

УДК 616.12-07-084-085:616.34-008.87

**МАНИПУЛЯЦИИ С КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРОЙ КАК НОВАЯ ПАРАДИГМА
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ, ТЕРАПИИ И ПРОФИЛАКТИКИ
КАРДИОВАСКУЛЯРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

К.А. Айтбаев, Т.М. Мураталиев

Приведены результаты исследований, содержащих доказательства связи между кишечной микробиотой и сердечно-сосудистыми заболеваниями. Рассматриваются механизмы влияния кишечной микробиоты на прогрессирование атеросклероза. Отмечено, что кишечная микробиота представляет новую потенциальную мишень для диагностики, терапии и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: кишечная микробиота; сердечно-сосудистые заболевания; триметиламин оксид; холин; карнитин.

**MANIPULATION WITH THE GUT MICROBIOTA AS NOVEL PARADIGM
FOR DIAGNOSTICS, THERAPY AND PREVENTION
OF CARDIOVASCULAR DISEASES (REVIEW)**

K.A. Aytbaev, T.M. Murataliev

It presents the results of studies that contain evidence of connection between intestinal microbiota and cardiovascular diseases (CVD). The mechanisms through which intestinal microbiota influence on development of atherosclerosis are considered. It is noted that intestinal microbiota represents a new potential target for diagnostics, therapy and prevention of CVD.

Key words: intestinal microbiota; cardiovascular diseases; trimethylamine-N-oxide; choline; carnitine.

Введение. Кишечная микробиота (КМ) человека является сложной экосистемой, которая даёт убежище поразительному числу микробов – примерно 100 триллионам, представляющим около 5000 видов [1]. Эти микробы сосуществуют вместе с нами в симбиозе, влияя одновременно на физиологические и метаболические процессы, происходящие в нашем организме. В частности установлено, что микробиота оказывает влияние на физиологическое состояние кишечника, иммунную функцию, биоактивацию нутриентов и витаминов, а также может способствовать развитию ожирения и инсулиновой резистентности [2, 3]. Важным событием в кардиологии стало недавнее открытие учёными того факта, что кишечная микробиота использует пищевой холин для синтеза триметиламина (ТМА), который, в свою очередь, быстро окисляется флавиномонооксигеназами печени до триметиламин оксида (ТМАО), вызывающего развитие атеросклероза [4]. Данный факт, безусловно,

является очередным прорывом в изучении механизмов развития атеросклероза и открывает дополнительные возможности в борьбе с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), а также новое поле деятельности для исследовательских работ. В данном обзоре мы опишем, как микробиота может влиять на метаболизм хозяина, и как эти результаты могут помочь в создании новых мишеней для терапии и профилактики КВЗ.

КМ и атеротромбоз. Установлены, по крайней мере, два основных пути влияния КМ на развитие или прогрессирование атеротромбоза.

Первый – связан с ускоренной транслокацией бактерий кишечника или их компонентов в циркуляцию. Так, в нескольких исследованиях показана связь между наличием бактериальной инфекции и степенью развития атеросклероза. Полагают, что при этом происходит взаимодействие бактериальных липополисахаридов (ЛПС) с липопротеинами низкой плотности (ЛНП), в результате

чего изменяется липопротеиновый метаболизм [5]. Кроме того, ЛПС индуцируют повреждение эндотелиальных клеток [6], стимулируют продукцию и освобождение супероксидного аниона (O_2^-) [7], а также окисление ЛНП. Окисленные ЛНП, в свою очередь, способствуют освобождению цитокинов, таких как интерлейкин-1 и фактор некроза опухоли альфа (ТНФ α) из макрофагов, стимулируя их трансформацию в пенистые клетки [8]. Кроме того, эндотоксемия, обусловленная повышенной кишечной транслокацией бактерий, способствовала активации коагуляционного и воспалительного каскадов [9], а повторные инъекции эндотоксина мышам и кроликам ускоряли индуцированный холестерином атеросклероз [10].

