

Mikrobióm a ateroskleróza

Pavol Fülöp¹, Marianna Vachalcová², Barbora Sepešiová², Denisa Harvanová³, Katarína Šoltys⁴,
Gabriel Valočik²

¹Interná klinika UPJŠ LF a Nemocnice AGEL Košice-Šaca, a. s.

²I. kardiologická klinika UPJŠ LF a VÚSCH, a. s., Košice

³Združená tkanivová banka UPJŠ LF a UNLP v Košiciach

⁴Prírodovedecká fakulta, UK v Bratislave

Ateroskleróza je hlavnou príčinou kardiovaskulárnych ochorení a významne prispieva k celosvetovej úmrtnosti. Stále rastúci počet dôkazov naznačuje, že črevný mikrobióm môže zohrávať kľúčovú úlohu v patogenéze tohto ochorenia. Črevný mikrobióm pozostáva z biliónov mikroorganizmov, ktoré nielen podporujú trávenie a metabolizmus, ale tiež ovplyvňujú imunitnú odpoveď hostiteľa. Zmeny v zložení črevného mikrobiómu boli spojené s rôznymi chronickými ochoreniami, vrátane obezity, cukrovky a aterosklerózy.

Tento článok poskytuje stručný prehľad zloženia črevného mikrobiómu u pacientov s koronárnou chorobou srdca a sumarizuje možné základné mechanizmy vplyvu na rozvoj aterosklerózy. Zloženie črevného mikrobiómu u pacientov s aterosklerózou sa líši od zdravých jedincov. Identifikácia a pochopenie týchto rozdielov poskytuje nové možnosti pre diagnostiku a liečbu aterosklerózy.

Kľúčové slová: ateroskleróza, črevný mikrobióm, mikrobiológia, koronárna choroba srdca, progresia aterosklerózy.

Microbiome and atherosclerosis

Atherosclerosis is a major cause of cardiovascular diseases and significantly contributes to global mortality. An increasing body of evidence suggests that the gut microbiome may play a key role in the pathogenesis of this disease. The gut microbiome consists of trillions of microorganisms that not only support digestion and metabolism but also influence the host's immune response. Alterations in the composition of the gut microbiome have been associated with various chronic diseases, including obesity, diabetes, and atherosclerosis.

This article provides a brief overview of the gut microbiome composition in patients with coronary artery disease and summarizes the potential underlying mechanisms influencing the development of atherosclerosis. The composition of the gut microbiome in patients with atherosclerosis differs from that in healthy individuals. Identifying and understanding these differences offers new opportunities for the diagnosis and treatment of atherosclerosis.

Key words: atherosclerosis, gut microbiome, microbiology, coronary artery disease, progression of atherosclerosis.

Úvod

Ateroskleróza (AS) je komplexné ochorenie, ktoré vedie k tvorbe plátov v stenách artérií a je hlavnou príčinou kardiovaskulárnych ochorení. Medzi známe modifikovateľné rizikové faktory AS patrí dyslipidémia,

hypertenzia, diabetes mellitus, exogénna obezita, fajčenie, nedostatok pohybovej aktivity, ako aj chronický zápal (1).

V posledných rokoch sa čoraz viac pozornosti venuje úlohe črevného mikrobiómu (ČM) pri vývoji a progresii aterosklerózy. Tento prehľad

dový článok upozorňuje na konkrétne bakteriálne druhy a možné mechanizmy vplyvu na vznik aterosklerózy.

Mikrobióm

ČM u zdravých udržuje črevnú homeostázu. Strava je jedným z najsilnejších modulátorov funkcií a zloženia ČM. Fyziologicky existuje systém črevnej bariéry vrátane fyzikálnych, biochemických a imunologických zložiek. Hlavnou časťou bariéry sú črevné epiteliálne bunky (IEC), ktoré sú v jednej vrstve a sú spojené tesnými spojovacími proteínmi (Tight Junction Proteins). Butyrát slúži ako hlavný energetický zdroj IEC a je schopný udržiavať stabilitu črevnej bariéry.

