautia было ассоциировано и увеличение толщины КИМ. Blautia coccoides относится к классу грамположительных анаэробных бактерий Clostridia (филум Firmicutes).

Не так давно, после филогенетического анализа этих бактерий, Clostridium coccoides были

Таблица 3

Характер питания и состав микробиоты кишечника

	Среднее	Ст. ошибка	Значение p	Таксон
Калорийность	0,1094	0,0353	0,0087	Bacteroidetes
Жиры	0,6500	0,1766	0,0081	Eubacterium
	-0,1559	0,0437	0,004	Megasphaera
Углеводы	0,2158	0,0557	0,0009	Bacteroidetes
Крахмал	-0,0011	0,0003	0,0071	Blautia
	0,0023	0,0007	0,009	Bifidobacterium
Холестерин	-0,0020	0,0006	0,0081	Bifidobacterium
Этанол	-0,0521	0,0144	0,0062	Bifidobacterium

переименованы в *Blautia coccoides* [14]. По данным исследования Tuovinen и соавт, *Blautia coccoides* активируют секрецию TNF- α , цитокинов, причем интерлейкина-8 даже в большей степени, чем токсин грамотрицательных бактерий липополисахарид [15]. При изучении особенностей питания нами было обнаружено, что у испытуемых, потреблявших большее количество крахмала, количество бактерий *Blautia* было меньшим, а количество «полезных» *Bifidobacteria* – большим. Ранее было показано, что увеличение потребления крахмалов снижает уровень общего холестерина, липопротеинов низкой плотности [16], а также способствует улучшению эндотелиальной функции [17]. Возможно, такое влияние происходит опосредованно, через воздействие на состав микробиоты кишечника.

Также было обнаружено, что бактерии рода *Serratia* больше представлены у пациентов с утолщением КИМ и стенозом артерий.

Serratia – грамотрицательные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, факультативные анаэробы, оппортунистические патогены. Как и все грамотрицательные бактерии, содержат липополисахарид (ЛПС) – эндотоксин, высвобождение которого происходит в процессе физиологической гибели микроорганизмов и синтеза компонентов мембраны во время жизнедеятельности бактерий. Липополисахарид присутствует в крови в физиологических концентрациях, необходимых для поддержания тонуса иммунной системы, что повышает неспецифическую устойчивость к инфекциям и новообразованиям [18]. Увеличение концентрации ЛПС выше физиологических запускает системное вялотекущее воспаление, и это может приводить к дисфункции эндотелия и другим, связанным с неспецифическим воспалением, состояниям.

В ходе исследования был определен род бактерий, представленность которого была больше у пациентов с нормальными сосудами – это *Prevotella* – одни из представителей филума *Bacteroidetes*. В свою очередь *Bacteroides* – представители того же филума – в большем коли-

честве присутствовали в микробиоте доноров с ускоренной СРПВ. Причем именно в этом анализе мы исключили лиц с начальной стадией СД2, которые включались в исследования как пациенты с фактором риска ССЗ, то есть, максимально исключили воздействие других факторов. Интересно, что количество именно этих бактерий в кишечнике было положено некоторыми исследователями в основу определения энтеротипов, или «фекотипов». Фекотип «*Prevotella*» фиксирован у людей, потребляющих большое количество пищевых волокон, перевариваемых бактериями кишечника, т.е. со «здоровым питанием», относительно лиц с фекотипом «*Bacteroides*», ассоциированным с т.н. «западной диетой» с большим содержанием животных белков и жиров [19, 20]. Согласно недавно опубликованному исследованию, представители *Bacteroides* имеют гены, работа которых запускает воспалительную реакцию [21]. Кроме того, *Bacteroides* также содержат ЛПС и являются оппортунистическими патогенами.