Недавние исследования идентифицировали второй путь, через который кишечная микробиота способствовала развитию КВЗ. На фоне приёма специфических пищевых веществ, характеризующихся наличием триметиламиновой группы – холина, фосфатидилхолина (ФХ) и карнитина, кишечная микробиота принимала участие в формировании проатерогенного соединения, названного ТМАО [11, 12] (рисунок 1).

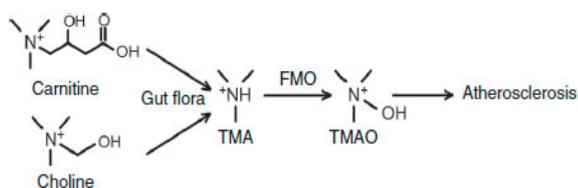


Рисунок 1 – Схема синтеза ТМАО, приводящего к развитию атеросклероза [13]. Карнитин и холин – триметиламины, получаемые с пищей, используются для синтеза ТМА микробиотой кишечника, который быстро окисляется флавиномонаоксигеназой (FMO) до ТМАО

Идентифицированный первоначально в исследовании «случай/контроль», данный метаболит в последующих исследованиях на животной модели и клинических трайлах показал, что имеет непосредственное прямое отношение к патогенезу атеросклероза. Так, ТМАО повышал способность макрофагов аккумулировать холестерин (ХС) и формировать пенистые клетки, а также изменял метаболизм ХС и стеролов во многих органах, включая печень и кишечник [14]. Кроме того, системные уровни ТМАО демонстрировали независимую ассоциацию с инцидентом риска сердечной атаки, инсульта и смерти в нескольких выборках пациентов в исследованиях по первичной и вторичной профилактике КВЗ [13, 15].

Формирование ТМАО представляет собой двухступенчатый процесс, который начинается

с деградации пищевых триметиламинов (свободный холин, фосфатидилхолин, карнитин) специфическими кишечными бактериальными штаммами и образованием ТМА. На втором этапе ТМА абсорбируется кишечником и в циркуляции при воздействии одного или более членов семейства печеночной флавин монооксидазы (FMO), в частности FMO3 превращается в ТМАО [13, 15].

FMO3 является известным ферментом у человека, дефицит которого лежит в основе этиологии редкого генетического заболевания, именуемого триметиламинурией, известного также, как «синдром рыбного запаха». Пациенты с этим метаболическим дефектом характеризуются генетическим нарушением способности превращать ТМА в ТМАО. Исследования, выполненные на germ-free (свободных от микробов) мышках или же на мышках, кишечная флора которых подавлялась введением антибиотиков широкого спектра действия, выявили существенную роль КМ в превращении ТМА в ТМАО [11, 13]. Более того, конвенционализация germ-free мышей приводила к возрастанию и восстановлению плазменных уровней ТМАО, что указывало на облигатную роль КМ в генерации ТМА из пищевого холина, содержащегося в яйцах, молоке, печени и красном мясе [14].

Другим источником ТМАО является пищевая L-карнитин, ТМА-структура которого подобна холину. Карнитин – распространённый компонент красного мяса. Современные исследования показывают, что кишечная микрофлора также играет облигатную роль в формировании ТМА из пищевого L-карнитина у мышей и человека. При этом отмечалась строгая корреляция между повышенными концентрациями в плазме L-карнитина и ТМАО, с одной стороны, и повышенным риском инцидентов кардиальных событий у пациентов – с другой (даже после мультивариантного анализа) [13, 14]. В этой связи, казалось бы, что данные недавнего мета-анализа о значительной редукции летальности от желудочковых аритмий и развития ангинозных приступов вследствие использования пациентами L-карнитина сразу после острого инфаркта миокарда [16], противоречат концепции проатерогенного эффекта ТМАО. Однако это не совсем так, потому что тщательное исследование данных мета-анализа вызывает сомнения в отношении обоснованности его выводов, так как в 11 из 13 исследований, включённых в мета-анализ, не отмечалось клинической пользы от кратковременного приёма карнитиновых добавок, в том числе в 2-х больших трайлах, один из которых насчитывал более 1000 человек. Более того, 2 из 13 исследований, показавшие клиническую пользу от применения карнитина, напротив, были малочисленными (< 100 человек).

