

Связь микробиоты кишечника с системным воспалением и эндотоксемией у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и сохраненной фракцией выброса

Кабурова А. Н.¹, Драпкина О. М.¹, Юдин С. М.², Яфарова А. А.¹, Корецкий С. Н.¹,
Покровская М. С.¹, Макаров В. В.², Краевой С. А.², Шойбонов Б. Б.¹, Ефимова И. А.¹,
Серебрянская З. З.¹

¹ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России, Москва; ²ФГБУ "Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью" ФМБА, Москва, Россия

Цель. Изучить связь представителей родов кишечной микробиоты (КМ) с биомаркерами хронического системного воспаления и эндотоксемии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса (ХСНсФВ).

Материал и методы. Состав КМ среди 42 пациентов (57,1% мужчин) с ХСНсФВ был оценен методом секвенирования 16S рибосомальной рибонуклеиновой кислоты (рРНК). Медиана (Ме) возраста составила 67,0 лет, интерквартильный размах ([Q25; Q75]): [64,0; 71,5] лет. Проведен корреляционный и регрессионный анализ связи относительной представленности кишечных бактерий с концентрацией биомаркеров хронического системного воспаления высокочувствительного С-реактивного белка (вЧРБ), интерлейкинов (ИЛ) 1 β и 6, растворимого супрессора опухоленности (sST2), и уровнем биомаркера эндотоксемии — липополисахарида (ЛПС).

Результаты. По данным многофакторного регрессионного анализа с поправкой на пол и возраст, представленность *Haemophilus* прямо связана с концентрацией ИЛ-1 β (отношение шансов (ОШ) 32,37, 95% доверительный интервал (ДИ): 2,07-1237,69, $p=0,025$), *Coriobacteriaceae* (неклассифицированный) — с ИЛ-6 (ОШ 6,27, 95% ДИ: 1,42-36,74, $p=0,024$), *Porphyromonadaceae* (неклассифицированный) — с sST2 (ОШ 5,96 (1,33-34,39), $p=0,028$), а относительное обилие родов *Pseudomonas* (ОШ 7,09, (1,45-42,39), $p=0,020$), *Parasutterella* (ОШ 4,55, (1,07-22,76), $p=0,047$) и *Clostridiaceae* (неклассифицированный) (ОШ 4,85, (1,06-24,7), $p=0,045$) было статистически значимо прямо ассоциировано с уровнем ЛПС, отражающего степень эндотоксемии.

Заключение. Относительная представленность ряда родов КМ, таких как *Haemophilus*, *Pseudomonas*, *Parasutterella*, а также неклассифицированных родов семейств *Clostridiaceae*, *Coriobacteriaceae*,

Porphyromonadaceae у пациентов с ХСНсФВ статистически значимо ассоциирована с повышением уровня биомаркеров хронического системного воспаления и эндотоксемии.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса, хроническое системное воспаление, кишечная микробиота, эндотоксемия.

Отношения и деятельность. Работа была проведена в рамках договора между ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России и ФГБУ "Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью" Федерального медико-биологического агентства.

Поступила 08/06-2022

Рецензия получена 20/06-2022

Принята к публикации 12/09-2022



Для цитирования: Кабурова А. Н., Драпкина О. М., Юдин С. М., Яфарова А. А., Корецкий С. Н., Покровская М. С., Макаров В. В., Краевой С. А., Шойбонов Б. Б., Ефимова И. А., Серебрянская З. З. Связь микробиоты кишечника с системным воспалением и эндотоксемией у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и сохраненной фракцией выброса. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(9):3315. doi:10.15829/1728-8800-2022-3315. EDN SOFRXO

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: anastasiakaburova@mail.ru

Тел.: +7 (903) 150-13-12

[Кабурова А. Н.* — м.н.с. отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения, ORCID: 0000-0001-7717-1455, Драпкина О. М. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор, ORCID: 0000-0002-4453-8430, Юдин С. М. — д.м.н., профессор, генеральный директор, ORCID: 0000-0002-7942-8004, Яфарова А. А. — м.н.с. лаборатории по изучению кишечной микробиоты человека отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения, ORCID: 0000-0003-3002-1067, Корецкий С. Н. — к.м.н., с.н.с. отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения, ORCID: 0000-0001-6009-5775, Покровская М. С. — к.б.н., руководитель лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0001-6985-7131, Макаров В. В. — к.б.н., начальник отдела анализа и прогнозирования медико-биологических рисков здоровью, ORCID: 0000-0001-9495-0266, Краевой С. А. — д.м.н., первый заместитель генерального директора, ORCID: 0000-0003-1775-9235, Шойбонов Б. Б. — к.х.н., в.н.с. отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения, ORCID: 0000-0001-7061-6706, Ефимова И. А. — лаборант исследователь лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0002-3081-8415, Серебрянская З. З. — лаборант исследователь лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0002-8691-1395].

The relationship between gut microbiota, chronic systemic inflammation, and endotoxemia in patients with heart failure with preserved ejection fraction

Kaburova A. N.¹, Drapkina O. M.¹, Yudin S. M.², Yafarova A. A.¹, Koretsky S. N.¹, Pokrovskaya M. S.¹, Makarov V. V.², Kraevoy S. A.², Shoibonov B. B.¹, Efimova I. A.¹, Serebryanskaya Z. Z.¹

¹National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow; ²Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the FMBA. Moscow, Russia

Aim. To study the relationship between the abundance of the genera in the gut microbiota (GM) and levels of serum biomarkers of chronic systemic inflammation and endotoxemia in patients with HFpEF.

Material and methods. The composition of GM among 42 patients with HFpEF (men, 57,1%) was assessed by 16S rRNA sequencing. The median age was 67,0 years, interquartile range [64,0; 71,5] years. Correlation and multivariate regression analysis (with adjustments for sex and age) of relationships between the relative abundance of intestinal bacteria and the concentrations of serum biomarkers including high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), interleukins (IL) 1 β and 6, the soluble suppressor of tumorigenicity (sST2), and the level of lipopolysaccharide (LPS) was carried out.

Results. According to multivariate regression analysis, the relative abundance of *Haemophilus* was directly related to the concentration of IL-1 β (odds ratio (OR) 32,37, 95% confidence interval (CI) 2,07-1237,69, $p=0,025$), *Coriobacteriaceae* (unclassified) — with IL-6 (OR 6,27, (1,42-36,74), $p=0,024$), *Porphyromonadaceae* (unclassified) — with sST2 (OR 5,96, (1,33-34,39), $p=0,028$), and the relative abundance of the genera *Pseudomonas* (OR 7,09, (1,45-42,39), $p=0,020$), *Parasutterella* (OR 4,55, (1,07-22,76), $p=0,047$) and *Clostridiaceae* (unclassified) (OR 4,85, (1,06-24,7), $p=0,045$) was directly associated with LPS levels.

Conclusion. In patients with HFpEF, the relative abundance of some GM genera (e.g., *Haemophilus*, *Coriobacteriaceae* (unclassified), *Porphyromonadaceae* (unclassified), *Pseudomonas*, *Parasutterella*, *Clostridiaceae* (unclassified)) is statistically significantly associated with the concentration of biomarkers of chronic systemic inflammation and endotoxemia.

