

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ТЕРАПИИ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КАБУРОВА АНАСТАСИЯ НИКОЛАЕВНА

**СВЯЗЬ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА С НОВЫМИ МОЛЕКУЛЯРНЫМИ
И ГЕНЕТИЧЕСКИМИ МАРКЕРАМИ ФИБРОЗА МИОКАРДА И
СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ
СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С СОХРАНЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ
ВЫБРОСА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

3.1.20. – Кардиология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,

профессор, академик РАН

Драпкина Оксана Михайловна

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1 Хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса: определение, эпидемиология, коморбидности и прогноз. Определение хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса	14
1.2 Патогенез хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса	18
1.3 Роль системного воспаления при хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса	23
1.4 Механизмы фиброза миокарда при хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса	28
1.5 Метод неинвазивной визуальной оценки фиброза миокарда	33
1.6 Современный взгляд на состав микробиоты кишечника	35
1.6.1 Кишечная теория развития хронической сердечной недостаточности: роль системного воспаления и нарушения проницаемости кишечника	37
1.6.2 Особенности состава микробиоты при хронической сердечной недостаточности	43
1.6.3 Метаболиты микробиоты кишечника, играющие негативную роль в патогенезе хронической сердечной недостаточности	45
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	51
2.1 Дизайн исследования.....	51
2.2 Методы специальных исследований.....	54
2.2.1 Методы общеклинических исследований.....	54
2.2.2 Метод трансторакальной эхокардиографии	56
2.2.3 Забор крови и проведение скрининговых лабораторных исследований.	58
2.2.4 Получение образцов сыворотки и плазмы крови для биобанкирования	59
2.2.5 Процедура отбора кала пациентом.....	60

2.2.6 Иммуноферментный анализ маркеров фиброза миокарда и системного вялотекущего воспаления, метаболитов микробиоты.....	60
2.2.7 Количественная оценка уровня циркулирующих микроРНК	62
2.2.8 Анализ микробиоты кишечника	62
2.2.9 T1-картирование миокарда в рамках магнитно-резонансной томографии сердца	63
2.3 Статистический анализ	64
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	66
3.1 Основные характеристики пациентов	66
3.2 Особенности состава микробиоты кишечника у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса левого желудочка в сравнении с группой контроля.....	75
3.3 Сравнение уровня триметиламин-N-оксида и липополисахарида у лиц с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса и группы контроля	82
3.4 Поиск связи состава микробиоты кишечника с лабораторными маркерами у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса.....	83
3.4.1 Связь состава микробиоты кишечника с маркерами системного воспаления и эндотоксемии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса.....	83
3.4.2 Связь микробиоты кишечника с молекулярными и генетическими маркерами фиброза миокарда в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса.....	87
3.4.3 Связь состава кишечной микробиоты с уровнем N-концевого предшественника мозгового натрийуретического пептида у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса	93
3.5 Связь состава микробиоты кишечника с выраженностью фиброза миокарда, оцененного в ходе T1-картирования миокарда при магнитно-	

резонансной томографии в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса	95
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	98
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	124
ВЫВОДЫ	126
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	128
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	129
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	133

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) является всемирной проблемой здравоохранения с распространенностью, достигающей около 26 миллионов человек во всем мире [1]. До 2% взрослого населения страдают ХСН [2]. Однако в связи с тем, что в клинические исследования включаются пациенты с подтвержденным диагнозом ХСН, истинная распространенность синдрома предполагается более высокой [3]. По данным эпидемиологического исследования ЭПОХА-госпитализация-ХСН, истинная распространенность верифицированной ХСН I–IV функционального класса (ФК) в европейской части России составила 7,0%. При этом в сравнении с 1998 г. к 2014 г. число пациентов I–IV ФК увеличилось в 2 раза [4, 5]. Отечественный регистр ЭПОХА-О-ХСН продемонстрировал, что нормальная сократимость миокарда левого желудочка (ЛЖ) с фракцией выброса ЛЖ (ФВ ЛЖ) $\geq 50\%$ при очевидной ХСН имела место у 56,8% пациентов [6]. С этими данными согласуются результаты исследований Framingham Heart Study [7], Strong Heart Study [8] и Cardiovascular Health Study [9], которые также отмечают, что распространенность ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ (ХСНсФВ) может составлять наибольшую часть (51% – 63%) всех случаев ХСН в популяции. Признают, что ХСНсФВ может стать основной движущей силой увеличения распространенности сердечной недостаточности (СН) в будущем. Перечисленные данные наряду с ростом продолжительности жизни и увеличением бремени патогенетически связанных с ХСНсФВ коморбидных состояний позволили определить ХСНсФВ как одну из неинфекционных эпидемий XXI века [10, 11, 12].

В последние годы получила поддержку новая парадигма развития ХСНсФВ, которая сдвигает фокус внимания с повышенной постнагрузки на ЛЖ к роли воспаления эндотелия микрососудов. Согласно данной концепции, высокая распространенность в популяции больных ХСНсФВ таких коморбидностей, как артериальная гипертензия (АГ), сахарный диабет (СД), ожирение, хроническая

обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и других, приводит к состоянию системного вялотекущего воспаления совместно с микроваскулярным воспалением эндотелия коронарных сосудов, что становится причиной развития гипертрофии кардиомиоцитов и ригидности миокарда [13, 14].

Развитие технологии метагеномного секвенирования 16S рибосомальной рибонуклеиновой кислоты (рРНК) кишечной микробиоты (КМ) позволило углубить представление о последней и побудило к изучению роли состава и биологии ее представителей в развитии хронических неинфекционных (ХНИЗ) и, в частности, сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [15]. Современные исследования выявили несколько путей, которые могут обосновывать связь между составом, метаболизмом КМ и ХСН [16, 17, 18]. Ко второй декаде XXI века наиболее изученной группой среди ХСН являются пациенты с ФВ ЛЖ <50%, в то время как группа ХСНсФВ в исследованиях либо отсутствовала, либо не изучалась подробно. Детальная характеристика поверхности просвета кишечника выявила признаки избыточного бактериального роста и повышения бактериальной адгезии у пациентов с ХСН с ФВ ЛЖ <50% в сравнении со здоровыми лицами [19]. Перечисленные обстоятельства на фоне снижения сердечного выброса ведут к увеличению транслокации компонентов бактерий через несостоятельный кишечный барьер с повышением уровня циркулирующего липополисахарида (ЛПС) [20]. Последний способен приводить к активации сигнального каскада с повышением продукции провоспалительных цитокинов и поддержанием состояния системного вялотекущего воспаления [18]. Другие работы выявили дисбаланс КМ, вовлеченной в метаболизм протективных (таких как короткоцепочечные жирные кислоты – КЦЖК) и пагубных метаболитов бактерий (например, триметиламин-N-оксида – ТМАО) у пациентов с ХСН [21]. Данные предполагают существование связи между повышенным уровнем ТМАО и инициацией эндотелиальной дисфункции, активацией экспрессии факторов эндотелиального воспаления [22], риском развития основных сердечно-сосудистых событий [23], а также фиброзом миокарда [24]. Изучение КМ методом секвенирования в независимых когортах пациентов с ХСН с ФВ ЛЖ <50%

продемонстрировало не только снижение разнообразия микробного пейзажа, но и аналогичный тренд в отношении основных бактерий-продуцентов бутирата, представленность которых была обратно связана с уровнем воспалительных маркеров [21, 25, 26]. Данные об изменении КМ у пациентов с ХСНсФВ к настоящему времени чрезвычайно ограничены в мировой литературе [27], отсутствуют среди пациентов Российской Федерации и не фокусировались на установлении связи между представленностью бактерий кишечника и маркерами, отражающими механизм развития данного синдрома.

Принимая во внимание, что особенности КМ больных с ХСНсФВ являются на данный момент малоизученными как в мировой, так и в отечественной практике, а также многогранный патогенез ХСНсФВ и отсутствие влияющего на ее прогноз лечения, перспективно раскрытие новых механизмов развития и прогрессирования ХСНсФВ.

Цель исследования

Изучить связь кишечной микробиоты с фиброзом миокарда и состоянием хронического вялотекущего системного воспаления у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса.

Задачи исследования:

1. Выявить особенности состава КМ у пациентов с ХСНсФВ ЛЖ в сравнении с группой контроля.
2. Изучить уровни ТМАО и ЛПС у пациентов с ХСНсФВ ЛЖ в сравнении с группой контроля.
3. Оценить связь состава КМ с маркерами системного воспаления и эндотоксемии у пациентов с ХСНсФВ.
4. Проанализировать связь КМ с молекулярными и генетическими маркерами фиброза миокарда у пациентов с ХСНсФВ.
5. Исследовать связь состава КМ с уровнем N-концевого предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) у пациентов с ХСНсФВ.
6. Оценить связь состава КМ с выраженностью фиброза миокарда, оцененной в

ходе T1-картирования миокарда при магнитно-резонансной томографии (МРТ) у пациентов с ХСНсФВ.

Научная новизна

Впервые в Российской Федерации проведено сравнение состава КМ, оцененного методом секвенирования 16S рРНК, а также уровней ТМАО и ЛПС у пациентов с ХСНсФВ с данными показателями у лиц без диастолической дисфункции миокарда. Впервые изучена ассоциация представителей КМ, оцененных методом секвенирования 16S рРНК, с уровнем маркеров системного вялотекущего воспаления и эндотоксемии у пациентов с ХСНсФВ. Впервые изучена ассоциация представителей КМ с биохимическими маркерами фиброза миокарда, микрорибонуклеиновыми кислотами (микроРНК) и NT-proBNP у пациентов с ХСНсФВ. Впервые изучена связь представителей КМ с показателями диффузного интерстициального фиброза, определенного методом T1-картирования миокарда при МРТ.

Было показано, что для пациентов с ХСНсФВ характерно снижение представленности ведущих продуцентов КЦЖК (в частности, бутирата) на фоне изменения относительной представленности родов условно-патогенных бактерий КМ. Впервые в российской когорте пациентов с ХСНсФВ установлен более высокий уровень ТМАО и ЛПС в сравнении с группой контроля. Впервые показаны статистически значимые связи продуцентов КЦЖК и условно-патогенных бактерий, относительная представленность которых была определена методом секвенирования 16S рРНК, с маркерами системного воспаления и эндотоксемии. Впервые выявлена связь продуцентов масляной кислоты и условно-патогенных родов, оцененных методом секвенирования 16S рРНК, с молекулярными и генетическими маркерами фиброза миокарда при ХСНсФВ. Впервые у пациентов с ХСНсФВ продемонстрирована обратная связь продуцирующего бутират рода *Gemmiger* и прямая связь продуцирующего лактат рода *Lactobacillus* с уровнем NT-proBNP. Впервые продемонстрирована обратная связь между важнейшим продуцентом масляной кислоты родом *Faecalibacterium*, а также родом *Lachnoclostridium* и объемом внеклеточного матрикса (ECV) у

пациентов с ХСНсФВ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Данная работа отражает роль КМ в развитии ХСНсФВ, в том числе посредством снижения продукции КЦЖК. Демонстрирует перспективу оценки КМ как компонента патогенеза ХСНсФВ, дополняет результаты о составе КМ, описанные для больных ХСН с ФВ ЛЖ <50%, и, следовательно, вносит вклад в развитие трансляционной медицины. Результаты позволяют расширить представление о связи состава КМ с маркерами фиброза миокарда, системного воспаления, эндотоксемии, NT-proBNP и с данными золотого стандарта неинвазивной оценки фиброза миокарда у пациентов с ХСНсФВ. Исследование способствует разработке принципов коррекции патогенетических звеньев ХСНсФВ посредством модификации состава и метаболизма КМ.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России), где осуществлялся набор пациентов. Протокол исследования был одобрен на заседании независимого этического комитета ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России. Основой для определения объекта исследования, цели и задач, составления плана диссертационной работы и выбора комплекса диагностических методик стал анализ и синтез данных более ранних научных работ, посвященных исследованию механизмов развития ХСНсФВ и роли состава и метаболитов КМ в развитии ХСН. В исследование были включены данные 76 пациентов, проходивших лечение или обследование в ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России. Всем пациентам выполнялся полный спектр обследования согласно действующим на момент проведения диссертационной работы клиническим рекомендациям. Работа представляет собой одномоментное исследование с изучением состава и метаболитов КМ, молекулярных (С-терминальный пропептид проколлагена I типа – P1CP, N-терминальный пропептид проколлагена III типа – P1INP, TMAO) и

генетических (микроРНК – miRNA-183-3p, 193b-3p, -21-3p, -545-5p) маркеров фиброза миокарда, а также маркеров системного воспаления (высокочувствительный С-реактивный белок – вчСРБ, интерлейкины (IL) -1 β , -6, растворимый супрессор туморогенности 2 – sST2), в том числе бактериального происхождения (ЛПС), NT-proBNP, оценкой выраженности фиброза миокарда методом T1-картирования миокарда при МРТ. Использовался комплекс аналитических, клинических, инструментальных, лабораторных методов. Основные методы: эхокардиография (ЭхоКГ), количественное определение маркеров методом иммуноферментного анализа (ИФА), полимеразной цепной реакции (ПЦР) и LAL-теста, секвенирование 16S рНК КМ, T1-картирование миокарда в рамках МРТ с контрастированием. В основу методологии легли принципы доказательной медицины. Статистическая обработка полученных результатов проводилась на основании принципов медицинской статистики с использованием современного программного обеспечения.

Положения, выносимые на защиту

1. У больных с ХСНсФВ показано снижение представленности бактерий, относящихся к продуцентам КЦЖК (в первую очередь, масляной кислоты), и изменение относительной представленности условно-патогенных бактерий (в частности, увеличение *Pseudomonas* и *Atopobium*, снижение *Peptococcus* и *Haemophilus*) в сравнении с контрольной группой пациентов с нормальной диастолической функцией ЛЖ.
2. Уровень ТМАО и ЛПС статистически значимо выше у пациентов с ХСНсФВ, чем в контрольной группе.
3. Снижение представленности продуцирующих КЦЖК родов *Faecalibacterium* и *Oscillospira* в группе ХСНсФВ было обратно ассоциировано с уровнем IL-1 β и IL-6 соответственно. Относительная представленность *Haemophilus* и *Pseudomonas* прямо ассоциирована с уровнем IL-1 β и ЛПС соответственно, а относительная представленность рода *Oscillospira* имеет прямую связь с вчСРБ при ХСНсФВ. Ряд грамположительных бактерий (*Faecalibacterium*, *Eubacterium* и *Peptococcus*) имели прямую связь с уровнем ЛПС в группе ХСНсФВ.

4. У лиц с ХСНсФВ выявлено, что род *Gemminger* обратно связан с уровнем P1CP, в то время как роды *Eubacterium* и *Roseburia* прямо ассоциированы с уровнем ТМАО. Показано, что продуцирующие КЦЖК род *Oscillospira* и неклассифицированный род семейства *Lachnospiraceae* обратно ассоциированы с уровнем экспрессии микроРНК, отражающих фиброз миокарда, в то время как род *Lactobacillus* имеет прямую ассоциацию с микроРНК.

5. Для группы ХСНсФВ характерна прямая связь относительной представленности рода *Lactobacillus*, а также обратная связь представленности *Gemmiger* и *Candidatus Soleaferrea* с уровнем NT-proBNP.

6. У пациентов с ХСНсФВ отмечается обратная связь между представленностью продуцирующих бутират бактерий родов *Faecalibacterium*, *Lachnoclostridium* и ECV.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов, полученных в ходе диссертационного исследования, подтверждается достаточным по количеству клиническим материалом (n=76) с учетом широкого круга современных методов, позволяющих детально изучить патогенез ХСНсФВ; объективными методами обследования (в том числе специфичными для пациентов с ХСН опросниками и тестами); использованием актуальных методов лабораторной и инструментальной диагностики ХСН; применением самых современных лабораторных маркеров, отражающих фиброз миокарда, системное воспаление и метаболизм КМ; использованием методов визуализации для оценки выраженности фиброза миокарда с помощью T1-картирования при МРТ, а также оценкой состава КМ методом секвенирования 16S рРНК. В ходе проведения статистического анализа данных использованы достоверные критерии и методы. В качестве языка программирования для статистической обработки данных использован R 3.5.1. На основании использованных методов получены статистически значимые результаты, обосновывающие научную новизну, теоретическую и практическую значимость, выводы и практические рекомендации по итогам работы. Результаты исследования соответствуют поставленным целям и задачам. Научные положения,

выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, аргументированы и вытекают из анализа полученных результатов.

Апробация диссертации состоялась 18 февраля 2021 г. на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России (протокол №31/2 от 18.02.2021 г.). Результаты исследования представлены в виде доклада на Конгрессе Европейского общества кардиологов совместно с Всемирным конгрессом кардиологов (Париж, 2019), двух докладов на Конгрессе Европейского общества кардиологов (дистанционный формат, 2020 г.), а также в виде докладов на Конференции с мастер-классом «Анаэробная инфекция: скрытые угрозы и новые надежды» (Москва, 2019 г.) и 17-м ежегодном Симпозиуме изучения сердца Норвежского Центра исследований сердечной недостаточности (Осло, 2019 г.).

Личное участие автора

Организация и проведение всех этапов исследования: разработка протокола исследования и базы данных; анализ первичной медицинской документации; отбор пациентов для скрининга и повторных визитов; проведение общего осмотра пациентов; организация проведения инструментальных и лабораторных методов обследования, в том числе направление на биобанкирование крови; проведение теста с 6-минутной ходьбой (ТШХ) и заполнение опросников по питанию и форм Шкалы оценки клинического состояния у больного с ХСН (ШОКС); сбор и подготовка биоматериала к транспортировке в лабораторию; участие в проведении и анализе данных МРТ сердца с T1-картированием миокарда, обработка данных и формирование сводной базы; участие в статистической обработке и интерпретации данных; подготовка оригинальных и обзорных статей по теме диссертационного исследования к публикации в журналах; подготовка докладов на отечественных и зарубежных научных конгрессах.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе 6 статей в научных журналах, входящих в Перечень ВАК и/или международные базы цитирования Scopus и Web of Science, а также тезисы: в European Heart Journal опубликован тезис Конгресса Европейского общества кардиологов совместно с

Всемирным конгрессом кардиологов (Париж, 2019 г.), 2 тезиса Конгресса Европейского общества кардиологов (дистанционный формат, 2020 г.).

Внедрение

Результаты и практические рекомендации диссертационного исследования по изучению связи микробиоты кишечника с маркерами фиброза миокарда и системного воспаления при ХСНсФВ внедрены в работу терапевтического и кардиологического отделений ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России.

Структура и объем диссертации

Диссертация представлена на 182 страницах компьютерной верстки, состоит из введения, обзора литературы, материала и методов, результатов исследования, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка использованной литературы. Работа проиллюстрирована 24 таблицами и 9 рисунками. Список литературы включает 463 источника, из них 18 отечественных и 445 иностранных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса: определение, эпидемиология, коморбидности и прогноз.

Определение хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса

Множество подходов было использовано с целью дать емкое определение сердечной недостаточности (СН) с позиций анамнеза, симптомов, патогенеза, данных физикального и лабораторно-инструментального обследования, каждое из которых имело свои достоинства и недостатки [28, 29]. Наиболее современное определение, нашедшее поддержку среди экспертов Европейского кардиологического общества [30], Российского кардиологического общества и Общества специалистов по сердечной недостаточности [31], рассматривает ХСН как клинический синдром, развивающийся вследствие неспособности сердца к наполнению или опорожнению из-за нарушения его структуры или функции, что приводит к неадекватной перфузии органов и тканей при нормальном давлении наполнения (или это возможно лишь при повышенном давлении наполнения) и сопровождается одышкой, сердцебиением, слабостью, отечным синдромом. Основная классификация, используемая для выделения групп пациентов с СН, основана на измерении ФВ ЛЖ. Таким образом, выделяют ХСНсФВ (при ФВ ЛЖ $\geq 50\%$), ХСН с промежуточной ФВ ЛЖ (ХСНпФВ) при ФВ ЛЖ 40 – 49% и ХСН с низкой ФВ ЛЖ (ХСНнФВ) при ФВ ЛЖ $<40\%$. Подобное разделение важно в связи с различной этиологией, патогенезом и доступностью возможностей лечения, влияющих на прогноз пациентов [30].

Изначально ХСНсФВ рассматривалась как фенотип СН, развивающийся вследствие прогрессирующей перегрузки давлением и вторичной концентрической гипертрофии, которая индуцирует диастолическую дисфункцию (ДД) и ремоделирование миокарда. И хотя данный механизм объяснял нарушение диастолы ЛЖ у пациентов с ХСНсФВ и сопутствующей АГ, он оказался

несостоятелен в обосновании ДД в группе лиц, имеющих симптомы СН без АГ [32]. В последние годы новые данные исследований позволили углубить данную концепцию, дополнив ее ролью внекардиальных системных процессов и их вклада в состояние системного воспаления и фиброза миокарда [33].

Эпидемиология хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса

Согласно эпидемиологическим исследованиям, в европейской части Российской Федерации распространенность ХСН независимо от ФК составляет 7,0%. В эпидемиологических исследованиях был сделан вывод о том, что число пациентов с ХСН в России увеличилось с 4,9% в 1998 г. до 10,2% в 2014 г. [31, 34]. Итоги отечественного регистра ЭПОХА-О-ХСН показали, что ХСНсФВ встречалась у 56,8% пациентов с СН [6]. Одновременно с этим систематический обзор продемонстрировал, что в общей западной популяции в возрасте старше 60 лет ХСНсФВ имеет большую распространенность, чем ХСНнФВ (4,9% против 3,3% соответственно). Несмотря на вариативность результатов исследований, большинство из них едины в том, что около 50% пациентов с ХСН имеют сохраненную ФВ ЛЖ [35–40]. Отмечалась выраженная вариация распространенности ХСНсФВ в зависимости от географии: данный показатель составил 69% в Латинской Америке, 75% в Северной Африке и 41% на Среднем Востоке среди всех больных с СН. Аналогично в японском исследовании CHART-1 доля больных с ХСНсФВ составила 51% от всей популяции с СН [41]. Последовавшее за ним исследование CHART-2 (2006–2010 гг.) выявило, что доля ХСНсФВ составила уже 69%. Это подчеркивает растущую распространенность данной группы больных [42]. В одной из европейских когорт распространенность всех типов ХСН увеличивалась с возрастом, однако данный показатель для ХСНсФВ в каждом возрастном промежутке имел больший рост в сравнении с распространенностью ХСНнФВ [43]. В 2015 г. Gerber Y. и соавт. проанализировали статистику новых случаев СН за период 2000–2010 гг. в Соединенных Штатах Америки (США), выявив, что доля новых случаев СН снизилась на 37,5% за десятилетие, однако данное снижение произошло неравномерно для ХСНнФВ и

ХСНсФВ, для которых данный показатель составлял соответственно 45% и 28% [44]. Статистические данные говорят о том, что более половины госпитализаций по причине СН составляют пациенты с ХСНсФВ [12].

Большинство лиц с ХСНсФВ имеют женский пол [45] и представляют собой неоднородную группу в связи с широкой распространенностью коморбидных состояний и их ролью в патогенезе ДД ЛЖ [46]. Учитывая то, что в настоящее время отсутствуют возможности лечения, улучшающие клинический прогноз и исходы пациентов с ХСНсФВ, данная проблема имеет высокую значимость. Ряд рандомизированных контролируемых исследований, призванных оценить эффективность традиционных для лечения ХСНсФВ подходов к терапии больных с ХСНсФВ, не продемонстрировал успешных результатов [47–50]. Кроме того, большинство пациентов имеет пожилой возраст, выраженную симптоматику и низкое качество жизни, в связи с чем, согласно современным рекомендациям, целью лечения ХСНсФВ следует выбирать контроль коморбидных состояний и уменьшение симптомов застоя [30].

Коморбидности при хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса

Клинический синдром ХСНсФВ развивается вследствие взаимодействия комплекса факторов риска, которые принимают участие в патогенезе ДД ЛЖ. В эпидемиологических исследованиях неоднократно было продемонстрировано, что в популяции ХСНсФВ в сравнении с ХСН с ФВ ЛЖ <50% пациенты имеют больший возраст (на 6 лет, по данным Gerber Y. и соавт., 2015) и доля женщин выше [44, 51]. В связи с тем, что ХСНсФВ относится к синдрому более пожилой популяции, ожидаемо, что пациенты этой группы имеют высокую частоту коморбидных состояний [40]. Данные патологии предшествуют возникновению симптомов и декомпенсации ХСНсФВ, внося вклад в дисфункцию ЛЖ и сосудов, а также влияя на функциональный статус и прогноз пациентов [45, 52, 53].

Анализ крупных когорт выявил, что наиболее часто с развитием ХСНсФВ ассоциированы АГ (90%), ожирение (70%), гиперлипидемия (62%), СД (52%) [40, 54]. Кроме того, фибрилляция предсердий (ФП), хроническая болезнь почек (ХБП),

анемия и синдром обструктивного апноэ сна присутствовали в группе ХСНсФВ с достоверно большей частотой в сравнении с ХСНнФВ [55, 56, 57]. Можно предполагать, что распространенность ожирения у лиц с ХСНсФВ выше обнаруженной в эпидемиологических исследованиях. Данное допущение основано на факте, что избыток жировой ткани снижает уровень натрийуретических пептидов и затрудняет выявление клинических признаков застоя жидкости при физикальном обследовании [58].

Признание высокой распространенности ряда сопутствующих заболеваний в популяции ХСНсФВ стало причиной дискуссии на предмет того, является ли данный вариант ХСН отдельным синдромом или представляет совокупность коморбидных состояний пожилых людей с симптомом одышки [59]. Однако сопоставление смертности пациентов с диагностированной ХСНсФВ с этим показателем среди лиц того же пола, возраста и набора коморбидностей продемонстрировало статистически значимые различия. Так, в группе ХСНсФВ была выявлена более высокая смертность, несмотря на меньшую частоту коморбидностей в сравнении с группой контроля без СН, но с сопутствующими заболеваниями [50]. Более того, поправка на коморбидности не позволила объяснить более тяжелые нарушения при ХСНсФВ в сравнении с идентичной по полу и возрасту контрольной группой, а также группой с АГ без ХСН. Эти и другие данные позволили заключить, что ХСНсФВ является отдельным синдромом со свойственным ему уникальным многоликим патогенезом [45].

Прогноз при хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса

Внушительное число клинических [60], обсервационных исследований [37, 44, 61] и метаанализов [62, 63] оценили краткосрочный и долгосрочный риск смерти среди пациентов с ХСНсФВ. В целом уровень смертности участников клинических исследований ниже, чем обсервационных, что может быть связано с более молодым возрастом, тщательным отбором пациентов и меньшей распространенностью сопутствующих коморбидностей. В обсервационных работах госпитальная смертность при ХСНсФВ варьирует от 2,4% до 4,9% с более

высокой 60 и 90-дневной (9,5%) смертностью, тогда как годовая смертность варьирует от 20% до 29% [44, 64, 65, 66]. По крайней мере половина пациентов с ХСНсФВ умирает в течение 5 лет наблюдения (53% – 74% согласно различным данным обсервационных исследований) [44, 61, 67]. Ежегодная смертность в крупных клинических исследованиях составляла 4% – 5% [68]. В отношении смертности среди групп ХСНсФВ и ФВ ЛЖ <50% часть исследований говорит о сходных уровнях данного показателя [35, 56], однако другие свидетельствуют о более низкой смертности при ХСНсФВ в сравнении с ХСНнФВ [7, 51]. Эпидемиологические исследования предполагают, что данные состояния имеют различия в доминирующих причинах смертности. Так, смерть вследствие сердечно-сосудистых причин выше в группе ХСНпФВ и ХСНнФВ, тогда как пациенты с ХСНсФВ чаще умирают вследствие патологии, не относящейся к сердечно-сосудистой системе [44]. Отдельные работы демонстрируют, что прогноз при ХСНсФВ хуже, чем у онкологических больных, и аналогично 5-летней смертности при ХСН с ФВ ЛЖ < 50% составляет около 75% [46]. Для больных с ХСНсФВ характерен плохой прогноз после первой госпитализации: смертность в течение следующего года составляет 25% среди пожилых пациентов, тогда как 5-летний уровень смертности после первой госпитализации находится на уровне 24% среди лиц старше 60 лет и 54% среди пациентов, чей возраст был более 80 лет. Факторы, ассоциированные с худшим прогнозом при ХСНсФВ, включают более высокие уровни NT-proBNP, СД, ХОБЛ, низкую скорость клубочковой фильтрации (СКФ), ремоделирование правого желудочка (ПЖ) и более пожилой возраст [69, 70].

1.2 Патогенез хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса

Центральную роль в развитии ХСНсФВ играет ДД ЛЖ. Данное нарушение связано с изменением свойств камер сердца, обуславливающих полноценное расслабление ЛЖ. Следствием этого является снижение конечно-диастолического

объема (КДО) и невозможность обеспечить адекватный сердечный выброс при нормальном среднем давлении в легочных венах [71, 72]. Основными компонентами качественной диастолы признаны активная релаксация кардиомиоцитов и эластичность камеры ЛЖ [72]. Нарушение этих детерминант расслабления ЛЖ часто сосуществует, хотя изменение каждого из этих компонентов может стать причиной увеличения сопротивления наполнению ЛЖ с последующим ростом участия систолы предсердий в поддержании оптимального КДО ЛЖ [73, 74]. Таким образом, ДД ЛЖ имеет истоки в изменении свойств ткани миокарда, которые являются определяющими в процессах расслабления и пассивного напряжения в фазу диастолы [75, 76]. В зависимости от факторов, лежащих в основе ДД ЛЖ, их можно условно разделить на 2 типа:

- собственно миокардиальные факторы, которые могут быть сосредоточены в кардиомиоцитах (нарушение гомеостаза кальция, недостаточная обеспеченность клеток энергетическими субстратами, изменение изотипов белков саркомера) и в изменении состава внеклеточного матрикса (периваскулярный и интерстициальный фиброз);
- внемиокардиальные факторы: набор коморбидных состояний, каждый из которых вносит вклад в системные изменения, включая эндотелиальную дисфункцию, окислительный стресс, вялотекущее системное воспаление, хронотропную недостаточность, активацию ренин-ангиотензин-альдостероновой и симпатoadреналовой систем, нарушение сердечно-сосудистого сопряжения и резерва вазодилатации [75, 76, 77, 78, 79]. Данный мультифакториальный патогенез говорит о гетерогенности синдрома ХСНсФВ, который может быть рассмотрен как кардиальная манифестация комплекса коморбидностей, что отчасти объясняет трудности лечения данной группы больных [29].

Изменение процессов расслабления, опосредованное кардиомиоцитами

Мышечные волокна кардиомиоцитов состоят из множества субъединиц (миофибрилл), включающих в себя повторяющиеся блоки (саркомеры). Саркомер является основной структурной единицей, которая обуславливает сокращение в

поперечно-полосатых мышцах. Основу саркомера составляют переплетенные нити сократительных белков актина и миозина, скольжение которых относительно друг друга обеспечивает сокращение мышечных волокон. Нити миозина имеют на своей поверхности головки связывания с актином, который, в свою очередь, имеет более сложное строение. Так, в состав актина помимо его тяжелой входят регуляторные белки: тропомиозин и тропонин. Последний содержит 3 субъединицы, одна из которых (тропонин С) является ключевой в инициации сокращения мышечных волокон, поскольку его связывание с ионами Ca^{2+} приводит к изменению конформации регуляторных белков, делая актин доступным для связывания с глобулярной головкой миозина [80, 81]. Таким образом, кальций выступает в роли ключевого медиатора сокращения кардиомиоцитов.

Расслабление сердечной мышцы представляет более энергозатратный процесс и требует снижения уровня кальция в цитозоле через кальмодулин-опосредованное закрытие кальциевых каналов L-типа и обратного переноса кальция в саркоплазматический ретикулум. Главным участником последнего признан встроенный в мембрану саркоплазматического ретикулума переносчик SERCA2 (кальциевая аденозинтрифосфатаза саркоплазматического ретикулума), эвакуирующий до 80% кальция обратно в депо этого иона [82, 83, 84]. Функционирование SERCA2 регулируется фосфоламбаном, фосфорилирование которого устраняет подавление обратного транспорта Ca^{2+} в саркоплазматический ретикулум и способствует накоплению в нем ионов Ca^{2+} , связанных с кальсеквестрином [85].

Изучение моделей ХСНсФВ, созданных с помощью пережатия аорты у крыс, позволило обнаружить повышение уровня Ca^{2+} в кардиомиоцитах в фазу диастолы [86]. Одна из работ выявила, что диастолическое напряжение миокарда, связанное с повышенным диастолическим уровнем кальция, может быть ослаблено ранолазином [87]. Аналогично исследование на крысах продемонстрировало обратное развитие доксорубин-опосредованной ДД ЛЖ при использовании ранолазина [88]. В другой фундаментальной работе, напротив, был показан низкий диастолический уровень Ca^{2+} при ХСНсФВ, что позволило предполагать изменение

пассивных механических свойств ЛЖ в качестве ведущего механизма ДД ЛЖ [76].

Одна из ключевых ролей в модуляции расслабления кардиомиоцитов отводится гигантскому белку саркомера – титину. Он признан важнейшим регулятором опосредованного кардиомиоцитами пассивного напряжения при физиологической длине саркомера, который предотвращает последний от чрезмерного растягивания в фазу поздней диастолы. Стоит отметить, что при значимом перерастяжении саркомера доминирующий вклад в ригидность миокарда вносит состояние внеклеточного матрикса [89]. Эластические свойства титина частично обеспечиваются более сложной частью его структуры, расположенной в зоне I-диска. Именно этот локус обуславливает факт существования двух изоформ молекулы, поскольку его сегменты могут иметь 2 различных элемента: N2В и N2ВА. Было продемонстрировано, что изменение изоформы титина с N2ВА на более ригидную N2В вносит вклад в ДД ЛЖ при ХСНсФВ [90]. На животных моделях ХСНсФВ с ожирением, СД и АГ было обнаружено изменение изоформ титина от более эластичной N2ВА к ригидной N2В [91, 92, 93, 94]. Однако в одном из исследований Zile M.R. и соавт. (2015) соотношение N2ВА/N2В оказалось схожим в группе ХСНсФВ и контрольной [75].

В отличие от изменений изоформ титина, его посттрансляционная модификация представляет более быстрый механизм изменения пассивного напряжения миокарда. Опосредованные посттрансляционной модификацией титина различия были обнаружены у пациентов с ХСНсФВ в сравнении с контрольной группой, что определяло титин-опосредованную жесткость миокарда [75]. Детали заключались в том, что фосфорилирование ригидного сегмента N2В при участии протеинкиназы А и G (PKA и PKG) способствует снижению пассивного напряжения кардиомиоцитов [95]. Последствия гипофосфорилирования изоформы N2В были подтверждены при исследовании биопсий сердца и животных моделей ХСНсФВ [96, 97]. Помимо этого, добавление PKA в условиях *in vitro* уменьшали данное явление по механизму фосфорилирования изоформы N2В [98].

Нарушение расслабления миокарда, опосредованное внеклеточным матриксом

Накопление коллагена вносит значимый вклад в развитие фиброза миокарда, поскольку снижает его податливость в фазу диастолы [99, 100]. Результаты эндомикардиальной биопсии показали повышение содержания фибриллярного коллагена, который определял коллаген-зависимую жесткость у лиц с ХСНсФВ в сравнении с группой АГ и здоровыми лицами [75, 101]. Степень фиброза миокарда также была выше у пациентов с ХСНсФВ по данным МРТ в сравнении с группой контроля [102]. С этими данными согласуются результаты исследования Zile M.R. и соавт. (2015), подтверждающие, что объемная фракция коллагена была статистически значимо выше у пациентов с ХСНсФВ в сравнении с лицами, имеющими изолированную АГ. Это поддерживает идею о важной дискриминативной роли фиброза между данными группами сравнения [75]. Кроме того, повышенная выраженность фиброза миокарда способствует ухудшению клинических исходов при ХСНсФВ, росту показателей смертности и госпитализации [103, 104].

Внеклеточный матрикс представляет высокодинамичную трехмерную сеть, которая присутствует в миокарде и играет важнейшую роль в норме и патологии [105]. Его функция выходит за пределы лишь механической поддержки единства ткани в связи с участием в проведении каскадных сигналов, регулирующих функцию клеток, и выполнением роли резервуара факторов роста. Последние могут выделяться вследствие повреждения ткани и изменять функционирование клеток для активации репаративной программы [106]. Основными компонентами внеклеточного матрикса миокарда являются коллаген I, III и V типов, протеогликаны и гликопротеины [99]. В здоровом сердце экстрацеллюлярный матрикс в основном состоит из более толстых волокон коллагена I типа (до 85%), которые обеспечивают предел прочности, и коллагеновых волокон III типа (около 10%), которые обеспечивают эластичные свойства [107]. Сердечные фибробласты погружены во внеклеточный матрикс и формируют крупную популяцию клеток сердца [108]. Кроме того, они регулируют гомеостаз внеклеточного матрикса,

который основан на синтезе и деградации его компонентов. В условиях стресса (перегрузка давлением, гипоксия) происходит адаптация фибробластов с изменением их фенотипа на активированные, которые приобретают способность к избыточной экспрессии компонентов внеклеточного матрикса. Взаимодействие между кардиомиоцитами, фибробластами, внеклеточным матриксом и коронарными микрососудами создает условия для реализации растяжения, жесткости и ответа на стресс [102]. Патологический стресс (АГ, СД, перегрузка давлением) при ХСНсФВ способствует избыточному накоплению коллагена и снижению уровня более податливого коллагена III типа, что приводит к повышению жесткости миокарда.

1.3 Роль системного воспаления при хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса

Иммуновоспалительная активация при ХСНсФВ способствует продукции медиаторов, которые потенцируют развитие воспаления и прогрессирование фиброза, приводя к ремоделированию миокарда ЛЖ, его дисфункции и ХСНсФВ [109, 110]. Механический стресс вследствие перегрузки давлением приводит к выделению ангиотензина II, стимулирующего мобилизацию моноцитов из селезенки и костного мозга к миокарду [111]. Вслед за этим реализуется каскад клеточных и иммунных реакций, включающий инфильтрацию миокарда макрофагами M1, секрецию провоспалительных цитокинов и хемокинов с последующей дифференцировкой в макрофаги M2 и развитием реактивного фиброза, который стимулируется через секрецию трансформирующего фактора роста β (TGF- β) [112, 113]. Маркеры воспаления и эндотелиальной дисфункции связаны с наличием ХСНсФВ, предположительно вносят вклад в ее патогенез и имеют предсказательную ценность в отношении долгосрочных неблагоприятных исходов данной группы больных. Снижение биодоступности оксида азота (NO) признано одним из ключевых компонентов системного воспалительного процесса при ХСНсФВ [13]. Низкий уровень метаболитов NO при ХСНсФВ не коррелировал со

степенью гипертрофии ЛЖ (ГЛЖ) или фиброза миокарда при анализе данных МРТ [114]. Однако статистически значимое снижение биодоступности NO в этой группе пациентов в сравнении с ХСНнФВ было показано в ходе анализа биопсийного материала миокарда [115]. Физиологически NO участвует в активации гуанилатциклазы, которая играет роль в превращении гуанозинтрифосфата в циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ) [116]. Следом за этим цГМФ активирует PKG, которая фосфорилирует ряд белков, регулирует гомеостаз цитоплазматического кальция, ингибирует развитие гипертрофии и способствует адекватной релаксации миокарда ЛЖ через фосфорилирование тропонина I и титина [117, 118]. Хронический механический стресс и системное вялотекущее воспаление повышают продукцию активных форм кислорода в кардиомиоцитах и эндотелиоцитах сосудов сердца. В свою очередь, активные формы кислорода способны взаимодействовать с NO, снижая биодоступность этой молекулы, что приводит к подавлению сигнального пути NO-цГМФ-PKG [14]. Кроме того, повышенный уровень реактивных форм кислорода может напрямую активировать один из ключевых путей фиброза, опосредованного TGF- β /Smad3 [119]. В недавних исследованиях был показан кардиопротективный эффект пути NO-цГМФ-PKG. На моделях ХСНсФВ у крыс при стимуляции растворимой гуанилатциклазой, которая участвует в образовании цГМФ, было продемонстрировано меньшее развитие миокардального фиброза и инфильтрации макрофагами, что выразилось в улучшении диастолической функции [120, 121]. Аналогично увеличение цГМФ с использованием ингибитора фосфодиэстеразы Va типа силденафила и введением мозгового натрийуретического пептида (BNP) улучшало растяжимость миокарда в диастолу, что было частично обусловлено более активным фосфорилированием ригидной изоформы титина N2B. Последнее способствовало снижению пассивного напряжения кардиомиоцитов и улучшению диастолической функции. Причем положительный эффект был обнаружен без изменения статуса фосфорилирования других саркомерных белков и после исключения потенциальных эффектов трансмембранных токов кальция и фиброза миокарда [122]. Эндомиокардиальная биопсия также продемонстрировала, что применение у пациентов с ХСНсФВ

статинов, известных своими противовоспалительными свойствами, выразилось в более высокой активности ПКГ, меньшей выраженности гипертрофии и пассивном напряжении кардиомиоцитов [13]. В обсервационном исследовании применение статинов у пациентов с ХСНсФВ привело к меньшему риску развития ФП [55]. Перечисленные результаты стали ключевыми в развитии гипотезы, что свойственные пациентам с ХСНсФВ коморбидные состояния индуцируют системное вялотекущее воспаление, в том числе на уровне микрососудистого русла [13].

Воспаление эндотелия микрососудов способствует снижению плотности капиллярной сети миокарда, что приводит к нарушению перфузии, усугубляющей дисфункцию ЛЖ. Наряду с этим микрососудистое эндотелиальное воспаление принимает участие в стимуляции миграции лейкоцитов и развитии воспалительного каскада. По результатам исследований, уровни циркулирующих провоспалительных цитокинов: ИЛ-6, фактора некроза опухоли α (TNF- α), вчСРБ были выше при ХСНсФВ в сравнении с ХСНнФВ и обладали предсказательной ценностью в отношении развития ХСНсФВ. При этом уровень вчСРБ оказался пропорциональным числу ассоциированных коморбидностей, распространенности ФП и коррелировал со значениями эндотелина-1, альдостерона и массой тела [123, 124, 125, 126]. Также была обнаружена положительная корреляция уровня СРБ с конечно-диастолическим давлением (КДД) ЛЖ, независимая связь с асимптомной ДД ЛЖ у лиц с метаболическим синдромом, имеющих риск развития ХСНсФВ [127, 128]. Плазменные уровни растворимого рецептора ИЛ-1 и СРБ были выше при ХСНсФВ, чем при ХСНнФВ [129, 130]. Значимость СРБ как прогностического фактора была изучена в исследовании Koller L. и соавт. (2020), в которое вошли 459 пациентов с ХСНсФВ, прошедших процедуру исключения хронической инфекции, аутоиммунных и онкологических заболеваний [131]. Удалось выявить, что плазменный уровень СРБ достоверно и положительно коррелировал с клиническими и лабораторными показателями тяжести ХСН (ФК по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA) и NT-proBNP), а также являлся независимым предиктором общей и сердечно-сосудистой смертности.

Одной из находок стала значимая предсказательная ценность СРБ у лиц с ХСНсФВ без ишемической болезни сердца (ИБС), что может говорить о большей роли изменений миокарда, индуцированных иммунной активацией, чем опосредованных атеросклерозом коронарных артерий [131].

В группе пациентов с ХСНсФВ эхокардиографические показатели ДД ЛЖ (E/e') достоверно коррелировали с миграцией моноцитов селезенки [132], которая может привести к повышению экспрессии эндотелиальных молекул адгезии, таких как E-селектин и внутриклеточная молекула адгезии 1 (ICAM-1) в сердечной мышце. Экспрессия данных медиаторов индуцирована наличием коморбидностей и системным вялотекущим воспалением [14, 112, 132]. В ходе анализа образцов эндомиокардиальной биопсии ЛЖ пациентов с ХСНсФВ была выявлена повышенная экспрессия воспалительной сосудистой молекулы клеточной адгезии 1 (VCAM-1), а также активация экспрессии TGF- β клетками воспаления с повышением уровня коллагена I и III типа. Последнее служит аргументом в пользу того, что воспаление миокарда играет ключевую роль в патофизиологии ХСНсФВ, способствуя изменению внеклеточного матрикса и развитию ДД ЛЖ [112]. Аналогично в биопсийном материале миокарда пациентов с ХСНсФВ была обнаружена повышенная экспрессия молекул адгезии (E-селектина, молекул клеточной адгезии ICAM и VCAM) на уровне микроваскулярного эндотелия. По последним данным повышение уровня циркулирующих молекул адгезии в возрасте до 40 лет способно прогнозировать развитие ХСНсФВ через 20 лет [133]. Пациенты с ХСНсФВ имели признаки не только локализованного в миокарде, но и экстрамиокардиального воспаления в таких органах, как скелетные мышцы, легкие, почки. Вовлечение этих органов в системное воспаление играет роль в развитии легочной гипертензии, снижении толерантности к физической нагрузке, нарушении функции почек, которые являются важными патофизиологическими звеньями при ХСНсФВ [115, 134, 135]. Снижение калорийности диеты у пожилых пациентов с ХСНсФВ и ожирением значительно улучшило их симптомы, пиковое потребление кислорода и качество жизни. При этом увеличение пикового потребления кислорода достоверно было связано в том числе со снижением массы

тела, увеличением мышечной массы и снижением маркеров воспаления, таким образом поддерживая гипотезу о вкладе ожирения в развитие низкой толерантности к физической нагрузке у лиц с ХСНсФВ посредством системного вялотекущего воспаления [136].

В лабораторных условиях на моделях животных с ХСНсФВ исследователи подтвердили, что длительная активация Toll-подобных рецепторов 9 (TLR) способствует индукции системного и кардиального воспалительного ответа, который усугубляет развитие ДД ЛЖ [137]. Согласно современным представлениям, стимуляция сердечных и внесердечных TLR9 приводит к активации ядерного фактора κB (NF- κB) и регуляторного фактора интерферона 3/7, что выражается в продукции широкого спектра провоспалительных цитокинов и хемокинов. В данном исследовании экспериментально индуцированная ДД ЛЖ позволила подтвердить, что тяжесть нарушения диастолы была связана с выраженностью воспаления миокарда, интенсивностью экспрессии провоспалительных молекул и степенью инфильтрации ткани миокарда моноцитами и макрофагами [137]. Интересны результаты исследования «Здоровье, старение и состав тела» (Health, Aging and Body Composition study) с участием пациентов с ранней стадией ХСНсФВ, показавшие увеличение отношения рисков развития ХСНсФВ в течение 9,4 лет при повышении уровня TNF- α и IL-6 на момент включения в наблюдение. При этом данные маркеры прогнозировали развитие ХСНсФВ, но не ХСНнФВ [124]. Аналогичные данные были получены в популяции пациентов с ХСНсФВ, имеющих более высокий уровень растворимого рецептора IL-1, IL-6, СРБ и фактора роста и дифференцировки 15 (GDF-15) [130]. Характеристика группы с ХСНсФВ в программе BIOSTAT-CHF позволила установить, что процессы, характеризующие воспаление и реорганизацию внеклеточного матрикса, были представлены в большей степени в этой группе в сравнении с ХСНнФВ [138]. В исследовании, сравнившем маркеры воспаления в ситуации острой и хронической ХСНсФВ, была установлена роль системного воспаления в развитии ее декомпенсации. При этом в группе острой декомпенсации ХСНсФВ были выявлены повышенные уровни IL-6, TNF- α , вчСРБ

и пентраксина 3 [139].