Črevnému mikrobiómu dominuje päť bakteriálnych kmeňov, a to Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria a Verrucomicrobiota, pričom Firmicutes a Bacteroidetes predstavujú viac ako 90 % celkového črevného mikrobiómu (2).

Zatiaľ čo základné bakteriálne kmeňe sú odolné voči väčšine dočasných vonkajších vplyvov, komunita črevných mikróbov ako celok vykazuje vysokú interindividuálnu každodennú variabilitu. Črevné mikróby sa pravidelne odstraňované a majú schopnosť zdvojnásobiť svoj počet v priebehu jednej hodiny (3). Predpokladá sa, že do 24 – 48 hodín po diétnom zásahu dôjde k rýchlym zmenám v mikrobiálnom zložení na úrovni druhu a rodiny (ale nie kmeňa).

Pojem dysbióza sa zvyčajne vzťahuje na nerovnováhu mikrobiálnych spoločenstiev, ktorá súvisí so zmenami buď v mikrobiálnom zložení, alebo narušením bariérovej funkcie sliznice. Posun v diverzite a početnosti ČM uľahčuje premnoženie potenciálne patogénnych baktérií spôsobujúcich zápalové procesy a vývoj rôznych chorôb (4).

Dysbióza črevného mikrobiómu vedie k zníženej expresii proteínu tesného spojenia (Tight Junction Proteins), zvýšenej permeabilite črevnej sliznice a zložky LPS na vonkajšej membráne gramnegatívnych baktérií vstupujú do krvného obehu. Črevná dysbióza je zvyčajne spôsobená rôznymi faktormi, ako je strava s vysokým obsahom tukov, viaceré ochorenia a nadmerné užívanie antibiotík (5). Zmeny ČM vedú k zníženej expresii proteínov tesného spojenia, zvýšenej permeabilite črevnej sliznice a následnej translokácii črevnej bakteriálnej DNA (deoxyribonukleovej kyseliny), ako aj absorpcii metabolitov a endotoxínov do krvného obehu.

Mechanizmy vplyvu ČM na arterosklerózu

Metabolity Produkované Mikrobiómom

Jedným z najdôležitejších metabolitov produkovaných črevným mikrobiómom je trimetylamín-N-oxid (TMAO). Tento metabolit je produkovaný mikrobiálnou metabolizáciou cholínu, L-karnitínu a fosfatidylcholínu nachádzajúcich sa v strave. TMAO bol spojený so zvýšeným rizikom aterosklerózy, pretože podporuje tvorbu penových buniek a zhoršuje funkciu endotelu (6). Mastné kyseliny s krátkym reťazcom (SCFA - Short chain fatty acids), ako je butyrát, majú protizápalové vlastnosti a môžu znižovať zápal v cievach. Tieto metabolity sú produkované fermentáciou vlákniny črevnými baktériami a môžu modulovať imunitné odpovede hostiteľa (7).

Zápal a Imunitné Reakcie

Baktérie prítomné v AS plátoch stimulujú zápalové a imunitné reakcie hostiteľa.

Lipolysacharidy (LPS) produkované gramnegatívnymi baktériami, ako je *Escherichia coli* (*E. coli*), môžu indukovať expresiu cytokínov a molekúl bunkovej adhézie, ako aj podporovať tvorbu penových buniek, ktoré vedú k tvorbe plátov a progresii aterosklerózy (8).

Okrem toho sa LPS môže tiež priamo viazať na Toll-like receptor 4 (TLR4) na povrchu imunitných buniek, inhibovať pečeňový X receptor a redukovať transportéry viažuce adenosíntrifosfát (ATP-binding cassette protein - ABC) A1 a G1 (9). ABCA1 a ABCG1 sú integrované membránové proteíny, ktoré využívajú ATP ako zdroj energie na podporu odtoku voľného cholesterolu a fosfolipidov v bunkách a hrajú dôležitú úlohu pri reverznom transporte cholesterolu.