Карнитин почти эксклюзивно обнаружен в красном мясе. Поэтому представляют большой интерес результаты эпидемиологических исследований по изучению связи потребления красного мяса с развитием КВЗ. В данном направлении было осуществлено значительное число многоцентровых исследований. Возможно, одним из самых больших и наиболее тщательно выполненных является недавнее исследование, состоящее из 2-х проспективных трайлов: Health Professionals Follow-up Study (n = 37698; 1986–2008) и Nurses' Health Study (n = 83644; 1980–2008). Лица, вошедшие в эти исследования, были исходно свободными от КВЗ и рака, а приём пищи у них оценивали при помощи опросника каждые 4 года [17]. По данным этих исследований, смертность от всех причин составила среди употребляющих красное мясо 20 %, а среди не употребляющих – 13 %.

Примечательно, что в исследованиях на животной модели введение ТМАО как и пищевого холина или карнитина в присутствии интактной микрофлоры ускоряло атеросклеротический процесс. При этом как ТМАО, так и холин или карнитин в присутствии интактной микрофлоры, ингибировали обратный транспорт ХС, что правдоподобно объясняет механизм их проатерогенного эффекта [15]. Таким образом, открытие патогенетической роли КМ в развитии атеросклероза создаёт новые мишени для терапии и профилактики КВЗ, которые в перспективе могут значительно повысить эффективность мер борьбы с этими заболеваниями.

Кишечная микробиота в качестве перспективной мишени для диагностики, терапии и профилактики КВЗ. **Диагностика.** Количественное определение пропорционального состава микробных штаммов в фекалиях в качестве диагностического инструмента и предиктора КВЗ не может быть рекомендовано в ближайшей перспективе. Дело в том, что абсорбция липидов и углеводов, приводящая к ожирению, происходит, главным образом, в тонком кишечнике, а не в толстом. Поэтому сначала важно определить корреляцию между составом микробиоты тонкого кишечника и фекальных образцов. Кроме того, на результаты могут влиять средовые факторы (например, состав диеты), а также логистика транспорта фекальных образцов, обработка и выделение ДНК [18]. Более перспективным диагностическим тестом представляется количественное определение в плазме уровня ТМАО, прогностические значения которого в многочисленных больших клинических исследованиях оставались сильными даже после мультивариантной поправки на традиционные факторы риска и другие диагностические кардиоваскулярные маркеры [13].

Терапия и профилактика. Изменение пищевых предпочтений человека. Так как холин, ФХ и карнитин являются основными источниками связанной с микробиотой кишечника продукции ТМАО, то модификация диеты является логической стратегией интервенции. О возможной эффективности использования модификации диеты в качестве мишени для терапии и профилактики КВЗ свидетельствуют данные о том, что вегетарианцы и веганцы, которые реже болеют ССЗ [19], имеют заметно редуцированную способность генерировать ТМА и ТМАО из пищевого L-карнитина, а уровень ТМАО плазмы крови у них значительно ниже, чем у всеядных [13].

Альтернативным терапевтическим подходом для снижения уровней ТМА и ТМАО может стать удаление ТМА из кишечника путём использования специфических оральных абсорбентов. Такая стратегия была апробирована при удалении связанных с кишечной микрофлорой уремиических токсинов [20], а на животной модели ренальной дисфункции оральный абсорбент AST-120 (древесный уголь) значительно снижал некротические площади и отложения в аорте уремиического токсина индоксил сульфата без воздействия на содержание макрофагов или коллагена [21].

