

DOI: 10.15690/vramn532

Л.М. Огородова<sup>1</sup>, С.В. Федосенко<sup>1</sup>, А.С. Попенко<sup>2</sup>, В.А. Петров<sup>1</sup>, А.В. Тяхт<sup>2</sup>, И.В. Салтыкова<sup>1</sup>,  
И.А. Деев<sup>1</sup>, Е.С. Куликов<sup>1</sup>, Н.А. Кириллова<sup>1</sup>, В.М. Говорун<sup>2,3</sup>, Е.С. Кострюкова<sup>2,3</sup><sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Российская Федерация<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Российская Федерация<sup>3</sup> Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Российская Федерация

# Сравнительный анализ орофарингеальной микробиоты у больных хронической обструктивной болезнью легких и бронхиальной астмой различной степени тяжести

**Обоснование.** Характеристика орофарингеальной микробиоты при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и бронхиальной астме (БА) в зависимости от тяжести течения заболеваний является актуальной задачей, решение которой позволит уточнить роль микробиоты в их патогенезе. **Цель исследования:** сравнительный анализ состава орофарингеальной микробиоты при ХОБЛ и БА разной степени выраженности симптомов. **Методы.** В исследование включены 138 больных, из них 88 с ХОБЛ, 50 — с БА. Для каждого пациента был собран анамнез жизни, проведено физикальное исследование и получен мазок из орофарингеальной области. Определение таксономического состава проводилось секвенированием генов бактериальной 16S рРНК с последующим биоинформатическим и статистическим анализом. **Результаты.** При сравнительном анализе были найдены различия в представленности микроорганизмов. Для микробиоты больных ХОБЛ 1–2-й степени тяжести в сравнении с образцами ХОБЛ 3–4-й степени на фоне снижения представленности *Prevotella melaninogenica* характерно более высокое содержание *Brevibacterium aureum* и представителей рода *Scardovia*, *Coprococcus*, *Haemophilus*, *Moryella*, *Dialister* и *Paludibacter*. Микробиота пациентов с тяжелой БА в сравнении с таковой при легкой персистирующей форме на фоне более низкого содержания бактерий рода *Prevotella* характеризуется более выраженным присутствием *Bifidobacterium longum*, *Prevotella nanceiensis*, *Neisseria cinerea*, *Aggregatibacter segnis*, а также представителей рода *Odoribacter*, *Alloiococcus*, *Lactobacillus*, *Megasphaera*, *Parvimonas* и *Sneathia*. При сравнении микробиоты больных БА и ХОБЛ для пациентов с БА отмечалась более высокая представленность *P. melaninogenica* и микроорганизмов рода *Selenomonas*, *Granulicatella*, *Gemella*, а также снижение *Prevotella nigrescens*, *Haemophilus influenzae* и *Aggregatibacter*, *Alloiococcus*, *Catonella*, *Mycoplasma*, *Peptoniphilus*, *Sediminibacterium*. При этом различия в составе орофарингеальной микробиоты у больных тяжелой неконтролируемой БА и ХОБЛ очень тяжелого течения не выявлены. **Заключение.** Отсутствие различий в бактериальной композиции орофарингеальной микробиоты у больных с тяжелыми формами ХОБЛ и БА позволяет высказать предположение о сходстве состояния бронхолегочной системы при тяжелых стадиях развития данных заболеваний.

**Ключевые слова:** микробиота, метагеном, 16S рРНК секвенирование, бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких.

(Для цитирования: Огородова Л.М., Федосенко С.В., Попенко А.С., Петров В.А., Тяхт А.В., Салтыкова И.В., Деев И.А., Куликов Е.С., Кириллова Н.А., Говорун В.М., Кострюкова Е.С. Сравнительный анализ орофарингеальной микробиоты у больных хронической обструктивной болезнью легких и бронхиальной астмой различной степени тяжести. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (6): 669–678. Doi: 10.15690/vramn532)

## Обоснование

Одними из наиболее распространенных хронических заболеваний бронхолегочной системы среди взрослого населения, приводящих к существенному снижению качества жизни, обуславливающих раннюю инвалидизацию и высокую смертность больных являются хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и бронхиальная астма (БА). Данные заболевания причисляются к социально значимым, так как они сопряжены с существенным экономическим и социальным ущербом. ХОБЛ и БА характеризуются как высокими прямыми (медикаментозное обеспечение, экстренная медицинская помощь), так и косвенными (длительные периоды нетрудоспособности, выплаты по инвалидности) затратами ресурсов здравоохранения [1]. Этиология данных заболеваний на настоящий момент четко не установлена, патогенез же связывают с персистирующим легочным воспалением, которое при ХОБЛ связано с активацией преимущественно Th1-звена, а при БА — Th2. Клиническая картина обеих патологий характеризуется обструкцией дыхательных путей — лабильной в случае БА и постоянной при ХОБЛ, полифенотипичностью [2], а также значительным влиянием обострений на состояние здоровья, качество жизни больных и прогноз.