LPS môže nepriamo spustiť uvoľňovanie prozápalových faktorov, ako je tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukín (IL)-1 β , inhibovať expresiu transportérov cholesterolu a potom podporovať tvorbu penových buniek (10).

Invázia Bunkami Hostiteľa

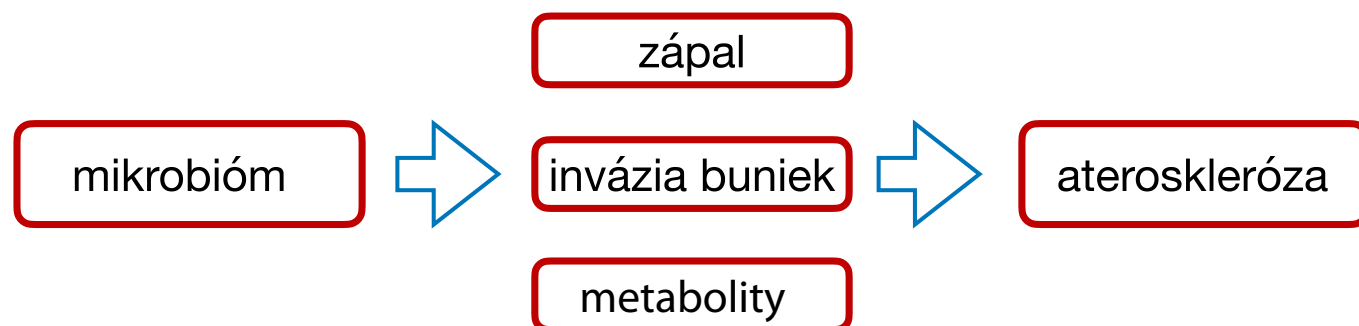
Niektoré baktérie sa vyvinuli s možnosťou invadovať neprofesionálne fagocytárne bunky, a to epitelové, endotelové, mezenchymálne bunky či fibroblasty, a prežívať v nich. Proces bakteriálnej invázie do hostiteľského tkaniva začína priľnutím k cieľovej bunke. Mnohé patogénne baktérie získali na svojom povrchu veľkú a rôznorodú sadu adhezívnych skupín, aby rozpoznali a naviazali sa na špecifické povrchové receptory hostiteľskej bunky (11).

Po invázii do endotelu je obmedzený počet bakteriálnych patogénov (ako je *Porphyromonas gingivalis*) schopný prebývať vo vnútri hostiteľských buniek počas predĺženého časového obdobia, pričom aktivuje hostiteľské tkanivo a iniciuje aterogénny proces. V priebehu 24–72 hodín sa baktérie prepnú do spiaceho, nekultivovateľného štádia (latencia), aby si udržali svoj počet a pretrvali. Keď však čelia nepriateľskému prostrediu (fagolizozomálna fúzia), niektoré baktérie uniknú zo spiaceho štádia, vystúpia do extracelulárneho prostredia a napadnú susedné hostiteľské bunky, stávajú sa prechodne invazívnymi a kultivovateľnými a udržiavajú pretrvávajúci zápal nízkeho stupňa. K prenosu medzi bunkami dochádza aj vtedy, keď boli nové bunky ďaleko od infikovaných buniek. Návrat do kultivovateľného stavu špecificky nastáva po pohltení fagocyty, čo dodatočne zaisťuje metastatickú disemináciu a narušenú apoptózu s nekrozou, čím sa zachováva chronická forma ochorenia (11).

Vplyv mikrobiómu na stabilitu plátu

AS pláty pozostávajú z tukových usadenín, zápalových buniek, hladkých svalových buniek a extracelulárnej matrix. Stabilné pláty majú silnú fibrotickú čiapku, ktorá bráni ruptúre, zatiaľ čo nestabilné pláty majú tenkú fibrotickú čiapku, čo zvyšuje riziko ruptúry a následnej trombózy.