Регуляция микробного метаболизма. Значительный прогресс сделан недавно в идентификации некоторых микробных энзимов, которые способствуют образованию ТМАО из различных пищевых субстратов. Имеются сообщения о двух, отличных друг от друга, классах микробных энзимов (холин и карнитин – специфические ТМА-лиазы), различающихся по каталитическим свойствам разрывать С-N связи в холине и карнитине [22, 23]. В этой связи, учитывая огромное генетическое разнообразие кишечных микробов, можно предполагать, что существуют и другие микробные кластеры энзимов, которые могут продуцировать ТМА из различных пищевых нутриентов. Идентификация, оценка количественного вклада в формирование ТМА, а также ингибция каждого из них может служить в качестве потенциальной терапевтической стратегии для лимитирования продукции ТМАО.

Другим терапевтическим подходом может стать изменение структуры кишечной микрофлоры в направлении увеличения в её составе пропорции микроорганизмов, полезных для человеческого организма (не способных продуцировать ТМА). С этой целью могут быть использованы пробиотики (определённые микроорганизмы) или пребиотики (принимаемые внутрь немикробные препараты, изменяющие структуру и состав кишечной микрофлоры).

Коррекция метаболизма хозяина. Превращение ТМА в ТМАО требует стадии окисления, которая медируется энзимами хозяина в форме ФМО [24]. ТМА, продуцируемый микрофлорой кишечника, быстро достигает печени через пормальную циркуляцию, где кластер печеночных ФМО-энзимов окисляет ТМА в ТМАО [24]. Ранее было установлено, что лица с генетическим дефектом ФМО3 (триметиламинурия), имеют достоверно повышенные уровни ТМА, в результате чего от этих индивидов исходил неприятный рыбный запах [25]. Учитывая, что ТМАО, а не ТМА является виновным метаболитом, который проявляет проатерогенный эффект, можно было ожидать, что лица с этим генетическим нарушением защищены от КВЗ. Однако редкая встречаемость данного генетического дефекта не позволяет описать его кардиоваскулярный фенотип. Между тем исследования показывают, что вклад генетических факторов в определение уровней ТМАО у человека относительно лимитирован [26]. Данный факт согласуется с концепцией, что межиндивидуальные различия в диете и составе микробиоты кишечника играют гораздо большую роль и служат главными детерминантами уровня ТМАО, чем генетические варианты хозяина. Поэтому есть все основания полагать, что фармакологической коррекцией ФМО вообще, и ФМО3 в частности, можно добиться эффективного снижения ТМАО-продукции, а следовательно, и снижения риска развития КВЗ.

В заключение хочется надеяться, что использование перечисленных выше новых мишеней позволит в недалёком будущем значительно снизить показатели остаточного сердечно-сосудистого риска и будет способствовать повышению кардиоваскулярного здоровья населения.