Анализ микробиоты у здоровых добровольцев Москвы и Московской области показал, что большее содержание бактерий, потенциально способных вызывать неспецифическое вялотекущее воспаление, ассоциировано с утолщением комплекса интима-медиа и ускорением СРПВ. Возможно, повышение числа этих бактерий может оказывать воздействие на сосудистую стенку путем инициации воспаления, однако для подтверждения подобной гипотезы необходимо проведение более масштабного проспективного исследования.

Основным фактором влияния на микробиоту является диета, и, как было обнаружено в настоящей работе, чем больше потребление крахмальных полисахаридов, тем меньше представленность в микробиоте кишечника бактерий, показавших взаимосвязь с утолщением КИМ, что было подтверждено в ранних зарубежных работах, и при более глубоком изучении может стать новой мишенью в воздействии на сосудистую стенку.

Литература:

1. Kohn J.C., M.C. Lampi, C.A. Reinhart-King. Age-related vascular stiffening: causes and consequences. *Front Genet*, 2015; 6:112.
2. Karlsson F.H., F. Fak, I. Nookaew, et al., Symptomatic atherosclerosis is associated with an

altered gut metagenome. *Nat Commun*, 2012; 3: 1245.

3. Gregory J.C., J.A. Buffa, E. Org, et al., Transmission of atherosclerosis susceptibility with gut microbial transplantation. *J Biol Chem*, 2015. 290(9): p. 5647-60.

4. Rossi M., K.L. Campbell, D.W. Johnson, et al. Protein-bound uremic toxins, inflammation and

- oxidative stress: a cross-sectional study in stage 3-4 chronic kidney disease. Arch Med Res, 2014; 45(4): p. 309-17.
5. Gulhan B., K. Turkmen, M. Aydin, et al., The Relationship between Serum Oxalic Acid, Central Hemodynamic Parameters and Colonization by Oxalobacter formigenes in Hemodialysis Patients. Cardiorenal Med, 2015. 5(3): p. 164-74.
6. Boutouyrie, P., New techniques for assessing arterial stiffness. Diabetes Metab, 2008. 34 Suppl 1: p. S21-6.
7. Stein, J.H., C.E. Korcarz, R.T. Hurst, et al., Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. J Am Soc Echocardiogr, 2008; 21(2): 93-111; quiz 189-90.
8. Caporaso, J.G., J. Kuczynski, J. Stombaugh, et al., QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. Nat Methods, 2010; 7(5): 335-6.
9. Zhang, H., N. Lu, C. Feng, et al., On fitting generalized linear mixed-effects models for binary responses using different statistical packages. Stat Med, 2011; 30(20): 2562-72.
10. Lozupone, C., M. Hamady R. Knight, UniFrac--an online tool for comparing microbial community diversity in a phylogenetic context. BMC Bioinformatics, 2006. 7: p. 371.
11. Turnbaugh, P.J., M. Hamady, T. Yatsunenkov, et al., A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature, 2009; 457(7228): 480-4.
12. Eckburg, P.B., E.M. Bik, C.N. Bernstein, et al., Diversity of the human intestinal microbial flora. Science, 2005; 308(5728): 1635-8.
13. Human Microbiome Project, C., Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature, 2012; 486(7402): 207-14.
14. Liu C., S.M. Finegold, Y. Song, et al., Reclassification of Clostridium coccoides, Ruminococcus hansenii, Ruminococcus hydrogenotrophicus, Ruminococcus luti, Ruminococcus productus and Ruminococcus schinkii as Blautia coccoides gen. nov., comb. nov., Blautia hansenii comb. nov., Blautia hydrogenotrophica comb. nov., Blautia luti comb. nov., Blautia producta comb. nov., Blautia schinkii comb. nov. and description of Blautia wexlerae sp. nov., isolated from human faeces. Int J Syst Evol Microbiol, 2008; 58(Pt 8): 1896-902.
15. Tuovinen E., J. Keto, J. Nikkila, et al., Cytokine response of human mononuclear cells induced by intestinal Clostridium species. Anaerobe, 2013; 19: 70-6.
16. Park O.J., N.E. Kang, M.J. Chang, et al., Resistant starch supplementation influences blood lipid concentrations and glucose control in overweight subjects. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2004; 50(2): 93-9.
17. Kwak J.H., J.K. Paik, H.I. Kim, et al., Dietary treatment with rice containing resistant starch improves markers of endothelial function with reduction of postprandial blood glucose and oxidative stress in patients with prediabetes or newly diagnosed type 2 diabetes. Atherosclerosis, 2012. 224(2): p. 457-64.
18. Liu A.H., Redmon A.H. Jr., Endotoxin: friend or foe? Allergy Asthma Proc, 2001; 22(6): 337-40.
19. Ou J., F. Carbonero, E.G. Zoetendal, et al., Diet, microbiota, and microbial metabolites in colon cancer risk in rural Africans and African Americans. Am J Clin Nutr, 2013; 98(1): 111-20.
20. Wu G.D., J. Chen, C. Hoffmann, et al., Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. Science, 2011; 334(6052): 105-8.
21. Cohen L.J., H.S. Kang, J. Chu, et al., Functional metagenomic discovery of bacterial effectors in the human microbiome and isolation of commensamide, a GPCR G2A/132 agonist. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015; 112(35): E4825-34.