Zvýšené hladiny TMAO, sú spojené so zvýšeným rizikom destabilizácie plátov (6). TMAO môže podporovať zápalové procesy a zvýšenú infiltráciu makrofágov, čo vedie k degradácii extracelulárnej matrix a oslabeniu fibrotickej čiapky. Liu a kol. preukázali, že AS platy u pacientov s vyššími hladinami TMAO vykazovali charakteristiky vulnerabilného plátu (12).

Obr. 1. Schéma možného vplyvu mikrobiómu na aterosklerózu

Butyrát môže modulovať imunitné odpovede a znižovať aktivitu matrixových metaloproteináz, ktoré sú zodpovedné za degradáciu kolagénu v pláte. Týmto spôsobom SCFA podporujú udržanie silnej fibrotickej čiapky a znižujú riziko ruptúry plátu (7).

Koren a kol. (13) uviedli, že bakteriálna DNA v arteriálnych plátoch je podobná DNA v črevnom mikrobióme a baktérie v týchto plátoch môžu súvisieť so stabilitou plátov. Karlsson a kol. (14) vykonali metagenomickú analýzu, ktorá porovnávala nestabilné pláty so stabilnými plátmi a zistili, že pacienti s nestabilnými plátmi majú vo vzorkách stolice nižší výskyt Roseburie.

Vplyv jednotlivých baktérií a druhov

Bacteroidetes

Metaanalýzou bol potvrdený významný pokles kmeňa *Bacteroidetes* pri AS (15). Pokles *Bacteroidetes* v ČM má vážne zdravotné dôsledky.

Po prvé, *Bacteroidetes* sa podieľajú na degradácii nestráviteľných uhľovodíkov v strave a uhľovodíkov odvodených od hostiteľa zo sektrétov gastrointestinálneho traktu za vzniku butyrátu a acetátu, ktoré môžu znižovať hladiny lipidov v sére blokovaním syntézy cholesterolu (16). Okrem toho *Bacteroidetes* esterifikujú absorbovateľný cholesterol na koprostanol, neabsorbovateľný sterol vylučovaný stolicou, čím sa znižuje hladina cholesterolu v krvi. Predovšetkým sa predpokladá, že vysoká účinnosť metabolizmu cholesterolu na koprostanol znižuje riziko koronárnej choroby srdca (17).

Po druhé kapsulárny polysacharidový antigén (PSA) *Bacteroidetes* je dôležitý pri aktivácii imunitnej odpovede závislej od T-buniek, ktorá môže ovplyvniť vývoj a homeostázu imunitného systému hostiteľa (18). PSA *Bacteroidetes* podporuje diferenciáciu CD4+ (diferenciačný faktor) T buniek, rovnováhu populácií Th1 (pomocná T bunka) a Th2 a diferenciáciu regulačných T buniek (19). Na aterosklerotickom modeli myši Yoshida et al. (20) preukázali, že suplementácia myši s druhmi rodu *Bacteroidetes*, a to *Bacteroides vulgatus* a *Bacteroides dorei*, zlepšila endotoxémiu, znížila expresiu a aktiváciu TLR4 a znížila plazmatické hladiny proaterogénnych cytokínov, ako sú IL-2, IL-4, IL-6, IL-17 A, interferon- γ a TNF- α .

Po tretie, niektoré druhy *Bacteroides* priamo redukujú mikrobiálnu syntézu LPS v ľudskom čreve, čím znižujú systémovú endotoxémiu zapojenú do nástupu a progresie aterosklerózy (19).

Firmicutes

Zvýšená prítomnosť baktérií rodu *Firmicutes* bola spojená s obezitou (21). Tieto baktérie môžu ovplyvniť metabolizmus lipidov a prispievať k zvýšenej absorpcii tukov a cholesterolu. Štúdie preukázali, že nerovnováha v mikrobióme, konkrétne zvýšený pomer *Firmicutes*/*Bacteroidetes*, je spojená s vyšším rizikom aterosklerózy, pričom táto nerovnováha prispieva k produkcii TMAO (22).