Keywords: heart failure with preserved ejection fraction, chronic systemic inflammation, gut microbiota, endotoxemia.

Relationships and Activities. The work was carried out within the framework of an agreement between the Federal State Budgetary Institution "National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine" of the Ministry of Health of the Russian Federation and the Federal State Budgetary Institution "Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks" of the Federal Medical and Biological Agency.

Kaburova A. N.* ORCID: 0000-0001-7717-1455, Drapkina O. M. ORCID: 0000-0002-4453-8430, Yudin S. M. ORCID: 0000-0002-7942-8004, Yafarova A. A. ORCID: 0000-0003-3002-1067, Koretsky S. N. ORCID: 0000-0001-6009-5775, Pokrovskaya M. S. ORCID: 0000-0001-6985-7131, Makarov V. V. ORCID: 0000-0001-9495-0266, Kraevoy S. A. ORCID: 0000-0003-1775-9235, Shoibonov B. B. ORCID: 0000-0001-7061-6706, Efimova I. A. ORCID: 0000-0002-3081-8415, Serebryanskaya Z. Z. ORCID: 0000-0002-8691-1395.

*Corresponding author: anastasiakaburova@mail.ru

Received: 08/06-2022

Revision Received: 20/06-2022

Accepted: 12/09-2022

For citation: Kaburova A. N., Drapkina O. M., Yudin S. M., Yafarova A. A., Koretsky S. N., Pokrovskaya M. S., Makarov V. V., Kraevoy S. A., Shoibonov B. B., Efimova I. A., Serebryanskaya Z. Z. The relationship between gut microbiota, chronic systemic inflammation, and endotoxemia in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(9):3315. (In Russ.) doi:10.15829/1728-8800-2022-3315. EDN SOFRXO

ДИ — доверительный интервал, vCRP — высокочувствительный С-реактивный белок, КМ — кишечная микробиота, КЦЖК — короткоцепочечная жирная кислота, ЛЖ — левый желудочек, ЛПС — липополисахарид, Ме — медиана, ОШ — отношение шансов, рРНК — рибосомальная рибонуклеиновая кислота, ФВ — фракция выброса, ФК — функциональный класс, ФП — фибрилляция предсердий, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ХСНсФВ — ХСН с сохраненной фракцией выброса, ЭхоКГ — эхокардиография, ИЛ — интерлейкин, NT-proBNP — N-концевой фрагмент предшественника мозгового натрийуретического пептида, sST2 — растворимый супрессор опухоленности 2.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Хроническое системное вялотекущее воспаление играет важную роль в патогенезе хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка (ХСНсФВ). Кишечная микробиота рассматривается в качестве одного из факторов, вносящих вклад в поддержание хронического системного вялотекущего воспаления при ХСНсФВ.

Что добавляют результаты исследования?

- Впервые выявлена статистически значимая ассоциация между относительной представленностью некоторых родов кишечной микробиоты и уровнем ряда биомаркеров системного воспаления и эндотоксемии у пациентов с ХСНсФВ.

Key messages

What is already known about the subject?

- Chronic systemic low-grade inflammatory state plays a crucial role in the pathogenesis of heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF). The gut microbiota (GM) is considered as one of the factors with a significant impact on the chronic systemic low-grade inflammation in HFpEF.

What might the study results add?

- For the first time, a significant association between the relative abundance of some GM genera and the levels of several biomarkers of systemic inflammation and endotoxemia among patients with HFpEF was found.

Введение

По данным исследования ЭПОХА-Госпиталь-ХСН (ЭПОХА — ЭПидемиологическое Обследование больных в Европейской части России), распространенность хронической сердечной недостаточности (ХСН) в европейской части России составляет 7,0% [1]. Другие отечественные исследования позволили заключить об увеличении числа пациентов с ХСН в РФ с 1998 по 2014гг [2].

Данные одномоментного госпитального исследования ЭПОХА-О-ХСН (ЭПидемиологическое Обследование больных ХСН в реальной практике (по Обращаемости)) продемонстрировали, что ХСН с сохраненной фракцией выброса (ФВ) (ХСНсФВ) левого желудочка (ЛЖ) была диагностирована у 56,8% пациентов с симптомами сердечной недостаточности [3]. Современная парадигма развития ХСНсФВ основана на том, что ожирение, сахарный диабет, хроническая обструктивная болезнь легких, артериальная гипертензия вызывают системное вялотекущее воспаление, провоцирующее воспаление эндотелия коронарных микрососудов, что снижает биодоступность оксида азота, содержание циклического гуанозинмонофосфата и активность протеинкиназы G кардиомиоцитов. Низкая активность последней способствует развитию гипертрофии миокарда и увеличивает ригидность кардиомиоцитов. Эти процессы и прогрессирующий интерстициальный фиброз способствуют росту ригидности миокарда и развитию ХСНсФВ. Таким образом, системное вялотекущее воспаление является одним из важнейших пусковых механизмов развития ХСНсФВ [4]. Эти данные подтверждают прямую связь между медиаторами воспаления и дисфункцией ЛЖ, а также их ролью в прогнозировании долгосрочных неблагоприятных исходов у данной группы больных [5, 6]. Описание пациентов с ХСНсФВ в программе BIOSTAT-CHF (The BIOlogy Study to Tailored Treatment in Chronic Heart Failure) продемонстрировало, что воспаление и реорганизация экстрацеллюлярного матрикса более характерна для лиц с ХСНсФВ в сравнении с группой с низкой ФВ ЛЖ [7].

Принимая во внимание многоликость патогенеза ХСНсФВ и отсутствие лечения с доказанным влиянием на прогноз, перспективным представляется раскрытие новых механизмов ее развития. Последнее десятилетие характеризовалось впечатляющими научными данными о роли кишечной микробиоты (КМ) в развитии ХСН, в частности с низкой ФВ ЛЖ. В исследованиях Арутюнова Г. П. и др. (2005-2007гг) были продемонстрированы изменения качественных и количественных показателей микрофлоры толстого кишечника в зависимости от функционального класса (ФК) ХСН [8-10]. Одно из ключевых значений в новейшей теории развития ХСН имеет липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий, который отражает состояние эндотоксемии, способствует экс-

прессии ряда воспалительных молекул [11] и нарушению барьерной функции кишечника [12]. На фоне застоя жидкости, характерного для СН, происходит утолщение стенок кишечника, состав КМ меняется в неблагоприятную сторону. Впоследствии развивается гипоксия ворсинок с повреждением энтероцитов и нарушением барьерной функции, транслокацией бактерий и ростом концентрации ЛПС в крови и индукцией синтеза широкого спектра воспалительных молекул через взаимодействие ЛПС с Toll-подобными рецепторами 4 типа [13].

Состав КМ и его связь с патогенетическими механизмами в изолированной группе пациентов с ХСНсФВ к настоящему времени остаются малоизученными. В связи с этим целью настоящей работы стало изучение связи представителей КМ с биомаркерами хронического системного воспаления и эндотоксемии в группе пациентов с ХСНсФВ.