1.4 Механизмы фиброза миокарда при хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса

В зависимости от причины увеличения ECV можно выделить 3 типа фиброза: инфильтративный, заместительный и реактивный интерстициальный, последний из которых характерен для ХСНсФВ. В нем выделяют диффузный интерстициальный (имеющий место при наличии метаболических факторов риска и характеризующийся экспансией внеклеточного матрикса, окружающего кардиомиоциты) [140, 141] и периваскулярный, часто развивающийся при старении и АГ. Периваскулярный фиброз формируется как реакция на продукцию профибротических медиаторов иммунными клетками, расположенными вблизи сосудов [13], и является следствием системного и миокардиального воспаления при ХСНсФВ [142, 143, 144, 145]. Микроскопически фиброз характеризуется избытком коллагеновых волокон во внеклеточном матриксе вследствие повышения их синтеза фибробластами и миофибробластами и снижения деградации коллагена [146]. Обмен коллагена в экстрацеллюлярном матриксе регулируется цитокинами, факторами роста, ферментами, гормонами, индуцированными механическим стрессом и воспалительным ответом [147]. Одними из основных регуляторов интенсивности образования коллагена признаны матриксные металлопротеиназы (ММП), которые осуществляют деградацию внеклеточного матрикса, и тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ (ТИМП), способствующие накоплению коллагеновых волокон [148]. Результаты анализа эндомиокардиальных биопсий при ХСНсФВ выявили, что данная категория больных имеет более высокие уровни ТИМП-1 в сравнении с пациентами с АГ и здоровыми людьми, что приводит к накоплению более ригидного коллагена I типа в сравнении с коллагеном III типа [75, 149]. В когорте пациентов с ХСНсФВ, имеющих повышенное давление наполнения ЛЖ по данным эхокардиографии, были обнаружены большие уровни ТИМП-1 и снижение отношения ММП-1/ТИМП-1 в сравнении с имеющими

аналогичный диагноз, но нормальное давление наполнения. Данный факт позволяет предполагать более активное накопление коллагена в первом случае [150]. Маркеры обмена коллагена P1NP и P1CP были связаны с развитием ХСНсФВ у асимптомных лиц в течение 13-летнего наблюдения [151]. С целью иллюстрации комплексного гомеостаза коллагена при ХСНсФВ одна из работ выявила, что сывороточные уровни P1NP, P1CP, а также MMP-2, -7, -9, TIMP-1, -2, -4 значительно отличались у пациентов с ХСНсФВ в сравнении с группой контроля. Эти результаты позволили создать маркерную панель, в которой повышение MMP-2, TIMP-4, P1NP и снижение MMP-8 прогнозировало наличие ХСНсФВ с большей точностью, чем BNP [152].

Выбор потенциальных маркеров фиброза миокарда в настоящее время основан на позиции, что они должны продемонстрировать прямую статистически значимую корреляцию с результатами золотого стандарта оценки фиброза данной локализации – гистопатологического анализа ткани миокарда, взятой при эндомиокардиальной биопсии [153]. Среди множества циркулирующих молекул, предложенных в качестве маркеров, только 2 концевых пропептида коллагена показали связь с золотым стандартом диагностики фиброза миокарда: P1CP [154, 155, 156, 157], образующийся в процессе экстрацеллюлярной конверсии проколлагена I типа в зрелый фибриллярный коллаген I типа, а также P1NP, формирование которого происходит в результате внеклеточного превращения проколлагена III типа в зрелый фибриллярный коллаген III типа [158].

Факт обнаружения P1CP в системной циркуляции был отмечен среди пациентов с ХСН, что позволяет предполагать его кардиальное происхождение при этом синдроме. Сывороточный уровень P1CP показал значимую связь с объемной фракцией интерстициального коллагена у пациентов с ремоделированием сердца в результате АГ при наличии или отсутствии ХСН [159, 160, 161].

Было выявлено, что сывороточные уровни P1NP значимо ассоциированы с объемной фракцией коллагена у пациентов с ХСН вследствие ишемии миокарда или идиопатической дилатационной кардиомиопатии [158]. Лечение спиролактоном лиц с идиопатической дилатационной кардиомиопатией привело к

достоверному снижению уровня PIIINP [156]. В ответ на лечение торасемидом пациентов с ХСН происходило однонаправленное изменение уровня PISCP и объемной фракции коллагена [162]. Сывороточный уровень PIIINP оказался связан с тяжестью и исходами ХСН различной этиологии независимо от ФВ ЛЖ [163], а также коррелировал с объемной фракцией коллагена [164].

Аналогично доказательства ассоциации с фиброзом, выявленным с помощью золотого стандарта его инвазивной диагностики, имеет отношение С-терминальный телопептид коллагена I типа (СIТР) к MMP-1 [165]. Поперечные сшивки коллагена определяют резистивные свойства его волокон к деградации матриксными металлопротеиназами. Чем больше поперечных связей имеется между фибриллами коллагена I типа, тем меньше возможности отщепления СIТР от коллагена имеется для MMP-1. Таким образом, отношение сывороточных СIТР к MMP-1 обратно ассоциировано с уровнем поперечных связей между коллагеновыми волокнами [165]. Отношение СIТР/MMP-1 продемонстрировало независимую связь с риском госпитализации при АГ-ассоциированной ХСН [165]. Комбинация низкого отношения СIТР/MMP-1 и высокого уровня PISCP позволяла идентифицировать пациентов с АГ и ХСН, имеющих фенотип миокардиального фиброза, характеризующийся наличием поперечных сшивок между волокнами и избыточным накоплением коллагена, а также была ассоциирована с худшим прогнозом пациентов [166].

Одной из перспективных молекул, отражающих ранние этапы фиброза миокарда, признан sST2 [167, 168]. Данный маркер – член семейства рецепторов IL-1, играющих центральную роль в регуляции иммунного и противовоспалительного ответов. Обнаружено существование 2-х изоформ белка, принимающих участие в развитии ССЗ: растворимая циркулирующая в кровотоке форма (sST2) и форма мембран-связанного рецептора (ST2L). В ответ на повреждение или механических стресс кардиомиоцитов происходит продукция и связывание IL-33 с ST2L, итогом чего становится создание комплекса IL-33/ST2L. Последний инициирует сигнальный каскад реакций с кардиопротективным эффектом, который заключается в предотвращении развития фиброзирования и

ремоделирования миокарда, а следовательно, и развития СН [169]. В случае повышения продукции sST2 кардиомиоцитами и сердечными фибробластами последний проявляет себя в качестве рецептора-ловушки и конкурентно связывается с IL-33 вместо ST2L. Таким образом, через sST2 происходит блокада реализации кардиопротективного эффекта IL-33, что приводит к развитию ремоделирования и фиброза миокарда [170]. Данный маркер был включен в рекомендации ACCF/AHA 2013 года для стратификации риска пациентов с ХСН [171]. Post-hoc анализ двухсот пациентов с ХСНсФВ позволил впервые определить sST2 как перспективный маркер в этой группе [167]. sST2 продемонстрировал лучшие результаты в оценке ХСН вследствие АГ, чем NT-proBNP [172]. Показано, что увеличение уровня sST2 может наблюдаться уже на ранних этапах ХСНсФВ, а именно отражать фибротические изменения, характерные для данного синдрома, и изменения геометрии ЛП [173]. Примечательно, что этот маркер имеет диагностическую ценность при стабильной ХСН, ассоциированной с АГ, независимо от NT-proBNP [174]. Среди 107 пациентов с АГ и ХСНсФВ было показано, что уровень sST2 был достоверно выше при $E/e' < 8$ в сравнении с пациентами, у которых данный показатель находился в диапазоне 8–15 и > 15 [174]. Исследование PARAMOUNT (n=296) установило, что более высокие уровни sST2 были ассоциированы с возрастом, более высоким классом ХСН и уровнем NT-proBNP, мужским полом, наличием ФП и низкой СКФ [175]. Zile M.R. и соавт. (2015) стратифицировали пациентов, перенесших аортно-коронарное шунтирование, в три группы: лица без АГ, с АГ без ХСНсФВ и с АГ и ХСНсФВ. Было показано, что наибольший уровень sST2 выявлялся в третьей группе и наименьший в первой [75].

Ответ клетки на стимул требует регуляции экспрессии генов. Контроль этого процесса распределен между рядом участников, среди которых есть микроРНК, (miRNA), представляющие собой класс коротких некодирующих рибонуклеиновых кислот. Была показана роль микроРНК в многообразии биологических процессов от развития эмбриональных тканей до вклада в процесс поддержания жизнедеятельности клеток, их гибели и пролиферации [176, 177].

Множество исследований было проведено с целью проанализировать микроРНК в качестве болезнь-специфичных маркеров. В области ССЗ было успешно доказано участие микроРНК в патогенезе заболеваний и, в частности, в развитии фиброза миокарда и ХСН [178, 179, 180, 181, 182]. Помимо регуляции экспрессии генов, контроля реализации клеточного фенотипа, а также управления метаболизмом на клеточном уровне [183] микроРНК могут обеспечивать трансмиссию сигналов к другим клеточным структурам [184]. Таким образом, микроРНК могут определяться в биологических жидкостях, например, сыворотке или плазме крови [185, 186]. Растущий объем данных свидетельствует о том, что микроРНК могут играть важнейшую роль в регуляции экспрессии генов при развитии гипертрофии и фиброза миокарда при ХСН [187, 188]. Нарушение регуляции на уровне микроРНК может привести к изменению ответа кардиомиоцитов и других клеток сердца на гемодинамическую перегрузку, а вслед за этим – к гипертрофии кардиомиоцитов и ХСН [189]. В работе, сфокусированной на поиске циркулирующих микроРНК, которые могли бы позволить различить когорты пациентов с ХСНнФВ и ХСНсФВ между собой, а также с здоровыми лицами, было выявлено, что 6 микроРНК (miRNA-183-3p, -190a, -193b-3p, -193b-5p, -1233, и -545-5p) продемонстрировали статистически значимо отличную от группы контроля экспрессию при ХСНсФВ. При этом экспрессия последних двух была повышена в группе ХСНсФВ, в то время как остальные имели более низкий уровень экспрессии [190].

Также изучено, что изменение экспрессии miRNA-21 вносит вклад в развитие ССЗ, включая ИБС, гипертрофию миокарда и его фиброз [191, 192]. Кроме того, использование антагониста miRNA-21 предотвращало развитие гипертрофии миокарда, пролиферацию фибробластов, а, следовательно, и фиброз миокарда [193]. В клинических исследованиях пациентов с ХСН также демонстрировалась высокая экспрессия miRNA-21 [194]. Экспрессия miRNA-21-3p была значимо повышена у пациентов с конечной стадией ХСН вследствие дилатационной кардиомиопатии. При индукции гипертрофии и СН у крыс методом поперечной констрикции аорты было установлено, что через 2 недели после этой процедуры

экспрессия miRNA-21-3p оказалась сниженной, в то время как через 4 недели снова увеличилась. Таким образом, исследователи предположили, что по мере прогрессирования ХСН и гипертрофии миокарда экспрессия miRNA-21-3p может варьировать. Определенное расхождение результатов экспрессии miRNA-21-3p может быть обусловлено разными моделями гипертрофии [195]. Аналогично Tatsuguchi M. и соавт. (2007) продемонстрировали, что в условиях поперечной констрикции аорты у мышей экспрессия miRNA-21 была статистически значимо выше через 2 недели после процедуры, а затем достигла почти нормальных значений к 4-й неделе [196].

1.5 Метод неинвазивной визуальной оценки фиброза миокарда

В последние годы отмечается высокий интерес к неинвазивной оценке интерстициального фиброза миокарда с использованием визуализирующих методов. Золотым стандартом в этом направлении признана МРТ, в которой особое место занимает T1-картирование миокарда [197, 198, 199]. Использование гадолиния в качестве контраста получило распространение в кардиологии в сфере визуализации рубцовой ткани. Подобные изменения могут быть обнаружены с применением техники отсроченного накопления гадолиния. Однако применение последнего ограничено в группе лиц с ХСНсФВ, что связано как с диффузным характером распределения фиброза, так и с тем, что степень экспансии соединительной ткани обычно ниже допустимого к определению данным методом. В этой категории пациентов большие перспективы представляет T1-картирование миокарда. На основании того, что гадолиний-содержащие контрастные вещества не проходят через интактные клеточные мембраны, возможно разграничение внутриклеточного и внеклеточного пространства миокарда с использованием T1-картирования. Данное свойство гадолиния оптимально подходит для применения в популяции больных с ХСНсФВ, имеющих экстрацеллюлярный фиброз, который способствует накоплению гадолиния в этой зоне и укорочению постконтрастного времени T1. Сравнение значений нативного времени T1 и после контрастного

усиления с учетом объема распределения отражает изменения во внеклеточном матриксе и позволяет рассчитать ECV [200]. Последний определяют как объемная фракция сердечной ткани, свободная от клеток. Ученые показали, что пациенты с ХСНсФВ имели увеличение доли ECV в сравнении с контрольной группой здоровых лиц (31,2%, 28,9% и 27,9% соответственно) [102]. Изменение значений T1 продемонстрировано в клинических ситуациях, сопровождающихся развитием диффузного фиброза миокарда (гипертрофическая кардиомиопатия, диабетическая кардиомиопатия), что было связано с эхокардиографическими индексами ДД ЛЖ [201]. Кроме того, стабильная связь между всеми индексами T1-картирования, включая ECV, и степенью подтвержденного биопсией диффузного фиброза миокарда была отмечена для аортального стеноза, гипертрофической кардиомиопатии и ХСН. Среди упомянутых показателей значения ECV имели наиболее сильную связь со степенью фиброза по результатам биопсии [202]. Актуальные данные систематического обзора 5 исследований, включивших 2741 пациента, позволили сделать вывод, что ECV представляет точный и воспроизводимый прогностический показатель при ХСНсФВ [203]. Отмечено, что увеличение ECV коррелирует с параметрами ДД ЛЖ и давлением наполнения ЛЖ [102, 204, 205], а также позволяет напрямую идентифицировать изменения, которые приводят к снижению податливости миокарда [206]. Авторы сообщили, что постконтрастные значения T1 коррелировали с данными инвазивной оценки фиброза ЛЖ у реципиентов трансплантированных сердец [207]. Другая работа была посвящена связи между ECV и инвазивно оцененной функцией диастолы ЛЖ у пациентов с ХСНсФВ [206]. Ее авторы установили, что диффузный интерстициальный фиброз при T1-картировании миокарда ассоциирован с увеличением пассивного напряжения ЛЖ. Более того, показатель ECV позволяет прогнозировать исходы у больных с ХСНсФВ и коррелирует с гистологической оценкой фиброза миокарда [103]. Другая работа выявила, что для группы из 473 пациентов с ХСН (52% из которых имели ХСНсФВ) ECV обладал наибольшей предсказательной ценностью в отношении прогноза среди всех показателей визуализирующих методов исследования [208]. У пациентов с перегрузкой

давления рост значений нативного времени T1 и ECV отражал увеличение степени миокардиального фиброза [209, 210]. Сравнение пациентов с диагностированной ХСНсФВ и без нее выявило укорочение постконтрастного времени T1. Примечательно, что время T1 коррелировало с легочным сосудистым сопротивлением и ФВ ПЖ, что позволяет предполагать связь между накоплением внеклеточного матрикса и развитием патологического легочного ремоделирования при ХСНсФВ [103]. Отдельные работы свидетельствуют, что разница между доконтрастным и постконтрастным значением T1 ($\Delta T1$) может быть более надежным параметром для оценки фиброза миокарда в сравнении с оценкой только до- и постконтрастных значений T1 [211].

1.6 Современный взгляд на состав микробиоты кишечника

Термин «микробиота» описывает экологическое сообщество комменсальных, симбиотических и патогенных микроорганизмов, населяющих тело макроорганизма [212]. В связи с тем, что после рождения человек находится в непрерывной связи с внешней средой, происходит активная колонизация кишечника триллионами бактерий, большинство из которых не является патогенами [213, 214]. Просвет кишечника человека населяют до 100 триллионов микробных тел, что в 10 раз больше числа клеток организма человека. Исследования доказывают, что дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) человека составляет лишь 10% от всего разнообразия ДНК его организма в связи с огромным генетическим материалом микробиоты [213, 215]. Сравнивая КМ лиц разного возраста, ученые смогли сделать вывод о том, что ее состав и метаболические функции носят более схожие черты в раннем возрасте, а по мере взросления макроорганизма происходит увеличение микробного разнообразия [216]. Крупные международные проекты США (Human Microbiome Project) и Европы (Meta HIT), которые ставили перед собой цель изучить микробиом и взаимоотношения представителей КМ с организмом хозяина, существенно расширили наши представления о таксономическом разнообразии и функциях сообществ

микроорганизмов. Технология метагеномного секвенирования 16S рРНК позволила выяснить, что доминирующими являются представители типов *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, за которыми следуют *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Verrucomicroba*, также в большинстве случаев присутствующие в кишечнике человека [213, 217]. Данные микроорганизмы входят в состав разных экологических ниш в просвете кишечника и на его слизистых, формируя сложные биохимические сети взаимодействий между ними и макроорганизмом [218]. Хотя известно, что для микробной экосистемы свойственна устоявшаяся композиция, отдельные факторы (прием антимикробной терапии, смена характера питания, возраст и генетические особенности макроорганизма) могут в значительной степени обуславливать ее динамику [219, 220].

Последний виток развития науки в сфере обоюдного влияния макро- и микроорганизмов друг на друга позволил раскрыть горизонты взаимодействия между КМ и ССЗ [221]. Метагеномный анализ 16S рРНК бактерий доказывает, что связь КМ с развитием ССЗ опосредована комплексом механизмов [222, 223]. Растущий объем данных свидетельствует, что изменение состава КМ может вносить вклад в фенотипы и течение ССЗ [224, 225]. Кроме того, согласно современной концепции, желудочно-кишечный тракт рассматривается как экосистема с огромным биоразнообразием населяющих ее микроорганизмов, которые являются продуцентами широкого спектра микробных метаболитов [226], способных абсорбироваться в системный кровоток и выполнять роль медиаторов эффектов КМ в макроорганизме [227, 228]. Это позволяет КМ напрямую или опосредованно влиять на биологические процессы в норме и патологии.

В здоровом состоянии в поддержании барьерной функции кишечника участвуют нормальный микробный пейзаж, полноценная структура плотных межклеточных контактов, оптимальный состав слизи на поверхности энтеро- или колоноцитов и водно-солевой баланс [229]. Помимо непосредственно своей композиции КМ может реализовать эффекты в организме человека через разнообразие процессов. Чтобы иметь влияние на удаленные от кишечника органы, микробные сигналы должны быть изначально транслоцированы через кишечный

эпителий. Роль сигнальных структур могут выполнять как компоненты мембран бактерий (эндотоксин или пептидогликан), так и биоактивные молекулы, которые влияют на функционирование отдаленных органов и образуются в результате метаболизма КМ [230]. К таким биоактивным метаболитам бактерий относятся ТМАО, КЦЖК и вторичные желчные кислоты [16, 231, 232].

1.6.1 Кишечная теория развития хронической сердечной недостаточности: роль системного воспаления и нарушения проницаемости кишечника

Выдающийся прогресс в понимании патогенеза СН позволил отойти от гемодинамической модели к роли нейрогормональной активации в ее развитии [233]. Кроме того, признание получила модель СН как синдрома с компонентом системного вялотекущего воспаления, что основано на связи ряда провоспалительных цитокинов с его тяжестью и негативным прогнозом. Однако истоки вялотекущего воспаления длительное время не были установлены [234, 235]. Более того, исследованиям, направленным на блокаду TNF- α у лиц с СН, не удалось показать положительное влияние на сердечную функцию и прогноз [236, 237].

Самые последние научные данные позволили выдвинуть гипотезу, согласно которой состав и метаболиты КМ играют роль в развитии и прогрессировании СН, в том числе через участие в развитии системного воспаления [238–340]. Кишечный эпителий является первым барьером макроорганизма, который защищает его от инвазии патогенных микроорганизмов [241]. В связи с постоянной экспозицией к триллиону микробных агентов, кишечный барьер находится в непрерывном риске развития его дисфункции. Примечательно, что бактерии кишечника могут напрямую модифицировать барьерные свойства кишечного эпителия и его проницаемость [242]. Бактерии комменсалы способны регулировать дифференцировку и функцию Т-клеток макроорганизма, таким образом потенцируя участие последних в поддержании гомеостаза на уровне слизистой оболочки кишечника. Учитывая важнейшую роль эпителиального барьера данной

локализации в предотвращении транслокации микробного содержимого кишки, его целостность чрезвычайно важна для здоровья человека. Проницаемость кишечного эпителия во многом определяется снижением экспрессии белков плотных контактов между энтеро- и колоноцитами, включая зонулин-1, клаудин-1 и окклюдин, а также дисбалансом процессов клеточной гибели и регенерации [243, 244]. Помимо этого, здоровая работа кишечного эпителия требует полноценного кровоснабжения. Снижение перфузии негативно сказывается на ворсинках эпителиоцитов, которые особенно чувствительны к ишемии из-за противоточной циркуляции, присутствующей в них: артерия и вена следуют параллельно друг другу, создавая нисходящий градиент кислородного давления от основания в вершине ворсинки [245]. В результате этого интрамукозный ацидоз – частое явление среди пациентов с декомпенсированной ХСН [246].

Одну из центральных ролей в новейшей теории развития СН играет ЛПС, также известный как эндотоксин. ЛПС представляет собой структурный компонент наружной мембраны грамотрицательных бактерий [247]. Эта молекула показала способность индуцировать экспрессию широкого спектра воспалительных молекул через взаимодействие с TLR 4 типа [248, 249]. Данный эффект реализуется во множестве тканей и клеток, таких как макрофаги, дендритные клетки, кардиомиоциты и сердечные фибробласты [250]. Пациенты с декомпенсированной СН имели более высокий уровень ЛПС, который снижался при возвращении к стабильному течению ХСН. Кроме того, сигнальный каскад ЛПС способствовал увеличению продукции TNF-а, который продемонстрировал негативный эффект на прогрессирование СН посредством участия в системном воспалении [18, 251, 252]. Исследования показали, что ЛПС сам по себе может способствовать нарушению барьерной функции кишечника [253].

Основанная на свойствах КМ гипотеза развития ХСН адаптирована, в первую очередь, для пациентов с низкой ФВ ЛЖ, что сопровождается вазоконстрикцией и застоем жидкости в тканях. В совокупности с вышеперечисленным происходит снижение перфузии тканей кишечника, утолщение его стенок за счет отека, что приводит к нарушению микроциркуляции [20]. Последствием данных изменений

становится гипоксия апикальной части ворсинок с повреждением энтероцитов в связи с ишемией кишечника. Последнее приводит к нарушению ее барьерной функции, транслокации бактерий, повышению парацеллюлярного транспорта молекул с ростом уровня ЛПС в крови, что было отмечено у пациентов с отечным синдромом и ХСН [19, 254, 255, 256]. Кроме того, среди пациентов с ХСН уровень ЛПС в печеночной вене оказался выше, чем в других сосудистых бассейнах, таким образом позволяя предполагать, что декомпенсация ХСН может быть связана с транслокацией ЛПС из кишечника в кровоток [257]. Более чем трехкратное увеличение плазменного уровня ЛПС признано метаболической эндотоксемией в связи с тем, что данная ситуация распространена при многих метаболических заболеваниях, которые увеличивают сердечно-сосудистый риск [258].

Одной из первых продемонстрировала избыточный бактериальный рост, отек слизистой кишки, повышенную проницаемость ее стенки и адгезию бактерий к слизистой сигмовидной кишки у пациентов с ХСН и ФВ группа Sandek A. и соавт. (2007). В их работе было показано, что степень отека кишки прямо коррелировала с уровнем вчСРБ и маркерами кишечной проницаемости [19]. Структурно было обнаружено увеличение содержания коллагена в стенке кишечника при ХСН с ФВ ЛЖ < 50%, причем рост данного показателя был пропорционален тяжести ХСН и оказался максимальным в случае сердечной кахексии. Степень потери белка и жира с калом также коррелировала с содержанием коллагена в слизистой оболочке [259]. Таким образом, структурные и функциональные изменения вносят вклад в нарушение целостности кишечного барьера, для которого характерно повышение роли парацеллюлярного транспорта [19].

Существуют доказательства того, что абсорбция ЛПС в кишечнике представляет значимый стимул для увеличения уровня воспалительных цитокинов при ХСН [260, 261]. С другой стороны, повышение уровня TNF- α , IL-6 и вчСРБ признано потенциальным индуктором роста кишечной проницаемости, которая способствует поддержанию порочного круга, во главе которого – интенсификация транслокации ЛПС, приводящая к продукции воспалительных молекул [262]. Так,

некоторые данные говорят о том, что повышение уровня цитокинов (TNF- α , IL-1, IL-6) при ХСН связано с более тяжелыми симптомами и худшим прогнозом выживаемости [263]. В то время как уровень ЛПС имел тенденцию к снижению на фоне диуретической или антибактериальной терапии, плазменный уровень цитокинов не во всех случаях реагировал аналогично, что дает возможность предполагать более стабильный эффект их уровня на развитие заболевания [251, 264]. Доклинические данные позволяют полагать, что упомянутые медиаторы воспаления принимают участие в апоптозе и гипертрофии кардиомиоцитов и фиброзе интерстиция миокарда [265]. Было показано, что повышение уровня IL-1 β или IL-6 связано с ростом кишечной проницаемости, что дополнительно способствует развитию эндотоксемии и становится основой порочного круга, во главе которого – нарушение целостности кишечного барьера [266, 267]. Антагонист рецептора IL-1 β впервые продемонстрировал в крупном рандомизированном клиническом исследовании, что таргетное подавление воспалительного пути может снизить риск возникновения сердечно-сосудистых событий независимо от показателей липидного обмена [268]. В дополнение к противовоспалительному эффекту блокада рецептора IL-1 β может способствовать снижению проницаемости плотных контактов между эпителиоцитами, что имеет положительный эффект в отношении сердечно-сосудистой системы [269, 270]. Одна из последних работ в теме КМ продемонстрировала, что поперечная констрикция аорты у мышей приводила к снижению перфузии кишечника, сопровождающейся нарушением структуры кишечного барьера со снижением уровня окклюдина и активацией транслокации молекул через кишечный барьер, в том числе ЛПС и других маркеров воспаления [271].

Особое место в модификации системного воспаления и сохранении барьерной функции кишечного эпителия играют КЦЖК. Они представляют собой короткие молекулы – первичные продукты ферментирования неперевариваемых пищевых волокон. КЦЖК – один из ключевых продуктов жизнедеятельности бактерий, они участвуют в поддержании и изменении структуры КМ и влияют на иммунные и метаболические процессы организма. КЦЖК в основном

представлены бутиратом, ацетатом, пропионатом и лактатом [272]. Хотя высокие концентрации КЦЖК определяются преимущественно в толстом кишечнике, их уровень также может быть определен в системной циркуляции, что дает им возможность оказывать разнообразие физиологических эффектов. КЦЖК являются ключевыми регуляторами моторики кишечника, продукции слизи и экспрессии белков плотных контактов, которые в совокупности критически важны для поддержания целостности кишечного барьера и предотвращения транслокации бактериальных провоспалительных молекул через стенку кишечника [273]. Особенно важна их роль как энергетического субстрата для эпителиальных клеток кишечника. Так, было показано, что бутират регулирует метаболизм колоноцитов, которые могут утилизировать его в качестве первичного источника энергии [274]. Участие в поддержании целостности эпителиального барьера кишки также было показано для ацетата, который улучшал защитные свойства слизистой оболочки кишечника при инфицировании энтерогеморрагической кишечной палочкой [275]. На модели мышей с индуцированной ангиотензином II АГ было показано, что добавление пропионата в диету способствует развитию противовоспалительного ответа через Т-регуляторные клетки, которые индуцируют секрецию противовоспалительного IL-10. Это снижает локальную инфильтрацию иммунными клетками, таким образом подавляя гипертрофию миокарда, фиброз и сосудистую дисфункцию, а также имеет антигипертензивный эффект [276].

Серия исследований привлекает внимание к роли бутирата в поддержании целостности кишечного эпителия. Это, в первую очередь, опосредовано его регуляторной функцией в отношении белков плотных межклеточных контактов, регулирующих проницаемость межклеточных пространств [277, 278, 279]. Наряду с этим стоит помнить, что первой линией защиты энтеро- и колоноцитов от агрессивного содержимого просвета кишечника является слизь на их поверхности. Было показано, что бутират способствует увеличению продукции муцина бокаловидными клетками на уровне его транскрипции, что обосновывает дополнительный механизм его защитной противовоспалительной функции данной КЦЖК [280]. Результаты клинического исследования позволили сделать вывод о

повышении проницаемости кишечника у пациентов с более высоким систолическим артериальным давлением (АД) [281]. Бутират показал способность улучшать сердечную функцию и подавлять ремоделирование миокарда (гипертрофию и интерстициальный фиброз) через ингибирование активности гистондеацетилазы и повышение экспрессии супероксиддисмутазы-1 [282]. Кардиопротективное действие бутирата было оценено в исследовании, проведенном с участием крыс с лигированием аорты, в результате которого развилась гипертрофия миокарда, окислительный стресс и снижение гемодинамических функций. Применение бутирата привело к снижению выраженности гипертрофии, содержания коллагена в ткани ЛЖ, сердечных маркеров сыворотки и окислительного стресса, что было связано с подавлением активности гистондеацетилазы 1-го класса [283].

Интересные данные были получены в ходе работы, исследовавшей влияние диеты с высоким содержанием пищевых волокон и ацетата на состав КМ и развитие СН у лабораторных мышей с АГ [284]. Удалось выяснить, что высокое содержание пищевых волокон в рационе питания способствовало изменению микробного состава кишечника, а именно увеличивало представленность ацетат-продуцирующих бактерий. Пищевые волокна и ацетат приводили к снижению кишечного дисбиоза (оценивался по отношению *Firmicutes/Bacteroidetes*) и повышению уровня *Bacteroides acidifaciens*. Эти изменения сопровождалось выраженным снижением негативного эффекта минералокортикоидной нагрузки на уровень АД, структуру и функцию почек и миокарда, поддерживая гипотезу о функциональной оси кишечник-почки-сердце. Транскриптомный анализ показал, что протективный эффект питания с высоким содержанием пищевых волокон и ацетата сопровождался down-регуляцией сердечного и почечного фактора транскрипции *Egr1* – ключевого регулятора развития ССЗ посредством почечного и миокардиального фиброза, воспаления и гипертрофии миокарда [285, 286]. Добавление клетчатки также способствовало снижению активности сигнальных путей провоспалительного цитокина ИЛ-1 в почечной ткани. Была показана down-регуляция почечной ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и сигнального

пути МАР-киназы в сердце [284]. Пропионат статистически значимо снижал выраженность ГЛЖ, фиброза, сосудистой дисфункции и АГ у мышей с индуцированной АГ [276].

1.6.2 Особенности состава микробиоты при хронической сердечной недостаточности

Исследования, посвященные изучению микробиоты при СН, отмечают, что для данного синдрома характерно изменение состава КМ в сравнении с контролем. Pasini E. и соавт. (2016) провели анализ КМ культуральным методом у 60 стабильных пациентов с ХСНнФВ, разделенных на равные подгруппы в зависимости от ФК по NYHA, а также 20 пациентов группы контроля. Для оценки кишечной проницаемости использовался двойной сахарный тест, который основан на том, что небольшие молекулы (маннитол, рамноза) проходят через слизистую оболочку кишечника трансцеллюлярным путем, а большие молекулы (лактоулоза, целлобиоза) – парацеллюлярным путем через плотные межклеточные контакты. Таким образом, возрастание экскреции целлобиозы в данном исследовании рассматривалось как свидетельство повышения проницаемости плотных межклеточных контактов. Сравнение бактериального состава стула пациентов с ХСН и здоровых лиц выявило, что для первой группы характерна большая представленность патогенных бактерий, включая *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica* и *Candida*. Кроме того, такие виды, как *Campylobacter*, *Candida* и *Shigella* имели положительную корреляционную связь с тяжестью клинических проявлений СН. Кишечная проницаемость была увеличена у 78,8% пациентов с ХСН в сравнении с контролем ($p < 0,001$). Ученые обнаружили рост кишечной проницаемости и давления в правом предсердии (ПП) по мере увеличения тяжести течения ХСН. Аналогично вчСРБ имел нормальный уровень в группе контроля и достоверно отличался от групп ХСН, достигая своего максимального среднего значения при ХСН III–IV ФК. Статистический анализ доказал, что кишечная проницаемость, давление в ПП и вчСРБ были

взаимосвязаны [287].

Изучение КМ методом секвенирования бактериальной 16S рРНК в популяции больных с ХСНнФВ доказало достоверное снижение индекса α - и β -разнообразия микробного сообщества в сравнении с контрольной группой. Более детальный анализ позволил заключить факт снижения относительной представленности семейств *Coriobacteriaceae*, *Erysipelotrichaceae* и *Ruminococcaceae* и родов *Blautia*, *Collinsella*, неклассифицированных представителей семейств *Erysipelotrichaceae* и *Ruminococcaceae* в основной группе исследования. Таким образом, авторы сделали вывод о потенциальной роли бактерий кишечника в патогенезе и прогрессировании ХСН [288]. Работа, включившая 65 пациентов с ХСНнФВ и 25 пациентов контрольной группы, установила, что у лиц с ХСН, имевших низкую перфузию кишечника, обнаруживались более высокие уровни сывороточных анти-ЛПС-IgA и вчСРБ, что ассоциировалось с избыточным бактериальным ростом по данным биопсии слизистой толстой кишки [289]. Сравнивая группы больных со стабильной и декомпенсированной ХСНнФВ (n=10) и ХСНсФВ (n=12), Hayashi Т. и соавт. (2019) продемонстрировали, что тип *Actinobacteria* и род *Bifidobacterium* имели большую представленность при ХСН в сравнении с контрольной группой, в то время как род *Megamonas* был снижен при ХСН. Плазменные уровни ТМАО оказались достоверно выше у лиц с ХСН в сравнении с группой контроля, показав положительную корреляционную связь с отношением родов *Escherichia/Shigella*. Соотношение последних имело большее значение в ситуации декомпенсации ХСН в сравнении со стабильным течением [290]. Метагеномный и метаболомный анализ в когорте 53 пациентов с ХСНнФВ и 41 здоровых лиц выявили наличие дисбаланса микробного пейзажа в группе ХСН, которое выражалось в увеличении представленности *Ruminococcus gnavus*, *Acinetobacter* и *Veillonella* и снижении данного показателя для *Alistipes*, *Faecalibacterium prausnitzii* и *Oscillibacter*. Наблюдалась активация микробных генов, ответственных за синтез ЛПС и триметиламина (ТМА) при ХСН, в то время как гены, которые играют роль в продукции бутирата, имеющего протективные свойства, были значимо подавлены.

Таким образом, наблюдалась связь между ХСН и дисбалансом в составе представителей микробных сообществ кишечника, вовлеченных в синтез бутирата, ЛПС и ТМА [21]. Впоследствии Kummen M. и соавт. (2018) идентифицировали снижение бактериального разнообразия и относительной представленности 15 таксонов в когорте пациентов со стабильной ХСНнФВ, включая представителей семейства *Lachnospiraceae*, часть из которых известны как продуценты масляной кислоты. Тот факт, что часть родов семейства *Lachnospiraceae* отрицательно коррелировала с маркером активации Т-клеток и макрофагов, позволило заключить, что низкая представленность продуцентов бутирата может быть причастна к хронической иммунной активации, характерной для ХСН [26]. Эти данные подчеркивают потенциальную роль КМ в модуляции процессов воспаления через продукцию КЦЖК при ХСН. Секвенирование гена 16S рРНК в образцах кала 12 пациентов с ХСН (ФВ ЛЖ < 50%) и 12 лиц контрольной группы сопоставимого возраста также доказало наличие признаков дисбиоза КМ, что выразилось в более низкой представленности *Eubacterium rectale* и *Dorea longicatena* в основной группе. Кроме того, пациенты ХСН более старшего возраста имели снижение представленности *Bacteroidetes* и *Faecalibacterium prausnitzii*, но увеличение данного показателя для типа *Proteobacteria* и *Lactobacillus* в сравнении с более молодыми пациентами с ХСН [25]. Японское исследование установило, что относительная представленность *Streptococcus spp.* и *Veillonella spp.* в образцах кала была выше в группе ХСН, чем контрольной, тогда как род *SMB53* оказался достоверно снижен в основной группе по данным секвенирования 16S рРНК [291]. Имеющиеся предварительные данные о составе КМ у пациентов с ХСНсФВ свидетельствуют о наличии ряда различий между группами, среди которых наибольшее значение имела представленность *Prevotella* [27].

1.6.3 Метаболиты микробиоты кишечника, играющие негативную роль в патогенезе хронической сердечной недостаточности

Фокус внимания «кишечной гипотезы» развития СН был сосредоточен на

потенциальной роли отека стенки кишечника, снижении ее барьерной функции, в связи с этим и на циркуляции ЛПС в системном кровотоке, что инициировало процессы системного воспаления и негативно сказывалось на функции миокарда [292]. Однако другим направлением исследований в этой области стало изучение циркулирующих метаболитов, образование которых зависит от состава и функционирования микробного сообщества кишечника, а также характера питания [293, 294].

Было отмечено, что профиль метаболитов крови мышей с деконтаминированным кишечником и мышей, живущих в естественных условиях, имел значимые отличия. Это стало дополнительным импульсом для изучения роли зависимых от микробиоты циркулирующих метаболитов в развитии ССЗ [295, 296]. Одним из ярких примеров такого метаболита является ТМАО [297, 298]. Он образуется из пищевого фосфатидилхолина, холина и L-карнитина, которые в избытке присутствуют в таких пищевых продуктах, как красное мясо, яйца, печень, моллюски. Данные компоненты пищи метаболизируются бактериями кишечника до ТМА, который, достигнув печени через порталный кровоток, подвергается метаболизму флавиновыми монооксидазами с образованием ТМАО [299].

Проведено множество исследований, доказывающих причастность бактерий к образованию ТМАО, однако наиболее показательны работы, в которых применение антибиотиков широкого спектра действия выразилось в снижении уровня данного метаболита. Изначально в фокусе внимания находилось участие ТМАО в развитии атеросклероза, что было показано на примере связи между уровнем данной молекулы и риском возникновения основных сердечно-сосудистых событий в течение 3-х лет исследования [23]. К настоящему времени результаты изучения эффектов ТМАО позволяют сделать вывод о плеiotропизме его влияния на физиологические процессы, включая участие в фиброзе миокарда и почек, а также в активации эндотелиальных и гладкомышечных клеток [24]. Работы в лабораторных условиях позволяют предполагать, что ТМАО может вносить вклад в развитие СН и ремоделирования миокарда. Одно из исследований было

посвящено установлению роли ТМАО в развитии системного вялотекущего воспаления и миокардиальной дисфункции. Результаты наблюдения за двумя группами мышей, которые получали западное и сбалансированное питание соответственно, продемонстрировали, что группа западной диеты имела большую массу тела, выраженность дислипидемии и уровень ТМАО, а при ЭхоКГ выявлялось нарушение систолической и диастолической функции миокарда, морфологической основой которых стали воспаление и фиброз интерстициального пространства. Кроме того, западный стиль питания был связан с более высоким уровнем провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β) и снижением противовоспалительного IL-10. Добавление в рацион мышей ингибитора образования ТМА привело к частичному регрессу фиброза миокарда в «западной» группе при сохранении прежней массы тела и дислипидемии и к снижению уровня ТМАО в обеих группах [300]. Результаты схожей работы показали, что физическая активность способствует снижению уровня ТМАО на фоне западной диеты. При этом происходит снижение уровня миокардиального воспаления (через TNF- α и IL-10) и фиброза (посредством влияния на уровень виментина – маркера фибробластов и интерстициального фиброза миокарда). Одновременно с этим кардиопротективный эффект физической нагрузки при западном стиле питания может быть нивелирован добавлением ТМАО в пищу [301]. Zehua L. и соавт. (2019) удалось получить данные, предполагающие влияние ТМАО на развитие гипертрофии и фиброза миокарда *in vivo* и *in vitro*. Шестинедельная констрикция аорты у мышей с целью индукции гипертрофии миокарда выявила увеличение уровня ТМАО на этом фоне. Кроме того, введение ТМАО в культуру кардиомиоцитов приводило к их гипертрофии и фиброзу интерстиция в отличие от контрольных образцов. В ходе исследования было установлено, что индукция фиброза опосредована активностью сигнального пути TGF- β 1/Smad3. В качестве дополнительного подтверждения в пользу ТМАО-опосредованной бактериальной теории развития фиброза кардиомиоцитов исследователи прибегли к использованию антимикробной терапии, эффект которой выразился в частичном регрессе патологических изменений миокарда ЛЖ. Кроме того, применение

специфического ингибитора белка Smad3 на фоне использования ТМАО выразилось в достоверном снижении экспрессии VNP и тяжелых цепей β -миозина, а также размера кардиомиоцитов. Результаты позволяют предполагать, что подавление кишечных бактерий или образования ТМАО может стать потенциальной мишенью воздействия для профилактики и лечения гипертрофии и фиброза миокарда [302]. Повышенное потребление холина или ТМАО у экспериментальных мышей приводило к развитию патологического ремоделирования миокарда (увеличение степени интерстициального фиброза миокарда) и ухудшению гемодинамических параметров в течение 12 недель после поперечного пережатия аорты [255]. Эта же группа авторов продемонстрировала, что прекращение использования диеты, богатой ТМАО, после пережатия аорты приводило к значимому ослаблению эффектов ТМАО на структуру миокарда в сравнении с группой, которая продолжила прием ТМАО до конца эксперимента [303]. Активация процесса миокардиального фиброза, описанная в данных исследованиях, позволяет предполагать, что для данного морфологического изменения повышенный уровень ТМАО является типичной находкой.

Учитывая, что активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы играет одну из ведущих ролей в патогенезе СН, важны данные о пролонгации эффектов ангиотензина II под действием ТМАО. Данный феномен был показан на примере изучения роли ТМАО в изменении гемодинамических показателей лабораторных мышей, а именно АД [304]. Использование модели доксорубицин-индуцированного фиброза позволило выявить, что добавление ТМАО ухудшает дисфункцию миокарда и увеличивает степень накопления коллагена, а также уровни IL-1 β , TLR4. Последний играет важную регуляторную роль в сигнальном пути инфламмосомы NLRP3. Введение ТМАО в культуру сердечных фибробластов привело к пролиферации, миграции и секреции коллагена в дозозависимой манере посредством сигнального пути TGF- β /Smad3. Помимо этого, ТМАО способствовало активации NLRP3 инфламмосомы и окислительному стрессу в культуре фибробластов. При подавлении NLRP3 инфламмосомы наблюдался протективный эффект в отношении развития фиброза, что может стать одним из

способов его модификации [305]. Авторы другого исследования доказали, что старение способствует увеличению уровня циркулирующего ТМАО, который приводит к сосудистому воспалению, окислительному стрессу и снижению релаксации (посредством увеличения экспрессии провоспалительных цитокинов и снижения экспрессии NO-синтазы эндотелия). Таким образом, это вносит вклад в развитие эндотелиальной дисфункции у крыс старшего возраста. Использование специфического ингибитора ТМАО способствует обратному развитию описанных изменений [306].

Помимо животных моделей, интересные данные о роли ТМАО при ХСН существуют в популяции пациентов. Было установлено, что уровень ТМАО значимо выше в группе ХСН в сравнении с контролем. По результатам 5-летнего наблюдения 720 пациентов со стабильным течением ХСН с ФВ ЛЖ < 50% главным открытием исследовательской группы Tang W. и соавт. (2015) стала прогностическая значимость ТМАО в развитии смертельных исходов (увеличение в 1,8 раза), которая не зависела от уровней BNP, вчСРБ, СКФ, традиционных факторов риска или этиологии СН. Ученые выяснили, что лица с повышенным уровнем BNP и ТМАО имели худший прогноз в сравнении с подгруппой, в которой наблюдались только высокие значения BNP при нормальном диапазоне ТМАО. Эти результаты служат дополнительным подтверждением роли метаболитов КМ при ХСН [293]. Кроме того, высокий уровень ТМАО в когорте пациентов с ХСНнФВ положительно коррелировал с показателями функции диастолы, а именно индексом объема левого предсердия (ЛП), E/e', но не систолы, что привело исследователей к гипотезе, что данный метаболит может изменять тканевые механизмы развития ДД ЛЖ [307]. Одна из последних работ, включившая пациентов с ХСНнФВ (n=428) и ХСНсФВ (n=395), установила, что обе группы имели достоверно более высокий уровень ТМАО в сравнении с контролем. Однако предсказательная ценность данного микробного метаболита в отношении общей и сердечно-сосудистой смертности была характерна только для группы ХСНнФВ, причем с ростом уровня ТМАО отмечалось ухудшение прогноза пациентов. Более того, были подтверждены данные о лучшей прогностической значимости ТМАО в

сравнении с BNP для данной группы больных после коррекции на традиционные факторы риска [308]. Исследование BIOSTAT-CHF (биологическое исследование персонализированной терапии ХСН) впервые изучило влияние актуальной медикаментозной терапии на уровень ТМАО и обнаружило, что лечение ХСН по канонам современных рекомендаций не влияет на уровень ТМАО. Кроме того, пациенты, имеющие в начале исследования и в периоде наблюдения более низкий уровень ТМАО, демонстрировали лучшую выживаемость, тогда как высокий уровень ТМАО до и в процессе лечения соответствовал высокому уровню смертности [309]. Возрастает число работ, изучающих влияние пробиотиков на ремоделирование миокарда, в том числе посредством изменения уровня ТМАО [310, 311]. В трехмесячном исследовании применение пробиотика *Saccharomyces boulardii* у пациентов с ХСНсФВ привело к снижению уровня маркеров системного воспаления и улучшило систолическую функцию миокарда [312].

С учетом ограниченных возможностей лечения пациентов с ХСНсФВ, представляется перспективным расширение знаний о потенциальных факторах, вносящих вклад в патогенез и прогрессирование данного состояния. На основании описанных данных можно предположить, что одним из связующих компонентов между патогенезом ХСНсФВ и дисбиозом кишечника может выступать системное вялотекущее воспаление, которое опосредует развитие фиброза миокарда. Вероятно, КМ может стать потенциальной мишенью влияния на развитие и прогрессирование ХСНсФВ посредством модификации ее состава и метаболизма.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

Работа была выполнена на базе отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России. В соответствии с задачами было проведено неинтервенционное одномоментное исследование согласно представленному алгоритму (Рисунок 1). Оно включило 76 участников, среди которых 42 больных с ХСНсФВ в основной группе и 34 пациента контрольной группы, наблюдавшихся в поликлинике или стационаре ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России. Включение пациентов в исследование проводили последовательно в период с мая 2018 г. по декабрь 2019 г. Протокол исследования был рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России.

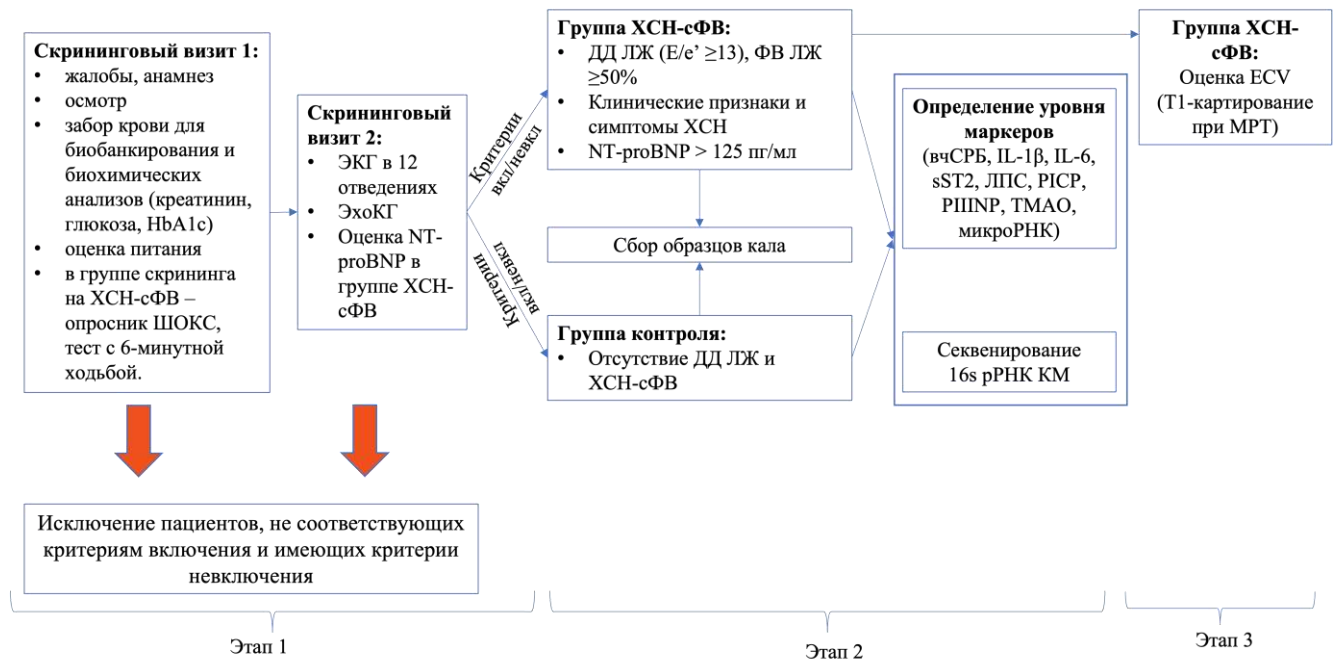


Рисунок 1 – Дизайн исследования.