Iné baktérie

Escherichia coli je jedným z najčastejšie detegovaných bakteriálnych druhov v črevnom mikrobióme a je často prítomná v AS plátoch (8). Ďalej medzi patogény detegované v AS plátoch patria napríklad *Prevotella intermedia*, ako aj periodontogénne *Porphyromonas gingivalis* a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (23).

Analýzou trombov u pacientov so STEMI (infarkt myokardu s eleváciami ST segmentu) (24) *Pseudomonas aeruginosa* predstavoval jediný druh, ktorý bol signifikantne spojený s trombom a bol >30x častejší v tromboch ako v arteriálnej krvi ($p < 0,0001$). Boli detegované celé a neporušené baktérie prítomné ako biofilmové mikrokolonie vo vybraných tromboch. Infekcia *P. aeruginosa* a tvorba vaskulárneho biofilmu v culprit léziách môžu hrať úlohu pri STEMI, ale kauzalitu je potrebné určiť ďalším skúmaním.

Liečba

Liečba dysbiózy pri ateroskleróze môže zahŕňať použitie probiotík a prebiotík na obnovu zdravého ČM a zníženie zápalových markerov (25). Strava bohatá na vlákninu, ako aj nízkoenergetické diéty, môžu podporiť rovnováhu ČM a zlepšiť kardiovaskulárne zdravie. Fekálna mikrobiálna transplantácia sa skúma ako potenciálna terapia na resetovanie ČM a zníženie rizika aterosklerózy.

Liečba modifikujúca črevný mikrobióm zvýšením hojnosti prospešných baktérií ako *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*, ukázala potenciál pri redukcii aterosklerotických lézií. Napríklad bolo pozorované, že substancie ako gypenosid (26) a metformín (27) znižujú hladiny *Firmicutes*, zlepšujú lipidový profil a potecujú protizápalové reakcie, čím zmierňujú progresiu aterosklerózy. Tieto zistenia zdôrazňujú význam udržiavania vyváženého črevného mikrobiómu a naznačujú, že zameranie sa na *Firmicutes* by mohlo byť sľubnou stratégiou pri prevencii a liečbe aterosklerózy.

Záver

Rôzne bakteriálne druhy môžu prispievať k patogenéze aterosklerózy rôznymi mechanizmami, vrátane produkcie toxínov a metabolitov, stimulá-

ciou zápalových reakcií, či inváziou buniek hostiteľa. Cieľom budúceho pátrania je lepšie pochopiť mechanizmy, ktorými mikrobióm ovplyvňuje vývoj aterosklerózy, a identifikovať nové terapeutické ciele pre prevenciu a liečbu.

PROHLÁŠENÍ AUTORŮ: Prohlášení o původnosti: Publikace byla zpracována s využitím uvedené literatury a nebyla publikována ani zaslána k recenznímu řízení do jiného média. **Střet zájmů:** Žádný. **Financování:** Ne. **Poděkování:** Ne. **Registrace v databázích:** N/A. **Projednání etickou komisí:** N/A.