Материал и методы

В исследование были включены 42 пациента в возрасте 18-79 лет с диагностированной ХСНсФВ. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр профилактической медицины" Минздрава России от 07.06.2018. В основе подтверждения ХСНсФВ было наличие у больных характерных жалоб и клинических симптомов, значение ФВ ЛЖ $\geq 50\%$, отношение трансмитрального Е пика (максимальной скорости трансмитрального кровотока в фазу раннего диастолического наполнения) к тканевому миокардиальному доплеровскому e' (максимальной скорости движения септальной части фиброзного кольца в раннюю диастолу) ≥ 13 в ходе тканевой доплерографии, а также уровень N-концевого фрагмента предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) >125 пг/мл. При наличии следующих критериев пациенты не включались в исследование: возраст <18 лет и ≥ 80 лет, индекс массы тела ≥ 35 кг/м², сахарный диабет, курение или отказ от курения ≤ 10 лет назад, хроническая обструктивная болезнь легких средней, тяжелой и крайне тяжелой степени, бронхиальная астма тяжелой и среднетяжелой степени по данным анамнеза, скорость клубочковой фильтрации <30 мл/мин/1,73 м² по формуле СКД-ЕРІ, кардиомиопатии, радиационное или лекарственное поражение сердца, констриктивный перикардит, признаки нарушения локальной сократимости миокарда при эхокардиографии (ЭхоКГ), постоянная форма фибрилляции предсердий (ФП), системные заболевания соединительной ткани, онкологические заболевания без стойкой ремиссии, перенесенные острые инфекционные заболевания или обострение хронических в течение 2-х нед. до забора биоматериала, беременность и период лактации, воспалительные заболевания кишечника, прием антимикробных или пробиотических препаратов в течение последних 3-х мес. Всем пациентам проводилась электрокардиография в 12 отведениях (для оценки сердечного ритма и признаков перенесенного инфаркта миокарда), трансторакальная ЭхоКГ с доплерографией (для исключения рубцового поражения миокарда, оценки структуры, гемодинамических параметров сердца и диастолической дисфункции). Оценка функции диастолы ЛЖ основывалась на измерении показателей пика Е и e' .

Таблица 1

Основные характеристики пациентов с ХСНсФВ (n=42)

Показатель	ХСНсФВ
Возраст, лет, Ме [Q25; Q75]	67,0 [64,0; 71,5]
Мужской пол, n (%)	24 (57,1%)
Индекс массы тела, кг/м ² , Ме [Q25; Q75]	30,2 [26,7; 33,3]
Наследственная предрасположенность к ССЗ, n (%)	39 (92,9%)
ФК по классификации NYHA, n (%)	
I	29 (69,0%)
II	13 (31,0%)
ШОКС пациента с ХСН, баллы, Ме [Q25; Q75]	3,0 [2,0; 3,0]
Тест с 6-минутной ходьбой, м, Ме [Q25; Q75]	434,5 [417,0; 441,0]
Артериальная гипертензия, n (%)	42 (100,0%)
ФП в анамнезе, n (%)	20 (47,6%)
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	0
Чрескожное коронарное вмешательство в анамнезе, n (%)	0
Радиочастотная или криобаллонная абляция ФП, n (%)	9 (21,4%)
Систолическое артериальное давление, мм рт.ст., Ме [Q25; Q75]	145,0 [130,0; 150,0]
Диастолическое артериальное давление, мм рт.ст., Ме [Q25; Q75]	90,0 [80,0; 90,0]
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин/1,73 м ² , Ме [Q25; Q75]	75,2 [68,1; 87,6]
ФВ ЛЖ, %, Ме [Q25; Q75]	63,0 [59,0; 65,8]
Индекс массы миокарда ЛЖ, г/м ² , Ме [Q25; Q75]	116,0 [105,0; 128,0]
Индекс объема левого предсердия, мл/м ² , Ме [Q25; Q75]	37,5 [34,0; 45,0]
E, см/с, Ме [Q25; Q75]	78,0 [66,2; 84,8]
e' септальный, см/с, Ме [Q25; Q75]	6,0 [5,0; 6,0]
E/e', Ме [Q25; Q75]	13,0 [13,0; 14,0]
NT-proBNP, пг/мл, Ме [Q25; Q75]	178,0 [136,0; 295,0]

Примечание: ЛЖ — левый желудочек, ФВ — фракция выброса, ФК — функциональный класс, ФП — фибрилляция предсердий, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ХСНсФВ — ХСН с сохраненной фракцией выброса, NYHA — New-York Heart Association (Нью-Йоркская ассоциация сердца), ШОКС — шкала оценки клинического состояния, E — максимальная скорость трансмитрального кровотока в фазу раннего диастолического наполнения, e' септальный — максимальная скорость движения септальной части фиброзного кольца в раннюю диастолу, NT-proBNP — N-концевой фрагмент предшественника мозгового натрийуретического пептида.

Кроме того, была выполнена оценка теста с 6-минутной ходьбой по стандартной методике [14] и тяжести состояния пациента с ХСН согласно ШОКС (Шкале оценки клинического состояния) [15].

Забор крови для определения концентрации NT-proBNP, биомаркеров хронического системного воспаления: высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ), интерлейкинов (ИЛ) 1β и 6, растворимого супрессора туморогенности и биомаркера эндотоксемии ЛПС осуществлялся из кубитальной вены утром натощак. Концентрация NT-proBNP и вчСРБ оценивалась методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением фотометра Multiscan FC (ThermoFisher Scientific, США) и реактивов Вектор-Бест (Россия). Уровень биомаркеров хронического системного вялотекущего воспаления измеряли методом ИФА на анализаторе "Multiskan-MS" Thermo LabSystems (Финляндия) и реактивов Cloud-Clone Corp. и Critical Diagnostics (США). Концентрация ЛПС определялась хромогенным методом с помощью наборов NucltBiotech (Голландия) (LAL-тест).

Сбор образцов кала осуществлялся в стерильные одноразовые контейнеры. За 24 ч до сбора кала испытуемым следовало отказаться от алкоголя, интенсивных физических нагрузок и изменений в питании. За 2 нед. до сбора кала пациентам необходимо было прекратить использование слабительных и ректальных свечей. После дефекации контейнер с калом герметично упаковывался и в течение

не более 2-х ч транспортировался до лаборатории в холодильной камере при температуре до +8° С. Далее осуществлялась пробоподготовка, выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты и подготовка библиотек секвенирования. С целью пробоподготовки применяли метод селективного захвата регионов V3-V4 гена 16S рибосомальной рибонуклеиновой кислоты (рРНК) бактерий. Амплификация фрагментов варибельных регионов V3-V4 гена 16S рРНК осуществлялась с использованием универсальных праймеров. Анализ V3-V4 региона 16S рРНК КМ проводился на секвенаторе Illumina MiSeq методом парно-концевого чтения с суммарным покрытием не <10000 пар ридов на образец. Для фильтрации ридов и таксономической классификации микроорганизмов использовали программный комплекс QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology). В результате классификации обозначилось число ридов, пришедших на операционные таксономические единицы. Метод секвенирования является неколичественным, позволяет проанализировать структуру КМ, а именно наиболее широко представленные ее компоненты, что может быть использовано для анализа ассоциаций с изучаемыми параметрами. Результаты секвенирования 16S рРНК КМ представляются в виде таблицы, в которой указываются таксоны различного уровня (тип, класс, порядок, семейство и т.п.) и относительная представленность (в %) таксонов в образце.