Примечание: HbA1C – гликированный гемоглобин, ЭКГ – электрокардиография.

Предварительное обследование и набор пациентов

На этапе скрининга пациентам предоставлялась детальная информация о сути исследования, после чего они подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании, согласие на обработку персональных данных, согласие на биобанкирование крови и анализ кала. Форма информированного согласия была одобрена локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России перед началом исследования. Оригинал подписанного согласия на участие находится на хранении в индивидуальной папке каждого пациента. Конфиденциальность персональных данных пациентов была обеспечена использованием сквозных буквенно-цифровых кодовых номеров для идентификации пациентов в компьютерной базе данных. В случае выявления критерия невключения, несоответствия критериям включения или отказа пациента от дальнейшего участия в исследовании пациент выбывал из протокола на любом этапе.

Критериями включения в группу ХСНсФВ считались: наличие клинических признаков ХСН, выявление по данным ЭхоКГ ФВ ЛЖ $\geq 50\%$ и ДД миокарда ЛЖ ($E/e' \geq 13$), повышение уровня NT-proBNP > 125 пг/мл у лиц обоих полов в возрасте 18–79 лет, а также подписание информированного согласия на участие в исследовании.

Критериями включения в группу контроля были: отсутствие симптомов и признаков ХСН и ДД ЛЖ по данным ЭхоКГ у лиц обоих полов в возрасте 18–79 лет, а также подписание информированного согласия на участие в исследовании.

Критериями невключения для обеих групп были: возраст < 18 лет и ≥ 80 лет, индекс массы тела (ИМТ) ≥ 35 мг/м², СКФ < 30 мл/мин/1,73м² по формуле СКД-ЕРІ, аллергическая реакция на гадолиний-содержащие контрастные вещества в анамнезе, СД (диагностировался при уровне тощачковой глюкозы в венозной плазме $\geq 7,0$ ммоль/л или гликированного гемоглобина HbA_{1c} $\geq 6,5\%$), курение или отказ от курения ≤ 10 лет назад, ХОБЛ средней, тяжелой и крайне тяжелой степени тяжести в анамнезе, бронхиальная астма тяжелой и средне тяжелой степени тяжести по данным анамнеза, иные причины ДД ЛЖ (гипертрофическая

кардиомиопатия, дилатационная кардиомиопатия, рестриктивная кардиомиопатия: первичная, амилоидоз, болезни накопления гликогена, гемохроматоз, саркоидоз, радиационное или лекарственное поражение сердца, констриктивный перикардит), признаки нарушения локальной сократимости миокарда при ЭхоКГ, постоянная форма ФП, системные заболевания соединительной ткани, онкологические заболевания без радикального излечения, перенесенные острые инфекционные заболевания или обострение хронических в течение 2-х недель до включения в исследование, беременность и период лактации, воспалительные заболевания кишечника (ВЗК): болезнь Крона, язвенный колит в анамнезе, а также прием антимикробных, пробиотических препаратов или системных глюкокортикостероидов в течение последних 3-х месяцев до включения в исследование.

Обследование пациентов в рамках научной работы состояло из трех этапов.

На первом этапе (скрининг) в рамках первого скринингового визита проводился анализ историй болезни и амбулаторных карт, сбор жалоб и данных анамнеза, физикальный осмотр (оценка общего состояния пациента, состояния кожных покровов, зева, лимфатических узлов, щитовидной железы, легких, сердца, сосудов, органов брюшной полости, почек, измерение частоты сердечных сокращений (уд/мин), АД (мм рт.ст.), роста (см) и взвешивание пациента с последующим расчетом ИМТ, измерение охвата талии и бедер, анализ характера питания. Кандидатам на включение в основную группу исследования проводилась оценка тяжести клинического состояния по ШОКС в модификации Мареева В. Ю. (2000 г.) и определение ФК ХСН на основании результатов ТШХ. Всем пациентам проводился забор крови натощак для лабораторной оценки биохимических показателей и биобанкирования. Расчет СКФ был основан на использовании формулы СКД-ЕРІ (единица измерения – мл/мин/1,73м²).

На основании результатов анамнеза, физикального и лабораторного обследования принималось решение о продолжении участия пациента в дальнейшем обследовании или о его исключении при несоответствии критериям включения и невключения.

На втором скрининговом визите всем пациентам были выполнены электрокардиография (ЭКГ) в 12 отведениях (для оценки сердечного ритма и признаков перенесенного инфаркта миокарда) и трансторакальная ЭхоКГ (с применением доплеровского исследования трансмитрального потока и тканевой доплерографии). В группе, соответствующей эхокардиографическим критериями ДД ЛЖ, проводилась оценка уровня NT-proBNP. Полученные в ходе этих исследований результаты стали основой стратификации участников на две группы исследования: пациентов с ХСНсФВ и пациентов контрольной группы.

На втором этапе после определения в группу обследования участникам был проведен сбор образцов кала и основные лабораторные методы обследования: анализ состава КМ методом секвенирования 16S рРНК, оценка уровня молекулярных и экспрессии генетических маркеров фиброза миокарда, а также уровня маркеров системного вялотекущего воспаления и эндотоксемии.

Третий этап заключался в выполнении МРТ с контрастированием гадолинием и T1-картированием миокарда левого желудочка пациентам в группе ХСНсФВ на базе государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского».

2.2 Методы специальных исследований

2.2.1 Методы общеклинических исследований

Антропометрия. Измерение роста происходило с использованием ростомера с точностью до 1 см. Масса тела измерялась с помощью напольных весов Tanita BC-351 с точностью до 1 кг. Для оценки ИМТ использовалась формула Кетле: [ИМТ = масса тела (кг)/рост (м²)]. Пациентов с ИМТ ≥ 35 кг/м² не включали в исследование. Окружность талии определялась в положении стоя (на пациентах было только нижнее белье, точкой измерения являлась середина расстояния между вершиной гребня подвздошной кости и нижним боковым краем ребер), мерную

ленту держали горизонтально. Окружность бедер определялась в положении стоя (на пациентах было только нижнее белье, измерение проводили ниже больших бедренных бугров, мерную ленту держали горизонтально).

Измерение АД. Измерение АД проводилось по методу Короткова не менее двух раз в положении сидя с интервалом не менее 1 минуты с использованием тонометра Omron M2 Classic. В ситуации, если АД различалось на ≥ 5 мм рт.ст., проводилось повторное измерение после отдыха не менее 5 минут.

Оценка характера питания. Проводилась с помощью опросника The Healthy Eating Index 2015 (Индекс здорового питания 2015) [313]. Данный опросник создан для оценки соответствия структуры питания пациента американским диетическим рекомендациям, актуальным для периода 2015–2020 гг. Он представляет собой набор компонентов рациона, который в зависимости от соответствия стандартам для минимального и максимального балла по каждому пункту оценивается от 0 до 5 (для позиций общее потребление фруктов, потребление целых фруктов, потребление овощей, потребление зелени и бобовых, потребление белковых продуктов, потребление морских продуктов и источников растительного белка) или от 0 до 10 (для позиций потребление цельнозерновых культур, потребление молочных продуктов, потребление жирных кислот, потребление обработанных злаков, потребление соли, потребление добавленных сахаров, потребление насыщенных жиров). Таким образом, в результате заполнения опросника пациент может набрать от 0 до 100 баллов.

Шкала оценки клинического состояния у больных ХСН (модификация Мареева В.Ю., 2000) [314]. Оценку тяжести клинических проявлений ХСН проводили при помощи ШОКС. Данная шкала включает 10 пунктов: одышка, жалобы на перебои в работе сердца, положение больного в постели, уровень систолического АД, изменение массы тела за последнюю неделю, набухание шейных вен, хрипы в легких и ритм галопа при аускультации, гепатомегалия, отеки. Каждому ответу в зависимости от результата присваивается определенное количество баллов, которые суммируются. Определенная сумма баллов ШОКС соответствует степени тяжести ХСН: ≤ 3 баллов – I ФК; 4-6 баллов – II ФК; 7-9

баллов – III ФК; >9 баллов – IV ФК.

Тест с шестиминутной ходьбой проводили в размеченном для этой цели коридоре (длина 50 метров) по стандартной методике [315]. Исследование проводили в утренние часы. Больному с ХСН-сФВ объяснялись правила проведения теста: за 6 минут необходимо было пройти по коридору в приемлемо быстром темпе максимально возможную дистанцию. При этом нельзя было бежать или перемещаться перебежками. При появлении одышки или слабости пациенту разрешалось замедлить темп ходьбы или остановиться, чтобы затем продолжить ходьбу (затраченное на отдых время включали в общий зачет). При появлении выраженной одышки, головокружения или тяжелого приступа стенокардии тест прекращали досрочно. По истечении 6 минут отмеряли пройденную дистанцию, на основании которой определяли функциональные возможности пациента. Соответствие результатов ТШХ ФК ХСН по NYHA было следующим [316]: 426–550 м соответствовало I ФК, 301–425 м соответствовало II ФК, 151–300 м соответствовало III ФК, менее 150 м соответствовало IV ФК.

ЭКГ. Исследование проводилось для оценки ритма сердца и исключения рубцовых изменений миокарда перед выполнением ЭхоКГ на электрокардиографе Schiller Cardiovit AT-10 (Швейцария) с регистрацией 12 отведений в положении пациента лежа на кушетке после не менее 10 минут пребывания в состоянии покоя, скорость движения ленты составила 25 мм/сек.

2.2.2 Метод трансторакальной эхокардиографии

Комплексное трансторакальное ультразвуковое исследование сердца выполняли на ультразвуковой системе Phillips iE-33 (Нидерланды) с помощью трансторакального датчика X5-1 с частотой излучения 5 МГц в покое в положении лежа на левом боку согласно рекомендациям Американской ассоциации эхокардиографии. Изображения регистрировали в М- и В-режимах, а также в импульсно-волновом, постоянно-волновом, цветном и тканевом доплеровском режимах с последующим анализом параметров работающего сердца больного в

реальном масштабе и времени. Запись исследования была синхронизирована с ЭКГ с целью определения фаз сердечного цикла. Обследование проводили из парастернального доступа по длинной и короткой осям, из верхушечного доступа в четырех- и двухкамерной позиции. Конечно-диастолический и конечно-систолический размеры (КДР и КСР) ЛЖ измеряли на уровне хорд митрального клапана по стандартной методике: КДР ЛЖ рассчитывали как расстояние от эндокарда задней стенки ЛЖ до левой эндокардиальной поверхности межжелудочковой перегородки (МЖП) в момент записи зубца R на синхронно регистрируемой ЭКГ; КСР ЛЖ определяли аналогичным образом в момент записи нисходящего колена зубца T на ЭКГ. Из этой же позиции в диастолу по длинной оси ЛЖ в В- и М-режимах проводили измерение толщины МЖП, задней стенки ЛЖ, стенки и размера ПЖ, размера ЛП, ударного объема ЛЖ, конечно-систолического объема (КСО) и КДО ЛЖ. Масса миокарда ЛЖ (ММЛЖ) определялась в автоматическом режиме по результатам измерения стенок ЛЖ в описываемой позиции. Индекс ММЛЖ в $г/м^2$ определялся путем деления ММЛЖ на площадь поверхности тела. В четырехкамерной позиции апикального доступа оценивали размеры ПП, ЛП, объем и индекс объема ЛП (последний определяли в $мл/м^2$ путем деления объема ЛП на площадь поверхности тела). ФВ ЛЖ рассчитывалась по модифицированной формуле Симпсона.

Оценка локальной сократимости ЛЖ проводилась в В- и М-режимах. Измерение размера дуги аорты проводилось из супрастернальной позиции, корня аорты – из продольной парастернальной позиции. В ходе исследования исключалось наличие врожденных пороков сердца. Для оценки функции клапанного аппарата использовались импульсно-волновой, постоянно-волновой и цветной доплерографические режимы. Проводилось исключение врожденных пороков сердца, оценка полости перикарда, изменение систолического и диастолического давлений в легочной артерии (СДЛА, ДДЛА).

Для оценки диастолической функции ЛЖ выполняли доплеровское исследование трансмитрального кровотока (импульсно-волновое и тканевое), визуализированного из апикального доступа четырехкамерной позиции.

Проводилось измерение следующих показателей: максимальной скорости трансмитрального кровотока в фазу раннего диастолического наполнения (пик E), см/с; максимальной скорости трансмитрального кровотока в фазу позднего диастолического наполнения (пик A), см/с, их соотношения E/A. Последнее в норме составляет 1,0–1,5. Также оценивали отношение E/e' – одного из показателей, демонстрирующих повышение давления наполнения ЛЖ, который представляет собой отношение максимальной скорости раннего диастолического наполнения ЛЖ (пик E) к максимальной скорости движения фиброзного кольца митрального клапана в раннюю диастолу на уровне МЖП (e'), см/с. При значениях $E/e' \geq 13$ давление наполнения ЛЖ считали повышенным; при $E/e' < 8$ – нормальным.

2.2.3 Забор крови и проведение скрининговых лабораторных исследований

Забор крови и скрининговые лабораторные исследования осуществлялись в ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России. Образцы периферической (венозной) крови собирались в асептических условиях с использованием стерильных игл и переходников утром, натощак (не менее 6–12 часов после последнего приема пищи) в процедурном кабинете, в условиях физиологического покоя из локтевой вены с соблюдением правил асептики и антисептики в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) и с разделительным гелем.

Для анализа глюкозы крови (ммоль/л) и креатинина (мкмоль/л) (реактивы Abbot Laboratories, США) использовалась сыворотка из крови, забранной в пробирку для биохимических исследований с разделительным гелем, которая прошла центрифугирование с охлаждением в течение 15 минут на приборе Eppendorf Centrifuge 5702R. Результаты были получены с использованием анализатора Architect c8000 (США) согласно инструкциям производителя. Определение HbA1c выполнено с использованием цельной крови, собранной в пробирку с ЭДТА, с применением анализатора Architect c8000 (США) и реактива Hemoglobin A1C (Abbot Laboratories, США). Диапазон измерений: 4,0% – 14,0%.

Для количественного определения NT-proBNP методом ИФА использовали наборы реактивов NT-proBNP (Вектор-бест, Россия) и фотометр для ИФА Multiscan FC (Thermo Fisher Scientific, США) со встроенным термостатом и шейкером. Диапазон измерений: 0–2000 пг/мл. Чувствительность: 20 пг/мл. Метод определения основан на одностадийном твердофазном иммуноферментном анализе с применением двух типов моноклональных антител к NTproBNP.

2.2.4 Получение образцов сыворотки и плазмы крови для биобанкирования

Образцы периферической венозной крови собирались в асептических условиях с использованием стерильных игл и переходников в маркированные уникальными индексами пробирки типа «BD Vacutainer». Взятие крови осуществлялось утром, натощак (не менее 6–12 часов после последнего приема пищи), в процедурном кабинете, в положении пациента сидя или лежа, в условиях физиологического покоя, из локтевой вены с соблюдением правил асептики и антисептики. Забор крови осуществляли в пробирку с разделительным гелем для получения сыворотки крови и в пробирку с ЭДТА для получения плазмы с ЭДТА. Пробирки для получения сыворотки крови выдерживали при комнатной температуре в течение 30–60 минут, далее центрифугировали. Остальные пробирки центрифугировали через 20–30 минут после взятия крови. Центрифугирование осуществлялось с использованием центрифуги Centrifuge 5702 R с охлаждением. После центрифугирования, используя автоматическую пипетку с одноразовыми наконечниками 100–1000 мкл, образцы разливали в маркированные криопробирки по 500 и 1000 мкл, далее все полученные образцы переносили в морозильную камеру для хранения при температуре -70°C . Перед исследованием образцы размораживали при комнатной температуре.

2.2.5 Процедура отбора кала пациентом

В соответствии с единым протоколом всем участникам был выдан стерильный контейнер с крышкой и накладкой на унитаз для сбора кала, проведен инструктаж по сбору кала и его хранению. За 24 часа до сбора кала участники воздерживались от интенсивных физических нагрузок, приема алкоголя и изменений в питании. В течение 2-х недель до сбора кала пациенты не должны были использовать слабительные или ректальные свечи. Во время дефекации не допускалось попадание мочи и туалетной бумаги в контейнер. После дефекации контейнер извлекался из отверстия накладки, герметично закрывался крышкой, пациент производил его упаковку в пакет с данными о его индивидуальном регистрационном номере в исследовании в соответствии с буквенно-цифровым кодом и набор готовился к транспортировке с соблюдением определенных условий хранения в холодильной камере при температуре до +8 °С не более 2-х часов, после чего осуществлялась его доставка в сумке-холодильнике с хладоэлементами в течение не более 2-х часов в лабораторию на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ЦСП» ФМБА России), где осуществлялась пробоподготовка, выделение ДНК и последующая подготовка библиотек и секвенирования.

2.2.6 Иммуноферментный анализ маркеров фиброза миокарда и системного вялотекущего воспаления, метаболитов микробиоты

Для количественного определения вЧСРБ в сыворотке крови обеих групп методом ИФА использовали фотометр Multiscan FC (Thermo Fisher Scientific, США) и набор реактивов вЧСРБ («Вектор-БЕСТ», Россия). Диапазон измерений: 0,00–10,00 МЕ/л. Чувствительность: 0,05 МЕ/л.

ИФА-анализ провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6), ЛПС, маркеров

фиброза сердечной мышцы (PCRP, PIPNP и sST2) и ТМАО в группах ХСНсФВ и контроля проводился согласно методикам, рекомендованным производителями реактивов с использованием ИФА-ридера Multiskan-MS (Thermo Labsystems, Финляндия).

Для количественного определения IL-1 β в сыворотке крови пациентов обеих групп был использован реактив IL-1 β (Cloud-Clone Corp., США). Диапазон измерений 15,6–1000,0 пг/мл. Чувствительность: 5,7 пг/мл.

Для количественного определения IL-6 в сыворотке крови пациентов обеих групп был использован реактив IL-6 (Cloud-Clone Corp., США). Диапазон измерений 7,8–500,0 пг/мл. Чувствительность: 3,2 пг/мл.

Для количественного определения PCRP в сыворотке крови пациентов обеих групп был использован реактив фирмы Novus Biologicals, США. Диапазон измерений 62,5–4000 пг/мл. Чувствительность: 37,5 пг/мл.

Для количественного определения PIPNP в сыворотке крови пациентов обеих групп был использован реактив производства Cloud-Clone Corp., США. Диапазон измерений 1,56–100 нг/мл. Чувствительность: 0,6 нг/мл.

Для количественного определения sST2 в сыворотке крови пациентов обеих групп был использован реактив Critical Diagnostics, США. Диапазон измерений 3,1–200,0 нг/мл. Чувствительность: 1,8 нг/мл.

Количественное определение ТМАО в сыворотке крови пациентов обеих групп проводилось методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией на оборудовании Agilent 6460C QQQ UPLC-MS/MS (Agilent, Santa Clara, США). Хроматографическая сепарация проводилась с использованием Agilent 1260 Infinity II HILIC column (Agilent, США). Был использован реактив (Cloud-Clone Corp., США) с диапазоном измерений 123,5–10,000 пг/мл и чувствительностью 52,9 пг/мл.

Для количественного определения ЛПС в сыворотке крови пациентов обеих групп был использован хромогенный метод – LAL-тест (Limulus Amebocyte Lysate) и набор реактивов Hycult Biotech (Голландия). Диапазон измерений 0,01–10,0 мМЕ/мл.

2.2.7 Количественная оценка уровня циркулирующих микроРНК

В сыворотке крови испытуемых обеих групп исследования на базе ФГБУ «ЦСП» ФМБА России изучались циркулирующие микроРНК (miRNA-183-3p, miRNA-193b-3p, miRNA-21-3p и miRNA-545-5p). Общая РНК была выделена из сыворотки, используя реагент TRIzol LS reagent (Invitrogen; Thermo Fisher Scientific, США) на основании протокола, предоставленного производителем. Обратная транскрипция проводилась с применением общей РНК с использованием оборудования TaqMan™ MicroRNA Reverse Transcription Kit (Fermentas; Thermo Fisher Scientific, США) наряду со специфичными праймерами обратной транскрипции. Количественная полимеразная цепная реакция проводилась с использованием термоциклера StepOnePlus (Applied Biosystems, США).

2.2.8 Анализ микробиоты кишечника

Выделение ДНК, подготовка библиотек и секвенирование 16S рРНК.

Было проведено выделение ДНК из образцов кала, подготовка библиотек секвенирования. Для пробоподготовки была использована методика селективного захвата регионов V3-V4 гена 16S рибосомальной РНК бактерий. Амплификация фрагментов переменных регионов V3-V4 гена 16S рРНК бактерий была проведена с использованием универсальных праймеров:

5'-CCTACGGGNGGCWGCAG,

3'-GACTACHVGGGTATCTAATCC.

Анализ V3-V4 региона 16S рРНК просветной микробиоты проведен на высокопроизводительном секвенаторе Illumina MiSeq (производитель – США) методом парно-концевого чтения (2x230 п.о.) с суммарным покрытием не менее 10000 пар ридов на образец.

Биоинформатическая обработка. Биоинформатическая обработка данных секвенирования выполнялась с применением автоматизированного алгоритма, который включал оценку качества данных (FASTQC, MULTIQC), удаление ридов

низкого качества, триммирование праймеров (QIIME2 cutadapt), определение вариантов последовательностей ампликонов (ASV), фильтрация химерных прочтений (QIIME2 DADA2), а также выравнивание прочтений на референсные таксономические последовательности (HITdb v1.00).

2.2.9 T1-картирование миокарда в рамках магнитно-резонансной томографии сердца

До проведения МРТ сердца с гадолинием для получения результатов T1-картирования всеми пациентами из группы ХСНсФВ было подписано информированное согласие с ходом исследования и введением гадолиний-содержащего контраста.

Исследование было проведено на магнитно-резонансном томографе General Electric Optima MR 450w GEM (производитель – США) с напряжением магнитного поля 1,5 Тл с применением поверхностной кардиальной принимающей 32-х канальной катушки. Исследование сердца выполнялось по стандартной программе функционального и морфологического исследования до и после раннего и отсроченного контрастного усиления. Применялся контрастный препарат – гадопентетовая кислота в дозировке 0,2 мл/кг веса пациента.

Картирование миокарда выполнялось по методике получения изображения 2D MOLLI (3-3-5) с толщиной среза 8 мм по короткой оси, через середину базального, среднего и апикального сегментов.

Ход исследования состоял в следующем: после серии обзорного и аксиального сканирования грудной клетки выполнялась серия функционального исследования Fiesta-CINE в стандартных осях (двухкамерная, четырехкамерная длинная ось), далее серия нативного (доконтрастного) T1-картирования, за которым следовало введение контрастного препарата в необходимой дозировке с серией T1 PS MDE (phase sensitive myocardial delayed enhancement) по длинной двухкамерной и четырехкамерной осям и дальнейшей функциональной серией изображений двух камер по короткой оси. На 10 минуте от введения контрастного

препарата была получена серия отсроченных постконтрастных изображений по методике T1 PS MDE по короткой двухкамерной оси. На 18–20 минуте после введения контрастного препарата осуществлялась серия отсроченного постконтрастного картирования.

Оценка результатов картирования выполнялась с полуавтоматической сегментацией миокарда, коррекцией смещения от движения, расчетом времени релаксации T1 до (Рисунок 2) и после контрастного усиления, а также расчетом ECV (%) на перечисленных уровнях с коррекцией результатов по значению гематокрита в программном обеспечении CVI42 (Circle Cardiovascular Imaging Inc. Calgary, AB, T2P 3T6, Канада).

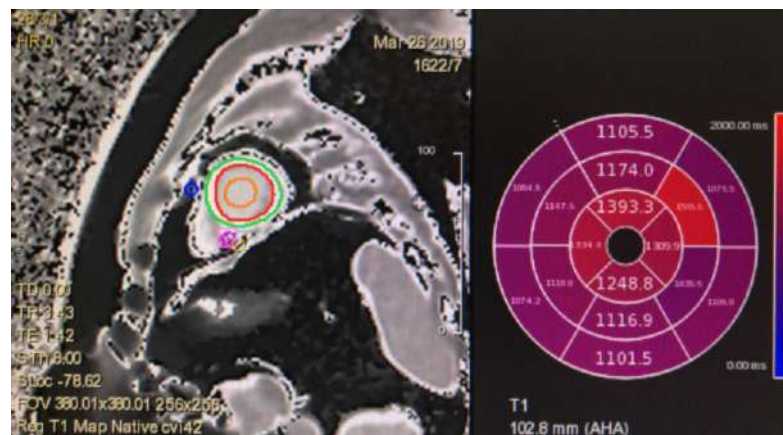


Рисунок 2 – Доконтрастный анализ данных T1-картирования миокарда ЛЖ. Получение цифровых значений времени релаксации T1, отражающих признаки диффузного интерстициального фиброза миокарда ЛЖ.

2.3 Статистический анализ

Фильтрация ридов и классификация по таксонам проводились при помощи программного комплекса QIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology). Результатом классификации стало число пришедшихся на операционные таксономические единицы (от англ. operational taxonomic units) ридов.

Статистическая обработка проведена с помощью среды анализа данных R 3.5.1. Для количественных показателей с ненормальным распределением

вычисляли медиану (Me) и интерквартильный размах (25-й процентиль; 75-й процентиль), результаты представлены как Me [25%; 75%]; для порядковых признаков, таких как балльные шкалы, приводились среднее и стандартное отклонение; для качественных признаков приводились абсолютное количество значений и доля.

Сравнительный анализ для количественных и порядковых признаков проводился при помощи критерия Манна-Уитни (2 группы). Поправка на ковариаты при сравнительном анализе подгрупп для количественных признаков проводилась при помощи модели линейной регрессии. Индикатор подгруппы включался в модель как фиктивная переменная, ковариатами выступали пол, возраст, ИМТ, прием антигипертензивной терапии, статинов и антиагрегантов. Целевой переменной являлся исследуемый признак, от которого взята функция $\log(x+1)$. Сравнительный анализ качественных признаков проведен с использованием точного теста Фишера.

Для оценки ассоциации показателей относительной представленности КМ и маркеров использована корреляция Спирмена. Учет ковариат при оценке ассоциации относительной представленности КМ и маркеров сделан при помощи модели логистической регрессии. Показатели относительной представленности КМ и маркеры были дискретизированы относительно выборочной медианы. Дискретизированные показатели относительной представленности КМ использованы как фиктивные переменные, дискретизированные маркеры – как целевые переменные. В качестве ковариат включены пол, и возраст. Для переменных в моделях линейных и логистических регрессий приведены соответственно оценки бета-коэффициентов и отношений шансов (ОШ) с соответствующими 95% доверительными интервалами (ДИ). Уровень значимости принят $<0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Основные характеристики пациентов

В исследование включили 42 пациента с ХСНсФВ (24 мужчины и 18 женщин) в возрасте от 46 до 79 лет (медиана и интерквартильный размах – 67,0 [64,0; 71,5] лет). Среди больных ХСНсФВ преобладали мужчины в возрасте от 60 до 69 лет (40,5%) и женщины возрастной категории ≥ 70 лет (26,2%). Доля пациентов в возрасте < 50 лет не превышала 4,76%, а в возрасте ≥ 70 лет – приближалась к 34,0%. Контрольную группу составили 34 пациента без признаков нарушения диастолы при эхокардиографии (14,7% мужчин) в возрасте от 56 до 76 (65,0 [62,0; 69,0]) лет. Доля пациентов в возрасте < 60 лет не превышала 14,7%, в то время как доля лиц в возрасте ≥ 70 лет составляла 23,5%. Медианы возраста пациентов исследованных групп были сопоставимы ($p=0,2$).

При включении в исследование у всех участников оценивали метаболический статус и наследственный анамнез (Таблица 1). Сравнение показателей, отражающих метаболический статус (ИМТ, окружность талии и бедер) у пациентов двух групп выявило статистически значимо большую окружность талии в основной группе исследования (103,5 [95,2; 110,2] см в сравнении с группой контроля, где данный показатель был 90,0 [85,2; 99,5] см, $p<0,001$), а также большее значение ИМТ в основной группе (30,2 [26,7; 33,3] кг/м²) в сравнении с контрольной (26,2 [21,8; 28,4] кг/м², $p=0,014$), в то время как окружность бедер была сопоставима в сравниваемых группах. При этом доли пациентов, имеющих нормальную и избыточную массу тела в группах исследования, статистически значимо не различались. Среди пациентов с ХСНсФВ было статистически значимо больше лиц с ожирением I степени (50,0%). Наследственная предрасположенность к развитию ССЗ статистически значимо чаще встречалась в группе ХСНсФВ (92,9% в сравнении с 70,6% в группе контроля, $p=0,014$). Клинические признаки ХСН имели место у всех обследованных пациентов основной группы. Среди них все 100% пациентов жаловались на

одышку при физической нагрузке, у 35,7% наблюдалась пастозность или отеки нижних конечностей, у 38,1% – перебои в работе сердца. Однако проявления ХСН у этих больных имели преимущественно легкую степень тяжести: большинство пациентов (69,0%) имели I ФК по NYHA, 31,0% пациентов были отнесены ко II ФК по NYHA, а медиана и интерквартильный размах дистанции, пройденной в ТШХ, составили 434,5 [417,0; 441,0] метра. Число баллов по ШОКС варьировало от 2-х до 4-х и составило 3,0 [2,0; 3,0] балла.

Таблица 1 – Основные характеристики пациентов с ХСНсФВ и контрольной группы (n=76)

Показатель	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	<i>p</i>
Возраст, лет	67,0 [64,0; 71,5]	65,0 [62,0; 69,0]	0,200 ¹
Мужской пол, n (%)	24 (57,1%)	5 (14,7%)	<0,001 ²
ИМТ, кг/м ²	30,2 [26,7; 33,3]	26,2 [21,8; 28,4]	0,014 ¹
Масса тела, n (%): нормальная	10 (23,8%)	14 (41,2%)	0,138 ²
избыточная	11 (26,2%)	16 (47,1%)	0,090 ²
ожирение I степени	21 (50,0%)	4 (11,7%)	<0,001 ²
Окружность талии, см	103,5 [95,2; 110,2]	90,0 [85,2; 99,5]	<0,001 ¹
Окружность бедер, см	109,5 [105,0; 116,8]	104,5 [102,0; 111,8]	0,059 ¹
Наследственная предрасположенность к ССЗ, n (%)	39 (92,9%)	24 (70,6%)	0,014 ²
Функциональный класс ХСН по NYHA, n (%)			
I	29 (69,0%)	–	–
II	13 (31,0%)	–	–
ШОКС, баллы	3,0 [2,0; 3,0]	–	–
Дистанция, пройденная в ТШХ, м	434,5 [417,0; 441,0]	–	–

Примечание: ¹ – на основании критерия Манна-Уитни, ² – на основании точного теста Фишера.

Часть клинических характеристик пациентов исследуемых групп оказалась различной (Таблица 2). Основная этиология ХСНсФВ ЛЖ у пациентов данной группы была АГ III стадии и встречалась у 100% пациентов, в то время как в контрольной группе АГ была диагностирована в 64,7% случаев ($p<0,001$) и относилась преимущественно к I стадии. Стоит отметить, что в обеих группах у пациентов отсутствовал факт проведения чрескожного коронарного вмешательства в анамнезе. Одновременно с этим в группе ХСНсФВ доли лиц с диагностированной ФП (47,6%) и радиочастотой или криобаллонной аблацией ФП (21,4%) в анамнезе были статистически значимо выше контрольной ($p<0,001$ и $p=0,003$ соответственно), в которой подобные пациенты не встречались. Распространенность мозгового инсульта в анамнезе не была статистически значимо различна среди пациентов сравниваемых групп. Медианы значений систолического и диастолического АД ($p=0,001$ и $p=0,002$), а также HbA1c и креатинина ($p=0,001$ и $p=0,002$) имели статистически значимо большее значение в основной группе исследования. Одновременно с этим медианы значений глюкозы и СКФ оказались сопоставимы в изученных группах.

Таблица 2 – Клиническая характеристика пациентов групп ХСНсФВ и контроля (n=76)

Показатель	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	<i>p</i>
АГ, n (%)	42 (100,0%)	22 (64,7%)	<0,001²
ФП в анамнезе, n (%)	20 (47,6%)	0 (0,0%)	<0,001²
Радиочастотная или криобаллонная аблация ФП, n (%)	9 (21,4%)	0 (0,0%)	0,003²
Инсульт в анамнезе, n (%)	1 (2,4%)	0 (0,0%)	1,000 ²
Чрескожное коронарное вмешательство в анамнезе, n (%)	0	0	–
Систолическое АД, мм рт. ст.	145,0 [130,0; 150,0]	130,0 [121,2; 140,0]	0,001¹
Диастолическое АД, мм рт. ст.	90,0 [80,0; 90,0]	80,0 [80,0; 90,0]	0,002¹

Продолжение таблицы 2

Глюкоза, ммоль/л	5,5 [5,2; 6,0]	5,4 [5,1; 5,6]	0,065 ¹
HbA1c, %	5,4 [5,2; 5,7]	5,2 [5,0; 5,3]	<0,001 ¹
Креатинин, мкмоль/л	82,0 [69,2; 89,8]	69,0 [65,2; 75,5]	0,002 ¹
СКФ, мл/мин/1,73м ²	75,2 [68,1; 87,6]	79,0 [72,0; 84,8]	0,564 ¹

Примечание: ¹ – на основании критерия Манна-Уитни, ² – на основании точного теста Фишера.

Наиболее часто принимаемой группой препаратов среди пациентов с ХСНсФВ оказались β -адреноблокаторы (90,5%), за которыми следовали мочегонные (83,3%), статины (54,7%) и ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) – 52,4%. В группе контроля большинство пациентов принимало ингибиторы АПФ – 38,2%, и в равной доле статины и ингибиторы протонной помпы (ИПП) (по 35,3%). В обеих группах меньшинство пациентов принимало антагонисты минералокортикоидных рецепторов (АМКР) (Таблица 3). Различия в принимаемой терапии между группами были статистически значимы для частоты приема β -адреноблокаторов, диуретиков и антикоагулянтов (во всех случаях $p < 0,001$).

Таблица 3 – Характеристика принимаемой терапии у пациентов групп ХСНсФВ и контроля (n=76)

Класс препаратов	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	<i>p</i>
Ингибиторы АПФ	22 (52,4%)	13 (38,2%)	0,253
Антагонисты рецепторов ангиотензина II	18 (42,8%)	8 (23,5%)	0,093
β -адреноблокаторы	38 (90,5%)	7 (20,6%)	<0,001
Диуретики	35 (83,3%)	7 (20,6%)	<0,001
АМКР	5 (11,9%)	1 (2,9%)	0,216
Статины	23 (54,7%)	12 (35,3%)	0,109
Антиагреганты	7 (16,7%)	5 (14,7%)	1,000
Антикоагулянты	17 (40,5%)	0 (0,0%)	<0,001

Продолжение таблицы 3

Антагонисты кальция	11 (26,2%)	7 (20,6%)	0,600
ИПП	14 (33,3%)	12 (35,3%)	1,000

Примечание: значения *p* приведены на основании точного теста Фишера.

В ходе проведенной оценки характера питания участников исследования (Таблица 4) удалось установить, что рацион пациентов групп ХСНсФВ и контроля был сопоставим по основным категориям продуктов.

Таблица 4 – Характеристика питания пациентов в основной и контрольной группах (n=76)

Показатель (в баллах)	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	<i>p</i>
Общее потребление фруктов	3,52 ± 0,97	3,59 ± 1,10	0,277
Целые фрукты	3,12 ± 0,89	3,21 ± 1,23	0,129
Общее потребление овощей	3,26 ± 1,04	3,29 ± 1,06	1,000
Потребление зелени и бобовых	2,19 ± 1,04	2,18 ± 1,31	0,474
Потребление цельнозерновых продуктов	5,62 ± 2,58	5,68 ± 2,16	0,227
Потребление молочных продуктов	5,71 ± 1,80	5,65 ± 2,06	0,629
Потребление белковых продуктов	3,60 ± 0,94	3,65 ± 0,98	0,431
Потребление морепродуктов и растительного белка	2,74 ± 0,99	2,71 ± 1,14	0,894
Потребление жирных кислот	4,64 ± 2,42	4,74 ± 2,12	0,168
Потребление обработанных злаков	5,90 ± 1,86	6,00 ± 1,69	0,303
Потребление соли	6,43 ± 1,82	6,35 ± 1,59	0,375
Потребление добавленных сахаров	5,12 ± 1,76	5,18 ± 1,83	0,996
Потребление насыщенных жиров	4,95 ± 1,29	4,91 ± 1,40	0,628

Примечание: значения *p* приведены на основании критерия Манна-Уитни.

Характеристика систолической и диастолической функций ЛЖ по данным ЭхоКГ у больных ХСНсФВ и группы контроля представлена в Таблицах 5–7. По результатам оценки данных, значения всех эхокардиографических показателей ЛЖ у больных ХСНсФВ были статистически значимо выше по сравнению с пациентами группы контроля. Исключение составил показатель ФВ ЛЖ, значение которого было сопоставимо в обеих группах. Особое внимание обращает статистически значимое увеличение индекса ММЛЖ в группе ХСНсФВ (116,0 [105,0; 128,0] г/м² в сравнении с 89,0 [76,5; 98,0] г/м² группы контроля, $p < 0,001$), поскольку данный показатель отражает одно из основных структурных изменений миокарда для этой группы больных (Таблица 5).

Таблица 5 – Основные эхокардиографические характеристики ЛЖ у больных ХСНсФВ и группы контроля (n=76)

Показатель	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	<i>p</i>
Толщина МЖП, см	1,2 [1,1; 1,3]	1,0 [0,9; 1,0]	<0,001
Толщина задней стенки ЛЖ, см	1,2 [1,1; 1,3]	0,9 [0,9; 1,0]	<0,001
ММЛЖ, г	232,0 [199,0; 280,2]	161,5 [132,8; 176,8]	<0,001
Индекс ММЛЖ, г/м ²	116,0 [105,0; 128,0]	89,0 [76,5; 98,0]	<0,001
КСО ЛЖ, мл	43,0 [39,0; 49,8]	37,0 [31,0; 42,0]	0,002
КДО ЛЖ, мл	115,0 [108,2; 131,5]	101,0 [93,2; 108,8]	<0,001
КСР ЛЖ, см	3,3 [3,1; 3,5]	3,1 [2,9; 3,2]	0,001
КДР ЛЖ, см	4,9 [4,8; 5,3]	4,7 [4,6; 4,9]	<0,001
ФВ ЛЖ, %	63,0 [59,0; 65,8]	64,0 [60,0; 66,0]	0,669

Примечание: значения *p* приведены на основании критерия Манна-Уитни.

При сравнении ЭхоКГ характеристик правых отделов сердца и ЛП были выявлены статистически значимо большие их значения в группе ХСНсФВ. Стоит также отметить статистически значимо большее среднее значение индекса объема ЛП у пациентов основной группы в сравнении с контрольной (37,5 [34,0; 45,0] мл/м² и 26,0 [23,0; 30,8] мл/м² соответственно, $p < 0,001$) (Таблица 6).

Таблица 6 – Основные эхокардиографические показатели правых отделов сердца и ЛП у больных ХСНсФВ и группы контроля (n=76)

Показатель	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	<i>p</i>
Размер ПЖ, см	3,4 [3,2; 3,6]	3,2 [2,9; 3,4]	0,014
СДЛА, мм рт.ст.	31,0 [28,2; 32,0]	23,0 [22,0; 25,0]	<0,001
ДДЛА, мм рт.ст.	12,5 [11,0; 14,0]	8,0 [8,0; 9,0]	<0,001
Поперечный размер ЛП	4,5 [4,2; 4,8]	3,6 [3,5; 3,9]	<0,001
Продольный размер ЛП	6,2 [5,8; 6,3]	4,8 [4,6; 5,2]	<0,001
Объем ЛП, мл	79,5 [68,0; 92,5]	47,5 [38,5; 54,8]	<0,001
Индекс объема ЛП, мл/м ²	37,5 [34,0; 45,0]	26,0 [23,0; 30,8]	<0,001
Поперечный размер ПП, см	3,8 [3,6; 4,0]	3,4 [3,2; 3,6]	<0,001
Продольный размер ПП, см	5,1 [4,8; 5,5]	4,5 [4,3; 4,8]	<0,001

Примечание: значения *p* приведены на основании критерия Манна-Уитни.

Сравнение доли пациентов, соответствовавших критериями ГЛЖ (значение индекса ММЛЖ >115 г/м² у мужчин и >95 г/м² у женщин) и имеющих дилатацию ЛП (на основании индекса объема ЛП >34 мл/м²), выявило статистически значимо большие значения данных показателей у пациентов с ХСНсФВ (*p*<0,001 в обоих случаях) (Рисунок 3).

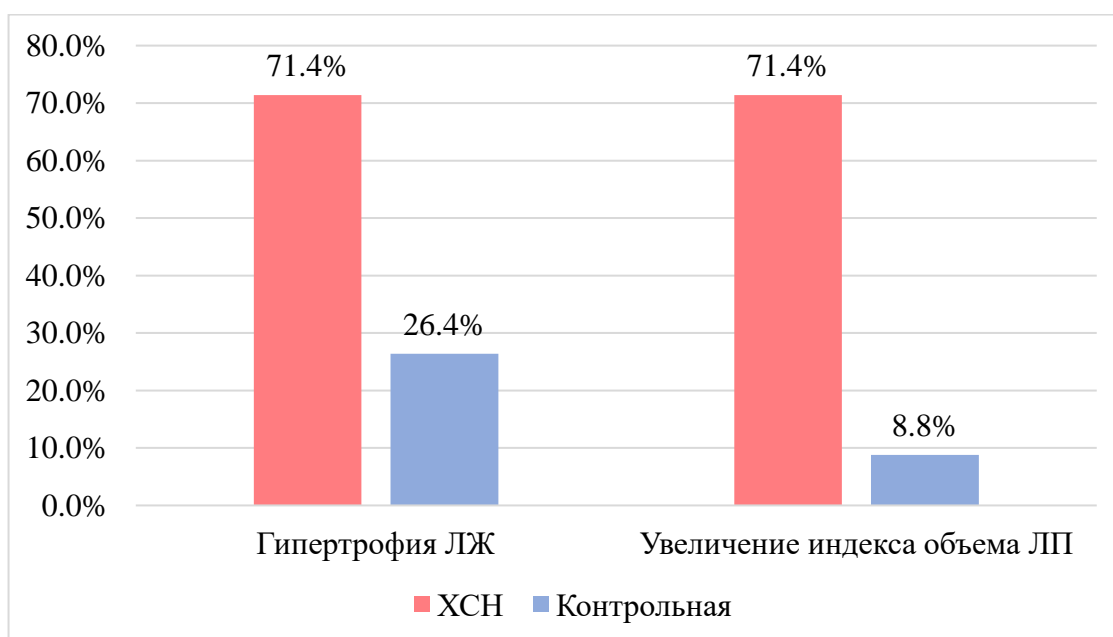


Рисунок 3 – Доли пациентов, имеющих ГЛЖ и увеличение объема ЛП, в группе ХСНсФВ и контрольной.

Характеристика диастолической функции ЛЖ у участников исследования представлена в Таблице 7.

Таблица 7 – Характеристика диастолической функции ЛЖ у больных ХСНсФВ и группы контроля по данным ЭхоКГ (n=76)

Показатель	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	<i>p</i>
Пик E, см/с	78,0 [66,2; 84,8]	63,5 [58,0; 71,0]	<0,001
Пик A, см/с	78,0 [64,2; 86,8]	54,5 [51,2; 64,8]	<0,001
E/A	1,0 [0,8; 1,2]	1,2 [1,1; 1,3]	0,030
e', см/с	6,0 [5,0; 6,0]	9,0 [8,5; 10,8]	<0,001
E/e'	13,0 [13,0; 14,0]	7,0 [6,0; 7,4]	<0,001

Примечание: значения *p* приведены на основании критерия Манна-Уитни.

Из таблицы 7 следует, что результат ЭхоКГ оценки диастолической функции ЛЖ методом импульсно-волнового доплера демонстрирует статистически значимо меньшее значение отношения E/A у больных ХСНсФВ и большее значение пиков E и A. Увеличение пика A может свидетельствовать о большем вкладе систолы ЛП в наполнение ЛЖ у пациентов с ХСНсФВ. Показатель e', полученный методом тканевого доплера, имел статистически значимо меньшую медиану у пациентов основной группы, что говорит о снижении эластичности миокарда ЛЖ.

Медиана и среднеквадратичное отклонение уровня NT-proBNP в группе ХСНсФВ составили 178,0 [136,0; 295,0] пг/мл.

Исходно содержание в крови биохимических маркеров определили у всех участников исследования. Содержание в крови изученных биохимических маркеров в покое у больных ХСНсФВ и группы контроля представлено в Таблице 8. У больных ХСНсФВ содержание в сыворотке крови PСР было статистически значимо выше, чем в группе контроля ($p=0,037$), в то время как уровни вчСРБ, IL-1 β , IL-6, PШНР и sST2 не продемонстрировали статистически значимой разницы в исследуемых группах. Значение IL-1 β в обеих группах составило 0,0 [0,0; 0,0] пг/мл, однако 19,0% пациентов с ХСНсФВ и 11,7% пациентов группы контроля

имели уровень IL-1 β >0.

Таблица 8 – Характеристика уровней маркеров у больных ХСНсФВ и группы контроля (n=76)

Маркер	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	<i>p</i>
вчСРБ (МЕ/л)	2,1 [1,3; 4,2]	1,3 [0,8; 3,3]	0,148
IL-1 β (пг/мл)	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]	0,379
IL-6 (пг/мл)	10,8 [0,0; 25,4]	12,5 [0,0; 22,7]	0,714
РІСР (пг/мл)	918,0 [700,0; 1032,8]	795,0 [424,0; 960,8]	0,037
РІІNP (нг/мл)	6,2 [4,0; 8,2]	5,1 [3,7; 6,5]	0,240
sST2 (нг/мл)	45,5 [29,1; 62,5]	43,0 [23,2; 62,2]	0,623

Примечание: значения *p* приведены на основании критерия Манна-Уитни.

В обеих группах исследования проводился анализ уровней экспрессии микроРНК, связанных с процессами фиброза миокарда. Сравнение уровня экспрессии данных маркеров в сыворотке крови испытуемых представлено в Таблице 9. Результаты продемонстрировали, что экспрессия miRNA-183-3p была статистически значимо ниже в основной группе исследования ($p=0,001$), тогда как miRNA-193b-3p у пациентов с ХСНсФВ имела больший уровень экспрессии ($p=0,046$). Уровни экспрессии других изученных микроРНК статистически значимо не различались.

Таблица 9 – Характеристика уровней экспрессии микроРНК у больных ХСНсФВ и группы контроля (n=76)

Маркер	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	<i>p</i>
miRNA-183-3p	34,2 [34,1; 34,4]	34,4 [34,3; 34,6]	0,001
miRNA-21-3p	34,1 [33,3; 34,5]	34,4 [32,4; 34,7]	0,419
miRNA-545-5p	27,5 [27,4; 27,6]	27,5 [27,4; 27,5]	0,748
miRNA-193b-3p	34,9 [34,6; 35,2]	34,6 [34,3; 34,9]	0,046

Примечание: значения *p* приведены на основании критерия Манна-Уитни.