LITERATURA

1. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J*. 2021;42(34):3227-3337.
2. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, et al. What Is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms* 2019, 7, 14.
3. Sonnenburg JL, Bäckhed, F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature*. 2016;535:56-64.
4. Olvera-Rosales LB, Cruz-Guerrero AE, Ramírez-Moreno E, et al. Impact of the Gut Microbiota Balance on the Health-Disease Relationship: The Importance of Consuming Probiotics and Prebiotics. *Foods*. 2021;10(6):1261.
5. Bäckhed F, Fraser CM, Ringel Y, et al. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host Microbe*. 2012;12:611-22.
6. Jonsson A, Bäckhed F. Role of gut microbiota in atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol*. 2017;14:79-87.
7. Liu Q, Li YC, Song X, et al. Both gut microbiota and cytokines act to atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice. *Microb Pathog*. 2019;103827.
8. Zhu Q, Gao R, Zhang Y, et al. Dysbiosis signatures of gut microbiota in coronary artery disease. *Physiol Genomics*. 2018.
9. Yvan-Charvet L, Welch C, Pagler TA, et al. Increased inflammatory gene expression in ABC transporter-deficient macrophages: free cholesterol accumulation, increased signaling via toll-like receptors, and neutrophil infiltration of atherosclerotic lesions. *Circulation*. 2008;118(18):1837-1847.
10. Chacón MR, Lozano-Bartolomé J, Portero-Otín M, et al. The gut mycobiome composition is linked to carotid atherosclerosis. *Benef Microbes*. 2018;9:185-98.
11. Kozarov E. Bacterial invasion of vascular cell types: vascular infectology and atherogenesis. *Future. Cardiol*. 2012;8(1):123-138.
12. Liu X, Xie Z, Sun M, Wang X, Li J, Cui J, et al. Plasma trimethylamine N-oxide is associated with vulnerable plaque characteristics in CAD patients as assessed by optical coherence tomography. *Int J Cardiol*. 2018;265:18-23.
13. Koren O, Spor A, Felin J, et al. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108 Suppl 1(Suppl 1):4592-4598.
14. Karlsson FH, Fåk F, Nookaew I, et al. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. *Nat Commun*. 2012;3:1245.
15. Choroszy M, Litwinowicz K, Bednars R, et al. Human Gut Microbiota in Coronary Artery Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Metabolites*. 2022;12(12):1165.
16. Kazemian N, Mahmoudi M, Halperin F, et al. Gut Microbiota and Cardiovascular Disease: Opportunities and Challenges. *Microbiome* 2020, 8, 36.
17. Krija A, Bourgin M, Potiron, A, et al. Microbial Impact on Cholesterol and Bile Acid Metabolism: Current Status and Future Prospects. *J. Lipid Res*. 2019;60:323-332.
18. Wexler A.G, Goodman A.L. An Insider's Perspective: Bacteroides as a Window into the Microbiome. *Nat. Microbiol*. 2017;2:17026.
19. Yoshida N, Yamashita T, Kishino S, et al. A Possible Beneficial Effect of Bacteroides on Faecal Lipopolysaccharide Activity and Cardiovascular Diseases. *Sci. Rep*. 2020;10:13009.
20. Yoshida N, Emoto T, Yamashita T, et al. Bacteroides Vulgatus and Bacteroides Dorei Reduce Gut Microbial Lipopolysaccharide Production and Inhibit Atherosclerosis. *Circulation* 2018;138:2486-2498.
21. Sasaki N, Takeuchi H, Kitano S, et al. Dynamic analysis of Porphyromonas gingivalis invasion into blood capillaries during the infection process in host tissues using a vascularized three-dimensional human gingival model. *Biomater Sci*. 2021;9(19):6574-6583.
22. Grigorieva I. Atherosclerosis and trimethylamine-N-oxide — the gut microbiota potential. *Russian Journal of Cardiology*. 2022.
23. Gaetti-jardim E, Marcelino SL, Feitosa AC, et al. Detection of bacteria in atherosclerotic plaques of patients with coronary artery disease by polymerase chain reaction. *Anaerobe*. 2009;15(3):89-92.
24. Hansen GM, Greve JH, Greve ML. Pseudomonas aeruginosa microcolonies in coronary thrombi. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016.
25. Tungland B. Dysbiosis of the microbiota: therapeutic strategies utilizing dietary modification, pro- and prebiotics and fecal transplant therapies in promoting normal balance and local GI functions. In: Elsevier; 2018:381-419. doi:10.1016/B978-0-12-814649-1.00009-0.
26. Gao M, Heng X, Jin J, Chu W. Gypenoside XLIX ameliorate high-fat diet-induced atherosclerosis via regulating intestinal microbiota, alleviating inflammatory response and restraining oxidative stress in ApoE^{-/-} mice. *Pharmaceuticals*. 2022.
27. Yan N, Wang L, Li Y, et al. Metformin intervention ameliorates AS in ApoE^{-/-} mice through restoring gut dysbiosis and anti-inflammation. *PLoS ONE*. 2021.