Таблица 2

Корреляционные связи между относительной представленностью родов КМ и уровнем биомаркеров системного воспаления и эндотоксемии

Биомаркер	Род	Размер эффекта	p
вчСРБ	<i>Christensenellaceae</i> (неклассифицированный)	-0,33	0,031
	<i>Paraprevotella</i>	0,32	0,036
	<i>Ruminococcaceae</i> (неклассифицированный)	-0,31	0,049
ИЛ-1 β	<i>Succinivibrio</i>	0,52	<0,001
	<i>Holdemania</i>	0,38	0,013
	<i>Senegalemassilia</i>	0,37	0,016
	<i>Haemophilus</i>	0,37	0,017
	<i>Faecalibacterium</i>	-0,36	0,018
ИЛ-6	<i>Alistipes</i>	-0,33	0,034
sST2	<i>Barnesiella</i>	-0,35	0,022
	<i>Howardella</i>	0,35	0,024
	<i>Akkermansia</i>	-0,32	0,040
	<i>Collinsella</i>	-0,31	0,045
ЛПС	<i>Rothia</i>	0,38	0,012
	<i>Actinomyces</i>	0,38	0,012
	<i>Clostridiaceae</i> (неклассифицированный)	0,37	0,014
	<i>Eubacterium</i>	0,34	0,026
	<i>Faecalibacterium</i>	0,32	0,038
	<i>Pseudomonas</i>	0,32	0,038
	<i>Peptococcus</i>	0,31	0,043
	<i>Granulicatella</i>	0,31	0,044

Примечание: вчСРБ — высокочувствительный С-реактивный белок, ИЛ — интерлейкин, ЛПС — липополисахарид, sST2 — растворимый супрессор туморогенности 2.

Статистическая обработка проведена с помощью среды анализа данных R 3.5.1. Для количественных показателей с распределением, отличным от нормального, данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха [Q25; Q75], для качественных признаков приведены абсолютное количество и их доля (%). Для оценки ассоциации показателей микробиоты и биомаркеров использована корреляция Спирмена. Учёт ковариат при оценке ассоциации показателей микробиоты и биомаркеров сделан при помощи модели логистической регрессии. Показатели КМ и биомаркеры были дискретизированы относительно выборочной медианы. Дискретизированные показатели КМ использованы как фиктивные переменные, дискретизированные биомаркеры — как целевые переменные. В качестве ковариат включены пол и возраст. Для переменных в моделях линейных и логистических регрессий приведены, соответственно, оценки β -коэффициентов и отношений шансов (ОШ) с соответствующими 95% доверительными интервалами (ДИ). Уровень значимости принят <0,05.

Результаты

Основные характеристики пациентов с ХСНсФВ представлены в таблице 1. У всех 42 (100%) больных была одышка при физической нагрузке, 15 (35,7%) человек имели пастозность или отеки нижних конечностей, а перебои в работе сердца наблюдались у 16 (38,1%) пациентов. Среди наиболее часто принимаемых препаратов были: β -адреноблокаторы — 38 (90,5%) пациентов, диуретики — 35 (83,3%), стати-

ны — 23 (54,7%), антагонисты рецепторов ангиотензина II — 18 (42,8%), ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента — 22 (52,4%) и антикоагулянты — 17 (40,5%).

Секвенирование 16S рРНК позволило установить наиболее широко представленные в выборке пациентов типы бактерий, которыми оказались: *Firmicutes* (Me [Q25; Q75]: 49,1 [31,9; 61,9]%), *Bacteroidetes* (48,1 [33,5; 62,6]%) и *Proteobacteria* (1,5 [0,5; 2,5]%). Содержание в крови биомаркеров хронического системного вялотекущего воспаления у больных ХСНсФВ составило 2,1 [1,3; 4,2] МЕ/л для вчСРБ, 45,5 [29,1; 62,5] нг/мл для sST2, в то время как значения ИЛ-1 β и ИЛ-6 были на уровне 0,0 [0,0; 0,0] (19,0% пациентов имели уровень ИЛ-1 β >0) и 10,8 [0,0; 25,4] пг/мл, соответственно. Концентрация биомаркера эндотоксемии ЛПС составила 0,0 [0,0; 4,8] мМЕ/мл.

Корреляционный анализ (таблица 2) выявил, что представленность *Christensenellaceae* (неклассифицированный) и *Ruminococcaceae* (неклассифицированный) обратно ассоциирована с уровнем вчСРБ, в то время как прямой характер связи наблюдается для рода *Paraprevotella*. Высокая представленность родов *Succinivibrio*, *Holdemania*, *Senegalemassilia*, *Haemophilus* и низкая представленность бактерий рода *Faecalibacterium* была связана с увеличением концентрации ИЛ-1 β . С уровнем ИЛ-6 оказалась обратно связана

Таблица 3

Данные однофакторного и многофакторного регрессионного анализа связи родов КМ и биомаркеров системного воспаления, эндотоксемии при ХСНсФВ