Информация об авторах:

Автор, ответственный за переписку:

Каштанова Дарья Андреевна – аспирант отдела Изучения процессов старения и профилактики возраст-ассоциированных заболеваний, Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Петроверигский пер., 10, Москва, Российская Федерация, 101000
E-mail: dr.kashtanova@gmail.com, тел.: +7 (916) 393 91 88

Ткачева Ольга Николаевна д.м.н., директор Российского геронтологического научно-клинического центра, 1-я улица Леонова 16, Москва, Российская Федерация, 129226
E-mail: Tkacheva@rambler.ru, тел.: +7(985) 211 85 23

Егшатын Лилит Ваниковна, к.м.н., старший научный сотрудник, Эндокринологический научный центр, улица Дмитрия Ульянова 11, Москва, Российская Федерация, 117292
E-mail: lilit.egshatyan@yandex.ru, тел.: +7 (916) 570-45-82

Плохова Екатерина Владимировна, к.м.н., научный сотрудник отдела Изучения процессов старения и профилактики возраст-ассоциированных заболеваний, Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины,
E-mail: evplokhova@gmail.com, тел.: +7(928) 865 74 14

*Попенко Анна Сергеевна, к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории биоинформатики,
Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины,
Малая Пироговская 1а, Москва, Российская Федерация, 119435
E-mail: a.s.popenko@niifhm.ru, тел.: +7 (916) 570 45 82*

*Тягт Александр Викторович, к.б.н., научный сотрудник лаборатории биоинформатики,
Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины
Малая Пироговская 1а, Москва, Российская Федерация, 119435
E-mail: at@niifhm.ru, тел.: +7(910)4607032*

*Алексеев Дмитрий Глебович, к.б.н., заведующий лабораторией сложных биологических наук
Московский физико-химический институт,
Институский переулок 9, Долгопрудный, Московская область, Российская Федерация, 141700
E-mail: exappeal@gmail.com, тел.: +7(916)8139913*

*Котовская Юлия Викторовна, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией
сердечно-сосудистого старения,
Российский геронтологический научно-клинический центр,
1-я улица Леонова 16, Москва, Российская Федерация, 129226
E-mail: kotovskaya@bk.ru, тел.: +7(916)6346735*

*Карамнова Наталья Станиславовна, к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела
первичной профилактики хронических неинфекционных заболеваний в системе здравоохранения,
Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины,
Петроверигский пер., 10, Москва, Российская Федерация, 101000
E-mail: nkaramnova@gnicpm.ru, тел.: +7(495) 790 71 72*

*Бойцов Сергей Анатольевич, д.м.н., профессор, директор центра,
Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины,
E-mail: prof-boytsov@mail.ru, тел.: +7(985)3641159*