В настоящее время человеческий организм принято рассматривать в свете его симбиотических отношений с населяющими его микроорганизмами [3]. Микробиота представляет собой сложную систему взаимосвязанных сообществ микроорганизмов, таких как бактерии, вирусы, археи, грибки и простейшие, населяющих различные биотопы организма человека — желудочно-кишечный тракт, кожу с ее придатками и легкие. В состав самого обширного биотопа организма — кишечника — входят более 1000 видов различных бактерий, совокупный геном которых превышает геном человека более чем в 150 раз [4]. Макроорганизм и его микробное население в нормальных условиях находятся в состоянии динамического равновесия, поэтому для микрофлоры каждой области тела человека характерно относительное постоянство, и имеются эволюционно сложившиеся закономерности в количественном и качественном (видовом) ее составе как на уровне организма в целом, так и отдельных его органов и систем. Изменения состояния макроорганизма выражаются сменой микробного пейзажа всех участков тела.

На протяжении долгого времени основным методом оценки бактериального разнообразия являлось классическое культивирование бактерий на питательных средах. Однако культуральные методики не дают полной

картины микробиоты человека, так как при их помощи можно выявить лишь около 10–40% бактерий, населяющих человеческий организм [5]. Появление новых культуронезависимых методик оценки микробиоты человека, основанных на детекции генов бактериальной 16S рРНК, позволило сделать огромный скачок в идентификации видового состава бактериальной флоры [6].

На настоящий момент появляется все больше информации об изменении состава микробиоты человека при различных заболеваниях и его роли в патогенезе различных расстройств, в том числе болезней органов дыхания [3]. Микробиота дыхательных путей при ХОБЛ и БА была охарактеризована ранее [7], однако сравнительная характеристика флоры при различных степенях тяжести течения этих заболеваний является актуальной задачей.

**Цель исследования:** проведение сравнительного анализа состава орофарингеальной микробиоты при хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астме разной степени тяжести.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено одномоментное сравнительное неинтервенционное исследование в параллельных группах, в рамках которого произведен сбор мазков с задней стенки глотки для исследования орофарингеальной микробиоты. Всего в исследование было включено 138 человек: мужчины и женщины в возрасте от 40 до 70 лет с диагнозами легкой контролируемой и частично контролируемой БА, тяжелой неконтролируемой БА; ХОБЛ средней, а также тяжелой и крайне тяжелой степени тяжести. Длительность соответствующего заболевания составляла

не менее 12 мес на момент подписания информированного согласия. Число больных с ХОБЛ — 88, среди них 57 с легкой и средней степенью тяжести, 31 — с тяжелым и очень тяжелым течением болезни. Количество больных с БА составило 50 человек: 23 пациента с легкой персистирующей (контролируемой и частично контролируемой) и 27 с тяжелой неконтролируемой формой. Длительность соответствующего заболевания составляла не менее 12 мес на момент подписания информированного согласия.

### Критерии соответствия

В исследование включали больных БА и ХОБЛ стабильного течения с отсутствием анамнеза обострений в протяжении 4 нед и приема антибиотиков в течение 3 мес и более. В исследование включались некурящие больные БА, а также бывшие курильщики, страдающие астмой, со значением индекса курения менее 10 пачка/лет. Индекс курения у больных ХОБЛ составлял 10 и более пачка/лет. В исследование не включались больные БА и ХОБЛ, страдающие онкопатологией, тяжелой сопутствующей патологией в стадии декомпенсации, а также больные другими клинически значимыми заболеваниями бронхолегочной системы, которые, по мнению исследователя, могли повлиять на результаты исследования.