Род	Однофакторный анализ ОШ (95% ДИ)	p	Многофакторный анализ (с поправкой на пол, возраст) ОШ (95% ДИ)	p
вчСРБ				
<i>Bifidobacterium</i>	0,26 (0,06-1,06)	0,063	0,25 (0,06-0,88)	0,036
<i>Clostridium</i>	0,26 (0,06-1,06)	0,063	0,21 (0,05-0,77)	0,024
<i>Oscillospira</i>	3,86 (0,94-17,57)	0,063	4,03 (1,14-15,72)	0,036
<i>Phascolarctobacterium</i>	0,26 (0,06-1,06)	0,063	0,24 (0,06-0,85)	0,033
ИЛ-1β				
<i>Haemophilus</i>	8,82 (0,81-131,26)	0,040	32,37 (2,07-1237,69)	0,025
<i>Bacteroides</i>	10,07 (0,46-664,15)	0,088	22,14 (1,39-947,83)	0,045
ИЛ-6				
<i>Coriobacteriaceae</i> (неклассифицированный)	5,23 (1,04-36,12)	0,043	6,27 (1,42-36,74)	0,024
<i>Fusicatenibacter</i>	3,86 (0,94-17,57)	0,063	4,16 (1,14-16,98)	0,036
<i>Oscillospira</i>	0,26 (0,06-1,06)	0,063	0,25 (0,06-0,88)	0,036
<i>Victivallis</i>	4,34 (0,85-30,09)	0,085	5,35 (1,17-32,14)	0,042
<i>Sutterellaceae</i> (неклассифицированный)	3,86 (0,94-17,57)	0,063	4,12 (1,17-16,04)	0,032
<i>Enterobacteriaceae</i> (неклассифицированный)	0,26 (0,06-1,06)	0,063	0,17 (0,03-0,71)	0,022
<i>Akkermansia</i>	3,86 (0,94-17,57)	0,063	4,34 (1,21-17,6)	0,030
sST2				
<i>Porphyromonadaceae</i> (неклассифицированный)	5,23 (1,04-36,12)	0,043	5,96 (1,33-34,39)	0,028
<i>Dorea</i>	3,86 (0,94-17,57)	0,063	6,2 (1,53-32,85)	0,017
<i>Ruminococcus</i>	3,86 (0,94-17,57)	0,063	4,16 (1,14-16,98)	0,036
<i>Mogibacteriaceae</i> (неклассифицированный)	3,86 (0,94-17,57)	0,063	4,82 (1,28-21,49)	0,026
ЛПС				
<i>Bacteroides</i>	0,23 (0,03-1,17)	0,085	0,21 (0,04-0,89)	0,046
<i>Clostridium</i>	4,34 (0,85-30,09)	0,085	6,25 (1,36-38,44)	0,028
<i>Clostridiaceae</i> (неклассифицированный)	4,77 (0,89-28,24)	0,049	4,85 (1,06-24,7)	0,045
<i>Faecalibacterium</i>	4,34 (0,85-30,09)	0,085	5,54 (1,25-32,47)	0,035
<i>Papillibacter</i>	4,41 (0,89-24,31)	0,067	5,78 (1,31-29,95)	0,025
<i>Parasutterella</i>	4,48 (0,92-26,01)	0,041	4,55 (1,07-22,76)	0,047
<i>Pseudomonas</i>	6,14 (1,08-40,57)	0,020	7,09 (1,45-42,39)	0,020

Примечание: вчСРБ — высокочувствительный С-реактивный белок, ДИ — доверительный интервал, ИЛ — интерлейкин, ЛПС — липополисахарид, ОШ — отношение шансов, sST2 — растворимый супрессор опухоленности 2.

представленность только рода *Alistipes*. Относительное обилие представителей родов *Barnesiella*, *Akkermansia* и *Collinsella* было обратно и статистически значимо связано с повышением уровня sST2. Наряду с этим высокая представленность рода *Howardella* ассоциировалась со ростом уровня sST2. Следующие роды бактерий имели статистически значимый прямой характер корреляционной связи с концентрацией биомаркера эндотоксемии ЛПС: *Rothia*, *Actinomyces*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Pseudomonas*, *Peptococcus*, а также *Clostridiaceae* (неклассифицированный).

В ходе одно- и многофакторного (с поправкой на пол и возраст) регрессионного анализа был получен

широкий круг статистически значимых ассоциаций (таблица 3). В частности, среди родов, представленность которых оказалась достоверно ассоциирована с биомаркерами по результатам как одно-, так и многофакторного анализа, был род *Haemophilus*, имевший прямую связь с уровнем ИЛ-1 β . Было выявлено, что рост представленности *Coriobacteriaceae* (неклассифицированный) при ХСНсФВ статистически значимо связан с ростом концентрации ИЛ-6 как в ходе однофакторного (ОШ: 5,23, 95% ДИ: (1,04-36,12), p=0,043), так и многофакторного регрессионного анализа (ОШ: 6,27, (1,42-36,74), p=0,024). Была обнаружена прямая ассоциация между представлен-

ностью *Porphyromonadaceae* (неклассифицированный) и уровнем sST2 по данным однофакторного (ОШ: 5,23 (1,04-36,12), $p=0,043$) и многофакторного анализа (ОШ: 5,96, (1,33-34,39), $p=0,028$). По результатам одно- и многофакторного регрессионного анализа было показано, что относительное обилие родов *Pseudomonas*, *Parasutterella* и *Clostridiaceae* (неклассифицированный) было прямо ассоциировано с уровнем ЛПС, отражающим выраженность эндотоксемии.

По результатам многофакторного анализа были выявлены разнонаправленные тренды: снижение относительной представленности рода *Clostridium* у пациентов с ХСНсФВ было ассоциировано с ростом концентрации вЧСРБ (ОШ: 0,21, 95% ДИ: (0,05-0,77), $p=0,024$) и одновременным снижением уровня эндотоксемии ЛПС (ОШ: 6,25, (1,36-38,44), $p=0,028$). Разнонаправленная тенденция была выявлена для рода *Oscillospira*: по данным многофакторного регрессионного анализа, относительное обилие данного рода было прямо связано с концентрацией вЧСРБ (ОШ: 4,03, (1,14-15,72), $p=0,036$) и обратно с уровнем ИЛ-6 (ОШ: 0,25, (0,06-0,88), $p=0,036$). В ходе многофакторного анализа была выявлена обратная связь между представленностью родов *Bifidobacterium*, *Phascolarctobacterium* и концентрацией вЧСРБ. Среди родов, представленность которых оказалась достоверно ассоциирована с показателем эндотоксемии (ЛПС) по результатам многофакторного анализа, был род *Faecalibacterium*, имевший прямую связь с уровнем данного биомаркера (ОШ: 5,54, (1,25-32,47), $p=0,035$). Относительно высокая представленность рода *Bacteroides* была прямо связана с концентрацией ЛПС по результатам многофакторного анализа (ОШ: 0,21, (0,04-0,89), $p=0,046$) и обратно связана с уровнем ИЛ-1 β (ОШ: 22,14, (1,39-947,83), $p=0,045$). Относительно низкое содержание представителей родов *Dorea* и *Ruminococcus* имело прямую ассоциацию со снижением sST2 по результатам многофакторного регрессионного анализа.

Обсуждение

В настоящем исследовании впервые в российской когорте оценивалась взаимосвязь между составом КМ с помощью секвенирования 16S РНК и концентрацией ряда биомаркеров хронического системного воспаления и эндотоксемии у пациентов с ХСНсФВ. Получены статистически значимые ассоциации между представленностью родов бактерий и уровнем биомаркеров хронического системного воспаления. Обратный характер корреляционной связи между представленностью родов *Akkermansia*, *Barnesiella*, *Christensenellaceae* (неклассифицированный) и *Ruminococcaceae* (неклассифицированный) и уровнем провоспалительных биомаркеров при ХСНсФВ может быть объяснен наличием у данных родов способности синтезировать короткоцепочечную жирную кислоту (КЦЖК) — ацетат [16], обла-

дающую противовоспалительным эффектом. В работе Xu M, et al. (2019) было показано, что противовоспалительное действие ацетата реализуется через down-регуляцию NOD-подобных рецепторов белка-3 инфламмасом (NLRP-3-инфламмасом), что предотвращает дальнейший запуск воспалительного каскада [17]. Практически у половины пациентов ХСНсФВ была верифицирована ФП, патогенез которой тесно связан с активацией NLRP-3-инфламмасом, запуском воспаления и последующим развитием фиброза в тканях предсердий [18].