Результат изучения выраженности диффузного интерстициального фиброза миокарда с использованием показателя ECV с применением T1-картирования в рамках МРТ у пациентов с ХСНсФВ составил 30,7 [27,8; 33,3]% при минимальном

значении ECV, равном 23,3%, и максимальном, равном 42,3%.

3.2 Особенности состава микробиоты кишечника у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса левого желудочка в сравнении с группой контроля

Самыми широко представленными в общей выборке пациентов (Рисунок 4) оказались типы *Firmicutes* (49,1 [31,9; 61,9]% и 59,9 [48,4; 70,9]% в группах ХСНсФВ и контроля соответственно, $p=0,044$ до поправки), *Bacteroidetes* (48,1 [33,5; 62,6]% и 29,5 [18,0; 43,7]% в группах ХСНсФВ и контроля соответственно, $p=0,011$ до поправки) и *Proteobacteria* (1,5 [0,5; 2,5]% в группе ХСНсФВ и 2,2 [1,0; 6,8]% в группе контроля, $p=0,027$ до поправки на ковариаты). Кроме того, обнаруживалось снижение обилия мало представленного типа *Euryarchaeota* у пациентов с ХСНсФВ при сопоставлении с контролем: 0,0 [0,0; 0,0] (распространенность присутствия параметра – 2,4%) и 0,0 [0,0; 0,0] (распространенность присутствия параметра – 17,6%) соответственно, $p=0,037$ до поправки.

В ходе дальнейшего сравнения состава КМ у групп исследования была также использована поправка на пол, ИМТ, прием иАПФ, β -адреноблокаторов, диуретиков, антагонистов рецепторов ангиотензина II, антагонистов кальция, статинов, антиагрегантов и антикоагулянтов. Сравнение представленности типов бактерий в изученных группах после поправки на вышеперечисленные факторы не выявило статистически значимых различий между группами ХСНсФВ и контроля. Наибольшую тенденцию к статистической значимости различий представленности типов между группами имели типы *Firmicutes* ($p=0,055$) и *Proteobacteria* ($p=0,093$).

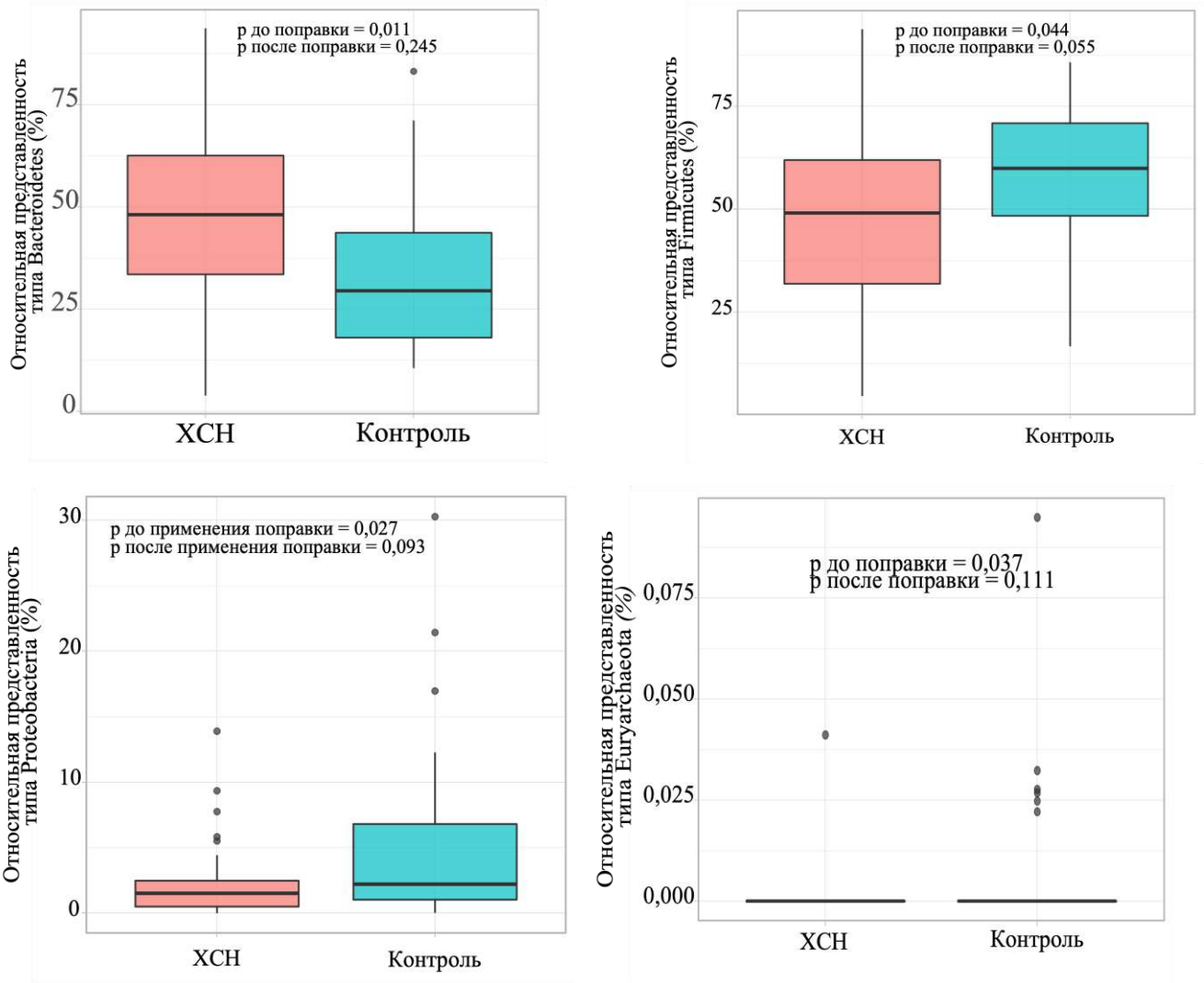


Рисунок 4 – Сравнение относительной представленности типов КМ в группах ХСНсФВ и контрольной.

Разнообразие КМ изучалось с помощью индекса видового α -разнообразия Шеннона, который у больных ХСНсФВ был статистически значимо ниже (3,5 [3,0; 3,8]), чем в контрольной группе (3,8 [3,4; 4,2]), $p=0,027$. Отношение *Firmicutes/Bacteroidetes* было также статистически значимо ($p=0,015$) ниже среди пациентов с ХСНсФВ в сравнении с группой контроля (1,0 [0,5; 1,9] и 2,2 [1,2; 3,8] соответственно, $p=0,015$). При использовании поправки на ковариаты значение p для данных показателей оказалось $\geq 0,05$ (Рисунок 5).

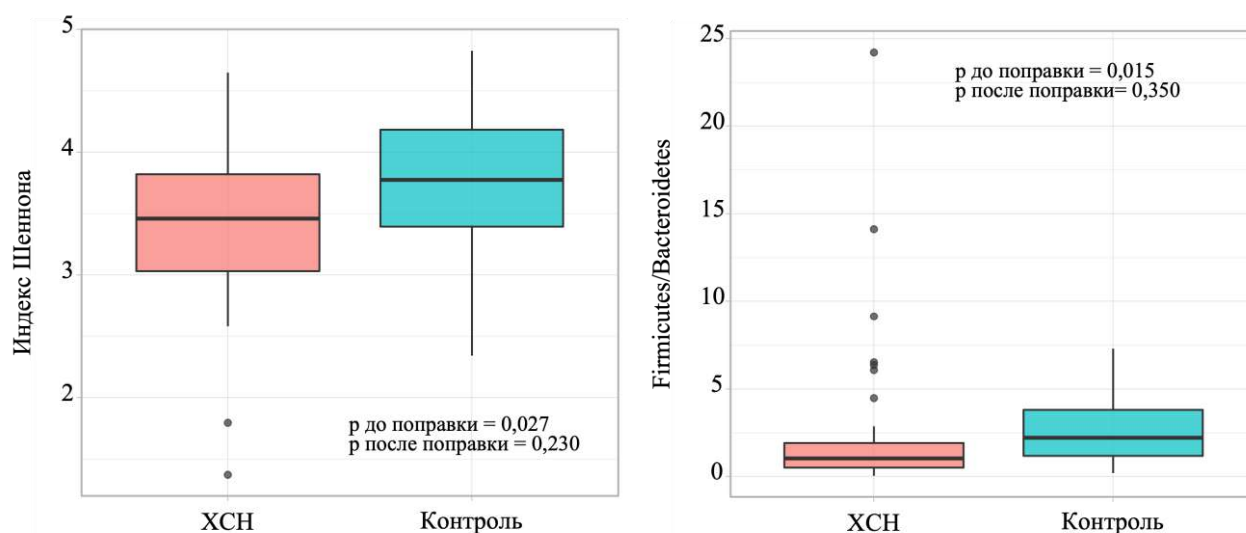


Рисунок 5 – Индекс Шеннона α -разнообразия микробиоты и отношение *Firmicutes/Bacteroidetes* в исследованных образцах групп ХСНсФВ и контроля.

Сравнение микробного состава в двух группах исследования на уровне классов до введения поправки позволило выявить статистически значимые различия у пациентов с ХСНсФВ в сравнении с группой контроля для *Bacteroidia* ($p=0,011$) и *Bacilli* ($p=0,044$), которые не были статистически значимы после поправки на ковариаты. С другой стороны, поправка на пол, ИМТ и принимаемые препараты выявила статистически значимые различия между группами для классов *Clostridia* ($p=0,040$), *Erysipelotrichi* ($p=0,002$) и неклассифицированного класса из типа *Firmicutes* ($p=0,032$).

Среди перечисленных классов представленность *Erysipelotrichi*, *Bacteroidia* и неклассифицированного класса из типа *Firmicutes* имела большее значение у пациентов с ХСНсФВ, в то время как представители остальных классов в основной группе исследования были в меньшинстве (Таблица 10).

Таблица 10 – Различия на уровне классов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контролем ($n=76$) до и после поправки на ковариаты

Представленность, %	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	p	p^*
<i>Clostridia</i>	42,4 [30,8; 55,8]	55,0 [43,6; 68,8]	0,054	0,040
<i>Erysipelotrichi</i>	0,0 [0,0; 0,0] 23,8% ¹	0,0 [0,0; 0,0] 20,6% ¹	0,633	0,002

Продолжение таблицы 10

Неклассифицированный класс типа <i>Firmicutes</i>	0,0 [0,0; 0,6]	0,0 [0,0; 0,1]	0,409	0,032
<i>Bacteroidia</i>	48,1 [33,5; 62,5]	29,5 [17,8; 43,7]	0,011	0,244
<i>Bacilli</i>	0,1 [0,0; 0,2]	0,1 [0,0; 0,7]	0,044	0,150

Примечание: p – значение получено при помощи критерия Манна-Уитни; p^* – значение p после поправки на ковариаты при помощи модели логистической регрессии; ¹ – распространенность присутствия параметра.

На уровне порядков результаты позволяют говорить о существовании статистически значимых различий между группами исследования до применения поправки на ковариаты для представителей *Bacteroidales* ($p=0,011$), *Lactobacillales* ($p=0,044$), после поправки на ковариаты для представителей *Clostridiales* ($p=0,040$) и *Erysipelotrichales* ($p=0,002$). Сохранение статистической значимости различий между группами как до, так и после применения поправки на пол, ИМТ и принимаемые препараты было характерно для порядков *Pseudomonadales* и *Pasteurellales*. Представленность *Bacteroidales*, *Erysipelotrichales* и *Pseudomonadales* отличалась в группе ХСНсФВ в большую сторону, в то время как представленность *Lactobacillales*, *Clostridiales* и *Pasteurellales* в основной группе была статистически значимо ниже контрольной (Таблица 11).

На уровне семейств было выявлено 78 ASV, из них статистически значимые различия между группами наблюдались в 10 семействах (Таблица 12). Среди них после использования поправки на пол, ИМТ и принимаемые препараты статистическая значимость различий сохранялась для следующих семейств: *Porphyromonadaceae* ($p=0,032$), неклассифицированного семейства из порядка *Bacteroidales* ($p=0,042$), *Lactobacillaceae* ($p=0,031$), *Lachnospiraceae* ($p=0,024$), *Peptococcaceae* ($p=0,035$), *Ruminococcaceae* ($p=0,004$), *Erysipelotrichaceae* ($p=0,002$), *Pasteurellaceae* ($p=0,045$), *Pseudomonadaceae* ($p=0,024$), кроме *Eubacteriaceae* ($p=0,139$). При этом представленность упомянутых семейств была статистически значимо ниже у пациентов с ХСНсФВ, кроме *Porphyromonadaceae*, неклассифицированного семейства из порядка *Bacteroidales* и *Pseudomonadaceae*,

которые преобладали в основной группе в сравнении с контрольной.

Таблица 11 – Различия на уровне порядков бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контролем (n=76) до и после поправки на ковариаты

Представленность, %	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	<i>p</i>	<i>p</i> *
<i>Bacteroidales</i>	48,1 [33,5; 62,5]	29,5 [17,8; 43,7]	0,011	0,244
<i>Lactobacillales</i>	0,1 [0,0; 0,2]	0,1 [0,0; 0,7]	0,044	0,149
<i>Clostridiales</i>	42,4 [30,8; 55,8]	55,0 [43,6; 68,8]	0,054	0,040
<i>Erysipelotrichales</i>	0,0 [0,0; 0,0] 23,8% ¹	0,0 [0,0; 0,0] 20,6% ¹	0,633	0,002
<i>Pasteurellales</i>	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,1]	0,006	0,045
<i>Pseudomonadales</i>	0,0 [0,0; 0,0] 23,8% ¹	0,0 [0,0; 0,0] 2,9% ¹	0,013	0,024

Примечание: *p* – значение получено при помощи критерия Манна-Уитни; *p** – значение *p* после поправки на ковариаты при помощи модели логистической регрессии; ¹ – распространенность присутствия параметра.

Таблица 12 – Различия на уровне семейств бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контролем (n=76) до и после поправки на ковариаты

Представленность, %	ХСНсФВ (n=42)	Контроль (n=34)	<i>p</i>	<i>p</i> *
<i>Porphyromonadaceae</i>	3,3 [1,2; 7,4]	1,6 [0,8; 3,9]	0,092	0,032
Неклассифицированное семейство порядка <i>Bacteroidales</i>	0,0 [0,0; 0,2]	0,0 [0,0; 0,0]	0,433	0,042
<i>Lactobacillaceae</i>	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,3]	0,015	0,031
<i>Eubacteriaceae</i>	0,9 [0,4; 2,2]	1,8 [0,9; 4,3]	0,004	0,139
<i>Lachnospiraceae</i>	5,6 [1,4; 8,2]	8,5 [4,5; 14,3]	0,013	0,024
<i>Peptococcaceae</i>	0,0 [0,0; 0,0] 9,5% ¹	0,0 [0,0; 0,0] 26,5% ¹	0,051	0,035
<i>Ruminococcaceae</i>	17,9 [11,6; 23,0]	23,1 [18,5; 32,7]	0,006	0,004
<i>Erysipelotrichaceae</i>	0,0 [0,0; 0,0] 23,8% ¹	0,0 [0,0; 0,0] 20,6% ¹	0,633	0,002
<i>Pasteurellaceae</i>	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,1]	0,006	0,045

Продолжение таблицы 12

<i>Pseudomonadaceae</i>	0,0 [0,0; 0,0] 23,8% ¹	0,0 [0,0; 0,0] 2,9% ¹	0,013	0,024
-------------------------	--------------------------------------	-------------------------------------	--------------	--------------

Примечание: p – значение получено при помощи критерия Манна-Уитни; p^* – значение p после поправки на ковариаты при помощи модели логистической регрессии; ¹ – распространенность присутствия параметра.

В исследованных образцах было выделено 178 ASV на уровне родов, из них в исследуемых группах после поправки на пол, ИМТ и принимаемые препараты статистически значимо отличались следующие рода: *Atopobium* ($p=0,015$), *Pseudomonas* ($p=0,024$) и *Oscillospira* ($p=0,032$) (Таблица 13), представленность которых за исключением последнего оказалась выше при ХСНсФВ.

Таблица 13 – Различия на уровне родов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контролем ($n=76$) до и после поправки на ковариаты

Представленность, %	ХСНсФВ ($n=42$)	Контроль ($n=34$)	p	p^*
<i>Atopobium</i>	0,0 [0,0; 0,0] 14,3% ¹	0,0 [0,0; 0,0] 0% ¹	0,030	0,015
<i>Pseudomonas</i>	0,0 [0,0; 0,0] 23,8% ¹	0,0 [0,0; 0,0] 2,9% ¹	0,013	0,024
<i>Oscillospira</i>	0,1 [0,0; 0,2] 69,0% ¹	0,1 [0,1; 0,3] 82,4% ¹	0,018	0,032

Примечание: p – значение получено при помощи критерия Манна-Уитни; p^* – значение p после поправки на ковариаты при помощи модели логистической регрессии; ¹ – распространенность присутствия параметра.

Кроме того, после поправки на ковариаты статистически значимо ниже в группе ХСНсФВ была относительная представленность *Faecalibacterium* ($p=0,001$), *Gemmiger* ($p < 0,001$), *Lachnoclostridium* ($p=0,016$) и неклассифицированного рода семейства *Lachnospiraceae* ($p=0,030$) (Рисунок 6).

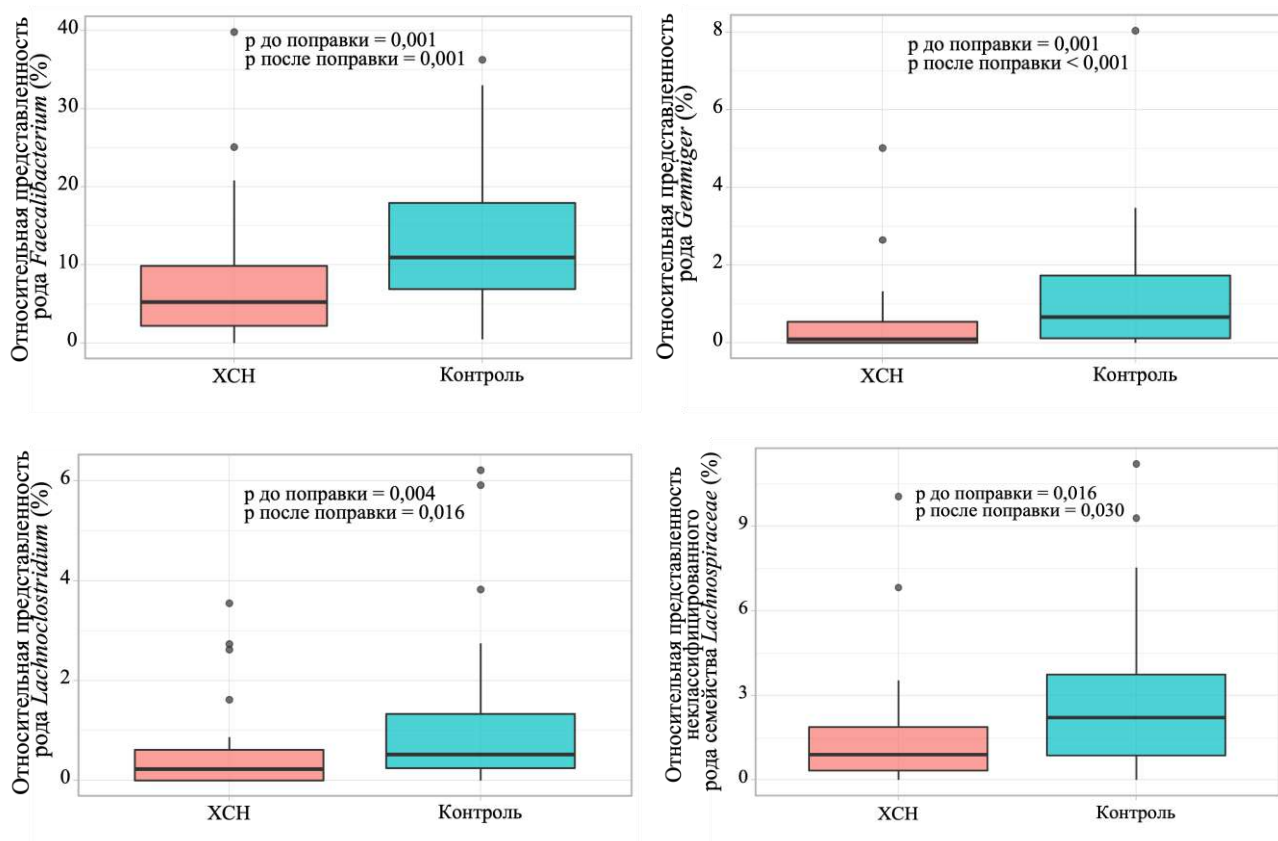
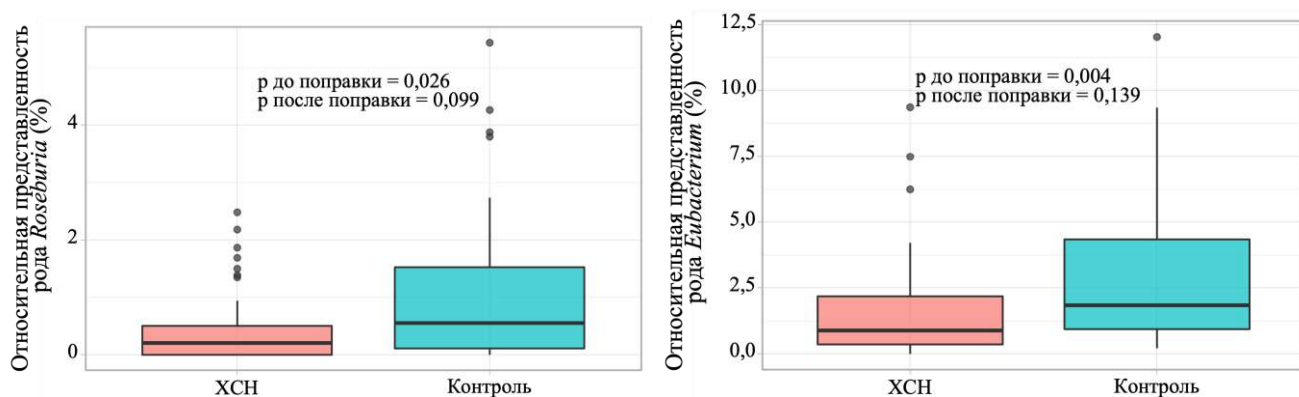


Рисунок 6 – Относительная представленность родов *Faecalibacterium*, *Gemmiger*, *Lachnoclostridium* и неклассифицированного рода семейства *Lachnospiraceae* в группах ХСНсФВ и контроля.

Снижение относительной представленности при ХСНсФВ было выявлено после поправки на ковариаты для родов *Lactobacillus* ($p=0,031$) и *Peptococcus* ($p=0,035$), до поправки на ковариаты – для родов *Roseburia* ($p=0,026$) и *Eubacterium* ($p=0,004$) (Рисунок 7).



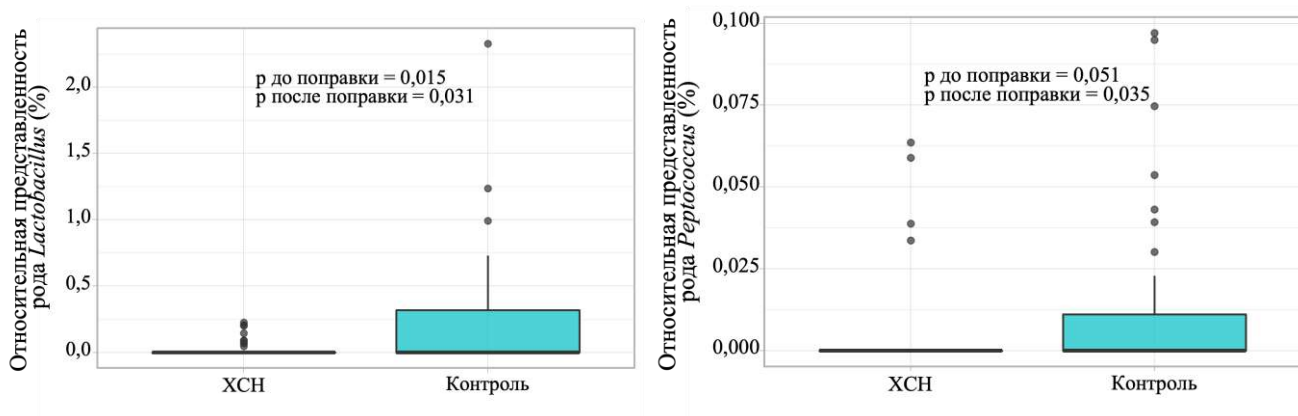


Рисунок 7 – Относительная представленность родов *Roseburia*, *Eubacterium*, *Lactobacillus* и *Peptococcus* в группах ХСНсФВ и контроля.

Введение поправки на ковариаты установило статистически значимо большую представленность бактерий рода *Candidatus Soleaferrea* ($p=0,033$) при ХСНсФВ, в то время как статистически значимо меньшая представленность рода *Haemophilus* до поправки на ковариаты ($p=0,011$) сохраняла тенденцию к статистическому различию и после поправки ($p=0,057$) (Рисунок 8).

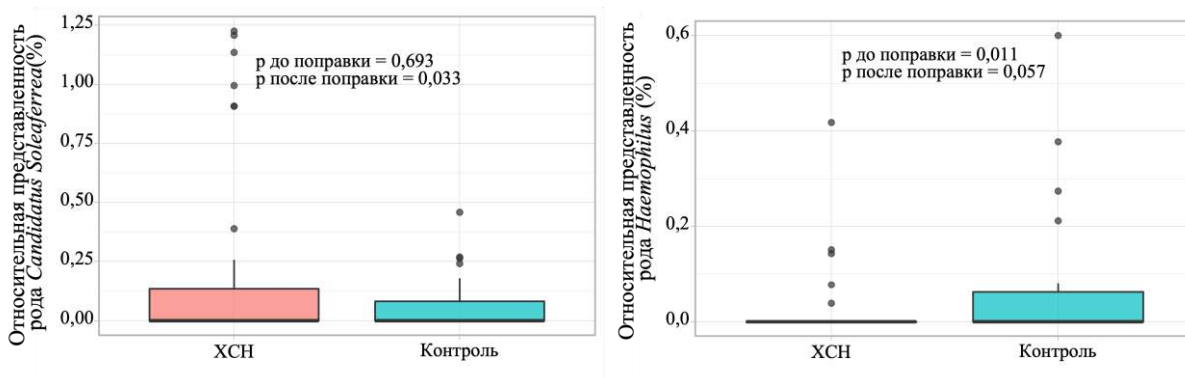


Рисунок 8 – Относительная представленность родов *Haemophilus* и *Candidatus Soleaferrea* в группах ХСНсФВ и контроля.

3.3 Сравнение уровня триметиламин-N-оксида и липополисахарида у лиц с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса и группы контроля

Проводилась оценка и сравнение уровней ТМАО и ЛПС в группах

исследования. Обнаружен статистически значимо больший уровень ТМАО в группе ХСНсФВ в сравнении с контрольной (437,0 [312,5; 545,8] пг/мл и 264,0 [163,0; 376,5] пг/мл соответственно). Различия между группами имели статистическую значимость как до ($p < 0,001$), так и после применения поправки на пол, ИМТ и применяемую терапию ($p < 0,001$). В то же время уровень ЛПС не был статистически значимо различен в сравниваемых группах ХСНсФВ и контроля (0,0 [0,0; 4,8] и 0,0 [0,0; 0,0] мМЕ/мл соответственно, $p = 0,069$). Однако применение поправки на ковариаты позволило установить статистическую значимость различий уровня ЛПС в изученных группах ($p = 0,018$) (Рисунок 9).

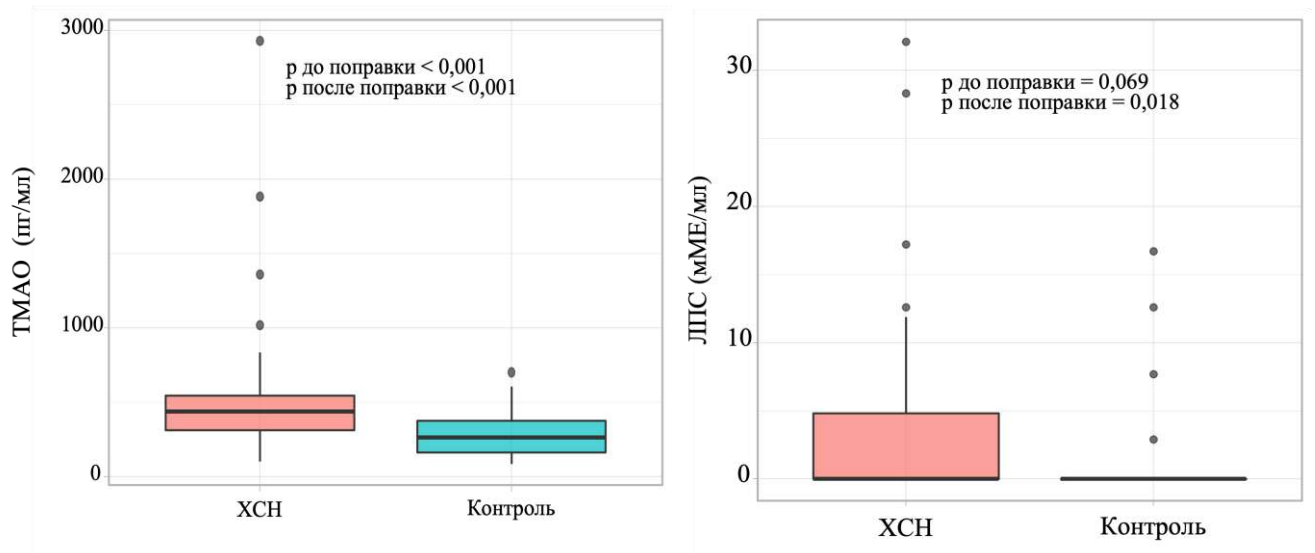


Рисунок 9 – Уровни ТМАО и ЛПС у пациентов с ХСНсФВ и контрольной группы.

3.4 Поиск связи состава микробиоты кишечника с лабораторными маркерами у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса

3.4.1 Связь состава микробиоты кишечника с маркерами системного воспаления и эндотоксемии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса

В ходе работы была проведена оценка данных корреляционного и

логистического регрессионного анализа, направленная на установление связей между родами представителей КМ и маркерами системного воспаления в группе пациентов с ХСНсФВ. Удалось установить, что большая часть корреляционных связей имела прямой характер. Среди родов бактерий, представленность которых была статистически значимо различна между группами исследования, было установлено, что снижение относительной представленности *Faecalibacterium* и *Haemophilus* статистически значимо связано с увеличением ($r = -0,36$, $p = 0,018$) и снижением ($r = 0,037$, $p = 0,017$) уровня IL-1 β соответственно. Увеличение относительной представленности *Pseudomonas* было ассоциировано с большим уровнем ЛПС ($r = 0,32$, $p = 0,038$) у пациентов с ХСНсФВ, в то время как снижение относительной представленности родов *Peptococcus* ($p = 0,043$), *Faecalibacterium* ($p = 0,038$), *Eubacterium* ($p = 0,026$) соответствовало более низкому уровню ЛПС. Примечательно, что ни один из родов, статистически значимо различавшихся в исследуемых группах, не был ассоциирован с уровнем вЧСРБ, IL-6 и sST2, однако наблюдались статистически значимые корреляционные связи с родами бактерий, представленность которых была сопоставима в основной и контрольной группах, что подробно описано в Таблице 14.

Таблица 14 – КМ и маркеры системного воспаления и эндотоксемии в группе ХСНсФВ по данным корреляционного анализа

Маркер	Род	Размер эффекта	<i>p</i>
вЧСРБ	<i>Paraprevotella</i>	0,32	0,036
	Неклассифицированный род семейства <i>Christensenellaceae</i>	-0,33	0,031
	Неклассифицированный род семейства <i>Ruminococcaceae</i>	-0,31	0,049
IL-1 β	<i>Senegalemassilia</i>	0,37	0,016
	<i>Faecalibacterium</i> ¹ (↓)	-0,36	0,018
	<i>Holdemania</i>	0,38	0,013
	<i>Succinivibrio</i>	0,52	<0,001
	<i>Haemophilus</i> ² (↓)	0,37	0,017

Продолжение таблицы 14

IL-6	<i>Alistipes</i>	-0,33	0,034
sST2	<i>Collinsella</i>	-0,31	0,045
	<i>Barnesiella</i>	-0,35	0,022
	<i>Howardella</i>	0,35	0,024
	<i>Akkermansia</i>	-0,32	0,040
ЛПС	<i>Actinomyces</i>	0,38	0,012
	<i>Rothia</i>	0,38	0,012
	<i>Granulicatella</i>	0,31	0,044
	Неклассифицированный род семейства <i>Clostridiaceae</i>	0,37	0,014
	<i>Peptococcus</i> ³ (↓)	0,31	0,043
	<i>Faecalibacterium</i> ¹ (↓)	0,32	0,038
	<i>Eubacterium</i> ² (↓)	0,34	0,026
<i>Pseudomonas</i> ¹ (↑)	0,32	0,038	

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ до и после поправки на пол, ИМТ, принимаемые препараты, ² – $p < 0,05$ до поправки, ³ – $p < 0,05$ после поправки. Стрелки указывают на статистически значимое изменение относительной представленности родов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контрольной.

В ходе многофакторного (с поправкой на пол и возраст) регрессионного анализа было установлено, что среди бактерий, относительная представленность которых была значимо различна в сравниваемых группах, снижение относительной представленности рода *Oscillospira* в группе ХСНсФВ статистически значимо связано со снижением уровня вчСРБ (ОШ: 4,03 (1,14 – 15,72), $p=0,036$) и ростом уровня IL-6 (ОШ: 0,25 (0,06–0,88), $p=0,036$). Также низкая относительная представленность рода *Haemophilus*, выявленная у пациентов с ХСНсФВ, была ассоциирована со снижением уровня IL-1 β в ходе однофакторного (ОШ: 8,82 (0,81–131,26), $p=0,040$) и многофакторного (ОШ: 32,37 (2,07–1237,69), $p=0,025$) регрессионного анализа.

Среди родов бактерий, которые имели статистически значимо различную от контрольной группы относительную представленность при ХСНсФВ, не были выявлены статистически значимые ассоциации с уровнем sST2. Согласно

многофакторному регрессионному анализу, низкая относительная представленность рода *Faecalibacterium* у пациентов с ХСНсФВ ассоциирована со снижением уровня ЛПС (ОШ: 5,54 (1,25–32,47), $p=0,035$). В то время как высокая относительная представленность рода *Pseudomonas* в основной группе исследования продемонстрировала связь с ростом уровня ЛПС в ходе однофакторного (ОШ: 6,14 (1,08–40,57), $p=0,020$) и многофакторного (ОШ: 7,09 (1,45–42,39), $p=0,020$) регрессионного анализа.

Остальные роды бактерий, продемонстрировавшие в ходе регрессионного анализа статистически значимую связь с маркерами системного воспаления и эндотоксемии, не были различны в сравниваемых группах исследования и представлены в Таблице 15.

Таблица 15 – Данные однофакторного и многофакторного регрессионного анализа связи родов КМ с уровнем маркеров системного воспаления и эндотоксемии в группе ХСНсФВ

вчСРБ				
Род	Однофакторный анализ ОШ (95% ДИ)	p	Многофакторный анализ ОШ (95% ДИ)	p
<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> ¹ (↓)	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
IL-1β				
<i>Haemophilus</i> ² (↓)	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
IL-6				
Неклассифицированный род семейства				
<i>Coriobacteriaceae</i>	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> ¹ (↓)	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

Продолжение таблицы 15

Неклассифицированный род семейства <i>Sutterellaceae</i>	3,86 (0,94–17,57)	0,063	4,12 (1,17–16,04)	0,032
Неклассифицированный род семейства <i>Enterobacteriaceae</i>	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				
Неклассифицированный род семейства <i>Porphyromonadaceae</i>	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
Неклассифицированный род семейства <i>Mogibacteriaceae</i>	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
Неклассифицированный род семейства <i>Clostridiaceae</i>	4,77 (0,89–28,24)	0,049	4,85 (1,06–24,7)	0,045
<i>Faecalibacterium</i> ¹ (↓)	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> ¹ (↑)	6,14 (1,08–40,57)	0,020	7,09 (1,45–42,39)	0,020

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ до и после поправки на пол, ИМТ, принимаемые препараты, ² – $p < 0,05$ до поправки. Стрелки указывают на статистически значимое изменение относительной представленности родов бактерий в группе ХСНсФВ.

3.4.2 Связь микробиоты кишечника с молекулярными и генетическими маркерами фиброза миокарда в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса

Были проанализированы корреляционные связи между родами кишечных бактерий и молекулярными маркерами фиброза миокарда у пациентов с ХСНсФВ (Таблица 16) [317]. Удалось установить, что более высокое число бактерий *Blautia* и неклассифицированного рода семейства *Enterobacteriaceae* ($r=0,36$, $p=0,018$ и $r=0,32$, $p=0,041$ соответственно), а также меньшее число бактерий *Bilophila* ($r= - 0,34$, $p=0,030$) было статистически значимо ассоциировано с повышением уровня РШНР, однако ни один из этих родов не продемонстрировал статистически значимых различий относительной представленности между исследуемыми группами. Обнаруженное нами снижение относительной представленности бактерий рода *Gemmiger* в группе ХСНсФВ было ассоциировано со статистически значимым увеличением уровня РІСР ($r= -0,35$, $p=0,25$). Рост числа бактерий рода *Allisonella*, снижение числа представителей рода *Ruminococcus* и неклассифицированных представителей семейства *Ruminococcaceae* были ассоциированы с ростом уровня РІСР в сыворотке крови, однако относительная представленность данных родов не была статистически значимо различна в сравниваемых группах. Уровень ТМАО оказался выше у лиц с большей представленностью родов *p-75-a5*, *RFN20*, *Treponema* и меньшей относительной представленностью родов *Acidaminococcus*, *Alistipes* и *Allisonella*, ни один из которых не был статистически значимо различен в группе ХСНсФВ в сравнении с контролем.

Среди бактерий, продемонстрировавших статистически значимое различие относительной представленности в группе ХСНсФВ в сравнении с контролем, снижение относительной представленности рода *Eubacterium* было прямо и статистически значимо ассоциировано с уровнем ТМАО ($r=0,31$, $p=0,044$).

Таблица 16 – КМ и молекулярные маркеры фиброза миокарда в группе ХСНсФВ по данным корреляционного анализа

Маркер	Род	Размер эффекта	<i>p</i>
РШНР	<i>Bilophila</i>	-0,34	0,030
	<i>Blautia</i>	0,36	0,018

Продолжение таблицы 16

РШНР	Неклассифицированный род семейства <i>Enterobacteriaceae</i>	0,32	0,041
РІСР	<i>Gemmiger</i> ¹ (↓)	-0,35	0,025
	<i>Ruminococcus</i>	-0,36	0,018
	Неклассифицированный род семейства <i>Ruminococcaceae</i>	-0,31	0,047
	<i>Allisonella</i>	0,32	0,037
ТМАО	<i>Alistipes</i>	-0,39	0,010
	<i>RFN20</i>	0,38	0,014
	<i>p.75.a5</i>	0,37	0,016
	<i>Eubacterium</i> ² (↓)	0,31	0,044
	<i>Acidaminococcus</i>	-0,41	0,007
	<i>Allisonella</i>	-0,32	0,036
	<i>Treponema</i>	0,33	0,031

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ до и после поправки на пол, ИМТ, принимаемые препараты, ² – $p < 0,05$ до поправки. Стрелки указывают на статистически значимое изменение относительной представленности родов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контрольной.

По данным регрессионного анализа среди бактерий, продемонстрировавших статистически значимые различия в группе ХСНсФВ, только снижение относительной представленности *Eubacterium* (ОШ: 4,11 (1,1–17,23), $p=0,041$) и *Roseburia* (ОШ: 9,2 (2,18–53,23), $p=0,005$) в ходе многофакторного анализа было ассоциировано со снижением уровня ТМАО. Для последнего рода данная связь была актуальна и до поправки на пол и возраст пациентов (ОШ: 5,95 (1,38–29,64), $p=0,013$).

Изучение ряда других родов, относительная представленность которых была сопоставима в сравниваемых группах, в ходе однофакторного регрессионного анализа показано, что относительная представленность *Catabacter* обратно ассоциирована с уровнем РІСР (ОШ: 0,21 (0,04–0,88), $p=0,029$), а относительная представленность *Christensenella* прямо связана с уровнем ТМАО (ОШ: 4,79 (1,14–22,87), $p=0,029$). Многофакторный регрессионный анализ установил, что

относительная представленность бактерий рода *Parabacteroides* обратно ассоциирована с уровнем РШНР (ОШ: 0,24 (0,06–0,85), $p=0,033$); относительная представленность неклассифицированного рода семейства *Ruminococcaceae* (ОШ: 0,23 (0,06–0,86), $p=0,034$), *Catabacter* (ОШ: 0,18 (0,04–0,67), $p=0,015$) и *Ruminococcus* (ОШ: 0,25 (0,06 – 0,88), $p=0,036$) была обратно ассоциирована с уровнем РІСР. Относительная представленность родов *Christensenella* и *Parasutterella* была прямо ассоциирована с уровнем ТМАО (ОШ: 4,19 (1,11–17,27), $p=0,039$ и ОШ: 6,15 (1,44–33,86), $p=0,021$ соответственно) (Таблица 17).

Таблица 17 – Данные однофакторного и многофакторного регрессионного анализа связи родов КМ с уровнем маркеров фиброза миокарда в группе ХСНсФВ

РШНР				
Род	Однофакторный анализ ОШ (95%ДИ)	p	Многофакторный анализ ОШ(95%ДИ)	p
<i>Parabacteroides</i>	0,26 (0,06–1,06)	0,063	0,24 (0,06–0,85)	0,033
РІСР				
<i>Catabacter</i>	0,21 (0,04–0,88)	0,029	0,18 (0,04–0,67)	0,015
Неклассифицированный род семейства <i>Ruminococcaceae</i>				
<i>Ruminococcus</i>	0,26 (0,06–1,06)	0,063	0,23 (0,06–0,86)	0,034
<i>Ruminococcus</i>	0,26 (0,06–1,06)	0,063	0,25 (0,06–0,88)	0,036
ТМАО				
<i>Christensenella</i>	4,79 (1,14–22,87)	0,029	4,19 (1,11–17,27)	0,039
<i>Eubacterium</i> ² (↓)	3,86 (0,94–17,57)	0,063	4,11 (1,1–17,23)	0,041
<i>Roseburia</i> ² (↓)	5,95 (1,38–29,64)	0,013	9,2 (2,18–53,12)	0,005
<i>Parasutterella</i>	4,11 (0,96–20,23)	0,058	6,15 (1,44–33,86)	0,021

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ до и после поправки на пол, ИМТ, принимаемые препараты, ² – $p < 0,05$ до поправки. Стрелки указывают на статистически значимое изменение относительной представленности родов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контрольной.

При изучении связи между составом КМ и уровнем экспрессии miRNA-183-3p, miRNA-193b-3p, miRNA-21-3p и miRNA-545-5p в группе ХСНсФВ удалось

установить, что ранее показанное статистически значимое снижение относительной представленности неклассифицированного рода семейства *Lachnospiraceae* в изученной группе ХСНсФВ было ассоциировано с ростом уровня экспрессии miRNA-193b-3p ($r = -0,33, p = 0,044$). Коэффициенты корреляции между другими родами, представленность которых была сопоставима между изученными группами, и экспрессией микроРНК представлены в Таблице 18.

Таблица 18 – КМ и генетические маркеры фиброза миокарда в группе ХСНсФВ по данным корреляционного анализа

МикроРНК	Род	Размер эффекта	<i>p</i>
miRNA-183-3p	<i>Butyricimonas</i>	-0,36	0,026
	<i>Tyzzarella</i>	0,33	0,044
	<i>Intestinibacter</i>	-0,37	0,021
	<i>Victivallis</i>	0,42	0,009
	<i>Succinivibrio</i>	-0,40	0,014
miRNA-193b-3p	Неклассифицированный род семейства <i>Lachnospiraceae</i> ¹ (↓)	-0,33	0,044
miRNA-21-3p	<i>Barnesiella</i>	-0,36	0,026
	Неклассифицированный род семейства <i>Prevotellaceae</i>	0,35	0,031
	Неклассифицированный род семейства <i>Christensenellaceae</i>	-0,35	0,031
miRNA-545-5p	<i>Intestinibacter</i>	-0,37	0,024

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ до и после поправки на пол, ИМТ, принимаемые препараты. Стрелки указывают на статистически значимое изменение относительной представленности родов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контрольной.

Оценка связей между родами бактерий кишечника и экспрессией микроРНК в группе ХСНсФВ в ходе регрессионного анализа позволила установить, что показанное нами при сравнении групп снижение относительной представленности рода *Oscillospira* при ХСНсФВ было ассоциировано с ростом уровня экспрессии

miRNA-183-3p до (ОШ: 0,14 (0,02–0,65), $p=0,009$) и после (ОШ: 0,12 (0,03–0,5), $p=0,006$) применения поправки на пол и возраст исследуемых. Кроме того, установленное в группе ХСНсФВ снижение представленности рода *Lactobacillus* было ассоциировано со снижением уровня экспрессии miRNA-183-3p по данным многофакторного регрессионного анализа (ОШ: 7,57(1,28–68,21), $p=0,04$).

Только один род, продемонстрировавший статистически значимое снижение представленности у пациентов с ХСНсФВ, а именно неклассифицированный род семейства *Lachnospiraceae*, оказался статистически значимо связан с экспрессией miRNA-193b-3p при однофакторном: ОШ: 0,17(0,03–0,81), $p=0,022$ и многофакторном регрессионном анализе: ОШ: 0,16(0,03–0,64), $p=0,014$. Снижение относительной представленности рода *Oscillospira* было одновременно ассоциировано с ростом уровня экспрессии miRNA-21-3p и miRNA-545-5p по данным многофакторного регрессионного анализа (ОШ: 0,18 (0,04–0,72), $p=0,021$ и ОШ: 0,22 (0,05–0,84), $p=0,031$ соответственно).

Ряд других родов, которые статистически значимо не различались между основной и контрольной группами, также демонстрировали статистически значимую связь с уровнем экспрессии изученных микроРНК по итогам проведенного одно- и многофакторного регрессионного анализа, что более детально представлено в Таблице 19.