### Описание медицинского вмешательства

Для каждого пациента был собран анамнез жизни, проведены физикальное исследование и оценка состояния по опроснику mMRC и шкале Ю.Л. Куницыной и Е.И. Шмелёва (2003) [8]. Для получения микробиоты верхних дыхательных путей у всех участников исследования производился забор орофарингеальных мазков по стандартной методике.

670

L.M. Ogorodova<sup>1</sup>, S.V. Fedosenko<sup>1</sup>, A.S. Popenko<sup>2</sup>, V.A. Petrov<sup>1</sup>, A.V. Tyakht<sup>2</sup>, I.V. Saltykova<sup>1</sup>, I.A. Deev<sup>1</sup>, E.S. Kulikov<sup>1</sup>, N.A. Kirillova<sup>1</sup>, V.M. Govorun<sup>2, 3</sup>, E.S. Kostryukova<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Scientific Research Institute of Physical-Chemical Medicine, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> Kazan Federal University, Kazan, Russian Federation

## Comparison Study of Oropharyngeal Microbiota in Case of Bronchial Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Different Severity Levels

**Background:** The result of comparative study of oropharyngeal microbiota taxonomic composition in patients with different severity level of bronchial asthma (BA) and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is presented in this paper. **Aims:** To compare oropharyngeal microbiota composition in case of bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease in different severity levels. **Methods:** 138 patients, 50 with BA and 88 with COPD were studied. For each patient was collected anamnesis vitae, swab from the back of the throat and performed physical examination. High-throughput 16S ribosomal RNA gene sequencing and bioinformatic analysis was employed to characterize the microbial communities. **Results:** As a result of the study was found a number of differences on various taxonomic levels in microbiota's composition within group of patients with different severity level of BA and group of patients with different severity level of COPD and between those groups. COPD patients with GOLD 1–2 in comparison with GOLD 3–4 patients are marked by prevalence of species *Brevibacterium aureum*, genus *Scardovia*, *Coprococcus*, *Haemophilus*, *Moryella*, *Dialister*, *Paludibacter* and decrease of *Prevotella melaninogenica* species. BA patients with severe uncontrolled asthma in comparison with patients which have mild persistent asthma are marked by decrease of *Prevotella* and increase of species *Bifidobacterium longum*, *Prevotella nanceiensis*, *Neisseria cinerea*, *Aggregatibacter segnis* and genus *Odoribacter*, *Alloiococcus*, *Lactobacillus*, *Megasphaera*, *Parvimonas*, *Sneathia*. Patient's microbiota in BA group in comparison with COPD group is characterized by the prevalence of *Prevotella melaninogenica* and genus *Selenomonas*, *Granulicatella u Gemella*, and decrease of *Prevotella nigrescens*, *Haemophilus influenzae* and genus *Aggregatibacter*, *Alloiococcus*, *Catonella*, *Mycoplasma*, *Peptoniphilus u Sediminibacterium*. There are no differences between microbiota composition in case of severe uncontrolled BA and very severe COPD. **Conclusion:** Lack of differences in oropharyngeal microbiota taxonomic composition between patients with severe uncontrolled BA and very severe COPD allow us to suggest a similarity of bronchopulmonary system condition in case of diseases' severe stages.

**Key words:** microbiota, metagenome, bronchial asthma, chronic obstructive pulmonary disease.

(For citation: Ogorodova L.M., Fedosenko S.V., Popenko A.S., Petrov V.A., Tyakht A.V., Saltykova I.V., Deev I.A., Kulikov E.S., Kirillova N.A., Govorun V.M., Kostryukova E.S. Comparison Study of Oropharyngeal Microbiota in Case of Bronchial Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Different Severity Levels. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (6): 669–678. Doi: 10.15690/vramn532)

**Анализ в подгруппах**

Сравнение представленности микроорганизмов в орофарингеальной микробиоте проводилось между группами больных с ХОБЛ и БА, группами больных легкой персистирующей БА и ХОБЛ 1–2-й степени тяжести, легкой персистирующей БА и ХОБЛ 3–4-й степени тяжести, тяжелой БА и ХОБЛ 1–2-й степени тяжести, а также тяжелой БА и ХОБЛ 3–4-й степени тяжести, а также внутри групп больных с ХОБЛ и БА: между больными ХОБЛ 1–2-й и 3–4-й степени тяжести, легкой персистирующей и тяжелой БА.