В работе Дроновой Т.А. и др. (2008) [19], целью которой было изучение компонентов микробиоценоза толстого кишечника и оценка уровня провоспалительных ИЛ у пациентов с артериальной гипертензией и ХСНсФВ на фоне комбинированной антигипертензивной терапии в динамике, было отмечено повышенное содержание бактерий рода *Streptococcus* в микрофлоре фекалий. Стоит упомянуть, что количественное и качественное исследование микрофлоры фекалий проводилось с помощью посева кала на селективные питательные среды с дальнейшей идентификацией выделенных культур. Проведенное 2-нед. лечение, включавшее различные комбинации антигипертензивных препаратов, привело к достоверному снижению уровня ИЛ-6 и фактора некроза опухоли альфа, но существенно не повлияло на показатели микробного состава кала. Отсутствие изменений может быть объяснено краткосрочным периодом наблюдения, недостаточным для развития выраженного эффекта на кишечную стенку и КМ.

Бактерии рода *Faecalibacterium*, обильно представленные в составе КМ, являются ключевыми продуцентами бутирата, который также оказывает защитный эффект на проницаемость кишечного барьера [20]. Согласно данным корреляционного анализа, у пациентов с ХСНсФВ уменьшение относительной представленности бактерий рода *Faecalibacterium* было связано с повышением концентрации ИЛ-1 β , что также может быть опосредовано снижением продукции бутирата. В то же время, относительная представленность рода *Faecalibacterium*, согласно данным корреляционного анализа, оказалась прямо связана с уровнем ЛПС, отражающим степень эндотоксемии, что является неожиданной находкой, учитывая, что данный род относится к грамположительным бактериям, в структуре которых ЛПС отсутствует. Интересно, что в двух проведенных ранее исследованиях была выявлена корреляция между снижением относительной представленности рода *Faecalibacterium* и повышением уровня вЧСРБ у пациентов с ожирением [21, 22], чего не было обнаружено в настоящей работе.

Особого внимания заслуживают роды, представленность которых была достоверно ассоциирована с биомаркерами хронического системного воспаления в ходе многофакторного (с поправкой на пол и возраст) регрессионного анализа. Так, нами

впервые была обнаружена прямая ассоциация между представленностью *Porphyromonadaceae* (неклассифицированный) и уровнем биомаркера sST2, принадлежащего к семейству рецепторов ИЛ-1 и отражающего "механический" миокардиальный стресс (фиброз, гипертрофию, ремоделирование сердца) [23]. Однако в недавнем исследовании, проведенном на итальянской когорте, было продемонстрировано, что кластер КМ с относительно высоким содержанием родов *Porphyromonadaceae* и *Christensenellaceae* был характерен для пациентов с меньшим содержанием висцеральной жировой ткани и более благоприятным кардиометаболическим профилем, что может быть объяснено способностью данных родов синтезировать КЦЖК [24]. Также в ходе многофакторного анализа была выявлена обратная связь между представленностью родов *Bifidobacterium*, *Phascolarctobacterium* — продуцентов КЦЖК — и концентрацией вчСРБ. Интересно, что в работе Luo D, et al. (2019) было показано, что относительное снижение родов *Bacteroides* и *Phascolarctobacterium* ассоциировано с повышенной сердечно-сосудистой смертностью среди пациентов с терминальной почечной недостаточностью [25].

Согласно результатам одно- и многофакторного регрессионного анализа, относительное обилие родов *Parasutterella* напрямую ассоциировано с показателем эндотоксемии ЛПС, а для рода *Oscillospira*, одного из продуцентов КЦЖК бутирата, была выявлена разнонаправленная динамика: относительно низкое обилие представителей данного рода было напрямую связано со снижением концентрации вчСРБ и параллельным повышением уровня ИЛ-6. Ранее в контексте ХСН данные роды бактерий рассматривались лишь в доклинических исследованиях [26], где у крыс со спонтанной артериальной гипертензией и ХСН было выявлено повышение относительной представленности родов *Paraprevotella*, *Oscillospira*, *Faecalibacterium*, *Phascolarctobacterium*, *Parasutterella* и других в составе КМ. Ранее в ряде исследований была продемонстрирована взаимосвязь между относительной представленностью рода *Oscillospira* и уменьшением содержания висцерального жира. По данным Yang J, et al. (2021) [27], род *Oscillospira* проявляет прямые и косвенные положительные эффекты на хроническое воспаление и может служить одним из кандидатов для разработки пробиотиков нового поколения наряду с *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila* и *Eubacterium hallii*.

Среди родов, представленность которых оказалась достоверно ассоциирована с биомаркерами по результатам как одно-, так и многофакторного анализа, был род *Pseudomonas*, имевший прямую связь с уровнем показателя эндотоксемии ЛПС у пациентов с ХСНсФВ. Ранее в работе Егоровой Е. Н. и др. (2012) [28] было продемонстрировано, что повышение содержания условно-патогенной микрофлоры (гемолитические *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*,

Enterobacter sp., *Proteus sp.*, *Citrobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*) при прогрессировании ХСН сопровождалось нарастанием в крови уровня ЛПС и маркеров системного воспаления, однако выявление взаимосвязей между представленностью каждого рода и уровнями провоспалительных маркеров и эндотоксинемии не входило в задачи исследования.

Известно, что дисбаланс состава КМ со снижением комменсалов, синтезирующих антимикробные пептиды (бактериоцины), КЦЖК, и конкурирующих с потенциально патогенными микроорганизмами [29, 30], приводит к тому, что *Pseudomonas*, *Escherichia coli* или представители *Staphylococcus* замещают протективные микроорганизмы, реализуют факторы патогенности и становятся триггерами локального и хронического системного воспаления [31-33]. Дополнительно снижение концентрации КЦЖК способствует ЛПС-индуцированной продукции воспалительных медиаторов, миграции макрофагов и массовому высвобождению оксида азота (NO) нейтрофилами, что выражается в дестабилизации кишечного барьера [34]. Колонизация кишечника мышей *Pseudomonas aeruginosa* приводила к активации апоптоза энтероцитов и секреции провоспалительных цитокинов в кишечнике и мезентериальных лимфатических узлах. Кроме того, выявлялись признаки системного цитокинового ответа с увеличением концентрации фактора некроза опухоли- α и интерферона- γ в селезенке, отмечалось подавление локальной и системной продукции противовоспалительного ИЛ-10 [35]. Таким образом, открытие прямой связи этого рода с уровнем ЛПС является важной находкой для установления роли *Pseudomonas* в ассоциированной с КМ эндотоксемией.

Отдельного внимания заслуживает систематический обзор, целью которого было проанализировать взаимосвязь между вялотекущим воспалением и составом КМ у лиц с атеросклеротическими сердечно-сосудистыми заболеваниями. Его результаты показали, что представленность родов *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Ruminococcus* и *Prevotella* была обратно связана с уровнями биомаркеров хронического системного воспаления (вчСРБ и ИЛ-6), что, в целом, согласуется с нашими данными [36].