Литература

1. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Hamady M. et al. The human microbiome project // *Nature*. 2007. V. 449. P. 804–810.
2. Dumas M.E. et al. Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103 (33). P. 12511–12516.
3. Turnbaugh P.J. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins // *Nature*. 2009. V. 457 (7228). P. 480–484.
4. Wang Z., Klipfell E., Bennett B.J. et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease // *Nature*. 2011. V. 472 (7341). P. 57–63.
5. Costales P., Castellano J., Revuelta-Lopez E. et al. Lipopolysaccharide downregulates CD91/low-density lipoprotein receptor-related protein 1 expression through SREBP-1 overexpression in human macrophages // *Atherosclerosis*. 2013. V. 227. P. 79–88.
6. Zhao Y., Cui G., Zhang Z. et al. Lipopolysaccharide induces endothelial cell apoptosis via activation of Na(+)/H(+) exchanger 1 and calpain-dependent degradation of Bcl-2 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012. V. 427. P. 125–132.
7. Konter J.M., Parker J.L., Baez E. et al. Adiponectin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through suppression of endothelial cell activation // *J. Immunol.* 2012. V. 188. P. 854–863.
8. Howell K.W., Meng X., Fullerton D.A. et al. Toll-like receptor 4 mediates oxidized LDL-induced macrophage differentiation to foam cells // *J. Surg. Res.* 2011. V. 171. P. 27–31.
9. Van der Poll T., Levi M., Braxton C.C. et al. Parenteral nutrition facilitates activation of coagulation but not of fibrinolysis during human endotoxemia // *J. Infect. Dis.* 1998. V. 177. P. 793–795.
10. Vesterterp M., Berbee J.F., Pires N.M. et al. Apolipoprotein C-1 is crucially involved in lipopolysaccharide-induced atherosclerosis development in apolipoprotein E-knockout mice // *Circulation*. 2007. V. 116. P. 2173–2181.
11. Wang Z., Klipfell E., Bennett B.J. et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease // *Nature*. 2011. V. 472. P. 57–63.
12. Bennett B.J., De Aguiar Vallim T.Q., Wang Z. et al. Trimethylamine-N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis, exhibits complex genetic and dietary regulation // *Cell metabolism*. 2013. V. 17. P. 49–60.
13. Koeth R.A., Wang Z., Levison B.S. et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis // *Nat. Med.* 2013. V. 19. P. 576–585.
14. Tang W.H., Wang Z., Levison B.S. et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiac risk // *New Engl. J. Med.* 2013. V. 368. P. 1575–1584.
15. Wang D., Xia M., Yan X. et al. Gut microbiota metabolism of anthocyanin promotes reverse cholesterol transport in mice via repressing miRNA-10b // *Circ. Res.* 2012. V. 111. P. 967–981.
16. DiNicolantonio J.J., Lavie C.J., Fares H. et al. L-carnitine in the secondary prevention of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis // *Mayo Clinic Proc.* 2013. V. 88. P. 544–551.
17. Pan A., Sun Q., Bernstein A.M. et al. Red meat consumption and mortality: results from 2 prospective cohort studies // *Arch. Intern. Med.* 2012. V. 172. P. 555–563.
18. Lozupone C.A., Stombaugh J.I., Gordon J.I. et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota // *Nature*. 2012. V. 489. P. 220–230.
19. Huang T., Yang B., Zheng J. et al. Cardiovascular disease mortality and cancer incidence in vegetarians: a meta-analysis and systematic review // *Ann. Nutr. Metab.* 2012. V. 60. P. 233–240.

20. *Lekawanvijit S. et al.* The uremic toxin adsorbent AST-120 abrogates cardiorenal injury following myocardial infarction // *PLoS One*. 2013. V. 8 (12). P. e83687.
21. *Yamatoto S. et al.* Oral activated charcoal adsorbent (AST-120) ameliorates extent instability of atherosclerosis accelerated by kidney disease in apolipoprotein E-deficient mice // *Nephrol. Dial. Transplant*. 2011. V. 26(8). P. 2491–2497.
22. *Craciun S., Marks J.A., Balskus E.P.* Characterization of choline trimethylamine-lyase expands the chemistry of glyceryl radical enzymes // *ACS Chem. Biol*. 2014. V. 9 (7). P. 1408–1413.
23. *Zhu Y. et al.* Carnitine metabolism to trimethylamine by an unusual Rieske-type oxygenase from human microbiota // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014. V. 111 (11). P. 4268–4273.
24. *Bennett B.J. et al.* Trimethylamine-N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis, exhibits complex genetic and dietary regulation // *Cell Metab*. 2013. V. 17 (1). P. 49–60.
25. *Messenger J., Clark S., Massick S., Bechtel M.* A review of trimethylaminuria: (fish odor syndrome) // *J. Clin. Aesthet. Dermatol*. 2013. V. 6 (11). P. 45–48.
26. *Hartiala J. et al.* Comparative genome-wide association studies in mice and humans for trimethylamine-N-oxide, a proatherogenic metabolite of choline and L-carnitine // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2014. V. 34 (6). P. 1307–1313.