Таблица 19 – Данные однофакторного и многофакторного регрессионного анализа связи родов КМ с экспрессией микроРНК в группе ХСНсФВ

miRNA-183-3p				
Род	Однофакторный анализ ОШ (95% ДИ)	p	Многофакторный анализ ОШ (95% ДИ)	p
<i>Tyzzarella</i>	5,75 (1,24–31,56)	0,022	6,35 (1,53–31,8)	0,015
<i>Oscillospira</i> ¹ (↓)	0,14 (0,02–0,65)	0,009	0,12 (0,03–0,5)	0,006
Неклассифицированный род семейства <i>Christensenellaceae</i>	0,28 (0,06–1,23)	0,103	0,24 (0,05–0,94)	0,047
<i>Lactobacillus</i> ¹ (↓)	4,75 (0,73–54,70)	0,124	7,57 (1,28–68,21)	0,040

Продолжение таблицы 19

miRNA-193b-3p				
Неклассифицированный род семейства				
<i>Lachnospiraceae</i> ¹ (↓)	0,17 (0,03–0,81)	0,022	0,16 (0,03–0,64)	0,014
<i>Dorea</i>	0,22 (0,04–1,00)	0,050	0,2 (0,04–0,82)	0,031
<i>Butyricimonas</i>	0,28 (0,06–1,23)	0,103	0,2 (0,04–0,83)	0,034
miRNA-21-3p				
<i>Barnesiella</i>	0,28 (0,06–1,23)	0,103	0,23 (0,05–0,92)	0,045
<i>Parabacteroides</i>	0,22 (0,04–1,00)	0,050	0,21 (0,05–0,81)	0,028
Неклассифицированный род семейства				
<i>Christensenellaceae</i>	0,28 (0,06–1,23)	0,103	0,23 (0,05–0,9)	0,043
<i>Oscillospira</i> ¹ (↓)	0,22 (0,04–1,00)	0,050	0,18 (0,04–0,72)	0,021
miRNA-545-5p				
<i>Bifidobacterium</i>	7,61 (1,56–46,58)	0,008	12,48 (2,58–95,91)	0,004
<i>Tyzzarella</i>	5,75 (1,24–31,56)	0,022	8,27 (1,85–48,8)	0,010
<i>Victivallis</i>	3,74 (0,70–26,87)	0,151	6,08 (1,16–43,43)	0,045
<i>Phascolarctobacterium</i>	3,58 (0,81–17,66)	0,103	5,34 (1,26–29,17)	0,032
<i>Oscillospira</i> ¹ (↓)	0,22 (0,04–1,00)	0,050	0,22 (0,05–0,84)	0,031

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ до и после поправки на пол, ИМТ, принимаемые препараты. Стрелки указывают на статистически значимое изменение относительной представленности родов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контрольной.

3.4.3 Связь состава кишечной микробиоты с уровнем N-концевого предшественника мозгового натрийуретического пептида у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса

Анализ выявил, что обнаруженная в группе ХСНсФВ низкая представленность рода *Lactobacillus* была статистически значимо связана со снижением уровня NT-proBNP ($r=0,45$, $p=0,003$), в то время как ранее показанная нами высокая относительная представленность рода *Candidatus Soleaferrea* в группе ХСНсФВ, статистически значимо ассоциирована со снижением уровня NT-

proBNP. Среди бактерий, относительная представленность которых не различалась между исследованными группами ХСНсФВ и контроля, также была обнаружена статистически значимая ассоциация с уровнем NT-proBNP. Среди них: роды *Dorea*, *Senegalemassilia*, *Rothia* и *Granulicatella* были прямо ассоциированы с уровнем NT-proBNP. Коэффициенты корреляции представлены в Таблице 20.

Таблица 20 – КМ и уровень NT-proBNP пациентов с ХСНсФВ по данным корреляционного анализа

Показатель	Род	Размер эффекта	<i>p</i>
NT-proBNP	<i>Rothia</i>	0,34	0,027
	<i>Granulicatella</i>	0,332	0,032
	<i>Senegalemassilia</i>	0,37	0,016
	<i>Lactobacillus</i> ¹ (↓)	0,45	0,003
	<i>Dorea</i>	0,42	0,006
	<i>Candidatus Soleaferrea</i> ² (↑)	-0,37	0,017

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ до и после поправки на пол, ИМТ, принимаемые препараты, ² – $p < 0,05$ после поправки. Стрелки указывают на статистически значимое изменение относительной представленности родов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контрольной.

По данным регрессионного анализа (Таблица 21), в частности многофакторного анализа с поправкой на пол и возраст, выявленное снижение относительной представленности рода *Gemmiger* у пациентов с ХСНсФВ было ассоциировано с высоким уровнем NT-proBNP (ОШ: 0,27 (0,07–0,97), $p=0,049$). С другой стороны, относительная представленность рода *Melainabacter*, который был сопоставим в изученных группах, прямо ассоциирована с уровнем NT-proBNP при ХСНсФВ (ОШ: 4,16 (1,1–17,86), $p=0,042$).

Таблица 21 – Данные однофакторного и многофакторного регрессионного анализа связи родов КМ с уровнем NT-proBNP

NT-proBNP				
Род	Однофакторный анализ	<i>p</i>	Многофакторный анализ	<i>p</i>
	ОШ (95% ДИ)		ОШ (95% ДИ)	
<i>Melainabacter</i>	4,11 (0,96–20,23)	0,058	4,16 (1,1–17,86)	0,042
<i>Gemmiger</i> ¹ (↓)	0,26 (0,06–1,06)	0,063	0,27 (0,07–0,97)	0,049

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ до и после поправки на пол, ИМТ, принимаемые препараты. Стрелки указывают на статистически значимое изменение относительной представленности родов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контрольной.

3.5 Связь состава микробиоты кишечника с выраженностью фиброза миокарда, оцененного в ходе T1-картирования миокарда при магнитно-резонансной томографии в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса

Анализ продемонстрировал, что обнаруженное в ходе данного исследования снижение представленности бактерий родов *Faecalibacterium* и *Lachnoclostridium* у лиц с ХСНсФВ ассоциировано с увеличением ECV, отражающего выраженность диффузного интерстициального фиброза миокарда ($r = -0,35$, $p = 0,024$ и $r = -0,32$, $p = 0,037$ соответственно) [318]. Кроме того, ECV оказался статистически значимо выше при повышении относительной представленности бактерий родов *Holdemania*, *Victivallis*, *Dehalobacterium*, *Enterococcus*, *Catabacter*, неклассифицированных родов семейств *Peptostreptococcaceae* и *Mogibacteriaceae* и при снижении относительной представленности рода *Blautia*, однако данные показатели были сопоставима в исследуемых группах (Таблица 22).

Регрессионный анализ подтвердил данные корреляции, а именно тот факт, что снижение относительной представленности бактерий рода *Lachnoclostridium* было ассоциировано с ростом значений ECV в ходе однофакторного (ОШ: 0,16 (0,03–0,72, $p = 0,012$) и многофакторного (ОШ: 0,1 (0,01–0,5), $p = 0,010$) анализа.

Аналогичные данные в отношении *Faecalibacterium* находили свое подтверждение в результатах многофакторного регрессионного анализа: ОШ: 0,19 (0,03–0,84), $p=0,038$.

Таблица 22 – КМ и ECV при T1-картировании миокарда в группе лиц с ХСНсФВ по данным корреляционного анализа

Показатель	Род	Размер эффекта	<i>p</i>
ECV, %	<i>Enterococcus</i>	0,33	0,032
	<i>Catabacter</i>	0,32	0,037
	<i>Dehalobacterium</i>	0,38	0,014
	<i>Blautia</i>	-0,43	0,005
	<i>Lachnoclostridium</i> ¹ (↓)	-0,32	0,037
	Неклассифицированный род семейства <i>Peptostreptococcaceae</i>	0,31	0,044
	<i>Faecalibacterium</i> ¹ (↓)	-0,35	0,024
	Неклассифицированный род семейства <i>Mogibacteriaceae</i>	0,42	0,005
	<i>Holdemania</i>	0,40	0,009
	<i>Victivallis</i>	0,39	0,012

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ до и после поправки на пол, ИМТ, принимаемые препараты. Стрелки указывают на статистически значимое изменение относительной представленности родов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контрольной.

Нами показано, что увеличение относительной представленности родов *Catabacter*, *Victivallis*, *Clostridium* и неклассифицированных родов семейств *Mogibacteriaceae* и *Christensenellaceae* статистически значимо ассоциировано с увеличением значения ECV у пациентов с ХСНсФВ по данным одно- или многофакторного анализа, что детально описано в Таблице 23, однако представленность данных родов в сравниваемых группах пациентов ХСНсФВ и контроля статистически значимо не отличалась.

Таблица 23 – Данные однофакторного и многофакторного регрессионного анализа связи родов КМ с ECV

ECV, %				
Род	Однофакторный анализ ОШ (95% ДИ)	<i>p</i>	Многофакторный анализ ОШ (95% ДИ)	<i>p</i>
<i>Catabacter</i>	4,75 (1,13–22,70)	0,029	4,29 (1,03–20,24)	0,051
Неклассифицированный род семейства <i>Christensenellaceae</i>	6,08 (1,40–31,23)	0,012	6,72 (1,55–37,13)	0,016
<i>Clostridium</i>	2,60 (0,65–11,27)	0,215	5,78 (1,19–43,52)	0,046
<i>Lachnoclostridium</i> ¹ (↓)	0,16 (0,03–0,72)	0,012	0,1 (0,01–0,5)	0,010
<i>Faecalibacterium</i> ¹ (↓)	0,26 (0,06–1,06)	0,062	0,19 (0,03–0,84)	0,038
Неклассифицированный род семейства <i>Mogibacteriaceae</i>	3,92 (0,95–18,17)	0,062	7,4 (1,54–55,49)	0,023
<i>Victivallis</i>	5,73 (1,11–40,32)	0,020	4,44 (0,89–27,08)	0,079

Примечание: ¹ – *p* < 0,05 до и после поправки на пол, ИМТ, принимаемые препараты. Стрелки указывают на статистически значимое изменение относительной представленности родов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контрольной.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Стремительное расширение возможностей высокопроизводительного секвенирования стало предпосылкой к углублению знаний о составе и роли КМ в поддержании здоровья и развитии ССЗ. Научные работы, проведенные в этой области, демонстрируют изменение состава КМ и ее метаболитов при ХСН [319].

Многогранность патогенеза при ХСНсФВ и неудовлетворительный результат попыток повлиять на прогноз этих пациентов создают благоприятную почву для развития новаторских идей, в частности изучения состава КМ и связи ее представителей с механизмами развития данного синдрома. Стремительно растет интерес к коррекции состава КМ и посредством этого к изменению ее системных эффектов [320].

В настоящем исследовании мы оценили микробный состав стула 76 пациентов методом секвенирования 16S рРНК, охарактеризовали изменения состава КМ, которые были выявлены в группе пациентов с ХСНсФВ в сравнении с контрольной группой без нарушения диастолической функции. Целью данной работы стал поиск связи КМ с фиброзом миокарда и состоянием хронического вялотекущего системного воспаления у пациентов с ХСНсФВ. Помимо этого, у пациентов с ХСНсФВ нами проведен анализ ассоциаций между представителями микробного сообщества кишечника и маркером ХСН (NT-proBNP), а также ECV – показателем T1-картирования миокарда, которое к настоящему времени является самым современным методом неинвазивной оценки выраженности диффузного интерстициального фиброза миокарда. Полученные результаты сравнения КМ частично сопоставимы с работами зарубежных авторов, изучивших состав КМ среди пациентов с ХСНсФВ, однако есть и новое понимание особенностей КМ в ранее малоизученной группе лиц с ХСНсФВ и впервые выявленные в рамках настоящего исследования ассоциации.

Среди обследованных пациентов наибольшая представленность наблюдалась для бактерий филумов *Bacteroidetes* и *Firmicutes*, причем последний преобладал в обеих группах. Эти два типа [321] являются основой КМ, составляя

около 90% ее представителей. Тип *Firmicutes* включает более 200 различных родов, среди которых самыми распространенными являются *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Ruminococcus* и *Clostridium* (последний занимает около 95% типа). Ключевыми родами типа *Bacteroidetes* являются *Bacteroides* и *Prevotella*. Представители филума *Bacteroidetes* – грамотрицательные неспорообразующие бактерии с разнообразной морфологией. Большинство видов *Bacteroidetes* способно метаболизировать углеводы и пептиды. К основным продуктам ферментации углеводов сахаролитическими видами относят КЦЖК ацетат, лактат, пропионат и сукцинат [322]. Будучи бактериями, участвующими в деградации полисахаридов, они вносят вклад в выделение энергии из диетической клетчатки и крахмала и являются основными источниками пропионата в кишечнике. Однако, кроме этого, они вовлечены в выделение токсических продуктов вследствие распада белковых молекул. Представители этого филума могут подавлять воспаление, хотя некоторые из них известны как оппортунистические патогены, способные к инициации развития воспалительного каскада [322]. Представители типа *Firmicutes* известны как основные продуценты бутирата и являются преимущественно грамположительными бактериями [323].

Следующим по уровню представленности в обеих исследованных группах оказался тип *Proteobacteria*, который также является важным компонентом состава КМ. Типичная характеристика этого филума – грамотрицательное окрашивание и присутствие ЛПС в структуре наружной мембраны. Тип *Proteobacteria* часто обильно представлен при состояниях с воспалительным фенотипом и включает некоторые патогенные роды, такие как *Salmonella*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Vibrio*, *Escherichia* [324, 325]. Отмечают, что обильная представленность *Proteobacteria* может отражать дисбиоз или нестабильность структуры КМ и воспалительный ответ, однако здоровая КМ содержит незначительное количество представителей *Proteobacteria*, что имеет низкую вероятность оказать негативное влияние на организм [325].

У пациентов с ХСНсФВ выявлялось снижение обилия мало представленного типа *Euryarchaeota*. Внушительная часть представителей типа *Euryarchaeota*

относится к метаногенам, среди которых наиболее широко представленным метаногеном кишечника (до 94% их популяции) является *Methanobrevibacter smithii* [326]. Метаболическая активность метаногенов заключается в превращении водорода в метан. Установлено, что снижение концентрации водорода в кишечнике благодаря этому процессу способствует повышению эффективности микробной ферментации углеводных субстратов у человека и гнотобионтов, что выражается в большем выделении энергии из полисахаридов и может вносить вклад в развитие ожирения [326, 327]. Последние результаты метагеномного анализа продемонстрировали, что уровень кишечного метана и бактериальная нагрузка *Methanobrevibacter smithii* обратно ассоциированы с ВЗК [328, 329, 330]. К аналогичным выводам пришли коллеги в отечественном исследовании пациентов с ВЗК, у которых было обнаружено статистически значимое снижение относительного количества *Methanobrevibacter smithii* [331]. Можно предположить, что выявленное в настоящем исследовании низкое содержание представителей *Euryarchaeota* в стуле пациентов с ХСНсФВ может быть неблагоприятным фактором, свидетельствующим о дисбалансе микробного сообщества и потенциальном воспалении на уровне кишечника.

Сравнение представленности ключевых филумов в группах ХСНсФВ и контрольной до поправки на пол, ИМТ и принимаемые препараты выявило статистически значимо большую относительную представленность типа *Bacteroidetes* и меньшую относительную представленность типов *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Euryarchaeota* у пациентов с ХСНсФВ. Это нашло свое отражение в меньшем значении отношения *Firmicutes/Bacteroidetes* в основной группе исследования. Данное отношение является удобным в применении инструментом, который может быть потенциальным маркером патологических состояний и позволяет характеризовать метаболический потенциал микробиома, поскольку фактический состав метаболитов микробиоты трудно поддается измерению [332, 333]. Для здорового кишечника более типичным является высокое отношение *Firmicutes/Bacteroidetes*, поскольку большая относительная представленность *Firmicutes*, а значит, и более высокий уровень продукции масляной кислоты

приводит к снижению рН в просвете подвздошной и слепой кишки [333]. рН кишечника играет важную роль в поддержании оптимального состава резидентных бактерий. Например, при рН 5,5 бутират продуцирующие *Firmicutes* составляют 20% общей бактериальной популяции кишечника, в то время как при рН 6,5 отмечается снижение представленности бактерий из типа *Firmicutes* и увеличение ацетат и пропионат продуцирующих представителей типа *Bacteroidetes* [334]. Высокая относительная представленность бутират продуцирующих бактерий типа *Firmicutes* была обнаружена в популяциях здоровых лиц различных демографических характеристик. Например, род *Faecalibacterium* имел в три раза большую представленность среди здоровых лиц, что также подтверждается результатами экспериментальных работ [335, 336]. С другой стороны, неоднократно была продемонстрирована связь высокого отношения *Firmicutes/Bacteroidetes* с ожирением, метаболическим синдромом [337, 338] и АГ [332]. В исследованиях также было установлено, что данное отношение увеличивается от рождения к взрослому возрасту и снова снижается в пожилом [339]. Питание с высоким содержанием пищевых волокон может быть ассоциировано с большей относительной представленностью *Firmicutes* и снизить относительную представленность *Bacteroidetes*, что приводит к увеличению уровня масляной кислоты в кишечнике [340]. Схожие с нашими результаты были получены норвежскими авторами, которые продемонстрировали более низкое отношение *Firmicutes/Bacteroidetes* у лиц с ХСН_нФВ [341].

Введение поправки на пол, ИМТ и принимаемые препараты при сравнении представленности основных филумов и отношения *Firmicutes/Bacteroidetes* привело к отсутствию статистической значимости различий, что свидетельствует в пользу того, что выявленные различия могли быть обусловлены наличием ряда отличий между группами, а не синдромом ХСН_сФВ. Однако тенденция к статистической значимости различий после поправки на ковариаты сохранялась при ХСН_сФВ для низкой относительной представленности типа *Firmicutes* и высокой относительной представленности типа *Proteobacteria*.

С целью количественного описания видового разнообразия микробного

сообщества кишечника нами был проведен расчет индекса α -разнообразия Шеннона. Большому значению индекса соответствует большее разнообразие представителей КМ в исследуемом образце. Leudde M. и соавт. (2017) продемонстрировали, что в группе пациентов с ХСНнФВ имелось меньшее α -разнообразие КМ при сопоставлении с контролем [288]. Изучение другим коллективом индекса Шеннона в аналогичной группе больных выявило, что он уменьшался по мере ухудшения клинического статуса пациентов, а также что меньшие значения α -разнообразия были ассоциированы с большим уровнем ЛПС, СРБ, TNF- α [342]. В то время как сравнение индекса Шеннона в настоящем исследовании до введения поправки на ковариаты демонстрировало статистически значимо меньшее его значение у пациентов с ХСНсФВ, полученные нами результаты после использования поправки на пол, ИМТ и принимаемые препараты не говорили в пользу статистически значимого измененного α -разнообразия КМ в группе ХСНсФВ, а значит, могут свидетельствовать о том, что бактериальное сообщество изученных нами групп характеризуется схожей стабильностью и устойчивостью. В недавно изученной когорте [343] пациентов с ХСНсФВ (n=30) смешанной этиологии (АГ, ИБС, гипертрофическая кардиомиопатия) индекс Шеннона основной группы также был сопоставим с контрольной.

Настоящее исследование показало, что роды бактерий, относительная представленность которых статистически значимо различалась в изученных группах, принадлежали в большинстве своем типу *Firmicutes* и в гораздо меньшей степени типам *Proteobacteria* и *Actinobacteria*. Ни один из родов, отличных по своей относительной представленности у пациентов с ХСНсФВ, не принадлежал типу *Bacteroidetes* (Таблица 24).

Таблица 24 – Принадлежность к типу и связь статистически значимо различных родов в группе ХСНсФВ с изученными параметрами

Тип	Род	Связь с изучаемыми параметрами		
		Корреляция	Регрессионный анализ (однофакторный)	Регрессионный (многофакторный)
Firmicutes	<i>Faecalibacterium</i> ¹ (↓)	Обратная связь с IL-1β, ECV; прямая связь с ЛПС	нет	Прямая связь с ЛПС; обратная связь с ECV
	<i>Gemmiger</i> ¹ (↓)	Обратная связь с PICP		Обратная связь с NT-proBNP
	<i>Lactobacillus</i> ¹ (↓)	Прямая связь с NT-proBNP		Прямая связь с miRNA-183-3p
	<i>Lachnoclostridium</i> ¹ (↓)	Обратная связь с ECV		
	<i>Oscillospira</i> ¹ (↓)	нет	Обратная связь с miRNA-183-3p	Прямая связь с вчСРБ, обратная связь с IL-6, miRNA-183-3p, -21-3p, -545-5p
	Неклассифицированный род семейства <i>Lachnospiraceae</i> ¹ (↓)	Обратная связь с miRNA-193b-3p		
	<i>Roseburia</i> ² (↓)	нет	Прямая связь с ТМАО	
	<i>Eubacterium</i> ² (↓)	Прямая связь с ЛПС и ТМАО	нет	Прямая связь с ТМАО
	<i>Peptococcus</i> ³ (↓)	Прямая связь с ЛПС	нет	
	<i>Candidatus Soleaferrea</i> ³ (↑)	Обратная связь с NT-proBNP	Нет	
Proteobacteria	<i>Pseudomonas</i> ¹ (↑)	Прямая связь с ЛПС		
	<i>Haemophilus</i> ² (↓)	Прямая связь с IL-1β		
Actinobacteria	<i>Atopobium</i> ¹ (↑)	нет		

Примечание: Стрелки указывают на статистически значимое изменение относительной представленности родов бактерий в группе ХСНсФВ в сравнении с контрольной. ¹ – $p < 0,05$ до и после поправки на пол, ИМТ, принимаемые препараты, ² – $p < 0,05$ до поправки, ³ – $p < 0,05$ после поправки.

Поиск различий состава КМ на уровне родов выявил, что внушительная часть бактерий, имеющих низкую представленность у пациентов с ХСНсФВ в сравнении с контролем, относится к важным продуцентам КЦЖК, особенно масляной кислоты, или характеризует микробиоту здоровых популяций (представители семейств *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Eubacteriaceae* и *Oscillospiraceae* – роды *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Lachnoclostridium*, *Gemmiger*, *Eubacterium*, *Oscillospira*, *Lactobacillus*). Результаты исследований отмечают снижение продуцентов бутирата, в частности из семейств *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae* в различных когортах пациентов с ХСН [344].

Бутират известен как ключевая КЦЖК, обеспечивающая большую часть метаболических процессов, происходящих в колоноцитах. Кроме того, участие масляной кислоты в регуляции клеточного роста и дифференцировки позволяет контролировать проницаемость кишечного барьера [345]. Результатом подавления бутиратом активности гистондеацетилазы – фермента, участвующего в создании более плотной структуры ДНК, является изменение транскрипции генов цитокинов TNF- α и интерферона γ , а также активности пути NF- κ B. Это приводит к подавлению продукции интерферона γ , TNF- α и IL-6, индуцированной ЛПС [346]. Также нами было обнаружено изменение относительной представленности условно-патогенных родов в группе ХСНсФВ, а именно увеличение представленности родов *Pseudomonas*, *Atopobium* и ее снижение для родов *Haemophilus* и *Peptococcus*. Эта находка также согласуется с результатами единичных зарубежных исследований, проведенных на очень ограниченном числе пациентов с ХСНсФВ [347].

В ходе дальнейшего анализа в фокусе нашего внимания находились роды КМ, для которых было доказано статистически значимое изменение представленности у пациентов группы ХСНсФВ в сравнении с контрольной группой без нарушения функции диастолы. Так, нами была оценена их связь с маркерами фиброза миокарда, системного воспаления и эндотоксемии, маркером метаболизма бактерий кишечника ТМАО, маркером диагностики ХСН – NT-proBNP и результатами T1-картирования миокарда. Поскольку подавляющее

большинство перечисленных родов было статистически значимо связано с изученными в ходе настоящей работы параметрами и будет подробно обсуждаться ниже, кратко остановимся на характеристике рода *Atopobium*, который имел более высокую относительную представленность в основной группе исследования независимо от пола, ИМТ и принимаемой лекарственной терапии, но не был ассоциирован с упомянутыми выше параметрами.

Представители рода *Atopobium* относятся к резидентной микробиоте человека. Их особенностью является грамположительное окрашивание и отсутствие сахаролитической способности или синтеза ферментов (оксидазы, каталазы, уреазы). Однако известно, что в результате ферментации серосодержащих аминокислот представители этого рода способны продуцировать сероводород и являются одними из самых активных в этом метаболическом пути [348, 349]. Сероводород известен как потенциальный триггер воспаления с цитотоксическим эффектом и повреждением кишечного барьера [350]. Известна способность *Atopobium* вызывать инфекционно-воспалительные процессы различной локализации (периодонтиты, вагиниты, уретриты, аспирационную пневмонию) вплоть до бактериемии и сепсиса [351–355]. В редких работах, посвященных кардиоваскулярной патологии, можно найти упоминания о большей относительной представленности *A. parvulum* в КМ лиц с ИБС [356] и ишемическим инсультом, независимо от возраста, наличия АГ и СД 2 типа [357]. Обнаруженная высокая относительная представленность продуцирующего сероводород рода *Atopobium* у пациентов с ХСНсФВ может отражать дисбиотические явления в данной группе пациентов с тенденцией к росту относительной представленности условно-патогенных микроорганизмов.

Далее подробно остановимся на характеристике ассоциаций бактерий с измененной представленностью при ХСНсФВ, которые были статистически значимо связаны с маркерами системного вялотекущего воспаления, эндотоксемии, фиброза миокарда, NT-proBNP и ECV в группе ХСНсФВ. Отметим, что большая их часть относилась к важным продуцентам бутирата, в то время как другие являлись оппортунистическими патогенами.

В качестве маркеров системного воспаления были оценены вчСРБ, IL-1 β , IL-6, маркером эндотоксемии был выбран ЛПС грамотрицательных бактерий.

В настоящем исследовании установлено, что низкая относительная представленность рода *Faecalibacterium* (независимо от пола, ИМТ и принимаемых препаратов) в группе ХСНсФВ статистически значимо обратно ассоциирована с уровнем IL-1 β . Единственный представитель данного рода *F. prausnitzii* – грамположительный анаэроб из семейства *Ruminococcaceae* – широко признан самым значимым продуцентом бутирата в кишечнике человека и имеет высокую представленность среди бактерий здорового кишечника [358]. В литературе отмечена противовоспалительная активность *F. prausnitzii*, основанная на том, что бактерия способствует подавлению секреции интерферона γ , IL-12 и повышению секреции противовоспалительного IL-10. Масляная кислота участвует в снижении воспаления слизистой оболочки кишечника посредством увеличения экспрессии рецептора, активируемого пролифератором пероксисом, и подавления интерферона γ . Данный эффект обусловлен продуктами метаболизма *F. prausnitzii*, которые способствуют синтезу белков плотных контактов между клетками кишечного эпителия [359]. Использование супернатанта *F. prausnitzii* приводило к подавлению вялотекущего воспаления в связи с активацией регуляторных Т-клеток и секрецией метаболитов, которые блокировали пути IL-8 и NF- κ B [360]. Показано, что *F. prausnitzii* способствует снижению бактериальной транслокации и стимулирует секрецию муцина, который участвует в поддержании кишечного барьера и снижении системного вялотекущего воспаления [361]. Работы, посвященные изучению КМ у лиц с ХСНсФВ, отмечали, что снижение представленности *F. prausnitzii* и уровня бутирата было одной из важных характеристик данной группы больных [21]. Таким образом, полученные нами данные о снижении представленности *Faecalibacterium* при ХСНсФВ и ассоциированном с этим ростом уровня IL-1 β подтверждают негативное влияние низкой относительной представленности *Faecalibacterium* на системное вялотекущее воспаление.

Согласно гипотезе настоящего исследования, кишечный дисбиоз и

определенные роды бактерий в группе пациентов с ХСНсФВ могут быть связаны с эндотоксемией, а именно повышением уровня циркулирующего в крови ЛПС. Последний, как было показано в работах, служит триггером системного воспалительного ответа с ростом уровня провоспалительных цитокинов [362, 363]. Одной из задач исследования было сравнение уровня ЛПС у пациентов с ХСНсФВ и группы контроля. Нами было установлено статистически значимое повышение уровня ЛПС у пациентов основной группы независимо от пола, ИМТ и принимаемых препаратов, что говорит о более выраженном состоянии системного вялотекущего воспаления, спровоцированного эндотоксемией, у пациентов с ХСНсФВ. Данный факт может объясняться не только бактериальным составом КМ, но и клиническими особенностями пациентов с ХСНсФВ. Из научных данных известно, что с ростом выраженности явлений застоя жидкости у пациентов отмечается повышение кишечной проницаемости, а следовательно, и рост уровня ЛПС (и соответственно воспалительных цитокинов) [19].

Несмотря на вышеописанную характеристику *Faecalibacterium*, по результатам настоящей работы было установлено снижение уровня ЛПС при низкой относительной представленности этого рода, что не зависело от пола и возраста пациентов с ХСНсФВ. Аналогичные данные в отношении связи с уровнем ЛПС по данным корреляционного анализа и многофакторной регрессии были получены для родов *Eubacterium* и *Peptococcus*. Их относительная представленность, по нашим данным, была статистически значимо ниже в группе ХСНсФВ. Примечательно, что три вышеупомянутых рода, продемонстрировавших прямую связь с уровнем ЛПС, имеют грамположительное окрашивание, а значит не могли напрямую стать источником циркулирующего ЛПС. Более того, ряд представителей *Eubacterium* являются важными источниками масляной, уксусной и пропионовой кислот в кишечнике, что играет роль иммуномодуляции на уровне кишечника [364]. Один из наиболее изученных бутират-продуцирующих видов – *E. rectale* – преимущественно колонизирует слизистый слой кишечника, повышая биодоступность масляной кислоты для эпителиальных клеток, и играет важную роль в управлении иммунным ответом и поддержании барьерной функции

кишечного эпителия [365]. Бутират, продуцируемый *E. limosum*, индуцировал пролиферацию колоноцитов, снижал уровень IL-6 и экспрессию TLR4 колоноцитами при стимуляции воспаления TNF- α [366]. Установлен факт обратной связи представленности рода *Eubacterium* с уровнем маркеров системного воспаления (IL-2 и вчСРБ) [367]. Низкая представленность *E. hallii* обнаруживалась в группе лиц с большим уровнем маркеров воспаления и худшими исходами ХСНнФВ [26]. Исследование, изучившее смешанную когорту пациентов с ХСНсФВ и ХСНнФВ, аналогично нашим данным установило снижение относительной представленности рода *Eubacterium* в сравнении с группой контроля [368]. Грамотрицательные бактерии рода *Peptococcus* способны метаболизировать продукты начального гидролиза белков и аминокислот в уксусную, масляную и изокаприловую кислоты [369]. В подтверждение потенциальной негативной роли *Peptococcus* существуют данные об обнаружении его избыточной представленности при язвенном колите [370] и смоделированном воспалении кишечника [371]. Данные о связи *Peptococcus* с ССЗ к настоящему времени отсутствуют.

Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты о низкой относительной представленности *Eubacterium* и *Faecalibacterium* при ХСНсФВ согласуются с имеющимися данными у пациентов с ХСН, однако природа прямой связи *Faecalibacterium*, *Eubacterium* и *Peptococcus* с уровнем ЛПС остается не раскрытой в рамках дизайна исследования и, возможно, кроется не непосредственно в уровне относительной представленности бактерий данных родов, а в их взаимодействии с другими представителями КМ.

С другой стороны, в рамках задачи изучения связи родов бактерий с эндотокемией удалось установить, что выявленная нами в группе ХСНсФВ высокая относительная представленность (в том числе после поправки на ковариаты) условно-патогенного рода *Pseudomonas* демонстрировала статистически значимую прямую корреляционную связь с уровнем ЛПС.

Представители *Pseudomonas* колонизируют разнообразие ниш в организме человека, вызывая широкий круг оппортунистических инфекций, таких как

пневмония, эндокардит, урогенитальные инфекции, менингит и септицемия. Важнейшим фактором патогенности бактерий данного рода является наличие ЛПС в структуре мембраны, который способен приводить к системному воспалительному ответу [372]. Взаимодействие с клетками может происходить с помощью пилей, липопротеинов, а также молекул кворум-сенсинга, которые регулируют высвобождение растворимых факторов, способствующих распространению инфекции [373, 374]. Известно, что дисбаланс состава КМ со снижением комменсалов, синтезирующих бактериоцины, КЦЖК и конкурирующих с патобионтами [375, 376], приводит к тому, что *Pseudomonas*, *Escherichia coli* или представители *Staphylococcus* замещают протективные микроорганизмы, реализуют факторы патогенности и становятся триггерами локального и системного воспаления [377, 378, 379]. Дополнительно снижение уровня КЦЖК способствует ЛПС-индуцированной продукции воспалительных медиаторов, миграции макрофагов и массовому высвобождению NO нейтрофилами, что выражается в дестабилизации кишечного барьера [380]. Колонизация кишечника мышей *P. 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 уровня TNF- α и интерферона- γ в селезенке, отмечалось подавление локальной и системной продукции противовоспалительного IL-10 [381]. Таким образом, открытие высокой относительной представленности *Pseudomonas* и его прямой ассоциации с уровнем ЛПС позволяет установить роль данного рода в ассоциированном с КМ системном вялотекущем воспалении у пациентов с ХСНсФВ.

Примечательно, что для рода *Oscillospira*, относительная представленность которого была статистически значимо снижена в изученной нами группе пациентов с ХСНсФВ, была характерна разнонаправленная связь с вчСРБ (прямой характер) и IL-6 (обратный характер) независимо от возраста и пола пациентов. Хотя представители данного рода нередко обнаруживаются в ходе секвенирования 16S рРНК, предполагая важную роль в физиологии человека [382], к настоящему

времени доступно немного информации об их метаболизме и физиологии [383]. Известно, что для некоторых видов бутират является одним из важнейших продуктов ферментации углеводов [384]. Описано снижение относительной представленности рода *Oscillospira* в стуле пациентов с ВЗК [385], неалкогольными стеатогепатитом и жировой болезнью печени [386, 387], а также связь низкой относительной представленности *Oscillospira* с состоянием системного вялотекущего воспаления при ожирении [382]. Данные об изменении относительной представленности рода *Oscillospira* среди пациентов с ССЗ к настоящему моменту ограничены, однако новейшая экспериментальная работа продемонстрировала увеличение представленности *Oscillospira* у мышей с АГ и ХСН, что, однако, не было связано с изменением структуры и функции сердца [388]. Полученные в настоящем исследовании данные подтверждают связь и потенциальную роль *Oscillospira* в развитии системного воспаления (что отражается в ассоциированном с этим родом изменении уровня вчСРБ и IL-6) при ХСНсФВ.

Было продемонстрировано снижение относительной представленности условно-патогенного грамотрицательного рода *Haemophilus* в основной группе в сравнении с контрольной, однако после поправки на пол, ИМТ и принимаемые препараты оно имело только тенденцию к статистической значимости. Среди представителей рода *Haemophilus* [389] наиболее значимым и изученным патогеном человека является *H. influenza*, для которого описаны варианты течения инфекции от бессимптомных форм, поражения дыхательных путей до инвазивных форм с развитием менингита, пневмонии, инфекционного эндокардита [390, 391]. Хотя бактерии рода *Haemophilus* преимущественно обитают в ротовой полости, доказана возможность колонизации нижних отделов кишечника бактериями, выделенными из данного локуса [392]. Последнее может обосновывать актуальность изучения и коррекции не только КМ, но и вышележащих отделов желудочно-кишечного тракта. Для большинства клинических состояний роль обнаружения *Haemophilus* в кишечнике остается неочевидной ввиду ограниченного объема данных исследований. Согласно новейшим работам, отмечалось

увеличение относительной представленности рода *Haemophilus* у пациентов с ХСН [393] и ФП [394]. С другой стороны, снижение относительной представленности *Haemophilus* демонстрировало связь с развитием СД 2 типа [395] и ревматоидным артритом [396]. Результаты всех методов проведенного в настоящем исследовании статистического анализа показали однозначную статистически значимую прямую ассоциацию данного рода с уровнем IL-1 β , что может свидетельствовать о негативном влиянии высокой относительной представленности данного рода в кишечнике на системное вялотекущее воспаление при ХСНсФВ.

Ни один род, который имел статистически значимо различную от контрольной группы относительную представленность у пациентов с ХСНсФВ, не демонстрировал статистически значимой ассоциации с sST2. Известно, что помимо гемодинамического стресса и растяжения кардиомиоцитов секреция sST2 связана с высоким уровнем TNF- α и IL-6 [397]. Данные о связи уровня sST2 и состояний, характеризующихся системным вялотекущим воспалением, были получены в исследовании RELAX, включившем 216 пациентов с ХСНсФВ. Было показано, что среди пациентов, имеющих высокие значения sST2, наиболее часто встречались СД, АГ, ФП, нарушение фильтрационной функции почек и с наибольшей достоверностью застойные явления [398]. По итогу sST2 был определен как маркер, связывающий коморбидности, ассоциированные с системным воспалением, и определены признаки системного застоя жидкости вследствие тяжести ХСНсФВ. В сравниваемых в настоящем исследовании группах уровни sST2 не были статистически значимо различны, что могло быть связано с дизайном исследования, ограничивающим включение пациентов с большинством состояний, ассоциированных с системным воспалением, а также компенсацией застойных явлений диуретической терапией и преимущественно I-II ФК пациентов.

В рамках следующей задачи исследования проводилось изучение связи между родами бактерий кишечника, которые продемонстрировали статистически значимое изменение представленности у лиц с ХСНсФВ, и молекулярными и генетическими маркерами фиброза и гипертрофии миокарда: PICP, PIIINP, miRNA-183-3p, miRNA-193b-3p, miRNA-21-3p, miRNA-545-5p. Также в качестве маркера

метаболизма КМ, связанного с фиброзом миокарда, рассматривался ТМАО.

Роды КМ с измененной представленностью при ХСНсФВ не имели статистически значимой ассоциации с уровнем PIIINP по данным корреляционного и регрессионного анализа. Однако отмечено, что для выявленной в настоящем исследовании низкой относительной представленности рода *Gemmiger* в стуле пациентов с ХСНсФВ характерны статистически значимо более высокие уровни PISР [399]. Единственный представитель рода *Gemmiger* из семейства *Ruminococcaceae* – *G. formicilis* – продуцирует масляную и молочную КЦЖК [400]. Данные литературы относительно роли данного вида бактерий в физиологии человека и при ССЗ очень ограничены [401]. Попытка исследователей изучить КМ в группе пациентов с заболеваниями, имеющими в основе иммуноопосредованное воспаление, позволила выявить низкую относительную представленность *Gemmiger* в сравнении с группой контроля [402], что было характерно и для пациентов с ВЗК, неалкогольным стеатогепатитом и колоректальным раком [403, 404]. Эти выводы подтверждаются авторами, которые относят высокую относительную представленность родов *Gemmiger* и *Roseburia* к важным характеристикам здорового кишечника [405]. У пациентов после кардиохирургической операции было продемонстрировано снижение относительной представленности продуцентов КЦЖК (*Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Gemmiger*), а также их статистически значимая обратная корреляция с маркерами системного и кишечного воспаления, целостности кишечного барьера [406]. Результаты настоящего исследования согласуются с ранее описанными данными о *Gemmiger* и могут отражать ранее не установленную связь данного рода с процессами фиброза миокарда.

Примечательно, что при исследовании маркеров, которые ассоциированы с составом и метаболизмом бактерий кишечника нами был установлен статистически значимо более высокий уровень ТМАО у пациентов с ХСНсФВ в сравнении с контрольной группой (независимо от пола, ИМТ и принимаемых препаратов). Одна из последних работ, включившая пациентов с ХСНнФВ (n=428) и ХСНсФВ (n=395), установила, что обе группы имели статистически значимо

более высокий уровень ТМАО в сравнении с контролем. Однако предсказательная ценность данного микробного метаболита в отношении общей и сердечно-сосудистой смертности была характерна только для группы ХСНнФВ [308]. С другой стороны, в работе, включившей пациентов с ХСНсФВ, доказано, что уровень ТМАО вносил вклад в стратификацию риска пациентов этой группы, особенно при низком уровне BNP [407].

В научной литературе отмечается, что около 75% вариативности уровня ТМАО имеет неопределенную природу, <15% обусловлены потреблением мясных и рыбных продуктов и <5% связаны с нарушенной функцией почек [408]. Кроме того, на продукцию ТМАО влияет состав КМ, активность флавиновой монооксидазы 3 типа и ряда ферментов бактерий, ответственных за синтез ТМА (например, ТМА-лиазы) [310, 409]. Это предположение поддерживается результатами исследования, в котором уровень ТМАО не был связан с диетическими предпочтениями [410]. В ходе опроса о привычках питания нами не были установлены статистически значимые различия между группами пациентов в категориях продуктов, которые могут быть потенциальными источниками ТМА. Обращает на себя внимание, что ни один бактериальный таксон, описанный в научной литературе как значимый продуцент ТМАО [411], не имел статистически значимого различия в изученных группах. Уровень ТМАО в настоящем исследовании был статистически значимо выше у пациентов с высокой относительной представленностью родов *p-75-a5*, *Treponema*, *RFN20*, *Christensenella*, *Parasutterella* и дефицитом *Acidaminococcus*, *Alistipes*, *Allisonella*. Однако их представленность была сопоставима в сравниваемых группах. Также выявленная низкая относительная представленность *Eubacterium* и *Roseburia* (до поправки на ковариаты) при ХСНсФВ имела прямую связь с уровнем ТМАО по итогам многофакторного регрессионного анализа, однако это не могло в полной мере объяснить высокий уровень маркера при ХСНсФВ.

Хорошо известно, что род *Roseburia* из семейства *Lachnospiraceae* наряду с *F. prausnitzii* и *E. rectale* составляет доминирующую группу продуцентов масляной кислоты, которая, согласно подсчетам, занимает 7% – 24% общей бактериальной

популяции здорового кишечника человека [412, 413]. Посредством продукции бутирата представители рода *Roseburia* играют важную роль в контроле над воспалительными процессами кишечника [414] и созреванием иммунной системы [415]. Тесная связь бактерий с поверхностью кишечного эпителия за счет колонизации муцинового слоя [365] может вносить вклад в повышение локальной доступности бутирата для энтероцитов [403]. Колонизация кишечника мышей *R. intestinalis* была связана с up-регуляцией генов белков плотных контактов и снижением уровня ЛПС в плазме крови [416]. Результаты эксперимента с индукцией ХСНнФВ ЛЖ у мышей позволили установить, что в основной группе оказалась статистически значимо более низкая представленность рода *Roseburia* наряду с *Lactobacillus*, *Butyrivibrio* и *Blautia*, характеризующих здоровую КМ [417].

Ранее отмечалось, что одним из ключевых факторов, влияющих на уровень ТМАО, является функция почек. Однако значимая разница в уровне ТМАО между группами, выделенными на основании СКФ, отмечалась исследователями только при СКФ <60 мл/мин/1,73м² [418]. Кроме того, статистически значимых различий в значениях СКФ между группами настоящего исследования не было установлено. Существуют данные, что органический транспортер катионов 2 типа, расположенный в базолатеральной мембране собирательных трубочек, является ключевым обратным транспортером ТМАО и также может быть одной из ключевых детерминант вариабельности его уровня [419].

Наши данные говорят в пользу того, что уровень ТМАО может быть перспективным маркером метаболизма микробиоты кишечника и отражать аспекты патогенеза при ХСНсФВ. Высокий уровень ТМАО в основной группе исследования может быть связан с особенностями метаболизма бактерий, активностью ферментов, ответственных за синтез ТМАО (которая не оценивалась в настоящем исследовании), но не непосредственно высокой представленностью отдельных родов бактерий. В научных работах определена способность к передаче генов ферментов (ТМА-лиаз), участвующих в синтезе ТМА, среди бактерий, изначально не обладающих указанными свойствами [420], что может объяснять связь бактерий *Eubacterium* и *Roseburia*, которые не являются известными ТМАО-

продуцентами (но относятся к продуцентам КЦЖК), с уровнем ТМАО в настоящем исследовании.

Изучение ассоциаций родов, имеющих статистически значимо различную при ХСНсФВ в сравнении с контролем относительную представленность, с уровнем экспрессии микроРНК установило статистически значимую связь между низкой относительной представленностью рода *Oscillospira* (в том числе после поправки на ковариаты) и ростом экспрессии miRNA-183-3p, miRNA-21-3p, miRNA-545-5p. В лабораторных условиях показано, что повышение экспрессии miRNA-21 сердечными кардиомиоцитами и фибробластами способствовало развитию ХСНсФВ за счет влияния на фиброз миокарда [421]. Особый интерес в свете нашего исследования представляют данные о повышении экспрессии miRNA-21-3p у мышей с ЛПС-индуцированной сердечной дисфункцией. Кроме того, обнаруживалась up-регуляция miRNA-21-3p в плазме пациентов с септической кардиальной дисфункцией в сравнении с теми, кто не имел ее на фоне сепсиса [422]. Была показана индукция гипертрофии кардиомиоцитов при повышении экспрессии miRNA-21-3p [423] и up-регуляция этой микроРНК у пациентов с ФП и фиброзом ЛП [424, 425], а также индуцированным фиброзом миокарда [426]. Кроме того, miR-21-3p статистически значимо прямо коррелировала с уровнем маркеров ХСН [427].

В настоящей работе отмечалось снижение экспрессии miRNA-183-3p в основной группе исследования, что оказалось сходным с данными, описанными Wong L.L. и соавт. (2015) [190], а также статистически значимый рост уровня экспрессии miRNA-193b-3p при ХСНсФВ. Примечательно, что по данным Wong L.L. и соавт. (2015), именно miRNA-545-5p отличало максимально выраженное увеличение экспрессии в группе ХСНсФВ в сравнении с другими маркерами-кандидатами, что позволило определить ее диагностическое значение при этом синдроме [190]. Связь низкой относительной представленности *Oscillospira* с высокой экспрессией miRNA-21-3p и miRNA-545-5p позволяет предполагать, что дефицит данного бутират-продуцирующего рода может играть неблагоприятную роль в развитии фиброза и гипертрофии миокарда при ХСНсФВ. Рост уровня

miRNA-183-3p при низкой относительной представленности *Oscillospira* может отражать влияние данного рода на фиброз миокарда при ХСНсФВ, однако детали данной связи требуют дальнейшего уточнения.

Обнаруженное в группе ХСНсФВ статистически значимое снижение относительной представленности рода *Lactobacillus* (в том числе независимо от пола, ИМТ и принимаемых препаратов) было статистически значимо ассоциировано со снижением уровня экспрессии miRNA-183-3p по данным многофакторного регрессионного анализа. *Lactobacillus* традиционно рассматривается как благоприятный представитель микрофлоры, основным продуктом метаболизма которого является молочная кислота. Примечательно, что лактат может подвергаться превращению в бутират под воздействием некоторых кишечных бактерий, в частности *E. hallii*, что служит дополнительным путем образования масляной кислоты [428]. Помимо синергетического взаимодействия с комменсальной микрофлорой, *Lactobacillus* обладают направленными против патогенов эффектами (образование антимикробных веществ, конкуренция за лиганды, рецепторы и питательные вещества) [429]. Неоднократно показана возможность *L. plantarum* *L. rhamnosus* к подавлению воспаления, а также повышению представленности продуцентов КЦЖК в кишечнике [430, 431]. Применение *L. plantarum* L-137 на модели крыс с метаболическим синдромом привело к снижению выраженности фиброза и воспаления ткани ЛЖ, выраженности ДД ЛЖ, а также уменьшению уровня провоспалительного IL-6 [432]. Полученный в настоящем исследовании характер связи между родом *Lactobacillus* и miRNA-183-3p может отражать негативное влияние низкой относительной представленности ряда представителей данного рода на развитие фиброза миокарда.

В группе ХСНсФВ настоящего исследования было обнаружено статистически значимое снижение относительной представленности неклассифицированного рода семейства *Lachnospiraceae*, независимо от пола, ИМТ и приема препаратов. Последний имел статистически значимую обратную связь с уровнем экспрессии miRNA-193b-3p, что однозначно подтверждалось

всеми использованными статистическими методами. Многие представители семейства *Lachnospiraceae* известны как продуценты масляной и пропионовой кислоты [433]. Полагают, что семейство *Lachnospiraceae* может выполнять протективную функцию за счет супрессии чрезмерного роста условно-патогенных бактерий в кишечнике [434]. Тот факт, что в ранее проведенных исследованиях часть родов семейства *Lachnospiraceae* отрицательно коррелировала с маркером активации Т-клеток и макрофагов, позволил заключить, что низкая представленность продуцентов бутирата может быть причастна к хронической иммунной активации, характерной для ХСН [26]. Полученная в настоящем исследовании статистически значимая связь между низкой относительной представленностью неклассифицированного рода семейства *Lachnospiraceae* и miRNA-193b-3p (ранее описанной как потенциально значимая для выявления ХСНсФВ [190]), подтверждает участие продуцентов КЦЖК в модуляции развития фиброза миокарда.