**Методы регистрации исходов**

Для оценки видового состава микробиоты использовалось секвенирование образцов по варибельным регионам V3–V4 последовательности генов 16S рРНК на приборе Illumina MiSeq согласно стандартному протоколу производителя.

**Этическая экспертиза**

Согласно решению Локального этического комитета по этике ГБОУ ВПО «СибГМУ» Минздрава России от 21.03.2011 за № 1927, работа соответствует требованиям этической экспертизы.

**Статистический анализ**

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Фильтрация прочтений секвенатора по качеству и их таксономическая классификация по байесовскому алгоритму произведены с помощью программного обеспечения QIIME [9]; в качестве референса использовалась база данных таксономий Greengenes версии V13.5 [10]. Для статистического анализа представленности бактериальных таксонов в образцах использовался пакет metagenomeSeq языка R [11]. Среднее число соотношенных по таксономии ридов на образец составило  $2151 \pm 245$  (здесь и далее: среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение).

**Результаты**

**Общая оценка таксономического состава орофарингеальной микробиоты у пациентов с ХОБЛ и БА**

В ходе исследования выполнен анализ таксономического состава метагеномных сообществ образцов орофарингеальных мазков больных БА в сравнении с пациентами с ХОБЛ при помощи многомерного шкалирования (Multidimensional Scaling, MDS) по метрике Брея–Кертиса (Bray–Curtis). Расстояние между точками на графике указывает на степень сходства таксономического состава образцов. При сравнении таксономического состава бактериальных сообществ от больных ХОБЛ с образцами группы контроля (образцы БА) существенные различия не выявлены, что подчеркивает схожесть таксономического состава исследуемых групп образцов (рис. 1).

При дальнейшей оценке состава бактериальных сообществ выделены преобладающие таксоны, составляющие в сумме 95% от общего числа бактерий по всем образцам. При сравнении данных анализа таксономического состава орофарингеальной микробиоты больных ХОБЛ и БА, полученных с использованием линейной регрессии, оптимизированной под метагеномные данные (пакет metagenomeSeq статистического языка R), выявлены статистически значимые различия в представленности некоторых отделов и родов микроорганизмов между группами. В частности, образцы орофаринге-

альных мазков больных БА в сравнении с образцами пациентов с ХОБЛ характеризуются достоверно более высоким содержанием микроорганизмов, относящихся к типу *Bacteroidetes* ( $23,26 \pm 11,0$  и  $21,1 \pm 13,1$ , соответственно;  $p = 0,0007$ ; рис. 2).

В то же время в группе образцов больных ХОБЛ по сравнению с группой контроля выявлена более высокая представленность микроорганизмов рода *Veillonella* ( $14,71 \pm 9,3$  и  $11,79 \pm 7,9$ , соответственно;  $p = 0,01$ ; рис. 3) и *Actinomyces* ( $2,84 \pm 3,0$  и  $2,49 \pm 2,4$ , соответственно;  $p = 0,01$ ; рис. 4).

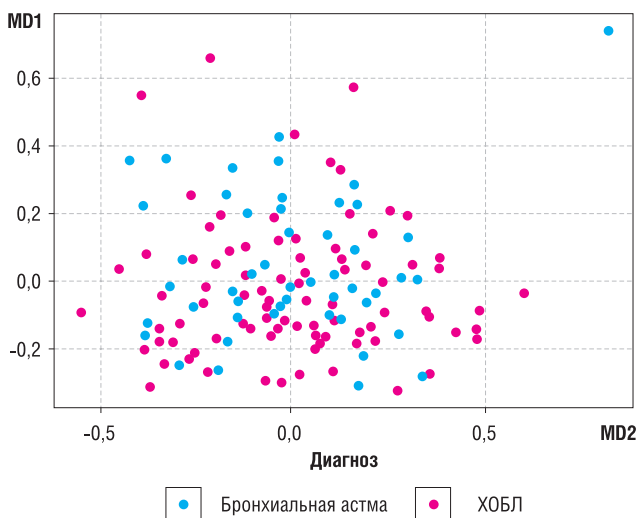


Рис. 1. График сходства таксономического состава метагеномов в образцах, полученных от больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ; n=88) и бронхиальной астмой (БА; n=50)