Необходимо упомянуть и результаты исследования GUMPTON (Gut Microbiota in Heart Failure Patients With Preserved Ejection Fraction), целью которого было изучить особенности состава КМ у пациентов с ХСНсФВ по сравнению с контрольной группой. Согласно данным, представленность родов *Butyricoccus*, *Sutterella*, *Lachnospira*, *Ruminiclostridium* в группе ХСНсФВ была ниже по сравнению с контрольной группой, а содержание родов *Enterococcus* и *Lactobacillus* — выше. Один из выводов этого исследования заключался в том, что при ХСНсФВ увеличивалась представленность родов, ассоциированных с воспалением, и снижалось содержание таковых, по-

тенциально обладающих противовоспалительными свойствами, однако детального изучения взаимосвязи между биомаркерами хронического системного воспаления и представителями микробиоты кишечника в рамках данной работы не проводилось [37]. Отечественная работа, посвященная изучению системного воспаления при ХСН III-IV ФК [38], определяла представителей КМ косвенным методом на основании данных масс-спектрометрии микробных маркеров. Результаты показали, что у пациентов с ХСН уровень ИЛ-6 был прямо ассоциирован с численностью *Eubacterium* и обратно с *Ruminococcus* и *Streptomyces farmatensis*, а уровень последних отрицательно коррелировал с концентрацией С-реактивного белка.

Заключение

Относительная представленность ряда родов КМ, таких как *Haemophilus*, *Pseudomonas*, *Parasutterella*, а также неклассифицированных родов семейств *Clostridiaceae*, *Coriobacteriaceae*, *Porphyromonadaceae* у пациентов с ХСНсФВ статистически

значимо ассоциирована с повышением уровня биомаркеров хронического системного воспаления и эндотоксемии. Полученные в настоящей работе результаты дополняют уже имеющиеся на сегодняшний день данные и указывают на необходимость дальнейшего изучения сложных закономерностей взаимоотношений между микробиотой кишечника и механизмами развития ХСНсФВ. Результаты работы расширяют представления о роли КМ в патогенезе хронического системного воспаления в рамках ХСНсФВ и могут быть полезными в дальнейшей разработке новых методов коррекции этого синдрома.

Отношения и деятельность. Работа была проведена в рамках договора между ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России и ФГБУ "Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровья" Федерального медико-биологического агентства.

Литература/References

1. Polyakov DS, Fomin IV, Valikulova FY, et al. The EPOCH-CHF epidemiological program: decompensated chronic heart failure in real-life clinical practice (EPOCH-D-CHF). Russian Heart Failure Journal. 2016;17(5):299-305. (In Russ.) Поляков Д. С., Фомин И. В., Валикулова Ф. Ю. и др. Эпидемиологическая программа ЭПОХА-ХСН: декомпенсация хронической сердечной недостаточности в реальной клинической практике (ЭПОХА-Д-ХСН). Журнал Сердечная недостаточность. 2016;17(5):299-305. doi:10.18087/rhfj.2016.5.2239.
2. Mareev VYu, Fomin IV, Ageev FT, et al. Clinical guidelines of OССN-RKO-RNMOT. The diagnosis, prevention and treatment of chronic heart failure and acute decompensated heart failure. Kardiologiya. 2018;58(6):8-158. (In Russ.) Мареев В. Ю., Фомин И. В., Агеев Ф. Т. и др. Клинические рекомендации ОССН-РКО-РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение. Кардиология. 2018;58(6):8-158. doi:10.18087/cardio.2475.
3. Mareev VYu, Danielyan MO, Belenkov YuN. Comparative characteristics of patients with CHF depending on the value of the ejection fraction according to the results of the Russian multicenter study EPOCHA-O-CHF: about the problem of CHF with preserved systolic function of the left ventricle. Russian Heart Failure Journal. 2006;7(4):164-71. (In Russ.) Мареев В. Ю., Даниелян М. О., Беленков Ю. Н. Сравнительная характеристика больных с ХСН в зависимости от величины фракции выброса по результатам российского многоцентрового исследования ЭПОХА-О-ХСН: снова о проблеме ХСН с сохранной систолической функцией левого желудочка. Журнал Сердечная недостаточность. 2006;7(4):164-71.
4. Paulus WJ, Tschöpe C. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation. J Am Coll Cardiol. 2013;62(4):263-71. doi:10.1016/j.jacc.2013.02.092.
5. Magnussen C, Blankenberg S. Biomarkers for heart failure: small molecules with high clinical relevance. J Intern Med. 2018;283(6):530-43. doi:10.1111/joim.12756.
6. Piek A, Du W, de Boer RA, et al. Novel heart failure biomarkers: Why do we fail to exploit their potential? Crit Rev Clin Lab Sci. 2018;55:246-63. doi:10.1080/10408363.2018.1460576.
7. Tromp J, Westenbrink BD, Ouwkerkerk W, et al. Identifying Pathophysiological Mechanisms in Heart Failure with Reduced Versus Preserved Ejection Fraction. J Am Coll Cardiol. 2018;72(10):1081-90. doi:10.1016/j.jacc.2018.06.050.
8. Arutyunov GP, Kafarskaya LI, Savelov NA, et al. Chronic heart failure: structural and microbiological changes in the colon. Therapeutic archive. 2007;79(2):31-7. (In Russ.) Арутюнов Г. П., Кафарская Л. И., Савелов Н. А. и др. Хроническая сердечная недостаточность: структурные и микробиологические изменения в толстой кишке. Терапевтический архив. 2007;79 (2):31-7.
9. Arutyunov GP, Kafarskaya LI, Bylova NA, et al. Qualitative and quantitative indicators of the microflora of the large intestine in various functional classes of chronic heart failure. Russian Heart Failure Journal. 2005;6(5):176-80. (In Russ.) Арутюнов Г. П., Кафарская Л. И., Былова Н. А. и др. Качественные и количественные показатели микрофлоры толстого кишечника при различных функциональных классах хронической сердечной недостаточности. Журнал Сердечная недостаточность. 2005;(5):176-80.
10. Arutyunov GP, Kafarskaya LI, Bylova NA, et al. Chronic heart failure: the use of various diuretic therapy regimens to correct morphological and functional changes in the colon. Clinical pharmacology and therapy. 2006;15(5):33-7. (In Russ.) Арутюнов Г. П., Кафарская Л. И., Былова Н. А. и др. Хроническая сердечная недостаточность: применение различных схем диуретической терапии с целью коррекции морфофункциональных изменений толстой кишки. Клиническая фармакология и терапия. 2006;15 (5):33-7.
11. Lu YC, Yeh WC, Ohashi PS. LPS/TLR4 signal transduction pathway. Cytokine. 2008;42(2):145-51. doi:10.1016/j.cyto.2008.01.006.