Анализ связи родов бактерий с уровнем NT-proBNP позволил установить, что низкая относительная представленность рода *Lactobacillus* в группе ХСНсФВ была статистически значимо ассоциирована с более низкими значениями данного маркера. Ранее отмечалось, что использование *L. rhamnosus* GR-1 у крыс после 6-недельной окклюзии коронарной артерии выразилось в уменьшении выраженности ГЛЖ и уровня экспрессии гена BNP, а также улучшении гемодинамических параметров систолической и диастолической функции [435]. С другой стороны, увеличение количества *Lactobacillus* было продемонстрировано у пожилых пациентов с СН и на моделях животных с АГ [25, 436]. Кроме того, КМ пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST характеризовалась повышением относительной представленности рода *Lactobacillus* в КМ, что ассоциировалось с системным воспалением и неблагоприятными сердечно-сосудистыми явлениями [436]. В группе пациентов с ишемическим инсультом была выявлена большая относительная представленность *L. ruminis* и меньшая *L. sakei* независимо от возраста, наличия АГ и СД 2 типа. При этом относительная представленность *L. ruminis* имела положительную корреляцию с сывороточным уровнем IL-6 [357].

Трактуя прямую связь между родом *Lactobacillus* и NT-proBNP стоит учитывать, что род *Lactobacillus* отличается большим разнообразием видов с плейотропизмом свойств, а в научной литературе описаны не единичные случаи ассоциированных с *Lactobacillus* бактериемии, сепсиса и абсцессов внутренних органов у некоторых категорий пациентов [437]. В связи с тем, что наши данные основаны на определении состава КМ на уровне родов, спектр видов, обладающих разнообразными свойствами в рамках изученного рода, в деталях которых может скрываться объяснение характера связи, остается за пределами возможностей использованного метода. Дальнейшие исследования будут необходимы для выяснения роли *Lactobacillus* в механизмах развития ХСНсФВ, предпочтительно с идентификацией видов, ассоциированных с патогенезом.

С другой стороны, низкая относительная представленность при ХСНсФВ ранее описанного продуцирующего бутират рода *Gemmiger* оказалась статистически значимо ассоциирована с более высоким уровнем NT-proBNP. Эти результаты подчеркивают неоднократно описанную в настоящей работе связь низкой относительной представленности продуцентов бутирата с маркерами, отражающими патофизиологию ХСНсФВ.

Выявленная в настоящей работе высокая относительная представленность рода *Candidatus Soleaferrea* в группе ХСНсФВ была статистически значимо ассоциирована с низкими значениями NT-proBNP. Упоминание данного рода встречается в единичных работах на темы, не связанные с ССЗ, ХНИЗ или состояниями, для которых характерно системное вялотекущее воспаление или фиброз миокарда [438, 439]. В связи с этим и отсутствием на данный момент в научной литературе описания свойств рода, трактовка потенциального фундамента его связи с уровнем NT-proBNP имеет ограничения и требует дальнейшего изучения.

Для оценки диффузного фиброза миокарда у пациентов с ХСНсФВ нами было использовано T1-картирование с определением ECV, который рассчитывался на основании до- и постконтрастного времени T1. Согласно данным других авторов, среднее значение ECV для пациентов с ХСНсФВ составляло 28,9% [102],

в то время как в группе контроля данный показатель составил 27,9%. В другой работе ECV пациентов с доказанной ХСНсФВ составил $29\pm 4\%$ в сравнении с контролем ($25\pm 3\%$) [440]. Исходя из полученных в настоящем исследовании данных ECV, пациенты с ХСНсФВ имели более выраженный интерстициальный фиброз миокарда (как на основании среднего значения ECV $31,0\pm 4,3\%$, так и на основании оценки медианы $30,7 [27,8; 33,3]\%$), чем в описанных исследованиях.

По данным проведенного в настоящей работе анализа [441], низкая представленность *F. prausnitzii* и *Lachnoclostridium* в группе ХСНсФВ была статистически значимо связана с большими значениями ECV при T1-картировании миокарда. Таким образом, дефицит ранее упомянутого *F. prausnitzii* – наиболее значимого продуцента масляной кислоты в кишечнике – имеет обратную связь как с высоким уровнем IL-1 β , так и с выраженностью диффузного интерстициального фиброза, что может связывать низкий уровень масляной кислоты, системное воспаление и фиброз миокарда.

Род *Lachnoclostridium* включает грамположительные бактерии, способные ферментировать моно- и дисахариды до образования уксусной (как основного продукта) [442] и масляной (*L. symbiosum* и *L. clostridioforme*) КЦЖК [443–445]. Данные свидетельствуют, что *L. symbiosum* способен синтезировать бутират из ацетата и лактата [446–448]. Увеличение представленности *Lachnoclostridium*, *Lactobacillus*, *Butyricoccus*, *Olsenella* и *Odoribacter* в кишечнике пациентов с ВЗК привело к росту уровня КЦЖК и снижению продукции провоспалительных медиаторов (IL-1 β , IL-6 и TNF- α) [449–450]. С другой стороны, в исследовании с участием пациентов с ФП отмечалось увеличение представленности *Lachnoclostridium*, *Streptococcus*, *Parabacteroides* и *Alistipes* [451]. Авторы связали данный факт с тем, что, в частности, *Lachnoclostridium* и *Parabacteroides* известны также как активные продуценты ТМАО [452, 453]. Исходя из полученных нами данных, среди лиц с ХСНсФВ отсутствовала статистически значимая ассоциация между *Lachnoclostridium* и уровнем ТМАО. Это дает основания предполагать, что ключевым звеном в связи между дефицитом бактерий *Lachnoclostridium* в кишечнике и выраженностью интерстициального фиброза миокарда является

низкий уровень КЦЖК.

К настоящему моменту имеются единичные работы, которые использовали метод секвенирования 16S рРНК для определения особенностей состава КМ в изолированной группе пациентов с ХСНсФВ [343, 347]. Оба исследования отличались меньшим числом пациентов в сравнении с настоящей работой, не анализировали уровень циркулирующих ТМАО и ЛПС, а пациенты имели преимущественно II-III ФК ХСН. Общим между ними и полученными в настоящей работе данными является снижение относительной представленности родов продуцентов КЦЖК при ХСНсФВ. В частности, Huang Z. и соавт. (2022) выявили снижение относительной представленности родов *Butyricoccus*, *Sutterella*, *Lachnospira* и *Ruminiclostridium* при ХСНсФВ [343]. Beale A.L. и соавт. (2021) обнаружили снижение относительной представленности рода *Ruminococcus*, который отличал пациентов с ХСНсФВ от двух контрольных когорт [347]. Отечественная работа, посвященная изучению системного воспаления при ХСН III-IV ФК [454], определяла представителей КМ косвенным методом на основании данных масс-спектрометрии микробных маркеров. Данные позволили установить, что у пациентов с ХСН в сравнении с группой контроля отмечалось снижение бифидо-, лакто-, пропиони-, эубактерий и *Clostridium ramosum*, но более высокая численность *Aspergillus*. Уровень IL-6 был прямо ассоциирован с численностью *Eubacterium* и обратно с *Ruminococcus* и *Streptomyces farmamarensis*. Относительная представленность последних отрицательно коррелировала с СРБ. Ранее было показано снижение КЦЖК продуцентов (*Ruminococcus*, *Erisipelotrichaceae* и *Blautia*) при ХСНсФВ [288]. В другой работе выявлялось снижение разнообразия КМ при ХСНсФВ и снижение относительной представленности продуцирующего КЦЖК семейства *Lachnospiraceae*. При этом относительная представленность *Lachnospiraceae* обратно коррелировала с растворимым CD25, который является маркером Т-клеточной активации и воспаления [26].

Описанные в настоящем и упомянутых исследованиях сходные тенденции изменений КМ при ХСН, заключающиеся в снижении относительной представленности продуцентов КЦЖК, создают предпосылки к выводу о том, что

специфические паттерны КМ могут вносить вклад в патогенез и тяжесть течения ХСНсФВ. Взаимодействие между КЦЖК, коморбидностями ХСНсФВ и иммунной активацией указывает на ряд возможных механизмов, посредством которых дефицит представителей КМ, продуцирующих КЦЖК, может привести к развитию и ухудшению течения ХСНсФВ. Наиболее признанная гипотеза развития ХСНсФВ заключается в том, что сопутствующие заболевания приводят к системному воспалительному ответу, который сопровождается воспалением коронарных микрососудов, снижением доступности NO и последующей гипертрофией миокарда, фиброзом и ДД ЛЖ [13]. ХСНсФВ связана с нарушением иммунной регуляции, изменением активности и соотношения Т-хелперов и Т-супрессоров [455]. Снижение продукции КЦЖК вносит вклад в развитие коморбидностей в основе ХСНсФВ [284, 456, 457], способствует поддержанию системного вялотекущего воспаления и эндотелиальной дисфункции [458]. С другой стороны, КЦЖК обладают протективными свойствами в отношении развития ГЛЖ и фиброза миокарда [276, 284, 457]. Другие механизмы, посредством которых КМ может участвовать в развитии ХСН, включают нарушение барьерной функции кишечника как результат застойных явлений, что провоцирует транслокацию бактерий в системный кровоток, поддерживая системное воспаление [19].

Обсуждая особенности состава и метаболизма КМ, сложно обойти тему влияния на нее лекарственных средств. Не требует доказательств подавляющий эффект антимикробных препаратов на состав и разнообразие КМ. Однако наши представления о взаимном влиянии между остальным множеством лекарственных препаратов, их комбинаций и КМ только развиваются.

Ряд клинических исследований был посвящен установлению связей между наиболее часто используемыми препаратами и бактериальным составом кишечника [459]. Одна из первых работ, посвященных этой теме, – Dutch LifeLines-DEEP [460] – включила оценку 42-х классов препаратов, для 19 из которых была продемонстрирована связь с составом КМ. В дополнение к антимикробным препаратам наибольшее и стабильное влияние на КМ оказывали ИПП, статины, слабительные, метформин, β -адреноблокаторы, ингибиторы АПФ и селективные

ингибиторы обратного захвата серотонина. Сходные с этими ассоциации между лекарственными препаратами и бактериями кишечника были получены в бельгийско-фламандской когорте [461] и когорте английских близнецов [462]. На основании представленных в них данных можно заключить, что, несмотря на объяснимую статистически значимую большую частоту приема ряда препаратов пациентами из группы ХСНсФВ (β -адреноблокаторы, диуретики и антикоагулянты), полученные в настоящей работе тенденции представленности родов и семейств бактерий не соответствовали влиянию данных классов лекарственных препаратов на КМ, описанному в крупных работах по данной теме.

Описанное позволяет предположить, что различия в лекарственной терапии пациентов исследованных нами групп не стали основополагающими в изменениях состава КМ, обнаруженных в группе ХСНсФВ. Стоит принимать во внимание, что описанные в упомянутых когортах тенденции в изменении состава КМ изучались при изолированном применении отдельного класса препаратов, в то время как в реальной клинической практике пациенты в большинстве случаев принимают комбинацию лекарственных средств, что может быть причиной расхождения результатов при оценке взаимоотношений между препаратами и бактериями. Последние результаты в этой теме путем пошагового подхода и исключения эффекта полипрагмазии установили, что ИПП, метформин, антибиотики и слабительные средства имели наибольшую связь с особенностями КМ [463].

В исследованных нами группах частота приема ИПП была сопоставима, а прием метформина, антибиотиков и слабительных средств был исключен, что позволило минимизировать влияние лекарственных препаратов на состав КМ. Кроме того, с целью устранить влияние различий в терапии на состав КМ нами была проведена поправка на прием иАПФ, β -адреноблокаторов, диуретиков, антагонистов рецептора ангиотензина II, антагонистов кальция, статинов, антиагрегентов, антикоагулянтов.

Стоит учесть свойственные настоящей работе ограничения, которые отчасти обусловлены ее глубоким изучением тонких механизмов патогенеза ХСНсФВ. Когорта пациентов была относительно небольшой, однако тщательно

охарактеризованной. Кроме того, данное исследование было пионерским на стыке клинической и фундаментальной науки, что вовлекало широкий круг современных нерутинных методов и полученных показателей. Сравнимые группы были различны по полу пациентов, применяемой терапии, на что в процессе статистического анализа была введена поправка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ХСНсФВ представляет собой распространенный синдром с неблагоприятным прогнозом. Несмотря на имеющиеся терапевтические возможности смертность пациентов с ХСНсФВ остается высокой, в связи с чем существует необходимость изучения и разработки новых концепций лечения этого синдрома. К настоящему времени ученые обладают данными о том, что КМ участвует в многообразии биологических процессов, происходящих в организме человека. Развитие современных методов оценки КМ, таких как секвенирование 16S рРНК, позволяет осуществлять оценку относительной представленности бактерий КМ на основании таксономической классификации.

Гипотеза о том, что ХСН может быть отчасти ассоциирована с изменением состава КМ, а также нарушением функции кишечного барьера, привлекает активное изучение данного феномена. Известно, что ХСН характеризуется системным застоем жидкости. Ишемия и застойные явления в кишечной стенке способствуют изменениям в составе и метаболизме КМ при ХСН. Происходящий дисбаланс состава КМ далее способствует индукции системного вялотекущего воспаления, которое усугубляет прогрессирование ХСН.

Исследования последних лет, изучающие тему связи КМ с ХСН, были сфокусированы на группе с низкой ФВ ЛЖ, что позволило определить у них снижение разнообразия и изменение состава КМ. Данные об особенностях состава, метаболизма и системных эффектах КМ при ХСНсФВ долгое время оставались недоступными. Настоящая работа представляет итоги пионерского в отечественной и мировой практике исследования состава КМ при ХСНсФВ с целью объединить КМ с аспектами патогенеза ХСНсФВ, которые включают в себя системное вялотекущее воспаление и фиброз миокарда. В ходе работы были использованы самые современные инструментальные и лабораторные методы исследования.

Полученные результаты впервые дают представление о значимых различиях состава КМ пациентов с ХСНсФВ в когорте российских пациентов в сравнении с

контрольной группой без нарушения диастолы и могут быть использованы в качестве сравнения при проведении последующих клинических исследований в этой группе лиц. Представлены результаты статистически значимо более высокого уровня ТМАО и ЛПС в изученных группах, что отражает изменения метаболизма КМ, а также более выраженные явления эндотоксемии на фоне ХСНсФВ. Детально охарактеризованы связи родов КМ с маркерами патогенеза ХСНсФВ и золотым стандартом диагностики диффузного интерстициального фиброза. Это указывает на то, что транслокация микробных компонентов из кишечника и изменение уровня микробных маркеров на фоне застойных явлений в слизистой оболочке кишечника могут являться самостоятельными звеньями патогенеза ХСНсФВ и взаимно утяжелять друг друга. Кроме того, полученные данные создают предпосылки к тому, что КМ и ее метаболиты, в частности КЦЖК, могут быть мишенью для профилактики и возможного лечения ХСНсФВ в будущем. Важно отметить, что большая часть описанных различий и ассоциаций не зависела от третьих факторов. Все вышеперечисленное создает новые векторы для дальнейших исследований КМ в области профилактики и лечения ХСНсФВ.

В заключении хотелось бы отметить, что более 100 лет назад великий русский ученый, основоположник современной теории иммунитета и лауреат Нобелевской премии И.И. Мечников предвосхитил современные тенденции развития клинической медицины и микробиологии. В работе «Этюды оптимизма» он настойчиво подчеркивал, что многочисленные ассоциации микробов, населяющих кишечник человека, в значительной мере определяют его духовное и физическое здоровье, а кожа и слизистые оболочки человека покрыты в виде перчатки биопленкой, состоящей из сотен видов микроорганизмов. Сегодня идеи этого великого ученого с успехом находят отражение в самых новаторских направлениях клинической и фундаментальной медицины, раскрывая горизонты современного понимания многогранного патогенеза заболеваний и воздействия на него.

ВЫВОДЫ

1. Сравнение состава кишечной микробиоты в группе хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса и в контрольной группе без диастолической дисфункции установило снижение относительной представленности родов бактерий, характеризующих здоровую кишечную микробиоту и относящихся к продуцентам короткоцепочечных жирных кислот: *Faecalibacterium* ($p=0,001$), *Lactobacillus* ($p=0,031$), *Lachnoclostridium* ($p=0,016$), *Gemmiger* ($p<0,001$), *Oscillospira* ($p=0,032$), неклассифицированный род семейства *Lachnospiraceae* ($p=0,030$), *Roseburia* ($p=0,026$), *Eubacterium* ($p=0,004$), изменение относительной представленности условно-патогенных родов: *Pseudomonas* ($p=0,024$), *Atopobium* ($p=0,015$), *Peptococcus* ($p=0,035$), *Haemophilus* ($p=0,011$), а также увеличение относительной представленности рода *Candidatus Soleaferrea* ($p=0,033$).

2. Уровень триметиламин-N-оксида выше в группе хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса в сравнении с контрольной группой 437,0 [312,5; 545,8] и 264,0 [163,0; 376,5] пг/мл соответственно, $p<0,001$). Уровень липополисахарида выше при хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса в сравнении с контрольной группой ($p=0,018$).

3. В ходе анализа ассоциации родов кишечной микробиоты с маркерами системного воспаления и эндотоксемии в группе с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса установлено, что низкая относительная представленность *Faecalibacterium* ассоциирована с высоким уровнем интерлейкина-1 β ($r= -0,36$, $p=0,018$) и низким уровнем липополисахарида (ОШ=5,54, $p=0,035$); низкая относительная представленность *Haemophilus* ассоциирована со снижением уровня интерлейкина-1 β (ОШ=32,37, $p=0,025$); низкая относительная представленность рода *Oscillospira* ассоциирована с низким уровнем высокочувствительного С-реактивного белка (ОШ=4,03, $p=0,036$) и высоким уровнем интерлейкина-6 (ОШ=0,25, $p=0,036$); низкая относительная представленность родов *Eubacterium* и *Peptococcus* ассоциирована со снижением

уровня липополисахарида ($r=0,34$, $p=0,026$ и $r=0,31$, $p=0,043$ соответственно); высокая относительная представленность рода *Pseudomonas* ассоциирована с ростом уровня липополисахарида (ОШ=7,09, $p=0,020$).

4. Изучение связи представителей кишечной микробиоты с маркерами фиброза миокарда демонстрирует, что в когорте пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса: низкая относительная представленность рода *Gemmiger* ассоциирована с высоким уровнем С-терминального пропептида проколлагена I типа ($r= -0,35$, $p=0,025$); низкая относительная представленность *Lactobacillus* ассоциирована с низкой экспрессией микрорибонуклеиновой кислоты 183-3р (ОШ=7,57, $p=0,040$); низкая относительная представленность *Oscillospira* ассоциирована с высокой экспрессией микрорибонуклеиновых кислот: 183-3р (ОШ=0,12, $p=0,006$), 21-3р (ОШ=0,18, $p=0,021$), 545-5р (ОШ=0,22, $p=0,031$); низкая относительная представленность неклассифицированного рода *Lachnospiraceae* ассоциирована с ростом экспрессии микрорибонуклеиновой кислоты 193b-3р (ОШ=0,16, $p=0,014$); низкая относительная представленность *Roseburia* и *Eubacterium* ассоциирована с более низким уровнем триметиламин-N-оксида (ОШ=9,2, $p=0,005$ и ОШ=4,11, $p=0,041$ соответственно).

5. В группе хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса низкая относительная представленность рода *Lactobacillus* ($r=0,45$, $p=0,003$) ассоциирована с низким уровнем N-концевого предшественника мозгового натрийуретического пептида; низкая относительная представленность рода *Gemmiger* ассоциирована с более высоким уровнем N-концевого предшественника мозгового натрийуретического пептида (ОШ=0,27, $p=0,049$); высокая относительная представленность рода *Candidatus Soleaferrea* ($r= -0,37$, $p=0,017$) коррелирует со снижением уровня N-концевого предшественника мозгового натрийуретического пептида.

6. Низкая относительная представленность бутират-продуцирующих бактерий родов *Faecalibacterium* (ОШ=0,19, $p=0,038$) и *Lachnoclostridium* (ОШ=0,1, $p=0,010$) связана с увеличением объема внеклеточного матрикса у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса оценка состава кишечной микробиоты, а также уровней триметиламин-N-оксида и липополисахарида является перспективным инструментом изучения деталей патогенеза и их таргетной коррекции.

2. Состав кишечной микробиоты претендует на роль новой терапевтической мишени в комплексной терапии хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса, а также показателя для мониторинга коррекции бактериального состава.

3. У пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса для оценки состояния системного вялотекущего воспаления целесообразно определение относительной представленности родов *Haemophilus*, *Faecalibacterium*, *Oscillospira*, *Pseudomonas*, *Eubacterium*, *Peptococcus*.

4. Изучение относительной представленности родов *Gemmiger*, *Eubacterium*, *Roseburia*, *Oscillospira*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, *Lachnoclostridium* и неклассифицированного рода семейства *Lachnospiraceae*, ассоциированных с уровнем маркеров фиброза миокарда или объемом внеклеточного матрикса, целесообразно для детализации патогенеза фиброза миокарда при хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ – артериальная гипертония

АД – артериальное давление

АМКР – антагонисты минералокортикоидных рецепторов

АПФ – ангиотензинпревращающий фермент

ВЗК – воспалительные заболевания кишечника

вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок

ГЛЖ – гипертрофия левого желудочка

ДД – диастолическая дисфункция

ДДЛА – диастолическое давление в легочной артерии

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

e' – максимальная скорость движения фиброзного кольца митрального клапана в раннюю диастолу на уровне межжелудочковой перегородки

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМТ – индекс массы тела

ИПП – ингибиторы протонной помпы

ИФА – иммуноферментный анализ

КДД – конечно-диастолическое давление

КДО – конечно-диастолический объем

КДР – конечно-диастолический размер

КМ – кишечная микробиота

КСО – конечно-систолический объем

КСР – конечно-систолический размер

КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

ЛЖ – левый желудочек

ЛП – левое предсердие

ЛПС – липополисахарид

Me – медиана

МЖП – межжелудочковая перегородка

МикроРНК – микрорибонуклеиновая кислота

ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка

МРТ – магнитно-резонансная томография

ОШ – отношение шансов

ПКГ – протеинкиназа G

ПЖ – правый желудочек

Пик А – максимальная скорость трансмитрального кровотока в фазу позднего диастолического наполнения

Пик Е – максимальная скорость трансмитрального кровотока в фазу раннего диастолического наполнения

ПКА – протеинкиназа А

ПП – правое предсердие

ПЦР – полимеразная цепная реакция

рРНК – рибосомальная рибонуклеиновая кислота

СД – сахарный диабет

СДЛА – систолическое давление в легочной артерии

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СН – сердечная недостаточность

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

США – Соединенные Штаты Америки

ТМА – триметиламин

ТМАО – триметиламин-N-оксид

ТШХ – тест с шестиминутной ходьбой

ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка

ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России – федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации

ФГБУ «ЦСП» ФМБА России – федеральное государственное бюджетное

учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства

ФК – функциональный класс

ФП – фибрилляция предсердий

ХБП – хроническая болезнь почек

ХНИЗ – хронические неинфекционные заболевания

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ХСНнФВ – хроническая сердечная недостаточность с низкой фракцией выброса

ХСНпФВ – хроническая сердечная недостаточность с промежуточной фракцией выброса

ХСНсФВ – хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса

цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат

ШОКС – шкала оценки клинического состояния у больных с ХСН

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

ЭКГ – электрокардиография

ЭхоКГ – эхокардиография

ASV – варианты последовательностей ампликонов

BNP – мозговой натрийуретический пептид

СІТР – С-терминальный телопептид коллагена I типа

ECV – объем внеклеточного матрикса

GDF-15 – фактор роста и дифференцировки 15

HbA1c – гликированный гемоглобин

ICAM-1 – внутриклеточная молекула адгезии 1

IL – интерлейкин

miRNA – микроРибонуклеиновая кислота

MMP – матриксная металлопротеиназа

NF-kB – ядерный фактор kB

NO – оксид азота

NT-proBNP – N-концевой предшественник мозгового натрийуретического пептида

NYHA – Нью-Йоркская ассоциация сердца

PICP – С-терминальный пропептид проколлагена I типа

PIINP – N-терминальный пропептид проколлагена III типа

SERCA2 – кальциевая аденозинтрифосфатаза саркоплазматического ретикулума

sST2 – растворимый супрессор туморогенности 2

ST2L – мембран-связанный рецептор супрессора туморогенности 2

TGF- β – трансформирующий фактор роста β

TIMP – тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы

TLR – Toll-подобный рецептор

TNF- α – фактор некроза опухоли α

VCAM-1 – воспалительная сосудистая молекула клеточной адгезии 1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ambrosy, A.P. The global health and economic burden of hospitalizations for heart failure: lessons learned from hospitalized heart failure registries / A.P. Ambrosy, G.C. Fonarow, J. Butler [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2014. – Vol. 63. – No 12. – P. 1123-1133.
2. Conrad, N. Temporal trends and patterns in heart failure incidence: a population-based study of 4 million individuals / N. Conrad, A. Judge, J. Tran [et al.] // *Lancet.* – 2018. – Vol. 391. – No 10120. – P. 572-580.
3. Van Riet, E.E. Prevalence of unrecognized heart failure in older persons with shortness of breath on exertion / E.E. Van Riet, A.W. Hoes, A. Limburg [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2014. – Vol. 16. – No 7. – P. 772-777.
4. Беленков, Ю.Н. Истинная распространенность ХСН в европейской части Российской Федерации (госпитальный этап) / Ю.Н. Беленков, В.Ю. Мареев, Ф.Т. Агеев [и др.] // *Журнал сердечная недостаточность.* – 2011. – № 2. – С. 63-68.
5. Фомин, И.В. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что сегодня мы знаем и должны знать / И.В. Фомин // *Российский кардиологический журнал.* – 2016. – № 8. – С. 7-13.
6. Мареев, В.Ю. От имени рабочей группы исследования ЭПОХА–О–ХСН. Сравнительная характеристика больных с ХСН в зависимости от величины ФВ по результатам Российского многоцентрового исследования ЭПОХА–О–ХСН / В.Ю. Мареев, М.О. Даниелян, Ю.Н. Беленков // *Журнал Сердечная Недостаточность.* – 2006. – Т. 7. – № 4. – С. 164-171.
7. Vasan, R.S. Congestive heart failure in subjects with normal versus reduced left ventricular ejection fraction: prevalence and mortality in a population-based cohort / R.S. Vasan, M.G. Larson, E.J. Benjamin [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 1999. – Vol. 33. – No 7. – P. 1948-1955.
8. Devereux, R.B. Congestive heart failure despite normal left ventricular systolic function in a population-based sample: the Strong Heart Study / R.B. Devereux, M.J. Roman, J.E. Liu [et al.] // *Am J Cardiol.* – 2000. – Vol. 86. – No 10. – P. 1090-1096.

9. Kitzman, D.W. Importance of heart failure with preserved systolic function in patients \geq 65 years of age. CHS Research Group. Cardiovascular Health Study / D.W. Kitzman, J.M. Gardin, J.S. Gottdiener [et al.] // *Am J Cardiol.* – 2001. – Vol. 87. – No 4. – P. 413-419.
10. Naing, P. Heart failure with preserved ejection fraction: A growing global epidemic / P. Naing, D. Forrester, N. Kangaharan [et al.] // *Aust J Gen Pract.* – 2019. – Vol. 48. – No 7. – P. 465-471.
11. Oktay, A.A. The emerging epidemic of heart failure with preserved ejection fraction / A.A. Oktay, J.D. Rich, S.J. Shah // *Curr Heart Fail Rep.* – 2013. – Vol. 10. – No 4. – P. 401-410.
12. Van Riet, E.E. Epidemiology of heart failure: the prevalence of heart failure and ventricular dysfunction in older adults over time. A systematic review / E.E. Van Riet, A.W. Hoes, K.P. Wagenaar [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2016. – Vol. 18. – No 3. – P. 242-252.
13. Paulus, W.J. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation / W.J. Paulus, C. Tschöpe // *J Am Coll Cardiol.* – 2013. – Vol. 62. – No 4. – P. 263-271.
14. Franssen, C. Myocardial Microvascular Inflammatory Endothelial Activation in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction / C. Franssen, S. Chen, A. Unger [et al.] // *JACC Heart Fail.* – 2016. – Vol. 4. – No 4. – P. 312-324.
15. Kumar, D. The emerging role of gut microbiota in cardiovascular diseases / D. Kumar, S.S. Mukherjee, R. Chakraborty [et al.] // *Indian Heart J.* – 2021. – Vol. 73. – No 3. – P. 264-272.
16. Tang, W.H.W. Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease / W.H.W. Tang, T. Kitai, S.L. Hazen [et al.] // *Circ Res.* – 2017. – Vol. 120. – No 7. – P. 1183-1196.
17. Kitai, T. Gut microbiota in cardiovascular disease and heart failure / T. Kitai, W.H.W. Tang // *Clin Sci (Lond).* – 2018. – Vol. 132. – No 1. – P. 85-91.
18. Zabell, A. Targeting the Microbiome in Heart Failure / A. Zabell, W.H. Tang

// Curr Treat Options Cardiovasc Med. – 2017. – Vol. 19. – No 4. – P. 27.

19. Sandek, A. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure / A. Sandek, J. Bauditz, A. Swidsinski [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 2007. – Vol. 50. – No 16. – P. 1561-1569.

20. Kamo, T. Novel Concept of a Heart-Gut Axis in the Pathophysiology of Heart Failure / T. Kamo, H. Akazawa, J. Suzuki [et al.] // Korean Circ J. – 2017. – Vol. 47. – No 5. – P. 663-669.

21. Cui, X. Metagenomic and metabolomic analyses unveil dysbiosis of gut microbiota in chronic heart failure patients / X. Cui, L. Ye, J. Li [et al.] // Sci Rep. 2018. – Vol. 8. – No 1. – P. 635.

22. Ma, G. Trimethylamine N-oxide in atherogenesis: impairing endothelial self-repair capacity and enhancing monocyte adhesion / G. Ma, B. Pan, Y. Chen [et al.] // Biosci Rep. – 2017. – Vol. 37. – No 2. – P. BSR20160244.

23. Tang, W.H. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk / W.H. Tang, Z. Wang, B.S. Levison [et al.] // N Engl J Med. – 2013. – Vol. 368. – No 17. – P. 1575-1584.

24. Brown, J.M. Microbial modulation of cardiovascular disease / J.M. Brown, S.L. Hazen // Nat Rev Microbiol. – 2018. – Vol. 16. – No 3. – P. 171-181.

25. Kamo, T. Dysbiosis and compositional alterations with aging in the gut microbiota of patients with heart failure / T. Kamo, H. Akazawa, W. Suda [et al.] // PLoS One. – 2017. – Vol. 12. – No 3. – P. e0174099.

26. Kummén, M. Gut Microbiota Signature in Heart Failure Defined From Profiling of 2 Independent Cohorts / M. Kummén, C.C.K. Mayerhofer, B. Vestad // J Am Coll Cardiol. – 2018. – Vol. 71. – No 10. – P. 1184-1186.

27. Hummel, S. Gut microbiome differs between heart failure with preserved ejection fraction and age-matched controls / S. Hummel, C. Bassis, C. Marolt [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 2019. – Vol. 73. – Suppl. 1. – P. 750.

28. Yancy, C.W. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines / C.W. Yancy,

M. Jessup, B. Bozkurt [et al.] // *Circulation*. – 2013. – Vol. 128. – No 16. – P. 1810-1852.

29. Pfeffer, M.A. Heart Failure With Preserved Ejection Fraction In Perspective / M.A. Pfeffer, A.M. Shah, B.A. Borlaug // *Circ Res*. – 2019. – Vol. 124. – No 11. – P. 1598-1617.

30. Ponikowski, P. Рекомендации ESC по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности 2016 / P. Ponikowski, A.A. Voors, S.D. Anker [et al.] // *Российский кардиологический журнал*. – 2017. – № 1. – С. 7-81.

31. Мареев, В.Ю. Клинические рекомендации ОССН – РКО – РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение / В.Ю. Мареев, И.В. Фомин, Ф.Т. Агеев [и др.] // *Кардиология*. – 2018. – Т. 58. – № 6S. – С. 8-158.

32. Harper, A.R. Heart failure with preserved ejection fraction / A.R. Harper, H.C. Patel, A.R. Lyon // *Clin Med (Lond)*. – 2018. – Vol 18. – Suppl 2. – P. s24-s29.

33. Altay, H. Heart Failure with Preserved Ejection Fraction / H. Altay, S. Pehlivanoglu // Kirali K. *Cardiomyopathies – Types and Treatments*. – IntechOpen, 2017. – P. 39–53.

34. Поляков, Д.С. Эпидемиологическая программа ЭПОХА–ХСН: декомпенсация хронической сердечной недостаточности в реальной клинической практике (ЭПОХА–Д–ХСН) / Д.С. Поляков, И.В. Фомин, Ф.Ю. Валикулова [и др.] // *Журнал Сердечная недостаточность*. – 2016. – Т. 17. – № 6. – С. 299-305.

35. Bursi, F. Systolic and diastolic heart failure in the community / F. Bursi, S.A. Weston, M.M. Redfield [et al.] // *JAMA*. – 2006. – Vol. 296. – No 18. – P. 2209-2216.

36. Brouwers, F.P. Incidence and epidemiology of new onset heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction in a community-based cohort: 11-year follow-up of PREVEND / F.P. Brouwers, R.A. De Boer, P. Van der Harst [et al.] // *Eur Heart J*. – 2013. – Vol. 34. – No 19. – P. 1424-1431.

37. Owan, T.E. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction / T.E. Owan, D.O. Hodge, R.M. Herges [et al.] // *N Engl J Med*. – 2006. – Vol. 355. – No 3. – P. 251-259.

38. Yancy, C.W. Scientific Advisory Committee and Investigators. Clinical

presentation, management, and in-hospital outcomes of patients admitted with acute decompensated heart failure with preserved systolic function: a report from the Acute Decompensated Heart Failure National Registry (ADHERE) Database / C.W. Yancy, M. Lopatin, L.W. Stevenson [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2006. – Vol. 47. – No 1. – P. 76-84.

39. Dunlay, S.M. Epidemiology of heart failure with preserved ejection fraction / S.M. Dunlay, V.L. Roger, M.M. Redfield // *Nat Rev Cardiol.* – 2017. – Vol. 14. – No 10. – P. 591-602.

40. Lam, C.S. Epidemiology and clinical course of heart failure with preserved ejection fraction / C.S. Lam, E. Donal, E. Kraigher-Krainer [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2011. – Vol. 13. – No 1. – P. 18-28.

41. Shiba, N. Analysis of chronic heart failure registry in the Tohoku district: third year follow-up / N. Shiba, J. Watanabe, T. Shinozaki [et al.] // *Circ J.* – 2004. – Vol. 68. – No 5. – P. 427-434.

42. Shiba, N. Trend of westernization of etiology and clinical characteristics of heart failure patients in Japan-first report from the CHART-2 study / N. Shiba, K. Nochioka, M. Miura [et al.] // *Circ J.* – 2011. – Vol. 75. – No 4. – P. 823-833.

43. Ceia, F. Prevalence of chronic heart failure in Southwestern Europe: the EPICA study / F. Ceia, C. Fonseca, T. Mota [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2002. – Vol. 4. – No 4. – P. 531-539.

44. Gerber, Y. A contemporary appraisal of the heart failure epidemic in Olmsted County, Minnesota, 2000 to 2010 / Y. Gerber, S.A. Weston, M.M. Redfield [et al.] // *JAMA Intern Med.* – 2015. – Vol. 175. – No 6. – P. 996-1004.

45. Mohammed, S.F. Comorbidity and ventricular and vascular structure and function in heart failure with preserved ejection fraction: a community-based study / S.F. Mohammed, B.A. Borlaug, V.L. Roger [et al.] // *Circ Heart Fail.* – 2012. – Vol. 5. – No 6. – P. 710-719.

46. Shah, K.S. Heart Failure With Preserved, Borderline, and Reduced Ejection Fraction: 5-Year Outcomes / K.S. Shah, H. Xu, R.A. Matsouaka [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2017. – Vol. 70. – No 20. – P. 2476-2486.

47. Fukuta, H. Effects of drug and exercise intervention on functional capacity and quality of life in heart failure with preserved ejection fraction: A meta-analysis of randomized controlled trials / H. Fukuta, T. Goto, K. Wakami [et al.] // *Eur J Prev Cardiol.* – 2016. – Vol. 23. – No 1. – P. 78-85.

48. Shah, A.M. Cardiac structure and function in heart failure with preserved ejection fraction: baseline findings from the echocardiographic study of the treatment of preserved cardiac function heart failure with an aldosterone antagonist trial / A.M. Shah, S.J. Shah, I.S. Anand [et al.] // *Circ Heart Fail.* – 2014. – Vol. 7. – P. 104-115.

49. Parikh, K.S. Heart Failure With Preserved Ejection Fraction Expert Panel Report: Current Controversies and Implications for Clinical Trials / K.S. Parikh, K. Sharma, M. Fiuzat [et al.] // *JACC Heart Fail.* – 2018. – Vol. 6. – No 8. – P. 619-632.

50. Campbell, R.T. What have we learned about patients with heart failure and preserved ejection fraction from DIG-PEF, CHARM-preserved, and I-PRESERVE? / R.T. Campbell, P.S. Jhund, D. Castagno [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2012. – Vol. 60. – No 23. – P. 2349-2356.

51. Gottdiener, J.S. Outcome of congestive heart failure in elderly persons: influence of left ventricular systolic function. The Cardiovascular Health Study / J.S. Gottdiener, R.L. McClelland, R. Marshall [et al.] // *Ann Intern Med.* – 2002. – Vol. 137. – No 8. – P. 631-639.

52. Ather, S. Impact of noncardiac comorbidities on morbidity and mortality in a predominantly male population with heart failure and preserved versus reduced ejection fraction / S. Ather, W. Chan, B. Bozkurt [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2012. – Vol. 59. – No 11. – P. 998-1005.

53. Lam, C.S. Cardiac dysfunction and noncardiac dysfunction as precursors of heart failure with reduced and preserved ejection fraction in the community / C.S. Lam, A. Lyass, E. Kraigher-Krainer [et al.] // *Circulation.* – 2011. – Vol. 124. – No 1. – P. 24-30.

54. Shah, S.J. Phenomapping for novel classification of heart failure with preserved ejection fraction / S.J. Shah, D.H. Katz, S. Selvaraj [et al.] // *Circulation.* – 2015. – Vol. 131. – No 3. – P. 269-79.

55. Zakeri, R. Temporal relationship and prognostic significance of atrial fibrillation in heart failure patients with preserved ejection fraction: a community-based study / R. Zakeri, A.M. Chamberlain, V.L. Roger [et al.] // *Circulation*. – 2013. – Vol. 128. – No 10. – P. 1085-1093.

56. Bhatia, R.S. Outcome of heart failure with preserved ejection fraction in a population-based study / R.S. Bhatia, J.V. Tu, D.S. Lee [et al.] // *N Engl J Med*. – 2006. – Vol. 355. – No 3. – P. 260-269.

57. Arikawa, T. Impact of Obstructive Sleep Apnoea on Heart Failure with Preserved Ejection Fraction / T. Arikawa, S. Toyoda, A. Haruyama [et al.] // *Heart Lung Circ*. – 2016. – Vol. 25. – No 5. – P. 435-441.

58. Obokata, M. Evidence Supporting the Existence of a Distinct Obese Phenotype of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction / M. Obokata, Y.N.V. Reddy, S.V. Pislaru [et al.] // *Circulation*. – 2017. – Vol. 136. – No 1. – P. 6-19.

59. Packer, M. Can brain natriuretic peptide be used to guide the management of patients with heart failure and a preserved ejection fraction? The wrong way to identify new treatments for a nonexistent disease / M. Packer // *Circ Heart Fail*. – 2011. – Vol. 4. – No 5. – P. 538-540.

60. Edelmann, F. Effect of spironolactone on diastolic function and exercise capacity in patients with heart failure with preserved ejection fraction: the Aldo-DHF randomized controlled trial / F. Edelmann, R. Wachter, A.G. Schmidt [et al.] // *JAMA*. – 2013. – Vol. 309. – No 8. – P. 781-791.

61. Lee, D.S. Relation of disease pathogenesis and risk factors to heart failure with preserved or reduced ejection fraction: insights from the framingham heart study of the national heart, lung, and blood institute / D.S. Lee, P. Gona, R.S. Vasan [et al.] // *Circulation*. – 2009. – Vol. 119. – No 24. – P. 3070-7.

62. The survival of patients with heart failure with preserved or reduced left ventricular ejection fraction: an individual patient data meta-analysis / Meta-analysis Global Group in Chronic Heart Failure (MAGGIC) // *Eur Heart J*. – 2012. – Vol. 33. – No 14. – P. 1750-1757.

63. Somaratne, J.B. The prognostic significance of heart failure with preserved

left ventricular ejection fraction: a literature-based meta-analysis / J.B. Somaratne, C. Berry, J.J. McMurray [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2009. – Vol. 11. – No 9. – P. 855-862.

64. Steinberg, B.A. Get With the Guidelines Scientific Advisory Committee and Investigators. Trends in patients hospitalized with heart failure and preserved left ventricular ejection fraction: prevalence, therapies, and outcomes / B.A. Steinberg, X. Zhao, P.A. Heidenreich [et al.] // *Circulation.* – 2012. – Vol. 126. – No 1. – P. 65-75.

65. Pérez de Isla, L. Diastolic heart failure in the elderly: in-hospital and long-term outcome after the first episode / L. Pérez de Isla, V. Cañadas, L. Contreras [et al.] // *Int J Cardiol.* – 2009. – Vol. 134. – No 2. – P. 265-270.

66. Fonarow, G.C. Characteristics, treatments, and outcomes of patients with preserved systolic function hospitalized for heart failure: a report from the OPTIMIZE-HF Registry / G.C. Fonarow, W.G. Stough, W.T. Abraham [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2007. – Vol. 50. – No 8. – P. 768-777.

67. Tribouilloy, C. Prognosis of heart failure with preserved ejection fraction: a 5 year prospective population-based study / C. Tribouilloy, D. Rusinaru, H. Mahjoub [et al.] // *Eur Heart J.* – 2008. – Vol. 29. – No 3. – P. 339-347.

68. Pitt, B. Spironolactone for heart failure with preserved ejection fraction / [et al.] // *N Engl J Med.* 2014. – Vol. 370. – No 15. – P. 1383-92.

69. Burke, M.A. Prognostic importance of pathophysiologic markers in patients with heart failure and preserved ejection fraction / B. Pitt, M.A. Pfeffer, S.F. Assmann [et al.] // *Circ Heart Fail.* – 2014. – Vol. 7. – No 2. – P. 288-299.

70. Cleland, J.G. Relationship between plasma concentrations of N-terminal pro brain natriuretic peptide and the characteristics and outcome of patients with a clinical diagnosis of diastolic heart failure: a report from the PEP-CHF study / J.G. Cleland, J. Taylor, N. Freemantle [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2012. – Vol. 14. – No 5. – P. 487-494.

71. Trankle, C. Impaired myocardial relaxation with exercise determines peak aerobic exercise capacity in heart failure with preserved ejection fraction / C. Trankle, J.M. Canada, L. Buckley [et al.] // *ESC Heart Fail.* – 2017. – Vol. 4. – P. 351-355.

72. Abbate, A. Heart failure with preserved ejection fraction: Refocusing on diastole / A. Abbate, R. Arena, N. Abouzaki [et al.] // *Int J Cardiol.* – 2015. – Vol. 179. –

P. 430-440.

73. Fauvel, C. Preclinical stiff heart is a marker of cardiovascular morbimortality in apparently healthy population / C. Fauvel, M. Bubenheim, O. Raitière [et al.] // *J Cardiol Cardiovasc Med.* – 2019. – Vol. 4. – P. 083-089.

74. Van Heerebeek, L. Molecular and cellular basis for diastolic dysfunction / L. Van Heerebeek, C.P. Franssen, N. Hamdani [et al.] // *Curr Heart Fail Rep.* – 2012. – Vol. 9. – No 4. – P. 293-302.

75. Zile, M.R. Myocardial stiffness in patients with heart failure and a preserved ejection fraction: contributions of collagen and titin / M.R. Zile, C.F. Baicu, J.S. Ikonomidis [et al.] // *Circulation.* – 2015. – Vol. 131. – No 14. – P. 1247-1259.

76. Røe, Å.T. Increased passive stiffness promotes diastolic dysfunction despite improved Ca²⁺ handling during left ventricular concentric hypertrophy / Å.T. Røe, J.M. Aronsen, K. Skårdal [et al.] // *Cardiovasc Res.* – 2017. – Vol. 113. – No 10. – P. 1161-1172.

77. Borlaug, B.A. Impaired chronotropic and vasodilator reserves limit exercise capacity in patients with heart failure and a preserved ejection fraction / B.A. Borlaug, V. Melenovsky, S.D. Russell [et al.] // *Circulation.* – 2006. – Vol. 114. – No 20. – P. 2138-2147.

78. How to diagnose diastolic heart failure / European Study Group on Diastolic Heart Failure // *Eur Heart J.* – 1998. – Vol. 19. – No 7. – P. 990-1003.

79. Paulus, W.J. Treatment of heart failure with normal ejection fraction: an inconvenient truth! / W.J. Paulus, J.J. van Ballegoij // *J Am Coll Cardiol.* – 2010. – Vol. 55. – No 6. – P. 526-537.

80. Skwarek-Maruszewska, A. Contractility-dependent actin dynamics in cardiomyocyte sarcomeres / A. Skwarek-Maruszewska, P. Hotulainen, P.K. Mattila [et al.] // *J Cell Sci.* – 2009. – Vol. 122. – No 12. – P. 2119-2126.

81. Klabunde, R.E. *Cardiovascular Physiology Concepts* / R.E. Klabunde. – 2nd Edition. – Lippincott Williams & Wilkins/Wolters Kluwer, Philadelphia, 2012. – P. 216-222.

82. Bers, D.M. Cardiac excitation-contraction coupling / D.M. Bers // *Nature.* –

2002. – Vol. 415. – No 6868. – P. 198-205.

83. Eisner, D.A. Calcium and excitation-contraction coupling in the heart / D.A. Eisner, J.L. Caldwell, K. Kistamás [et al.] // *Circ Res.* – 2017. – Vol. 121. – P. 181-195.

84. Vlasseros, I. Aggravation of left ventricular diastolic dysfunction in hypertensives with coronary artery disease / I. Vlasseros, V. Katsi, G. Vyssoulis Pylarinos [et al.] // *Hypertens Res.* 2013. – Vol. 36. – No 10. – P. 885-8.

85. Borlaug, B.A. Contractility and ventricular systolic stiffening in hypertensive heart disease insights into the pathogenesis of heart failure with preserved ejection fraction / B.A. Borlaug, C.S. Lam, V.L. Roger [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2009. – Vol. 54. – No 5. – P. 410-418.

86. Rouhana, S. Early calcium handling imbalance in pressure overload-induced heart failure with nearly normal left ventricular ejection fraction / S. Rouhana, C. Farah, J. Roy [et al.] // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* – 2019. – Vol. 1865. – No 1. – P. 230-242.

87. Sossalla, S. Ranolazine improves diastolic dysfunction in isolated myocardium from failing human hearts-role of late sodium current and intracellular ion accumulation / S. Sossalla, S. Wagner, E.C. Rasenack [et al.] // *J Mol Cell Cardiol.* – 2008. – Vol. 45. – No 1. – P. 32-43.

88. Cappetta, D. Effects of ranolazine in a model of doxorubicin-induced left ventricle diastolic dysfunction / D. Cappetta, G. Esposito, R. Coppini [et al.] // *Br J Pharmacol.* – 2017. – Vol. 174. – No 21. – P. 3696-3712.

89. Chung, C.S. Contribution of titin and extracellular matrix to passive pressure and measurement of sarcomere length in the mouse left ventricle / C.S. Chung, H.L. Granzier // *J Mol Cell Cardiol.* – 2011. – Vol. 50. – No 4. – P. 731-739.

90. Krüger, M. Titin-based mechanical signalling in normal and failing myocardium / M. Krüger, W.A. Linke // *J Mol Cell Cardiol.* – 2009. – Vol. 46. – No 4. – P. 490-498.

91. Hamdani, N. Deranged myofilament phosphorylation and function in experimental heart failure with preserved ejection fraction / N. Hamdani, K.G. Bishu, M. von Frieling-Salewsky [et al.] // *Cardiovasc Res.* 2013. – Vol. 97. – P. 464–471.