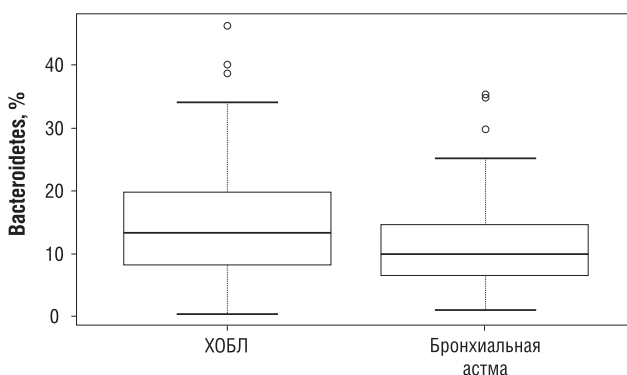


Рис. 2. Представленность типа *Bacteroidetes* в образцах орофарингеальных мазков больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и бронхиальной астмой

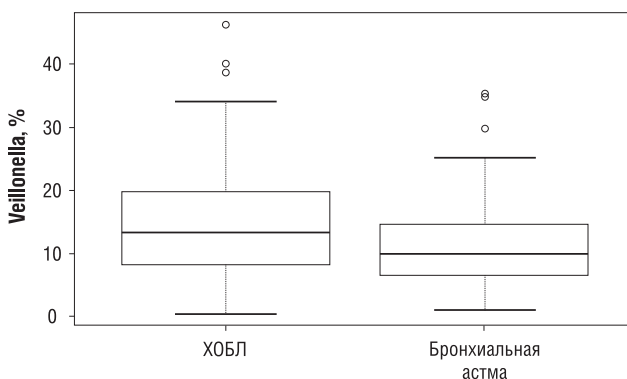


Рис. 3. Представленность рода *Veillonella* в образцах орофарингеальных мазков больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и бронхиальной астмой

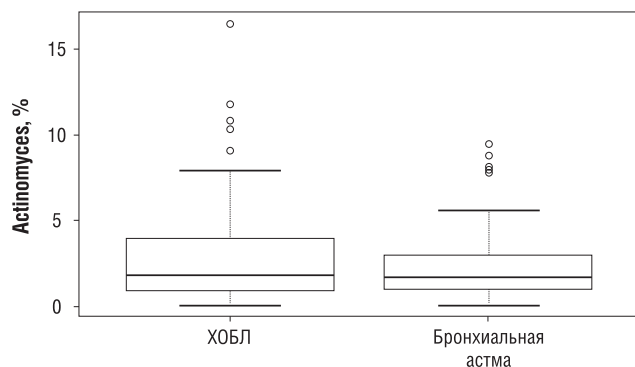


Рис. 4. Представленность рода *Actinomyces* в образцах орофарингеальных мазков больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и бронхиальной астмой

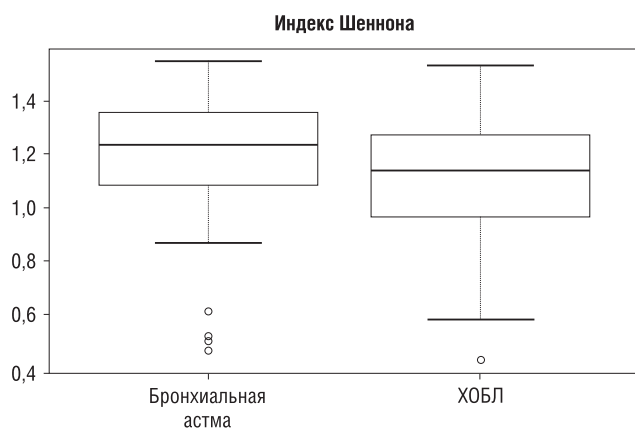


Рис. 5. Таксономическое разнообразие орофарингеальной микробиоты больных бронхиальной астмой (n =50) и хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ; n =88)

Дополнительный анализ данных с помощью приложения metagenomeSeq позволил зарегистрировать ряд статистически значимых различий в таксономическом составе микробиоты между группами орофарингеальных

мазков больных БА и ХОБЛ. Так, образцы больных БА по сравнению с мазками пациентов с ХОБЛ характеризовались более высокой представленностью *Prevotella melaninogenica* и микроорганизмов таких родов, как *Selenomonas*, *Granulicatella* и *Gemella*, но меньшей — *Prevotella nigrescens*, *Haemophilus influenzae* и представителей рода *Aggregatibacter*, *Alcaligenaceae*, *Alloiococcus*, *Catonella*, *Mycoplasma*, *Peptoniphilus*, *Peptostreptococcaceae* и *Sediminibacterium* (табл. 1).