12. Hietbrink F, Besselink MG, Renoij W, et al. Systemic inflammation increases intestinal permeability during experimental human endotoxemia. *Shock*. 2009;32(4):374-8. doi:10.1097/SHK.0b013e3181a2bcd6.
13. Kamo T, Akazawa H, Suzuki JI, et al. Novel Concept of a Heart-Gut Axis in the Pathophysiology of Heart Failure. *Korean Circ J*. 2017;47(5):663-9. doi:10.4070/kcj.2017.0028.
14. Guyatt GH, Sullivan MJ, Thompson PJ, et al. The 6-minute walk: a new measure of exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Can Med Assoc J*. 1985;132(8):919-23.
15. Belenkov YuN, Mareev VYu. The principles of rational therapy of heart failure. M.: Media Medika., 2000. p. 266. (In Russ.) Беленков Ю. Н., Мареев В. Ю. Принципы рационального лечения сердечной недостаточности. М.: Медиа Медика, 2000. с. 266.
16. Rey FE, Faith JJ, Bain J, et al. Dissecting the in vivo metabolic potential of two human gut acetogens. *J Biol Chem*. 2010;285:22082-90. doi:10.1074/jbc.m110.117713.
17. Xu M, Jiang, Z, Wang, C, et al. Acetate attenuates inflammasome activation through GPR43-mediated Ca²⁺-dependent NLRP3 ubiquitination. *Exp Mol Med*. 2019;51:1-13. doi:10.1038/s12276-019-0276-5.
18. Yao C, Veleva T, Scott L Jr, et al. Enhanced Cardiomyocyte NLRP3 Inflammasome Signaling Promotes Atrial Fibrillation. *Circulation*. 2018;138(20):2227-42. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035202.
19. Dronova TA, Kalutsky PV, Polyakov DV. Changes in intestinal microflora and levels of pro-inflammatory cytokines in chronic heart failure in the setting of arterial hypertension. *Russian Journal of Heart Failure*. 2008;9(6):276-81. (In Russ.) Дронова Т. А., Калущкий П. В., Полчков Д. В. Изменения микрофлоры кишечника и уровня провоспалительных цитокинов при хронической сердечной недостаточности на фоне артериальной гипертензии. *Журнал Сердечная недостаточность*. 2008;9(6):276-81.
20. Zou Y, Lin X, Xue W, et al. Characterization and description of *Faecalibacterium butyricigenans* sp. nov. and *F. longum* sp. nov., isolated from human faeces. *Sci Rep* 2021;11:11340. doi:10.1038/s41598-021-90786-3.
21. Martínez I, Lattimer JM, Hubach KL, et al. Gut microbiome composition is linked to whole grain-induced immunological improvements. *ISME J*. 2013;7(2):269-80. doi:10.1038/ismej.2012.104.
22. Furet JP, Kong LC, Tap J, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*. 2010;59(12):3049-57. doi:10.2337/db10-0253.
23. Kamardinov DKH, Songurov RN, Ioshina VI, et al. Soluble ST2 as a biomarker, risk stratification tool and therapeutic target in patients with chronic heart failure. *Kardiologija*. 2020;60(2):111-21. (In Russ.) Камардинов Д. Х., Сонгуров Р. Н., Иошина В. И. и др. Растворимый ST2 — как биомаркер, инструмент стратификации риска и терапевтическая мишень у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. *Кардиология*. 2020;60(2):111-21. doi:10.18087/cardio.2020.2.n816.
24. Tavella T, Rampelli S, Guidarelli G, et al. Elevated gut microbiome abundance of Christensenellaceae, Porphyromonadaceae and Rikenellaceae is associated with reduced visceral adipose tissue and healthier metabolic profile in Italian elderly. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1-19. doi:10.1080/19490976.2021.1880221.
25. Luo D, Zhao W, Lin Z, et al. The Effects of Hemodialysis and Peritoneal Dialysis on the Gut Microbiota of End-Stage Renal Disease Patients, and the Relationship Between Gut Microbiota and Patient Prognoses. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:579386. doi:10.3389/fcimb.2021.579386.
26. Gutiérrez-Calabrés E, Ortega-Hernández A, Modrego J, et al. Gut Microbiota Profile Identifies Transition From Compensated Cardiac Hypertrophy to Heart Failure in Hypertensive Rats. *Hypertension*. 2020;76(5):1545-54. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15123.
27. Yang J, Li Y, Wen Z, et al. Oscillospira — a candidate for the next-generation probiotics. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1987783. doi:10.1080/19490976.2021.1987783.
28. Egorova EN, Mazur VV, Kalinkin MN, et al. Role of endotoxin and systemic inflammation in the pathogenesis of chronic heart failure. *Russian Journal of Cardiology*. 2012;(3):25-7. (In Russ.) Егорова Е. Н., Мазур В. В., Калинин М. Н. и др. Роль эндотоксина и системного воспаления в патогенезе хронической сердечной недостаточности. *Российский кардиологический журнал*. 2012;(3):25-7.
29. Buffie CG, Bucci V, Stein RR, et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*. *Nature*. 2015;517(7533):205-8. doi:10.1038/nature13828.
30. Rea MC, Sit CS, Clayton E, et al. Thuricin CD, a posttranslationally modified bacteriocin with a narrow spectrum of activity against *Clostridium difficile*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(20):9352-7. doi:10.1073/pnas.0913554107.
31. Ayres JS, Trinidad NJ, Vance RE. Lethal inflammasome activation by a multidrug-resistant pathobiont upon antibiotic disruption of the microbiota. *Nat Med*. 2012;18(5):799-806. doi:10.1038/nm.2729.
32. Hayakawa M, Asahara T, Henzan N, et al. Dramatic changes of the gut flora immediately after severe and sudden insults. *Dig Dis Sci*. 2011;56(8):2361-5. doi:10.1007/s10620-011-1649-3.
33. Pérez-Cobas AE, Gosalbes MJ, Friedrichs A, et al. Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach. *Gut*. 2013;62(11):1591-601. doi:10.1136/gutjnl-2012-303184.
34. Hickey C, Schaible B, Nguyen S, et al. Increased Virulence of Bloodstream Over Peripheral Isolates of *P. aeruginosa* Identified Through Post-transcriptional Regulation of Virulence Factors. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018;8:357. doi:10.3389/fcimb.2018.00357.
35. von Klitzing E, Ekmekci I, Bereswill S, et al. Intestinal and Systemic Immune Responses upon Multi-drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Colonization of Mice Harboring a Human Gut Microbiota. *Front Microbiol*. 2017;8:2590. doi:10.3389/fmicb.2017.02590.
36. van den Munckhof ICL, Kurilshikov A, Ter Horst R, et al. Role of gut microbiota in chronic low-grade inflammation as potential driver for atherosclerotic cardiovascular disease: a systematic review of human studies. *Obes Rev*. 2018;19(12):1719-34. doi:10.1111/obr.12750.
37. Huang Z, Mei X, Jiang Y, et al. Gut Microbiota in Heart Failure Patients With Preserved Ejection Fraction (GUMPTION Study). *Front Cardiovasc Med*. 2022;8:803744. doi:10.3389/fcvm.2021.803744.
38. Vlasov AA, Salikova SP, Grinevich VB, et al. The gut microbiota and systemic inflammation in patients with chronic heart failure. *Kardiologija*. 2020;60(5):74-82. (In Russ.) Власов А. А., Саликова С. П., Гриневич В. Б. и др. Микробиота кишечника и системное воспаление у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. *Кардиология*. 2020;60(5):74-82. doi:10.18087/cardio.2020.5.n859.