92. Zhu, C. Maternal Obesity (OB) Increases the Stiffer, Shorter Titin Isoform in the Maternal and Fetal Heart / C. Zhu, J.F. Odhiambo, A. Ghnesis [et al.] // *Reprod Sci.* – 2016. – Vol. 23. – P. 146-147.
93. Kruger, M. Insulin signaling regulates cardiac titin properties in heart development and diabetic cardiomyopathy / M. Kruger, K. Babicz, M. von Frieling-Salewsky [et al.] // *J Mol Cell Cardiol.* – 2010. – Vol. 48. – P. 910-916.
94. Warren, C.M. Titin isoform expression in normal and hypertensive myocardium / C.M. Warren, M.C. Jordan, K.P. Roos [et al.] // *Cardiovasc Res.* – 2003. – Vol. 59. – No 1. – P. 86-94.
95. Krüger, M. Protein kinase G modulates human myocardial passive stiffness by phosphorylation of the titin springs / M. Krüger, S. Kötter, A. Grützner [et al.] // *Circ Res.* – 2009. – Vol. 104. – No 1. – P. 87-94.
96. Borbély, A. Hypophosphorylation of the Stiff N2B titin isoform raises cardiomyocyte resting tension in failing human myocardium / A. Borbély, I. Falcao-Pires, L. Van Heerebeek [et al.] // *Circ Res.* – 2009. – Vol. 104. – No 6. – P. 780-786.
97. Hamdani, N. Myocardial titin hypophosphorylation importantly contributes to heart failure with preserved ejection fraction in a rat metabolic risk model / N. Hamdani, C. Franssen, A. Lourenço [et al.] // *Circ Heart Fail.* – 2013. – Vol. 6. – No 6. – P. 1239-1249.
98. Borbély, A. Cardiomyocyte stiffness in diastolic heart failure / A. Borbély, J. Van der Velden, Z. Papp [et al.] // *Circulation.* – 2005. – Vol. 111. – No 6. – P. 774-781.
99. Weber, K.T. Myofibroblast-mediated mechanisms of pathological remodelling of the heart / K.T. Weber, Y. Sun, S.K. Bhattacharya [et al.] // *Nat Rev Cardiol.* – 2013. – Vol. 10. – No 1. – P. 15-26.
100. Jellis, C. Assessment of nonischemic myocardial fibrosis / C. Jellis, J. Martin, J. Narula [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2010. – Vol. 56. – No 2. – P. 89-97.
101. Mohammed, S.F. Coronary microvascular rarefaction and myocardial fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction / S.F. Mohammed, S. Hussain, S.A. Mirzoyev [et al.] // *Circulation.* – 2015. – Vol. 131. – No 6. – P. 550-559.

102. Su, M.Y. CMR-verified diffuse myocardial fibrosis is associated with diastolic dysfunction in HFpEF / M.Y. Su, L.Y. Lin, Y.H. Tseng [et al.] // *JACC Cardiovasc Imaging*. – 2014. – Vol. 7. – No 10. – P. 991-997.

103. Mascherbauer, J. Cardiac magnetic resonance postcontrast T1 time is associated with outcome in patients with heart failure and preserved ejection fraction / J. Mascherbauer, B.A. Marzluft, C. Tufaro [et al.] // *Circ Cardiovasc Imaging*. – 2013. – Vol. 6. – No 6. – P. 1056-1065.

104. Kato, S. Prognostic significance of quantitative assessment of focal myocardial fibrosis in patients with heart failure with preserved ejection fraction / S. Kato, N. Saito, H. Kirigaya [et al.] // *Int J Cardiol*. – 2015. – Vol. 191. – P. 314-319.

105. Bonnans, C. Remodelling the extracellular matrix in development and disease / C. Bonnans, J. Chou, Z. Werb // *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014. – Vol. 15. – No 12. – P. 786-801.

106. Hynes, R.O. The extracellular matrix: not just pretty fibrils / R.O. Hynes // *Science*. – 2009. – Vol. 326. – No 5957. – P. 1216-1219.

107. Weber, K.T. Cardiac interstitium in health and disease: the fibrillar collagen network / K.T. Weber // *J Am Coll Cardiol*. – 1989. – Vol. 13. – No 7. – P. 1637-52.

108. Fan, D. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease / D. Fan, A. Takawale, J. Lee [et al.] // *Fibrogenesis Tissue Repair*. – 2012. – Vol. 5. – No 1. – P. 15.

109. Kai, H. Diastolic dysfunction in hypertensive hearts: roles of perivascular inflammation and reactive myocardial fibrosis / H. Kai, F. Kuwahara, K. Tokuda [et al.] // *Hypertens Res*. – 2005. – Vol. 28. – No 6. – P. 483-490.

110. Savoia, C. Vascular inflammation in hypertension and diabetes: molecular mechanisms and therapeutic interventions / C. Savoia, E.L. Schiffrin // *Clin Sci (Lond)*. – 2007. – Vol. 112. – No 7. – P. 375-384.

111. Wang, N.P. Recruitment of macrophages from the spleen contributes to myocardial fibrosis and hypertension induced by angiotensin II / N.P. Wang, J. Erskine, W.W. Zhang [et al.] // *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. – 2017. – Vol. 18. – No 2. – P. 1470320317706653.

112. Brenes-Castro, D. Temporal Frame of Immune Cell Infiltration during Heart Failure Establishment: Lessons from Animal Models / D. Brenes-Castro, EC. Castillo, E. Vázquez-Garza [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol. 19. – No 12. – P. 3719.
113. Glezeva, N. Exaggerated inflammation and monocytosis associate with diastolic dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction: evidence of M2 macrophage activation in disease pathogenesis / N. Glezeva, V. Voon, C. Watson [et al.] // *J Card Fail.* – 2015. – Vol. 21. – No 2. – P. 167-77.
114. Chirinos, J.A. Heart Failure, Left Ventricular Remodeling, and Circulating Nitric Oxide Metabolites / J.A. Chirinos, S.R. Akers, L. Trieu [et al.] // *J Am Heart Assoc.* – 2016. – Vol. 5. – No 10. – P. e004133.
115. Shah, S.J. Phenotype-Specific Treatment of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Multiorgan Roadmap / S.J. Shah, D.W. Kitzman, B.A. Borlaug [et al.] // *Circulation.* – 2016. – Vol. 134. – No 1. – P. 73-90.
116. Kovács, Á. Is enhancing cGMP-PKG signalling a promising therapeutic target for heart failure with preserved ejection fraction? / Á. Kovács, A. Alogna, H. Post [et al.] // *Neth Heart J.* – 2016. – Vol. 24. – No 4. – P. 268-274.
117. Takimoto, E. Cyclic GMP-dependent signaling in cardiac myocytes / E. Takimoto // *Circ J.* – 2012. – Vol. 76. – No 8. – P. 1819-1825.
118. LeWinter, M.M. Could Modification of Titin Contribute to an Answer for Heart Failure With Preserved Ejection Fraction? / M.M. LeWinter, M.R. Zile [et al.] // *Circulation.* – 2016. – Vol. 134. – No 15. – P. 1100-1104.
119. Cucoranu, I. NAD(P)H oxidase 4 mediates transforming growth factor-beta1-induced differentiation of cardiac fibroblasts into myofibroblast / I. Cucoranu, R. Clempus, A. Dikalova [et al.] // *Circ Res.* – 2005. – Vol. 97. – No 9. – P. 900-7.
120. Wilck, N. Nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase stimulation improves experimental heart failure with preserved ejection fraction / N. Wilck, L. Markó, A. Balogh [et al.] // *JCI Insight.* 2018. – Vol. 3. – No 4. – P. e96006.
121. Bishu, K. Sildenafil and B-type natriuretic peptide acutely phosphorylate titin and improve diastolic distensibility in vivo / K. Bishu, N. Hamdani, S.F. Mohammed [et al.] // *Circulation.* – 2011. – Vol. 124. – No 25. – P. 2882-2891.

122. Fraccarollo, D. Soluble guanylyl cyclase activation improves progressive cardiac remodeling and failure after myocardial infarction. Cardioprotection over ACE inhibition / D. Fraccarollo, P. Galuppo, S. Motschenbacher [et al.] // *Basic Res Cardiol.* – 2014. – Vol. 109. – No 4. – P. 421.

123. Collier, P. Can emerging biomarkers of myocardial remodelling identify asymptomatic hypertensive patients at risk for diastolic dysfunction and diastolic heart failure? / P. Collier, C.J. Watson, V. Voon [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2011. – Vol. 13. – No 10. – P. 1087-1095.

124. Kalogeropoulos, A. Inflammatory markers and incident heart failure risk in older adults: the Health ABC (Health, Aging, and Body Composition) study / A. Kalogeropoulos, V. Georgiopoulou, B.M. Psaty [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2010. – Vol. 55. – No 19. – P. 2129-2137.

125. DuBrock, H.M. High-sensitivity C-reactive protein in heart failure with preserved ejection fraction / H.M. DuBrock, O.F. AbouEzzeddine, M.M. Redfield // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13. – No 8. – P. e0201836.

126. Ter Maaten, J.M. Connecting heart failure with preserved ejection fraction and renal dysfunction: the role of endothelial dysfunction and inflammation / J.M. Ter Maaten, K. Damman, M.C. Verhaar [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2016. – Vol. 18. – No 6. – P. 588-598.

127. Shah, S.J. High-sensitivity C-reactive protein and parameters of left ventricular dysfunction / S.J. Shah, G.M. Marcus, I.L. Gerber [et al.] // *J Card Fail.* – 2006. – Vol. 12. – No 1. – P. 61-65.

128. Sciarretta, S. Markers of inflammation and fibrosis are related to cardiovascular damage in hypertensive patients with metabolic syndrome / S. Sciarretta, A. Ferrucci, G.M. Ciavarella [et al.] // *Am J Hypertens.* – 2007. – Vol. 20. – P. 784-791.

129. D'Elia, E. Role of biomarkers in cardiac structure phenotyping in heart failure with preserved ejection fraction: critical appraisal and practical use / E. D'Elia, M. Vaduganathan, M. Gori [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2015. – Vol. 17. – No 12. – P. 1231-1239.

130. Sanders-van Wijk, S. Circulating biomarkers of distinct pathophysiological

pathways in heart failure with preserved vs. reduced left ventricular ejection fraction / S. Sanders-van Wijk, V. van Empel, N. Davarzani [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2015. – Vol. 17. – No 10. – P. 1006-1014.

131. Patel, R.B. Cellular Adhesion Molecules in Young Adulthood and Cardiac Function in Later Life / R.B. Patel, L.A. Colangelo, A.P. Reiner [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2020. – Vol. 75. – No 17. – P. 2156-2165.

132. Hulsmans, M. Cardiac macrophages promote diastolic dysfunction / M. Hulsmans, H.B. Sager, J.D. Roh [et al.] // *J Exp Med.* – 2018. – Vol. 215. – No 2. – P. 423-440.

133. Beale, A.L. Sex Differences in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction Pathophysiology: A Detailed Invasive Hemodynamic and Echocardiographic Analysis / Beale, A.L., Nanayakkara, S., Segan, L. [et al.] // *JACC Heart Fail.* – 2019. – Vol. 7. – P.:239–249.

134. Farrero, M. Pulmonary hypertension is related to peripheral endothelial dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction / M. Farrero, I. Blanco, M. Batlle [et al.] // *Circ Heart Fail.* – 2014. – Vol. 7. – No 5. – P. 791-798.

135. Lim, S.L. Cardiac endothelium-myocyte interaction: clinical opportunities for new heart failure therapies regardless of ejection fraction / S.L. Lim, C.S. Lam, V.F. Segers [et al.] // *Eur Heart J.* – 2015. – Vol. 36. – No 31. – P. 2050-2060.

136. Kitzman, D.W. Effect of Caloric Restriction or Aerobic Exercise Training on Peak Oxygen Consumption and Quality of Life in Obese Older Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Randomized Clinical Trial / D.W. Kitzman, P. Brubaker, T. Morgan [et al.] // *JAMA.* – 2016. – Vol. 315. – No 1. – P. 36-46.

137. Dhondup, Y. Sustained Toll-Like Receptor 9 Activation Promotes Systemic and Cardiac Inflammation, and Aggravates Diastolic Heart Failure in SERCA2a KO Mice / Y. Dhondup, I. Sjaastad, H. Scott [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10. – No 10. – P. e0139715.

138. Tromp, J. Identifying Pathophysiological Mechanisms in Heart Failure With Reduced Versus Preserved Ejection Fraction / J. Tromp, B.D. Westenbrink, W. Ouwerkerk [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2018. – Vol. 72. – No 10. – P. 1081-1090.

139. Abernethy, A. Pro-Inflammatory Biomarkers in Stable Versus Acutely Decompensated Heart Failure With Preserved Ejection Fraction / A. Abernethy, S. Raza, J.L. Sun [et al.] // *J Am Heart Assoc.* – 2018. – Vol. 7. – No 8. – P. e007385.

140. Roy, C. Associations and prognostic significance of diffuse myocardial fibrosis by cardiovascular magnetic resonance in heart failure with preserved ejection fraction / C. Roy, A. Slimani, C. De Meester [et al.] // *J Cardiovasc Magn Reson.* – 2018. – Vol. 20. – No 1. – P. 55.

141. Aoki, T. Prognostic impact of myocardial interstitial fibrosis in non-ischemic heart failure. Comparison between preserved and reduced ejection fraction heart failure / T. Aoki, Y. Fukumoto, K. Sugimura [et al.] // *Circ J.* – 2011. – Vol. 75. – No 11. – P. 2605-2613.

142. Dai, Z. Coronary perivascular fibrosis is associated with impairment of coronary blood flow in patients with non-ischemic heart failure / Z. Dai, T. Aoki, Y. Fukumoto [et al.] // *J Cardiol.* – 2012. – Vol. 60. – No 5. – P. 416-21.

143. Morillas, P. Circulating biomarkers of collagen metabolism in arterial hypertension: relevance of target organ damage / P. Morillas, J. Quiles, H. De Andrade [et al.] // *J Hypertens.* – 2013. – Vol. 31. – No 8. – P. 1611-1617.

144. Zayani, Y. Inflammations mediators and circulating levels of matrix metalloproteinases: Biomarkers of diabetes in Tunisians metabolic syndrome patients / Y. Zayani, N. El Golli, W. Zidi [et al.] // *Cytokine.* – 2016. – Vol. 86. – P. 47-52.

145. Gil-Cayuela, C. RNA sequencing analysis identifies new human collagen genes involved in cardiac remodeling / C. Gil-Cayuela, M. Rivera, A. Ortega [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2015. – Vol. 65. – No 12. – P. 1265-1267.

146. Zannad, F. Extracellular matrix fibrotic markers in heart failure / F. Zannad, P. Rossignol, W. Iraqi // *Heart Fail Rev.* – 2010. – Vol. 15. – No 4. – P. 319-329.

147. Varo, N. Chronic AT(1) blockade stimulates extracellular collagen type I degradation and reverses myocardial fibrosis in spontaneously hypertensive rats / N. Varo, M.J. Iraburu, M. Varela [et al.] // *Hypertension.* – 2000. – Vol. 35. – No 6. – P. 1197-1202.

148. Spinale, F.G. Membrane-associated matrix proteolysis and heart failure /

F.G. Spinale, J.S. Janicki, M.R. Zile [et al.] // *Circ Res.* – 2013. – Vol. 112. – No 1. – P. 195-208.

149. Maurer, M.S. Ventricular structure and function in hypertensive participants with heart failure and a normal ejection fraction: the Cardiovascular Health Study / M.S. Maurer, D. Burkhoff, L.P. Fried [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2007. – Vol. 49. – No 9. – P. 972-981.

150. González, A. Filling pressures and collagen metabolism in hypertensive patients with heart failure and normal ejection fraction / A. González, B. López, R. Querejeta [et al.] // *Hypertension.* – 2010. – Vol. 55. – No 6. – P. 1418-1424.

151. Duprez, D.A. Predictive Value of Collagen Biomarkers for Heart Failure With and Without Preserved Ejection Fraction: MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) / D.A. Duprez, M.D. Gross, J.R. Kizer [et al.] // *J Am Heart Assoc.* – 2018. – Vol. 7. – No 5. – P. e007885.

152. Zile, M.R. Plasma biomarkers that reflect determinants of matrix composition identify the presence of left ventricular hypertrophy and diastolic heart failure / M.R. Zile, S.M. Desantis, C.F. Baicu [et al.] // *Circ Heart Fail.* – 2011. – Vol. 4. – No 3. – P. 246-256.

153. Cooper, L.T. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology Endorsed by the Heart Failure Society of America and the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology / L.T. Cooper, K.L. Baughman, A.M. Feldman [et al.] // *Eur Heart J.* – 2007. – Vol. 28. – No 24. – P. 3076-3093.

154. López, B. Circulating Biomarkers of Myocardial Fibrosis: The Need for a Reappraisal / B. López, A. González, S. Ravassa [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2015. – Vol. 65. – No 22. – P. 2449-2456.

155. Díez, J. Losartan-dependent regression of myocardial fibrosis is associated with reduction of left ventricular chamber stiffness in hypertensive patients / J. Díez, R. Querejeta, B. López [et al.] // *Circulation.* – 2002. – Vol. 105. – No 21. – P. 2512-2517.

156. Izawa, H. Mineralocorticoid receptor antagonism ameliorates left ventricular

diastolic dysfunction and myocardial fibrosis in mildly symptomatic patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: a pilot study / H. Izawa, T. Murohara, K. Nagata [et al.] // *Circulation*. – 2005. – Vol. 112. – No 19. – P. 2940-2945.

157. López, B. Galectin-3 and histological, molecular and biochemical aspects of myocardial fibrosis in heart failure of hypertensive origin / B. López, A. González, R. Querejeta [et al.] // *Eur J Heart Fail*. – 2015. – Vol. 17. – P. 385-392.

158. Klappacher, G. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis / G. Klappacher, P. Franzen, D. Haab [et al.] // *Am J Cardiol*. – 1995. – Vol. 75. – No 14. – P. 913-918.

159. Querejeta, R. Serum carboxy-terminal propeptide of procollagen type I is a marker of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease / R. Querejeta, N. Varo, B. López [et al.] // *Circulation*. – 2000. – Vol. 101. – No 14. – P. 1729-1735.

160. Querejeta, R. Increased collagen type I synthesis in patients with heart failure of hypertensive origin: relation to myocardial fibrosis / R. Querejeta, B. López, A. González [et al.] // *Circulation*. – 2004. – Vol. 110. – No 10. – P. 1263-1268.

161. López, B. Collagen cross-linking but not collagen amount associates with elevated filling pressures in hypertensive patients with stage C heart failure: potential role of lysyl oxidase / B. López, R. Querejeta, A. González [et al.] // *Hypertension*. – 2012. – Vol. 60. – No 3. – P. 677-83.

162. López, B. Effects of loop diuretics on myocardial fibrosis and collagen type I turnover in chronic heart failure / B. López, R. Querejeta, A. González [et al.] // *J Am Coll Cardiol*. – 2004. – Vol. 43. – No 11. – P. 2028-35.

163. Krum, H. Relation of peripheral collagen markers to death and hospitalization in patients with heart failure and preserved ejection fraction: results of the I-PRESERVE collagen substudy / H. Krum, M. Elsik, H.G. Schneider [et al.] // *Circ Heart Fail*. – 2011. – Vol. 4. – No 5. – P. 561-568.

164. Zannad, F. Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure: insights from the randomized aldactone evaluation study (RALES). *Rales*

Investigators / F. Zannad, F. Alla, B. Dousset, A. Perez [et al.] // *Circulation*. – 2000. – Vol. 102. – No 22. – P. 2700-2706.

165. López, B. Myocardial Collagen Cross-Linking Is Associated With Heart Failure Hospitalization in Patients With Hypertensive Heart Failure / B. López, S. Ravassa, A. González [et al.] // *J Am Coll Cardiol*. – 2016. – Vol. 67. – No 3. – P. 251-260.

166. Ravassa, S. Phenotyping of myocardial fibrosis in hypertensive patients with heart failure. Influence on clinical outcome / S. Ravassa, B. López, R. Querejeta [et al.] // *J Hypertens*. – 2017. – Vol. 35. – No 4. – P. 853-861.

167. Shah, K.B. Prognostic utility of ST2 in patients with acute dyspnea and preserved left ventricular ejection fraction / K.B. Shah, W.J. Kop, R.H. Christenson [et al.] // *Clin Chem*. – 2011. – Vol. 57. – No 6. – P. 874-882.

168. Ataklte, F. Heart failure risk estimation based on novel biomarkers / F. Ataklte, R.S. Vasan // *Expert Rev Mol Diagn*. – 2021. – Vol. 21. – № 7. – P. 655-672.

169. Millar, N.L. Wounds that heal and wounds that don't – The role of the IL-33/ST2 pathway in tissue repair and tumorigenesis / N.L. Millar, C. O'Donnell, I.B. McInnes [et al.] // *Semin Cell Dev Biol*. – 2017. – Vol. 61. – P. 41-50.

170. Kotsiou, O.S. IL-33/ST2 Axis in Organ Fibrosis / O.S. Kotsiou, K.I. Gourgoulianis, S.G. Zarogiannis [et al.] // *Front Immunol*. – 2018. – Vol. 9. – P. 2432.

171. Sabatine, M.S. Complementary roles for biomarkers of biomechanical strain ST2 and N-terminal prohormone B-type natriuretic peptide in patients with ST-elevation myocardial infarction / M.S. Sabatine, D.A. Morrow, L.J. Higgins [et al.] // *Circulation*. – 2008. – Vol. 117. – No 15. – P. 1936-1944.

172. Ojji, D.B. Soluble ST2 correlates with some indicators of right ventricular function in hypertensive heart failure / D.B. Ojji, S. Lecour, O.M. Adeyemi [et al.] // *Vasc Health Risk Manag*. – 2017. – Vol. 13. – P. 311-316.

173. Nagy, A.I. Left atrial rather than left ventricular impaired mechanics are associated with the pro-fibrotic ST2 marker and outcomes in heart failure with preserved ejection fraction / A.I. Nagy, C. Hage, B. Merkely [et al.] // *J Intern Med*. – 2018. – Vol. 283. – No 4. – P. 380-391.

174. Wang, Y.C. Soluble ST2 as a biomarker for detecting stable heart failure with a normal ejection fraction in hypertensive patients / Y.C. Wang, C.C. Yu, F.C. Chiu [et al.] // *J Card Fail.* – 2013. – Vol. 19. – No 3. – P. 163-168.
175. Jhund, P.S. Soluble ST2 is associated with markers of diastolic dysfunction in patients with heart failure with preserved ejection fraction in the PARAMOUNT trial / P.S. Jhund, B.L. Claggett, M.R. Zile // *Eur Heart J.* – 2014. – Vol. 35. – P. 340-341.
176. Inui, M. miRNAs and morphogen gradients / M. Inui, M. Montagner, S. Piccolo // *Curr Opin Cell Biol.* – 2012. – Vol. 24. – No 2. – P. 194-201.
177. Henning, R.J. Cardiovascular Exosomes and MicroRNAs in Cardiovascular Physiology and Pathophysiology / R.J. Henning // *J Cardiovasc Transl Res.* – 2021. – Vol. 14. – No 2. – P. 195-212.
178. Kalozoumi, G. MicroRNAs in heart failure: Small molecules with major impact / G. Kalozoumi, M. Yacoub, D. Sanoudou // *Glob Cardiol Sci Pract.* – 2014. – Vol. 2014. – No 2. – P. 79-102.
179. Fichtlscherer, S. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease / S. Fichtlscherer, S. De Rosa, H. Fox [et al.] // *Circ Res.* – 2010. – Vol. 107. – No 5. – P. 677-684.
180. Corsten, M.F. Circulating MicroRNA-208b and MicroRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease / M.F. Corsten, R. Dennert, S. Jochems [et al.] // *Circ Cardiovasc Genet.* – 2010. – Vol. 3. – No 6. – P. 499-506.
181. Gomes da Silva, A.M. miRNAs as biomarkers of atrial fibrillation / A.M. Gomes da Silva, V.N. Silbiger // *Biomarkers.* – 2014. – Vol. 19. – No 8. – P. 631-636.
182. Schulte, C. microRNA-based diagnostics and therapy in cardiovascular disease-Summing up the facts / C. Schulte, T. Zeller // *Cardiovasc Diagn Ther.* – 2015. – Vol. 5. – No 1. – P. 17-36.
183. Boon, R.A. Intercellular transport of microRNAs / R.A. Boon, K.C. Vickers // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2013. – Vol. 33. – No 2. – P. 186-192.
184. Iguchi, H. Secretory microRNAs as a versatile communication tool / H. Iguchi, N. Kosaka, T. Ochiya // *Commun Integr Biol.* – 2010. – Vol. 3. – P. 478-480.
185. Mitchell, P.S. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for

cancer detection / P.S. Mitchell, R.K. Parkin, E.M. Kroh [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2008. – Vol. 105. – No 30. – P. 10513-10518.

186. Weber, J.A. The microRNA spectrum in 12 body fluids / J.A. Weber, D.H. Baxter, S. Zhang [et al.] // *Clin Chem.* – 2010. – Vol. 56. – No 11. – P. 1733-1741.

187. Van Rooij, E. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure / E. Van Rooij, L.B. Sutherland, N. Liu [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2006. – Vol. 103. – No 48. – P. 18255-18260.

188. Bauersachs, J. Regulation of myocardial fibrosis by microRNAs / J. Bauersachs // *J Cardiovasc Pharmacol.* – 2010. – Vol. 56. – P. 454-459.

189. Dong, D.I. Role of microRNAs in cardiac hypertrophy, myocardial fibrosis and heart failure / D.I. Dong, B.F. Yang // *Acta Pharm Sin B.* – 2011. – Vol. 1. – No 1. – P. 1-7.

190. Wong, L.L. Circulating microRNAs in heart failure with reduced and preserved left ventricular ejection fraction / L.L. Wong, A. Armugam, S. Sepramaniam [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2015. – Vol. 17. – No 4. – P. 393-404.

191. Zhang, C. MicroRNomics: a newly emerging approach for disease biology / C. Zhang // *Physiol Genomics.* – 2008. – Vol. 33. – No 2. – P. 139-147.

192. Cheng, Y. MicroRNA-21 in cardiovascular disease / Y. Cheng, C. Zhang // *J Cardiovasc Transl Res.* – 2010. – Vol. 3. – No 3. – P. 251-255.

193. Thum, T. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts / T. Thum, C. Gross, J. Fiedler [et al.] // *Nature.* – 2008. – Vol. 456. – No 7224. – P. 980-984.

194. Thum, T. MicroRNAs in the human heart: a clue to fetal gene reprogramming in heart failure / T. Thum, P. Galuppo, C. Wolf [et al.] // *Circulation.* – 2007. – Vol. 116. – No 3. – P. 258-267.

195. Yan, M. miR-21-3p regulates cardiac hypertrophic response by targeting histone deacetylase-8 / M. Yan, C. Chen, W. Gong [et al.] // *Cardiovasc Res.* – 2015. – Vol. 105. – No 3. – P. 340-352.

196. Tatsuguchi, M. Expression of microRNAs is dynamically regulated during cardiomyocyte hypertrophy / M. Tatsuguchi, H.Y. Seok, T.E. Callis [et al.] // *J Mol Cell*

Cardiol. – 2007. – Vol. 42. – No 6. – P. 1137-1141.

197. Bulluck, H. Myocardial T1 mapping / H. Bulluck, V. Maestrini, S. Rosmini [et al.] // *Circ J.* – 2015. – Vol. 79. – No 3. – P. 487-494.

198. Ambale-Venkatesh, B. Diastolic function assessed from tagged MRI predicts heart failure and atrial fibrillation over an 8-year follow-up period: the multi-ethnic study of atherosclerosis / B. Ambale-Venkatesh, A.C. Armstrong, C.Y. Liu [et al.] // *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* – 2014. – Vol. 15. – No 4. – P. 442-449.

199. Edvardsen, T. Regional diastolic dysfunction in individuals with left ventricular hypertrophy measured by tagged magnetic resonance imaging – the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) / T. Edvardsen, B.D. Rosen, L. Pan [et al.] // *Am Heart J.* – 2006. – Vol. 151. – No 1. – P. 109-114.

200. Bhuva, A.N. Imaging fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction / A.N. Bhuva, R. Schofield, R.T. Lumbers [et al.] // *Heart Metab.* – 2016. – Vol. 71. – P. 18-22.

201. Jellis, C. Association of imaging markers of myocardial fibrosis with metabolic and functional disturbances in early diabetic cardiomyopathy / C. Jellis, J. Wright, D. Kennedy [et al.] // *Circ Cardiovasc Imaging.* – 2011. – Vol. 4. – No 6. – P. 693-702.

202. Puntmann V.O. T1 Mapping in Characterizing Myocardial Disease: A Comprehensive Review / V.O. Puntmann, E. Peker, Y. Chandrashekhara [et al.] // *Circ Res.* – 2016. – Vol. 119. – No 2. – P. 277-299.

203. Moustafa, A. Prognostic significance of T1 mapping parameters in heart failure with preserved ejection fraction: a systematic review / A. Moustafa, M.S. Khan, M.A. Alsamman [et al.] // *Heart Fail Rev.* – 2021. – Vol. 26. – No 6. – P. 1325-1331.

204. Neilan, T.G. Myocardial extracellular volume expansion and the risk of recurrent atrial fibrillation after pulmonary vein isolation / T.G. Neilan, F.P. Mongeon, R.V. Shah [et al.] // *JACC Cardiovasc Imaging.* – 2014. – Vol. 7. – No 1. – P. 1-11.

205. Marzluf, B.A. Diffuse myocardial fibrosis by post-contrast T1-time predicts outcome in heart failure with preserved ejection fraction / B.A. Marzluf, D. Bonderman, C. Tufaro [et al.] // *J Cardiovasc Magn Reson.* – 2013. – Vol. 15. – Suppl 1. – P. M6.

206. Rommel, K.P. Extracellular Volume Fraction for Characterization of Patients With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction / K.P. Rommel, M. von Roeder, K. Latuscynski [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2016. – Vol. 67. – No 15. – P. 1815-1825.
207. Ellims, A.H. Diffuse myocardial fibrosis evaluated by post-contrast t1 mapping correlates with left ventricular stiffness / A.H. Ellims, J.A. Shaw, D. Stub [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2014. – Vol. 63. – No 11. – P. 1112-8.
208. Kammerlander, A.A. T1 Mapping by CMR Imaging: From Histological Validation to Clinical Implication / A.A. Kammerlander, B.A. Marzluf, C. Zotter-Tufaro [et al.] // *JACC Cardiovasc Imaging.* – 2016. – Vol. 9. – No 1. – P. 14-23.
209. Delgado, V. Will Cardiac Magnetic Resonance Change the Management of Severe Aortic Stenosis Patients? / V. Delgado, J.J. Bax // *JACC Cardiovasc Imaging.* – 2018. – Vol. 11. – No 7. – P. 984-986.
210. Fehrmann, A. Myocardial T1 and T2 mapping in severe aortic stenosis: Potential novel insights into the pathophysiology of myocardial remodelling / A. Fehrmann, M. Treutlein, T. Rudolph [et al.] // *Eur J Radiol.* – 2018. – Vol. 107. – P. 76-83.
211. Aus dem Siepen, F. Diffuse myocardial fibrosis in early forms of dilated cardiomyopathy: insights from T1 mapping cardiovascular magnetic resonance / F. Aus dem Siepen, S.A. Seitz, M.A. Abdelrazek [et al.] // *J Cardiovasc Magn Reson.* – 2013. – Vol. 15. – Suppl 1. – P. 147.
212. Grice, E.A. The human microbiome: our second genome / E.A. Grice, J.A. Segre // *Annu Rev Genomics Hum Genet.* – 2012. – Vol. 13. – P. 151-170.
213. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome / Human Microbiome Project Consortium // *Nature.* – 2012. – Vol. 486. – No 7402. – P. 207-214.
214. Sender, R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body / R. Sender, S. Fuchs, R. Milo // *PLoS Biol.* – 2016. – Vol. 14. – No 8. – P. e1002533.
215. Tang, W.H. The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease / W.H. Tang, S.L. Hazen // *J Clin Invest.* – 2014. – Vol. 124. – No 10. – P. 4204-4211.

216. Cerdó, T. Gut microbial functional maturation and succession during human early life / T. Cerdó, A. Ruiz, I. Acuña [et al.] // *Environ Microbiol.* – 2018. – Vol. 20. – No 6. – P. 2160-2177.
217. Qin, J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing / J. Qin, R. Li, J. Raes [et al.] // *Nature.* – 2010. – Vol. 464. – No 7285. – P. 59-65.
218. Shkoporov, A.N. Bacteriophages of the Human Gut: The "Known Unknown" of the Microbiome / A.N. Shkoporov, C. Hill // *Cell Host Microbe.* – 2019. – Vol. 25. – No 2. – P. 195-209.
219. Schloissnig, S. Genomic variation landscape of the human gut microbiome / S. Schloissnig, M. Arumugam, S. Sunagawa [et al.] // *Nature.* – 2013. – Vol. 493. – No 7430. – P. 45-50.
220. Tamburini, S. The microbiome in early life: implications for health outcomes / S. Tamburini, N. Shen, H.C. Wu [et al.] // *Nat Med.* – 2016. – Vol. 22. – No 7. – P. 713-722.
221. Нестеренко, З.В. Кишечная микробиота и болезни сердечно-сосудистой системы / З.В. Нестеренко, А.И. Хавкин, В.П. Новикова [и др.] // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* – 2022. – Т. 199. – № 3. – С. 125-133.
222. Karlsson, F.H. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome / F.H. Karlsson, F. Fåk, I. Nookaew [et al.] // *Nat Commun.* – 2012. – Vol. 3. – P. 1245.
223. Vinjé, S. The gut microbiome as novel cardio-metabolic target: the time has come! / S. Vinjé, E. Stroes, M. Nieuwdorp [et al.] // *Eur Heart J.* – 2014. – Vol. 35. – No 14. – P. 883-887.
224. Kootte, R.S. The therapeutic potential of manipulating gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus / R.S. Kootte, A. Vrieze, F. Holleman [et al.] // *Diabetes Obes Metab.* – 2012. – Vol. 14. – No 2. – P. 112-120.
225. Sirisinha, S. The potential impact of gut microbiota on your health: Current status and future challenges / S. Sirisinha // *Asian Pac J Allergy Immunol.* – 2016. – Vol.

34. – No 4. – P. 249-264.

226. Eckburg, P.B. Diversity of the human intestinal microbial flora / P.B. Eckburg, E.M. Bik, C.N. Bernstein [et al.] // *Science*. – 2005. – Vol. 308. – No 5728. – P. 1635-1638.

227. Seldin, M.M. Trimethylamine N-Oxide Promotes Vascular Inflammation Through Signaling of Mitogen-Activated Protein Kinase and Nuclear Factor- κ B / M.M. Seldin, Y. Meng, H. Qi [et al.] // *J Am Heart Assoc*. – 2016. – Vol. 5. – No 2. – P. e002767.

228. Krautkramer, K.A. Metabolic programming of the epigenome: host and gut microbial metabolite interactions with host chromatin / K.A. Krautkramer, R.S. Dhillon, J.M. Denu [et al.] // *Transl Res*. – 2017. – Vol. 189. – P. 30-50.

229. Драпкина, О.М. Состав и метаболиты кишечной микробиоты как новые детерминанты развития сердечно-сосудистой патологии / О.М. Драпкина, А.Н. Кабурова // *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. – 2020. – Т. 16. – № 2. – С. 277-285.

230. Gallo, A. The Gut in Heart Failure: Current Knowledge and Novel Frontiers / A. Gallo, N. Macerola, A.M. Favuzzi [et al.] // *Med Princ Pract*. – 2022. – Vol. 31. – No 3. – P. 203-214.

231. Tremaroli, V. Roux-en-y gastric bypass and vertical banded gastroplasty induce long-term changes on the human gut microbiome contributing to fat mass regulation / V. Tremaroli, F. Karlsson, M. Werling [et al.] // *Cell Metab*. – 2015. – Vol. 22. – P. 228-238.

232. Brown, J.M. The gut microbial endocrine organ: bacterially derived signals driving cardiometabolic diseases / J.M. Brown, S.L. Hazen [et al.] // *Annu Rev Med*. – 2015. – Vol. 66. – P. 343-359.

233. Von Lueder, T.G. Neurohormonal Blockade in Heart Failure / T.G. Von Lueder, D. Kotecha, D. Atar [et al.] // *Card Fail Rev*. – 2017. – Vol. 3. – No 1. – P. 19-24.

234. Pullen, A.B. Re-evaluating the causes and consequences of non-resolving inflammation in chronic cardiovascular disease / A.B. Pullen, J.K. Jadapalli, B. Rhourri-Frih [et al.] // *Heart Fail Rev*. – 2020. – Vol. 25. – No 2. – P. 381-391.

235. Sarhene, M. Biomarkers in heart failure: the past, current and future / M. Sarhene, Y. Wang, J. Wei [et al.] // *Heart Fail Rev.* – 2019. – Vol. 24. – No 6. – P. 867-903.

236. Chung, E.S. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial / E.S. Chung, M. Packer, K.H. Lo [et al.] // *Circulation.* – 2003. – Vol. 107. – No 25. – P. 3133-3140.

237. Mann, D.L. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL) / D.L. Mann, J.J. McMurray, M. Packer [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 109. – No 13. – P. 1594-1602.

238. Dantzer, R. Resilience and immunity / R. Dantzer, S. Cohen, S.J. Russo [et al.] // *Brain Behav Immun.* – 2018. – Vol. 74. – P. 28-42.

239. Moshkelgosha, S. Gut Microbiome in BALB/c and C57BL/6J Mice Undergoing Experimental Thyroid Autoimmunity Associate with Differences in Immunological Responses and Thyroid Function / S. Moshkelgosha, G. Masetti, U. Berchner-Pfannschmidt [et al.] // *Horm Metab Res.* – 2018. – Vol. 50. – No 12. – P. 932-941.

240. Mamic, P. Gut microbiome – A potential mediator of pathogenesis in heart failure and its comorbidities: State-of-the-art review / P. Mamic, T. Chaikijurajai, W.H.W. Tang // *J Mol Cell Cardiol.* – 2021. – Vol. 152. – P. 105-117.

241. Desai, M.S. A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility / M.S. Desai, A.M. Seekatz, N.M. Koropatkin [et al.] // *Cell.* – 2016. – Vol. 167. – No 5. – P. 1339-1353.e21.

242. Jakobsson, H.E. The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier / H.E. Jakobsson, A.M. Rodríguez-Piñeiro, A. Schütte [et al.] // *EMBO Rep.* – 2015. – Vol. 16. – No 2. – P. 164-177.

243. Wang, H. Intestinal dysbacteriosis contributes to decreased intestinal mucosal barrier function and increased bacterial translocation / H. Wang, W. Zhang, L.

Zuo [et al.] // *Lett Appl Microbiol.* – 2014. – Vol. 58. – No 4. – P. 384-392.

244. Chen, W.Y. Acrolein Disrupts Tight Junction Proteins and Causes Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Epithelial Cell Death Leading to Intestinal Barrier Dysfunction and Permeability / W.Y. Chen, M. Wang, J. Zhang [et al.] // *Am J Pathol.* – 2017. – Vol. 187. – No 12. – P. 2686-2697.

245. Takala, J. Determinants of splanchnic blood flow / J. Takala // *Br J Anaesth.* – 1996. – Vol. 77. – No 1. – P. 50-58.

246. Maynard, N. Assessment of splanchnic oxygenation by gastric tonometry in patients with acute circulatory failure / N. Maynard, D. Bihari, R. Beale [et al.] // *JAMA.* – 1993. – Vol. 270. – No 10. – P. 1203-1210.

247. Каштанова, Д.А. Феномен проницаемости кишечной стенки и его взаимосвязь с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Современные представления о проблеме / Д.А. Каштанова, О.Н. Ткачева // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* – 2020. – Т. 19. – № 3. – С. 2474.

248. Lu, Y.C. LPS/TLR4 signal transduction pathway / Y.C. Lu, W.C. Yeh, P.S. Ohashi // *Cytokine.* – 2008. – Vol. 42. – No 2. – P. 145-151.

249. Yamashita, T. Two Gut Microbiota-Derived Toxins Are Closely Associated with Cardiovascular Diseases: A Review / T. Yamashita, N. Yoshida, T. Emoto [et al.] // *Toxins (Basel).* – 2021. – Vol. 13. – No 5. – P. 297. – doi: 10.3390/toxins13050297.

250. Frangogiannis, N.G. The inflammatory response in myocardial injury, repair, and remodelling / N.G. Frangogiannis // *Nat Rev Cardiol.* – 2014. – Vol. 11. – No 5. – P. 255-265.

251. Niebauer, J. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study / J. Niebauer, H.D. Volk, M. Kemp [et al.] // *Lancet.* – 1999. – Vol. 353. – No 9167. – P. 1838-1842.

252. Sandek, A. Studies on bacterial endotoxin and intestinal absorption function in patients with chronic heart failure / A. Sandek, I. Bjarnason, H.D. Volk [et al.] // *Int J Cardiol.* – 2012. – Vol. 157. – No 1. – P. 80-85.

253. Hietbrink, F. Systemic inflammation increases intestinal permeability during experimental human endotoxemia / F. Hietbrink, M.G. Besselink, W. Renooij [et

al.] // Shock. – 2009. – Vol. 32. – No 4. – P. 374-378.

254. Nagatomo, Y. Intersections Between Microbiome and Heart Failure: Revisiting the Gut Hypothesis / Y. Nagatomo, W.H. Tang // J Card Fail. – 2015. – Vol. 21. – No 12. – P. 973-980.

255. Organ, C.L. Choline Diet and Its Gut Microbe-Derived Metabolite, Trimethylamine N-Oxide, Exacerbate Pressure Overload-Induced Heart Failure / C.L. Organ, H. Otsuka, S. Bhushan [et al.] // Circ Heart Fail. – 2016. – Vol. 9. – No 1. – P. e002314.

256. Tun, H.M. Role of Gut Microbiota in Cardiovascular Disease that Links to Host Genotype and Diet / H.M. Tun, F.C. Leung, K.M. Cheng // Intech Open. – 2016. – P. 67-84.

257. Peschel, T. Invasive assessment of bacterial endotoxin and inflammatory cytokines in patients with acute heart failure / T. Peschel, M. Schönauer, H. Thiele [et al.] // Eur J Heart Fail. – 2003. – Vol. 5. – No 5. – P. 609-614.

258. Kasselmann, L.J. The gut microbiome and elevated cardiovascular risk in obesity and autoimmunity / L.J. Kasselmann, N.A. Vernice, J. DeLeon [et al.] // Atherosclerosis. – 2018. – Vol. 271. – P. 203-213.

259. Arutyunov, G.P. Collagen accumulation and dysfunctional mucosal barrier of the small intestine in patients with chronic heart failure / G.P. Arutyunov, O.I. Kostyukevich, R.A. Serov [et al.] // Int J Cardiol. – 2008. – Vol. 125. – No 2. – P. 240-245.

260. Paulus, W.J. How are cytokines activated in heart failure? / W.J. Paulus // Eur J Heart Fail. – 1999. – Vol. 1. – No 4. – P. 309-312.

261. Conraads, V.M. Intracellular monocyte cytokine production and CD 14 expression are up-regulated in severe vs mild chronic heart failure / V.M. Conraads, J.M. Bosmans, A.J. Schuerwegh [et al.] // J Heart Lung Transplant. – 2005. – Vol. 24. – No 7. – P. 854-859.

262. Al-Sadi, R. TNF- α modulation of intestinal epithelial tight junction barrier is regulated by ERK1/2 activation of Elk-1 / R. Al-Sadi, S. Guo, D. Ye [et al.] // Am J Pathol. – 2013. – Vol. 183. – No 6. – P. 1871-1884.

263. Rauchhaus, M. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure / M. Rauchhaus, W. Doehner, D.P. Francis [et al.] // *Circulation*. – 2000. – Vol. 102. – No 25. – P. 3060-3067.

264. Conraads, V.M. Selective intestinal decontamination in advanced chronic heart failure: a pilot trial / V.M. Conraads, P.G. Jorens, L.S. De Clerck [et al.] // *Eur J Heart Fail*. – 2004. – Vol. 6. – No 4. – P. 483-491.

265. Mann, D.L. Innate immunity and the failing heart: the cytokine hypothesis revisited / D.L. Mann // *Circ Res*. – 2015. – Vol. 116. – No 7. – P. 1254-1268.

266. Al-Sadi, R. Interleukin-6 modulation of intestinal epithelial tight junction permeability is mediated by JNK pathway activation of claudin-2 gene / R. Al-Sadi, D. Ye, M. Boivin [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9. – No 3. – P. e85345.

267. Al-Sadi, R.M. IL-1beta causes an increase in intestinal epithelial tight junction permeability / R.M. Al-Sadi, T.Y. Ma // *J Immunol*. – 2007. – Vol. 178. – No 7. – P. 4641-4649.

268. Ridker, P.M. CANTOS Trial Group. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease / P.M. Ridker, B.M. Everett, T. Thuren [et al.] // *N Engl J Med*. – 2017. – Vol. 377. – No 12. – P. 1119-1131.

269. Abbate, A. Interleukin-1beta modulation using a genetically engineered antibody prevents adverse cardiac remodelling following acute myocardial infarction in the mouse / A. Abbate, B.W. Van Tassell, I.M. Seropian [et al.] // *Eur J Heart Fail*. – 2010. – Vol. 12. – No 4. – P. 319-322.

270. Al-Sadi, R. IL-1beta-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability is mediated by MEKK-1 activation of canonical NF-kappaB pathway / R. Al-Sadi, D. Ye, H.M. Said [et al.] // *Am J Pathol*. – 2010. – Vol. 177. – No 5. – P. 2310-2322.

271. Boccella, N. Transverse aortic constriction induces gut barrier alterations, microbiota remodeling and systemic inflammation / N. Boccella, R. Paolillo, L. Coretti [et al.] // *Sci Rep*. – 2021. – Vol. 11. – No 1. – P. 7404.

272. Chambers, E.S. Role of Gut Microbiota-Generated Short-Chain Fatty Acids in Metabolic and Cardiovascular Health / E.S. Chambers, T. Preston, G. Frost [et al.] //

Curr Nutr Rep. – 2018. – Vol. 7. – No 4. – P. 198-206.

273. Blacher, E. Microbiome-Modulated Metabolites at the Interface of Host Immunity / E. Blacher, M. Levy, E. Tatrovsky [et al.] // J Immunol. – 2017. – Vol. 198. – No 2. – P. 572-580.

274. Donohoe, D.R. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon / D.R. Donohoe, N. Garge, X. Zhang [et al.] // Cell Metab. – 2011. – Vol. 13. – No 5. – P. 517-526.

275. Fukuda, S. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate / S. Fukuda, H. Toh, K. Hase [et al.] // Nature. – 2011. – Vol. 469. – No 7331. – P. 543-547.

276. Bartolomaeus, H. Short-Chain Fatty Acid Propionate Protects From Hypertensive Cardiovascular Damage / H. Bartolomaeus, A. Balogh, M. Yakoub [et al.] // Circulation. – 2019. – Vol. 139. – No 11. – P. 1407-1421.

277. Gonzalez, A. Sodium butyrate ameliorates insulin resistance and renal failure in CKD rats by modulating intestinal permeability and mucin expression / A. Gonzalez, R. Krieg, H.D. Massey [et al.] // Nephrol Dial Transplant. – 2019. – Vol. 34. – No 5. – P. 783-794.

278. Feng, W. Sodium Butyrate Attenuates Diarrhea in Weaned Piglets and Promotes Tight Junction Protein Expression in Colon in a GPR109A-Dependent Manner / W. Feng, Y. Wu, G. Chen [et al.] // Cell Physiol Biochem. – 2018. – Vol. 47. – No 4. – P. 1617-1629.

279. Mörkl, S. Gut microbiota, dietary intakes and intestinal permeability reflected by serum zonulin in women / S. Mörkl, S. Lackner, A. Meinitzer [et al.] // Eur J Nutr. – 2018. – Vol. 57. – No 8. – P. 2985-2997.

280. Gaudier, E. Butyrate specifically modulates MUC gene expression in intestinal epithelial goblet cells deprived of glucose / E. Gaudier, A. Jarry, H.M. Blottière [et al.] // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2004. – Vol. 287. – No 6. – P. G1168-1174.

281. Kim, S. Imbalance of gut microbiome and intestinal epithelial barrier dysfunction in patients with high blood pressure / S. Kim, R. Goel, A. Kumar [et al.] //

Clin Sci (Lond). – 2018. – Vol. 132. – No 6. – P. 701-718.

282. Chen, Y. Histone deacetylase (HDAC) inhibition improves myocardial function and prevents cardiac remodeling in diabetic mice / Y. Chen, J. Du, Y.T. Zhao [et al.] // *Cardiovasc Diabetol.* – 2015. – Vol. 14. – P. 99.

283. Patel, B.M. Sodium Butyrate Controls Cardiac Hypertrophy in Experimental Models of Rats / B.M. Patel // *Cardiovasc Toxicol.* – 2018. – Vol. 18. – No 1. – P. 1-8.

284. Marques, F.Z. High-Fiber Diet and Acetate Supplementation Change the Gut Microbiota and Prevent the Development of Hypertension and Heart Failure in Hypertensive Mice / F.Z. Marques, E. Nelson, P.Y. Chu [et al.] // *Circulation.* – 2017. – Vol. 135. – No 10. – P. 964-977.

285. Ho, L.C. Egr-1 deficiency protects from renal inflammation and fibrosis / L.C. Ho, J.M. Sung, Y.T. Shen [et al.] // *J Mol Med (Berl).* – 2016. – Vol. 94. – No 8. – P. 933-942.

286. Wang, N.P. Attenuation of inflammatory response and reduction in infarct size by postconditioning are associated with downregulation of early growth response 1 during reperfusion in rat heart / N.P. Wang, X.F. Pang, L.H. Zhang [et al.] // *Shock.* – 2014. – Vol. 41. – No 4. – P. 346-354.

287. Pasini, E. Pathogenic Gut Flora in Patients With Chronic Heart Failure / E. Pasini, R. Aquilani, C. Testa [et al.] // *JACC Heart Fail.* – 2016. – Vol. 4. – No 3. – P. 220-227.

288. Luedde, M. Heart failure is associated with depletion of core intestinal microbiota / M. Luedde, T. Winkler, F.A. Heinsen [et al.] // *ESC Heart Fail.* – 2017. – Vol. 4. – No 3. – P. 282-290.

289. Sandek, A. Intestinal blood flow in patients with chronic heart failure: a link with bacterial growth, gastrointestinal symptoms, and cachexia / A. Sandek, A. Swidsinski, W. Schroedl [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2014. – Vol. 64. – No 11. – P. 1092-1102.

290. Hayashi, T. Gut Microbiome and Plasma Microbiome-Related Metabolites in Patients With Decompensated and Compensated Heart Failure / T. Hayashi, T. Yamashita, H. Watanabe [et al.] // *Circ J.* – 2018. – Vol. 83. – No 1. – P. 182-192.

291. Katsimichas, T. Non-Ischemic Heart Failure With Reduced Ejection Fraction Is Associated With Altered Intestinal Microbiota / T. Katsimichas, T. Ohtani, D. Motooka [et al.] // *Circ J.* – 2018. – Vol. 82. – No 6. – P. 1640-1650.

292. Romano, K.A. Intestinal microbiota composition modulates choline bioavailability from diet and accumulation of the proatherogenic metabolite trimethylamine-N-oxide / K.A. Romano, E.I. Vivas, D. Amador-Noguez [et al.] // *MBIO.* – 2015. – Vol. 6. – No 2. – P. e02481.

293. Tang, W.H. Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure: refining the gut hypothesis / W.H. Tang, Z. Wang, Y. Fan [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2014. – Vol. 64. – No 18. – P. 1908-1914.

294. Lever, M. Betaine and Trimethylamine-N-Oxide as Predictors of Cardiovascular Outcomes Show Different Patterns in Diabetes Mellitus: An Observational Study / M. Lever, P.M. George, S. Slow [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. – No 12. – P. e114969.

295. Wikoff, W.R. Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites / W.R. Wikoff, A.T. Anfora, J. Liu [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2009. – Vol. 106. – No 10. – P. 3698-3703.

296. Драпкина, О.М. Кишечная микробиота – новый спутник на маршруте сердечно-сосудистых заболеваний: неожиданные роли старых соседей / О.М. Драпкина, А.Н. Кабурова // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии.* – 2016. – Т. 12. – № 1. – С. 66-71.

297. Zeisel, S.H. Trimethylamine N-Oxide, the Microbiome, and Heart and Kidney Disease / S.H. Zeisel, M. Warriar // *Annu Rev Nutr.* – 2017. – Vol. 37. – P. 157-181.

298. Кочетков, А.И. Триметиламиноксид и его возможная роль в развитии и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний / А.И. Кочетков, М.В. Клепикова, О.Д. Остроумова // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2021. – Т. 20. – № 6. – С. 3014.

299. Wang, Z. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes

cardiovascular disease / Z. Wang, E. Klipfell, B.J. Bennett [et al.] // *Nature*. – 2011. – Vol. 472. – No 7341. – P. 57-63.

300. Chen, K. Gut Microbiota-Dependent Metabolite Trimethylamine N-Oxide Contributes to Cardiac Dysfunction in Western Diet-Induced Obese Mice / K. Chen, X. Zheng, M. Feng [et al.] // *Front Physiol*. – 2017. – Vol. 8. – P. 139.

301. Zhang, H. Trimethylamine N-oxide Supplementation Abolishes the Cardioprotective Effects of Voluntary Exercise in Mice Fed a Western Diet / H. Zhang, J. Meng, H. Yu // *Front Physiol*. – 2017. – Vol. 8. – P. 944.

302. Li, Z. Gut microbe-derived metabolite trimethylamine N-oxide induces cardiac hypertrophy and fibrosis / Z. Li, Z. Wu, J. Yan [et al.] // *Lab Invest*. – 2019. – Vol. 99. – No 3. – P. 346-357.

303. Organ, C.L. Removal of Dietary Trimethylamine N-Oxide (TMAO) Attenuates Cardiac Dysfunction in Pressure Overload Induced Heart Failure / C.L. Organ, Z. Li, C. Zibilich [et al.] // *Circulation*. – 2016. – Vol. 134. – P. A19293.

304. Ufnal, M. Trimethylamine-N-oxide: a carnitine-derived metabolite that prolongs the hypertensive effect of angiotensin II in rats / M. Ufnal, R. Jazwiec, M. Dadlez [et al.] // *Can J Cardiol*. – 2014. – Vol. 30. – No 12. – P. 1700-1705.

305. Li, X. Trimethylamine N-Oxide Exacerbates Cardiac Fibrosis via Activating the NLRP3 Inflammasome / X. Li, J. Geng, J. Zhao [et al.] // *Front Physiol*. – 2019. – Vol. 10. – P. 866.

306. Li, T. Elevated Circulating Trimethylamine N-Oxide Levels Contribute to Endothelial Dysfunction in Aged Rats through Vascular Inflammation and Oxidative Stress / T. Li, Y. Chen, C. Gao [et al.] // *Front Physiol*. – 2017. – Vol. 8. – P. 350.

307. Tang, W.H. Intestinal microbiota-dependent phosphatidylcholine metabolites, diastolic dysfunction, and adverse clinical outcomes in chronic systolic heart failure / W.H. Tang, Z. Wang, K. Shrestha [et al.] // *J Card Fail*. – 2015. – Vol. 21. – No 2. – P. 91-96.

308. Schuett, K. Trimethylamine-N-oxide and Heart Failure With Reduced Versus Preserved Ejection Fraction / K. Schuett, M.E. Kleber, H. Scharnagl [et al.] // *J Am Coll Cardiol*. – 2017. – Vol. 70. – No 25. – P. 3202-3204.

309. Suzuki, T. Association with outcomes and response to treatment of trimethylamine N-oxide in heart failure: results from BIOSTAT-CHF / T. Suzuki, Y. Yazaki, A.A. Voors [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2019. – Vol. 21. – No 7. – P. 877-886.
310. Zhang, Y. TMAO: how gut microbiota contributes to heart failure / Y. Zhang, Y. Wang, B. Ke [et al.] // *Transl Res.* – 2021. – Vol. 228. – P. 109-125.
311. Qiu, L. Lactobacillus plantarum ZDY04 exhibits a strain-specific property of lowering TMAO via the modulation of gut microbiota in mice / L. Qiu, X. Tao, H. Xiong [et al.] // *Food Funct.* – 2018. – Vol. 9. – No 8. – P. 4299-4309.
312. Costanza, A.C. Probiotic therapy with *Saccharomyces boulardii* for heart failure patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial / A.C. Costanza, S.D. Moscovitch, H.C. Faria Neto [et al.] // *Int J Cardiol.* – 2015. – Vol. 179. – P. 348-350.
313. Krebs-Smith, S.M. Update of the Healthy Eating Index: HEI-2015 / S.M. Krebs-Smith // *J Acad Nutr Diet.* – 2018. – Vol. 118. – No 9. – P. 1591-1602.
314. Беленков, Ю.Н. Принципы рационального лечения сердечной недостаточности / Ю.Н. Беленков, В.Ю. Мареев. – М.: «Медиа Медика», 2000. – 226 с.
315. Guyatt, G.H. The 6-minute walk: a new measure of exercise capacity in patients with chronic heart failure / G.H. Guyatt, M.J. Sullivan, P.J. Thompson [et al.] // *Can Med Assoc J.* – 1985. – Vol. 132. – No 8. – P. 919-923.
316. Yap, J. Correlation of the New York Heart Association Classification and the 6-Minute Walk Distance: A Systematic Review / J. Yap, F.Y. Lim, F. Gao [et al.] // *Clin Cardiol.* – 2015. – Vol. 38. – No 10. – P. 621-628.
317. Кабурова, А.Н. Оценка связи между микробиотой кишечника и маркерами фиброза миокарда у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и сохраненной фракцией выброса левого желудочка / А.Н. Кабурова, О.М. Драпкина, С.М. Юдин [и др.] // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* – 2021. – Т. 20. – № 4. – С. 2834.
318. Кабурова, А.Н. Связь состава микробиоты кишечника с объемом внеклеточного матрикса, оцененного методом T1-картирования миокарда, у

пациентов с хронической сердечной недостаточностью и сохраненной фракцией выброса левого желудочка / А.Н. Кабурова, О.М. Драпкина, С.М. Юдин [и др.] // Профилактическая медицина. – 2021. – Т. 24. – № 11. – С. 28-35.

319. Naghipour, S. Trimethylamine N-oxide: heart of the microbiota-CVD nexus? / S. Naghipour, A.J. Cox, J.N. Peart [et al.] // Nutr Res Rev. – 2021. – Vol. 34. – No 1. – P. 125-146.

320. Стуров, Н.В. Современные подходы к коррекции микробиоты кишечника / Н.В. Стуров, С.В. Попов, В.А. Жуков // Медицинский совет. – 2021. – № 4. – С. 136-143.

321. Arumugam, M. Enterotypes of the human gut microbiome / M. Arumugam, J. Raes, E. Pelletier [et al.] // Nature. – 2011. – Vol. 473. – No 7346. – P. 174-180.

322. Flint, H.J. Bacteroides and Prevotella / H.J. Flint, S.H. Duncan // Encyclopedia of Food Microbiology / C.A. Batt, M.L. Tortorello [et al.]. – second Edition. – Oxford: 689 Academic Press, 2014. – P. 203-208.

323. Fei, N. An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice / N. Fei, L. Zhao // ISME J. – 2013. – Vol. 7. – No 4. – P. 880-884.

324. Rizzatti, G. Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases / G. Rizzatti, L.R. Lopetuso, G. Gibiino [et al.] // Biomed Res Int. – 2017. – Vol. 2017. – P. 9351507.

325. Shin, N.R. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota / N.R. Shin, T.W. Whon, J.W. Bae [et al.] // Trends Biotechnol. – 2015. – Vol. 33. – No 9. – P. 496-503.

326. Pimentel, M. Methanogens in Human Health and Disease / M. Pimentel, R.P. Gunsalus, S.S.C. Rao [et al.] // Am J Gastroenterol. – 2012. – Vol. 1. – P. 28-33.

327. Samuel, B.S. A humanized gnotobiotic mouse model of host-archaeal-bacterial mutualism / B.S. Samuel, J.I. Gordon // Proc Natl Acad Sci USA. – 2006. – Vol. 103. – No 26. – P. 10011-10016.

328. Christl, S.U. Production, metabolism, and excretion of hydrogen in the large intestine / S.U. Christl, P.R. Murgatroyd, G.R. Gibson [et al.] // Gastroenterology. – 1992.

– Vol. 102. – No 4. – P. 1269-1277.

329. Hwang, L. Evaluating breath methane as a diagnostic test for constipation-predominant IBS / L. Hwang, K. Low, R. Khoshini [et al.] // *Dig Dis Sci.* – 2010. – Vol. 55. – No 2. – P. 398-403.

330. Ghavami, S.B. Alterations of the human gut *Methanobrevibacter smithii* as a biomarker for inflammatory bowel diseases / S.B. Ghavami, E. Rostami, A.A. Sephay [et al.] // *Microb Pathog.* – 2018. – Vol. 117. – P. 285-289.

331. Данилова, Н.А. Маркеры дисбиоза у пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона / Н.А. Данилова, С.Р. Абдулххаков, Т.В. Григорьева [и др.] // *Терапевтический архив.* – 2019. – Т. 91. – № 4. – С. 13-20.

332. Yang, T. Gut dysbiosis is linked to hypertension / T. Yang, M.M. Santisteban, V. Rodriguez [et al.] // *Hypertension.* – 2015. – Vol. 65. – No 6. – P. 1331-1340.

333. Den Besten, G. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism / G. Den Besten, K. van Eunen, A.K. Groen [et al.] // *J Lipid Res.* – 2013. – Vol. 54. – No 9. – P. 2325-2340.

334. Chakraborti, C.K. New-found link between microbiota and obesity / C.K. Chakraborti // *World J Gastrointest Pathophysiol.* – 2015. – Vol. 6. – No 4. – P. 110-119.

335. Castellarin, M. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma / M. Castellarin, R.L. Warren, J.D. Freeman [et al.] // *Genome Res.* – 2012. – Vol. 22. – No 2. – P. 299-306.

336. El-Semman, I.E. Genome-scale metabolic reconstructions of *Bifidobacterium adolescentis* L2-32 and *Faecalibacterium prausnitzii* A2-165 and their interaction / I.E. El-Semman, F.H. Karlsson, S. Shoaie [et al.] // *BMC Syst Biol.* – 2014. – Vol. 8. – P. 41.

337. Woting, A. The Intestinal Microbiota in Metabolic Disease / A. Woting, M. Blaut [et al.] // *Nutrients.* – 2016. – Vol. 8. – No 4. – P. 202.

338. Koliada, A. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population / A. Koliada, G. Syzenko, V. Moseiko [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2017. – Vol. 17. – No 1. – P. 120.

339. Mariat, D. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age / D. Mariat, O. Firmesse, F. Levenez [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2009. – Vol. 9. – P. 123.
340. Huang, P. A Reasonable Diet Promotes Balance of Intestinal Microbiota: Prevention of Precolorectal Cancer / P. Huang, Y. Liu // *Biomed Res Int.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 3405278.
341. Mayerhofer, C.C.K. Low fibre intake is associated with gut microbiota alterations in chronic heart failure / C.C.K. Mayerhofer, M. Kummen, K. Holm [et al.] // *ESC Heart Fail.* – 2020. – Vol. 7. – No 2. – P. 456-466.
342. Yuzefpolskaya, M. Gut microbiota, endotoxemia, inflammation, and oxidative stress in patients with heart failure, left ventricular assist device, and transplant / M. Yuzefpolskaya, B. Bohn, M. Nasiri [et al.] // *J Heart Lung Transplant.* – 2020. – Vol. 39. – No 9. – P. 880-890.
343. Huang, Z. Gut Microbiota in Heart Failure Patients With Preserved Ejection Fraction (GUMPTION Study) / Z. Huang, X. Mei, Y. Jiang [et al.] // *Front Cardiovasc Med.* – 2022. – Vol. 8. – P. 803744.
344. Amiri, P. Role of Butyrate, a Gut Microbiota Derived Metabolite, in cardiovascular diseases: A comprehensive narrative review / P. Amiri, S.A. Hosseini, S. Ghaffari [et al.] // *Front Pharmacol.* – 2022. – Vol. 12. – P. 837509.
345. Zeng, H. Secondary Bile Acids and Short Chain Fatty Acids in the Colon: A Focus on Colonic Microbiome, Cell Proliferation, Inflammation, and Cancer / H. Zeng, S. Umar, B. Rust [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20. – No 5. – P. 1214.
346. Siddiqui, M.T. The Immunomodulatory Functions of Butyrate / M.T. Siddiqui, G.A.M. Cresci // *J Inflamm Res.* – 2021. – Vol. 14. – P. 6025-6041.
347. Beale, A.L. The Gut Microbiome of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction / A.L. Beale, J.A. O'Donnell, M.E. Nakai [et al.] // *J Am Heart Assoc.* – 2021. – Vol. 10. – No 13. – P. e020654.
348. Carbonero, F. Microbial pathways in colonic sulfur metabolism and links with health and disease / [et al.] // *Front Physiol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 448.
349. Mottawea, W. Altered intestinal microbiota-host mitochondria crosstalk in

new onset Crohn's disease / W. Mottawea, C.K. Chiang, M. Mühlbauer [et al.] // *Nat Commun.* – 2016. – Vol. 7. – P. 13419.

350. Scanlan, P.D. Culture-independent analysis of desulfovibrios in the human distal colon of healthy, colorectal cancer and polypectomized individuals / P.D. Scanlan, F. Shanahan, J.R. Marchesi // *FEMS Microbiol Ecol.* – 2009. – Vol. 69. – No 2. – P. 213-221.

351. Aas, J.A. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults / J.A. Aas, A.L. Griffen, S.R. Dardis [et al.] // *J Clin Microbiol.* – 2008. – Vol. 46. – No 4. – P. 1407-1417.

352. Chan, J.F. First report of spontaneous intrapartum *Atopobium vaginae* bacteremia / J.F. Chan, S.K. Lau, S.O. Curreem [et al.] // *J Clin Microbiol.* – 2012. – Vol. 50. – No 7. – P. 2525-2528.

353. Chen, W. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer / W. Chen, F. Liu, Z. Ling [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – T. 7. – No 6. – P. e39743.

354. Mansell, J. Infective endocarditis due to *Atopobium vaginae*: a rare association between genital infection and endocarditis of the tricuspid valve / J. Mansell, Y. Gourtsoyannis, N. Draz [et al.] // *BMJ Case Rep.* – 2018. – Vol. 2018. – P. bcr2018225871.

355. Angelakis, E. Human case of *Atopobium rimae* bacteremia / E. Angelakis, V. Roux, D. Raoult [et al.] // *Emerg Infect Dis.* – 2009. – Vol. 15. – No 2. – P. 354-355.

356. Jie, Z. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease / Z. Jie, H. Xia, S.L. Zhong [et al.] // *Nat Commun.* – 2017. – Vol. 8. – No 1. – P. 845.

357. Yamashiro, K. Gut dysbiosis is associated with metabolism and systemic inflammation in patients with ischemic stroke / K. Yamashiro, R. Tanaka, T. Urabe [et al.] // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12. – No 2. – P. e0171521.

358. Котрова, А.Д. Роль кишечной микробиоты в развитии метаболического синдрома / А.Д. Котрова, А.Н. Шишкин, О.И. Семенова [и др.] // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* – 2019. – Т. 172. – № 1. – С. 101-108.

359. Kaźmierczak-Siedlecka, K. Next-generation probiotics – do they open new therapeutic strategies for cancer patients? / K. Kaźmierczak-Siedlecka, K. Skonieczna-Żydecka, T. Hupp [et al.] // *Gut Microbes*. – 2022. – Vol. 14. – No 1. – P. 2035659.
360. Lopez-Siles, M. Faecalibacterium prausnitzii: from microbiology to diagnostics and prognostics / M. Lopez-Siles, S.H. Duncan, L.J. Garcia-Gil [et al.] // *ISME J*. – 2017. – Vol. 11. – No 4. – P. 841-852.
361. Maioli, T.U. Possible Benefits of Faecalibacterium prausnitzii for Obesity-Associated Gut Disorders / T.U. Maioli, E. Borrás-Nogues, L. Torres [et al.] // *Front Pharmacol*. – 2021. – Vol. 12. – P. 740636.
362. Kumar, A. Role of nitric oxide and cGMP in human septic serum-induced depression of cardiac myocyte contractility / A. Kumar, R. Brar, P. Wang [et al.] // *Am J Physiol*. – 1999. – Vol. 276. – No 1. – P. R265-76.
363. Lim, K.H. Toll-like receptor signaling / K.H. Lim, L.M. Staudt // *Cold Spring Harb Perspect Biol*. – 2013. – Vol. 5. – No 1. – P. a011247.
364. Louis, P. Diversity of human colonic butyrate-producing bacteria revealed by analysis of the butyryl-CoA: acetate CoA-transferase gene / P. Louis, P. Young, G. Holtrop [et al.] // *Environ Microbiol*. – 2010. – Vol. 12. – No 2. – P. 304-314.
365. Van den Abbeele, P. Butyrate-producing Clostridium cluster XIVa species specifically colonize mucins in an in vitro gut model / P. Van den Abbeele, C. Belzer, M. Goossens [et al.] // *ISME J*. – 2013. – Vol. 7. – No 5. – P. 949-961.
366. Kanauchi, O. Eubacterium limosum ameliorates experimental colitis and metabolite of microbe attenuates colonic inflammatory action with increase of mucosal integrity / O. Kanauchi, M. Fukuda, Y. Matsumoto [et al.] // *World J Gastroenterol*. – 2006. – Vol. 12. – No 7. – P. 1071-1077.
367. Ghosh, T.S. Mediterranean diet intervention alters the gut microbiome in older people reducing frailty and improving health status: the NU-AGE 1-year dietary intervention across five European countries / T.S. Ghosh, S. Rampelli, I.B. Jeffery [et al.] // *Gut*. – 2020. – Vol. 69. – No 7. – P. 1218-1228.
368. Hayashi, T. Uncovering the Role of Gut Microbiota in Amino Acid Metabolic Disturbances in Heart Failure Through Metagenomic Analysis / T. Hayashi, T.

Yamashita, T. Takahashi [et al.] // *Front Cardiovasc Med.* – 2021. – Vol. 8. – P. 789325.

369. Ezaki, T. *Peptococcus* / T. Ezaki // *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* / W.B. Whitman. – Wiley, 2015. – P. 1-3.

370. Maldonado-Contreras, A. Dysbiosis in a canine model of human fistulizing Crohn's disease / A. Maldonado-Contreras, L. Ferrer, C. Cawley [et al.] // *Gut Microbes.* – 2020. – Vol. 12. – No 1. – P. 1785246.

371. Wang, Y. Probiotics-fermented *Massa Medicata Fermentata* ameliorates weaning stress in piglets related to improving intestinal homeostasis / Y. Wang, Q. Xie, S. Sun [et al.] // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2018. – Vol. 102. – No 24. – P. 10713-10727.

372. Huszczyński, S.M. The Role of *Pseudomonas aeruginosa* Lipopolysaccharide in Bacterial Pathogenesis and Physiology / S.M. Huszczyński, J.S. Lam, C.M. Khursigara // *Pathogens.* – 2019. – Vol. 9. – No 1. – P. 6.

373. Curran, C.S. Mechanisms and Targeted Therapies for *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infection / C.S. Curran, T. Bolig, P. Torabi-Parizi // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2018. – Vol. 197. – No 6. – P. 708-727.

374. Wu, T. Zinc Exposure Promotes Commensal-to-Pathogen Transition in *Pseudomonas aeruginosa* Leading to Mucosal Inflammation and Illness in Mice / T. Wu, A. Gagnon, K. McGourty [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22. – No 24. – P. 13321.

375. Buffie, C.G. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile* / C.G. Buffie, V. Bucci, R.R. Stein [et al.] // *Nature.* – 2015. – Vol. 517. – No 7533. – P. 205-208.

376. Rea, M.C. Thuricin CD, a posttranslationally modified bacteriocin with a narrow spectrum of activity against *Clostridium difficile* / M.C. Rea, C.S. Sit, E. Clayton [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2010. – Vol. 107. – No 20. – P. 9352-9357.

377. Ayres, J.S. Lethal inflammasome activation by a multidrug-resistant pathobiont upon antibiotic disruption of the microbiota / J.S. Ayres, N.J. Trinidad, R.E. Vance [et al.] // *Nat Med.* – 2012. – Vol. 18. – No 5. – P. 799-806.

378. Hayakawa, M. Dramatic changes of the gut flora immediately after severe and sudden insults / M. Hayakawa, T. Asahara, N. Henzan [et al.] // *Dig Dis Sci.* – 2011.

– Vol. 56. – No 8. – P. 2361-2365.

379. Ferrer, M. Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach / M. Ferrer, V.A. Martins dos Santos, S.J. Ott [et al.] // *Gut Microbes*. – 2014. – Vol. 5. – No 1. – P. 64-70.

380. Hickey, C. Increased Virulence of Bloodstream Over Peripheral Isolates of *P. aeruginosa* Identified Through Post-transcriptional Regulation of Virulence Factors / C. Hickey, B. Schaible, S. Nguyen [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol*. – 2018. – Vol. 8. – P. 357.

381. Von Klitzing, E. Intestinal and Systemic Immune Responses upon Multi-drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Colonization of Mice Harboring a Human Gut Microbiota / E. Von Klitzing, I. Ekmekciu, S. Bereswill [et al.] // *Front Microbiol*. – 2017. – Vol. 8. – P. 2590.

382. Yang, J. *Oscillospira* – a candidate for the next-generation probiotics / J. Yang, Y. Li, Z. Wen [et al.] // *Gut Microbes*. – 2021. – Vol. 13. – No 1. – P. 1987783.

383. Chen, Y.R. High *Oscillospira* abundance indicates constipation and low BMI in the Guangdong Gut Microbiome Project / Y.R. Chen, H.M. Zheng, G.X. Zhang [et al.] // *Sci Rep*. – 2020. – Vol. 10. – No 1. – P. 9364.

384. Lee, G.H. *Oscillibacter ruminantium* sp. nov., isolated from the rumen of Korean native cattle / G.H. Lee, M.S. Rhee, D.H. Chang [et al.] // *Int J Syst Evol Microbiol*. – 2013. – Vol. 63. – No 6. – P. 1942-1946.

385. Walters, W.A. Meta-analyses of human gut microbes associated with obesity and IBD / W.A. Walters, Z. Xu, R. Knight // *FEBS Lett*. – 2014. – Vol. 588. – No 22. – P. 4223-4233.

386. Zhu, L. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH / L. Zhu, S.S. Baker, C. Gill [et al.] // *Hepatology*. – 2013. – Vol. 57. – No 2. – P. 601-609.

387. Vallianou, N. Understanding the Role of the Gut Microbiome and Microbial Metabolites in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Current Evidence and Perspectives / N. Vallianou, G.S. Christodoulatos, I. Karampela [et al.] // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 12. – No 1. – P. 56.

388. Gutiérrez-Calabrés, E. Gut Microbiota Profile Identifies Transition From Compensated Cardiac Hypertrophy to Heart Failure in Hypertensive Rats / E. Gutiérrez-Calabrés, A. Ortega-Hernández, J. Modrego [et al.] // *Hypertension*. – 2020. – Vol. 76. – No 5. – P. 1545-1554.
389. Fink, D.L. The Genus *Haemophilus* / D.L. Fink, J.W. Geme // *The Prokaryotes* / M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg [et al.]. – Springer, New York, 2006. – P.1034-1061.
390. Россина, А.Л. Сепсис, вызванный *Haemophilus influenza* / А.Л. Россина, С.Б. Чуелов, А.А. Корсунский [и др.] // *Детские инфекции*. – 2018. – Т. 17. – № 2. – С. 58-65.
391. Ambrosioni, J. HACEK infective endocarditis: Epidemiology, clinical features, and outcome: A case-control study / J. Ambrosioni, C. Martinez-Garcia, J. Llopis [et al.] // *Int J Infect Dis*. – 2018. – Vol. 76. – P. 120-125.
392. Li, B. Oral bacteria colonize and compete with gut microbiota in gnotobiotic mice / B. Li, Y. Ge, L. Cheng [et al.] // *Int J Oral Sci*. – 2019. – Vol. 11. – No 1. – P. 10.
393. Wang, Z. The Correlation between Gut Microbiota and Serum Metabolomic in Elderly Patients with Chronic Heart Failure / Z. Wang, Z. Cai, M.W. Ferrari [et al.] // *Mediators Inflamm*. – 2021. – Vol. 2021. – P. 5587428.
394. Huang, K. Gut Microbiota and Metabolites in Atrial Fibrillation Patients and Their Changes after Catheter Ablation / K. Huang, Y. Wang, Y. Bai [et al.] // *Microbiol Spectr*. – 2022. – Vol. 10. – No 2. – P. e0107721. – doi: 10.1128/spectrum.01077-21.
395. Zhang, X. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance / X. Zhang, D. Shen, Z. Fang [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – No 8. – P. e71108.
396. Zhang, X. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment / X. Zhang, D. Zhang, H. Jia [et al.] // *Nat Med*. – 2015. – Vol. 21. – No 8. – P. 895-905.
397. Mildner, M. Primary sources and immunological prerequisites for sST2 secretion in humans / M. Mildner, A. Storka, M. Lichtenauer [et al.] // *Cardiovasc Res*. – 2010. – Vol. 87. – No 4. – P. 769-777.

398. AbouEzzeddine, O.F. Suppression of Tumorigenicity 2 in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction / O.F. AbouEzzeddine, P.M. McKie, S.M. Dunlay [et al.] // *J Am Heart Assoc.* – 2017. – Vol. 6. – No 2. – P. e004382.

399. Kaburova, A.N. The relationship between the key markers of myocardial fibrosis and gut microbiota composition in patients with heart failure and preserved ejection fraction / A.N. Kaburova, O.M. Drapkina, S.M. Uydin [et al.] // *European Heart Journal.* – 2020. – Vol. 41. – Issue 2. – P. 946.0861.

400. Hou, J. Dietary Taxifolin Protects Against Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis via NF- κ B Signaling, Enhancing Intestinal Barrier and Modulating Gut Microbiota / J. Hou, M. Hu, L. Zhang [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 11. – P. 631809.

401. Chénard, T. The influence of blood on the human gut microbiome / T. Chénard, M. Malick, J. Dubé [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2020. – Vol. 20. – No 1. – P. 44.

402. Forbes, J.D. A comparative study of the gut microbiota in immune-mediated inflammatory diseases-does a common dysbiosis exist? / J.D. Forbes, C.Y. Chen, N.C. Knox [et al.] // *Microbiome.* – 2018. – Vol. 6. – No 1. – P. 221.

403. Nishino, K. Analysis of endoscopic brush samples identified mucosa-associated dysbiosis in inflammatory bowel disease / K. Nishino, A. Nishida, R. Inoue [et al.] // *J Gastroenterol.* – 2018. – Vol. 53. – No 1. – P. 95-106.

404. Volkova, A. Predictive Metagenomic Analysis of Autoimmune Disease Identifies Robust Autoimmunity and Disease Specific Microbial Signatures / A. Volkova, K.V. Ruggles // *Front Microbiol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 621310.

405. Anand, S. Comparative In silico Analysis of Butyrate Production Pathways in Gut Commensals and Pathogens / S. Anand, H. Kaur, S.S. Mande [et al.] // *Front Microbiol.* – 2016. – Vol. 7. – P. 1945.

406. Xia, X. Elevated Systemic and Intestinal Inflammatory Response Are Associated With Gut Microbiome Disorder After Cardiovascular Surgery / X. Xia, J. Ni, S. Yin [et al.] // *Front Microbiol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 686648.

407. Salzano, A. Combined use of trimethylamine N-oxide with BNP for risk

stratification in heart failure with preserved ejection fraction: findings from the DIAMONDHFpEF study / A. Salzano, M.Z. Israr, Y. Yazaki [et al.] // *Eur J Prev Cardiol.* – 2020. – Vol. 27. – No 19. – P. 2159-2162.

408. Krüger, R. Associations of current diet with plasma and urine TMAO in the KarMeN study: direct and indirect contributions / R. Krüger, B. Merz, M.J. Rist [et al.] // *Mol Nutr Food Res.* – 2017. – Vol. 61. – No 11. – doi: 10.1002/mnfr.201700363.

409. Rath, S. Pathogenic functions of host microbiota / S. Rath, T. Rud, A. Karch [et al.] // *Microbiome.* – 2018. – Vol. 6. – No 1. – P. 174.

410. James, K.L. Diet, Fecal Microbiome, and Trimethylamine N-Oxide in a Cohort of Metabolically Healthy United States Adults / K.L. James, E.R. Gertz, E. Cervantes [et al.] // *Nutrients.* – 2022. – Vol. 14. – No 7. – P. 1376.

411. Fu, B.C. Associations of plasma trimethylamine N-oxide, choline, carnitine, and betaine with inflammatory and cardiometabolic risk biomarkers and the fecal microbiome in the Multiethnic Cohort Adiposity Phenotype Study / B.C. Fu, M.A.J. Hullar, T.W. Randolph [et al.] // *Am J Clin Nutr.* – 2020. – Vol. 111. – No 6. – P. 1226-1234.

412. Duncan, S.H. Proposal of *Roseburia faecis* sp. nov., *Roseburia hominis* sp. nov. and *Roseburia inulinivorans* sp. nov., based on isolates from human faeces / S.H. Duncan, R.I. Aminov, K.P. Scott [et al.] // *Int J Syst Evol Microbiol.* – 2006. – Vol. 56. – No 10. – P. 2437-2441.

413. Louis, P. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota / P. Louis, H.J. Flint // *Environ Microbiol.* – 2017. – Vol. 19. – No 1. – P. 29-41.

414. Atarashi, K. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species / K. Atarashi, T. Tanoue, T. Shima [et al.] // *Science.* – 2011. – Vol. 331. – No 6015. – P. 337-41.

415. Jost, T. Assessment of bacterial diversity in breast milk using culture-dependent and culture-independent approaches / T. Jost, C. Lacroix, C. Braegger [et al.] // *Br J Nutr.* – 2013. – Vol. 110. – No 7. – P. 1253-62.

416. Kasahara, K. Interactions between *Roseburia intestinalis* and diet modulate

atherogenesis in a murine model / K. Kasahara, K.A. Krautkramer, E. Org [et al.] // *Nat Microbiol.* – 2018. – Vol. 3. – No 12. – P. 1461-1471.

417. Zheng, A. Changes in Gut Microbiome Structure and Function of Rats with Isoproterenol-Induced Heart Failure / A. Zheng, H. Yi, F. Li [et al.] // *Int Heart J.* – 2019. – Vol. 60. – No 5. – P. 1176-1183.

418. Pelletier, C.C. Elevation of Trimethylamine-N-Oxide in Chronic Kidney Disease: Contribution of Decreased Glomerular Filtration Rate / C.C. Pelletier, M. Croyal, L. Ene [et al.] // *Toxins (Basel).* – 2019. – Vol. 11. – No 11. – P. 635.

419. Teft, W.A. Identification and Characterization of Trimethylamine-N-oxide Uptake and Efflux Transporters / W.A. Teft, B.L. Morse, B.F. Leake [et al.] // *Mol Pharm.* – 2017. – Vol. 14. – No 1. – P. 310-318.

420. Al-Obaide, M.A.I. Gut Microbiota-Dependent Trimethylamine-N-oxide and Serum Biomarkers in Patients with T2DM and Advanced CKD / M.A.I. Al-Obaide, R. Singh, P. Datta [et al.] // *J Clin Med.* – 2017. – Vol. 6. – No 9. – P. 86.

421. Dong, S. microRNA-21 promotes cardiac fibrosis and development of heart failure with preserved left ventricular ejection fraction by up-regulating Bcl-2 / S. Dong, W. Ma, B. Hao [et al.] // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2014. – Vol. 7. – No 2. – P. 565-574.

422. Wang, H. miR-21-3p controls sepsis-associated cardiac dysfunction via regulating SORBS2 / H. Wang, Y. Bei, S. Shen [et al.] // *J Mol Cell Cardiol.* – 2016. – Vol. 94. – P. 43-53.

423. Bang, C. Cardiac fibroblast-derived microRNA passenger strand-enriched exosomes mediate cardiomyocyte hypertrophy / C. Bang, S. Batkai, S. Dangwal [et al.] // *J Clin Invest.* – 2014. – Vol. 124. – No 5. – P. 2136-2146.

424. Cooley, N. Influence of atrial fibrillation on microRNA expression profiles in left and right atria from patients with valvular heart disease / N. Cooley, M.J. Cowley, R.C. Lin [et al.] // *Physiol Genomics.* – 2012. – Vol. 44. – No 3. – P. 211-219.

425. Chen, H. Relationship between circulating miRNA-21, atrial fibrosis, and atrial fibrillation in patients with atrial enlargement / H. Chen, F. Zhang, Y.L. Zhang [et al.] // *Ann Palliat Med.* – 2021. – Vol. 10. – No 12. – P. 12742-12749.

426. Shi, P. MiR-21-3p triggers cardiac fibroblasts pyroptosis in diabetic cardiac

fibrosis via inhibiting androgen receptor / P. Shi, X.D. Zhao, K.H. Shi [et al.] // *Exp Cell Res.* – 2021. – Vol. 399. – No 2. – P. 112464.

427. Galluzzo, A. Identification of novel circulating microRNAs in advanced heart failure by next-generation sequencing / A. Galluzzo, S. Gallo, B. Pardini [et al.] // *ESC Heart Fail.* – 2021. – Vol. 8. – No 4. – P. 2907-2919.

428. Wang, R. Survival of *Lactobacillus casei* strain Shirota in the intestines of healthy Chinese adults / R. Wang, S. Chen, J. Jin [et al.] // *Microbiol Immunol.* – 2015. – Vol. 59. – No 5. – P. 268-76.

429. Vandenplas, Y. Probiotics: an update / Y. Vandenplas, G. Huys, G. Daube [et al.] // *J Pediatr (Rio J).* – 2015. – Vol. 91. – No 1. – P. 6-21.

430. Chen, Y.T. *Lactobacillus rhamnosus* Strain LRH05 Intervention Ameliorated Body Weight Gain and Adipose Inflammation via Modulating the Gut Microbiota in High-Fat Diet-Induced Obese Mice / Y.T. Chen, S.Y. Chiou, A.H. Hsu [et al.] // *Mol Nutr Food Res.* – 2022. – Vol. 66. – No 1. – P. e2100348.

431. Dong, J. Immunomodulatory effects of mixed *Lactobacillus plantarum* on lipopolysaccharide-induced intestinal injury in mice / J. Dong, L. Ping, K. Zhang [et al.] // *Food Funct.* – 2022. – Vol. 13. – No 9. – P. 4914-4929.

432. Uchinaka, A. Anti-inflammatory effects of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 on cardiac and adipose tissue in rats with metabolic syndrome / A. Uchinaka, N. Azuma, H. Mizumoto [et al.] // *Sci Rep.* – 2018. – Vol. 8. – No 1. – P. 8156.

433. Martin-Gallausiaux, C. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut / C. Martin-Gallausiaux, L. Marinelli, H.M. Blottière [et al.] // *Proc Nutr Soc.* – 2021. – Vol. 80. – No 1. – P. 37-49.

434. Chen, L. NLRP12 attenuates colon inflammation by maintaining colonic microbial diversity and promoting protective commensal bacterial growth / L. Chen, J.E. Wilson, M.J. Koenigsnecht [et al.] // *Nat Immunol.* – 2017. – Vol. 18. – No 5. – P. 541-551.

435. Gan, X.T. Probiotic administration attenuates myocardial hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in the rat / X.T. Gan, G. Ettinger, C.X. Huang [et al.] // *Circ Heart Fail.* – 2014. – Vol. 7. – No 3. – P. 491-499.

436. Zhou, X. Gut-dependent microbial translocation induces inflammation and cardiovascular events after ST-elevation myocardial infarction / X. Zhou, J. Li, J. Guo [et al.] // *Microbiome*. – 2018. – Vol. 6. – No 1. – P. 66.

437. Kothari, D. Probiotic supplements might not be universally-effective and safe: A review / D. Kothari, S. Patel, S.K. Kim // *Biomed Pharmacother*. – 2019. – Vol. 111. – P. 537-547.

438. Gu, Y.Y. Sex-specific differences in the gut microbiota and fecal metabolites in an adolescent valproic acid-induced rat autism model / Y.Y. Gu, Y. Han, J.J. Liang [et al.] // *Front Biosci (Landmark Ed)*. – 2021. – Vol. 26. – No 12. – P. 1585-1598.

439. Li, Y. Altered Fecal Microbiome and Metabolome in a Mouse Model of Choroidal Neovascularization / Y. Li, Y. Cai, Q. Huang [et al.] // *Front Microbiol*. – 2021. – Vol. 12. – P. 738796.

440. Duca, F. Interstitial Fibrosis, Functional Status, and Outcomes in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Insights From a Prospective Cardiac Magnetic Resonance Imaging Study / F. Duca, A.A. Kammerlander, C. Zotter-Tufaro [et al.] // *Circ Cardiovasc Imaging*. – 2016. – Vol. 9. – No 12. – P. e005277.

441. Kaburova, A.N. The link between left ventricular extracellular volume determined by T1 myocardial mapping and gut microbiota composition in individuals with heart failure and preserved ejection fraction / A.N. Kaburova, O.M. Drapkina, S.M. Uydin [et al.] // *European Heart Journal*. – 2020. – Vol. 41. – Issue 2. – P. 946.0864.

442. Feng, Y. Enrichment of sulfidogenic bacteria from the human intestinal tract / Y. Feng, A.J.M. Stams, W.M. de Vos [et al.] // *FEMS Microbiol Lett*. – 2017. – Vol. 364. – No 4. – doi: 10.1093/femsle/fnx028.

443. Yutin, N. A genomic update on clostridial phylogeny: Gram-negative spore formers and other misplaced clostridia / N. Yutin, M.Y. Galperin // *Environ Microbiol*. – 2013. – Vol. 15. – No 10. – P. 2631-41.

444. Chen, L. Propionate and Butyrate Produced by Gut Microbiota after Probiotic Supplementation Attenuate Lung Metastasis of Melanoma Cells in Mice / L. Chen, X. Zhou, Y. Wang [et al.] // *Mol Nutr Food Res*. – 2021. – Vol. 65. – No 15. – P. e2100096.

445. Hernandez-Sanabria, E. Short-term supplementation of celecoxib-shifted butyrate production on a simulated model of the gut microbial ecosystem and ameliorated in vitro inflammation / E. Hernandez-Sanabria, E. Heiremans, M. Calatayud Arroyo [et al.] // NPJ Biofilms Microbiomes. – 2020. – Vol. 6. – No 1. – P. 9.

446. Gutiérrez, N. Species Deletions from Microbiome Consortia Reveal Key Metabolic Interactions between Gut Microbes / N. Gutiérrez, D. Garrido // mSystems. – 2019. – Vol. 4. – No 4. – P. e00185-19.

447. Morrison, D.J. Butyrate production from oligofructose fermentation by the human faecal flora: what is the contribution of extracellular acetate and lactate? / D.J. Morrison, W.G. Mackay, C.A. Edwards [et al.] // Br J Nutr. – 2006. – Vol. 96. – No 3. – P. 570-577.

448. Lozupone, C. Identifying genomic and metabolic features that can underlie early successional and opportunistic lifestyles of human gut symbionts / C. Lozupone, K. Faust, J. Raes [et al.] // Genome Res. – 2012. – Vol. 22. – No 10. – P. 1974-1984.

449. Zhang, W. Fecal Microbiota Transplantation (FMT) Alleviates Experimental Colitis in Mice by Gut Microbiota Regulation / W. Zhang, G. Zou, B. Li [et al.] // J Microbiol Biotechnol. – 2020. – Vol. 30. – No 8. – P. 1132-1141.

450. Pagliai, G. Influence of a 3-month low-calorie Mediterranean diet compared to the vegetarian diet on human gut microbiota and SCFA: the CARDIVEG Study / G. Pagliai, E. Russo, E. Niccolai [et al.] // Eur J Nutr. – 2020. – Vol. 59. – No 5. – P. 2011-2024.

451. Tabata, T. Gut microbial composition in patients with atrial fibrillation: effects of diet and drugs / T. Tabata, T. Yamashita, K. Hosomi [et al.] // Heart Vessels. – 2021. – Vol. 36. – No 1. – P. 105-114.

452. Jameson, E. Metagenomic data-mining reveals contrasting microbial populations responsible for trimethylamine formation in human gut and marine ecosystems / E. Jameson, A.C. Doxey, R. Airs [et al.] // Microb Genom. – 2016. – Vol. 2. – No 9. – P. e000080.

453. Cai, Y.Y. Integrated metagenomics identifies a crucial role for trimethylamine-producing *Lachnoclostridium* in promoting atherosclerosis / Y.Y. Cai,

F.Q. Huang, X. Lao [et al.] // *NPJ Biofilms Microbiomes*. – 2022. – Vol. 8. – No 1. – P. 11.

454. Власов, А.А. Микробиота кишечника и системное воспаление у пациентов с хронической сердечной недостаточностью / А.А. Власов, С.П. Саликова, В.Б. Гриневич [et al.] // *Кардиология*. – 2020. – Т. 60. – № 5. – С. 74-82.

455. Sava, R.I. Immune Dysregulation in HFpEF: A Target for Mesenchymal Stem/Stromal Cell Therapy / R.I. Sava, C.J. Pepine, K.L. March [et al.] // *J Clin Med*. – 2020. – Vol. 9. – No 1. – P. 241.

456. Canfora, E.E. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity / E.E. Canfora, J.W. Jocken, E.E. Blaak [et al.] // *Nat Rev Endocrinol*. – 2015. – Vol. 11. – No 10. – P. 577-591.

457. Kaye, D.M. Deficiency of Prebiotic Fiber and Insufficient Signaling Through Gut Metabolite-Sensing Receptors Leads to Cardiovascular Disease / D.M. Kaye, W.A. Shihata, H.A. Jama [et al.] // *Circulation*. – 2020. – Vol. 141. – No 17. – P. 1393-1403.

458. Li, M. Pro- and anti-inflammatory effects of short chain fatty acids on immune and endothelial cells / M. Li, B.C.A.M. van Esch, G.T.M. Wagenaar [et al.] // *Eur J Pharmacol*. – 2018. – Vol. 831. – P. 52-59.

459. Weersma, R.K. Interaction between drugs and the gut microbiome / R.K. Weersma, A. Zhernakova, J. Fu // *Gut*. – 2020. – Vol. 69. – No 8. – P. 1510-1519.

460. Bonder, M.J. The influence of a short-term gluten-free diet on the human gut microbiome / M.J. Bonder, E.F. Tigchelaar, X. Cai [et al.] // *Genome Med*. – 2016. – Vol. 8. – No 1. – P. 45.

461. Falony, G. Population-level analysis of gut microbiome variation / G. Falony, M. Joossens, S. Vieira-Silva [et al.] // *Science*. – 2016. – Vol. 352. – No 6285. – P. 560-564.

462. Jackson, M.A. Gut microbiota associations with common diseases and prescription medications in a population-based cohort / M.A. Jackson, S. Verdi, M.E. Maxan [et al.] // *Nat Commun*. – 2018. – Vol. 9. – No 1. – P. 2655.

463. Vich Vila, A. Impact of commonly used drugs on the composition and

metabolic function of the gut microbiota / A. Vich Vila, V. Collij, S. Sanna [et al.] // Nat Commun. – 2020. – Vol. 11. – No 1. – P. 362.