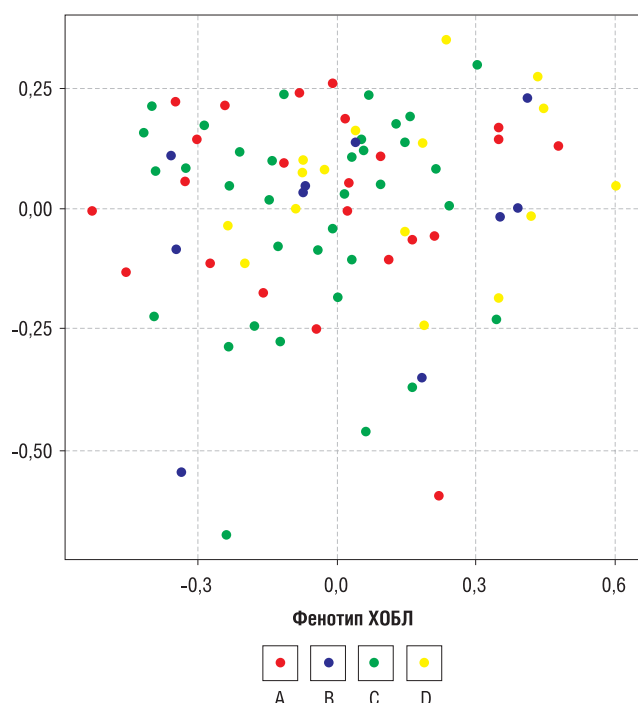
С помощью анализа методом обобщенных линейных моделей выполнена оценка сходства и различий таксономического состава орофарингеальной микробиоты между группами больных легкой персистирующей БА и ХОБЛ 1–2-й степени тяжести, легкой персистирующей БА и ХОБЛ 3–4-й степени тяжести, тяжелой БА и ХОБЛ 1–2-й степени тяжести, а также тяжелой БА и ХОБЛ 3–4-й степени тяжести. В результате анализа обнаружено, что группа образцов больных легкой контролируемой и частично контролируемой астмой в отличие от образцов больных ХОБЛ легкого и среднетяжелого течения характеризуется более высокой представленностью как микроорганизмов рода *Fusobacterium* ( $5,27 \pm 5,4$  и  $3,05 \pm 4,2$ , соответственно;  $p = 0,0007$ ), так и в целом представителей типа *Fusobacter* ( $9,53 \pm 8,4$  и  $6,41 \pm 5,9$ , соответственно;  $p = 0,00028$ ). В то же время в образцах больных ХОБЛ 1–2-й степени была выше представленность бактерий типа *Firmicutes* ( $54,03 \pm 16,1$  и  $46,44 \pm 17,8$ , соответственно;  $p = 0,00039$ ) и рода *Veillonella* ( $14,49 \pm 9,3$  и  $11,25 \pm 6,6$ , соответственно;  $p = 0,0094$ ) по сравнению с мазками пациентов с БА легкой стадии. В свою очередь, у больных тяжелой неконтролируемой БА содержание в орофарингеальных мазках микроорганизмов рода *Fusobacterium* достоверно выше, чем в образцах больных ХОБЛ легкого и среднетяжелого течения ( $5,23 \pm 3$  и  $3,055 \pm 4,2$ , соответственно;  $p = 0,00023$ ). Важно отметить, что не получено статистически значимых различий в составе орофарингеальной микробиоты у больных тяжелой неконтролируемой БА и ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения ( $p > 0,05$ ).

При проведении оценки различий таксономического разнообразия (альфа-разнообразия) орофарингеаль-

Таблица 1. Род микроорганизмов, представленность которых при анализе metagenomeSeq статистически значимо различается в образцах орофарингеальных мазков больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и бронхиальной астмой (БА)

Операционная таксономическая единица	Коэффициент наклона прямой*	P-значение**	Состав метагенома (M±m) в образцах больных БА (n =50), %	Состав метагенома (M±m) в образцах больных ХОБЛ (n =88), %
<i>Alcaligenaceae</i>	-4,799	0,027	0,065±0,466	0,466±0
<i>Alloiococcus</i>	-1,728	0,0002	0,029±0,19	0,19±0,005
<i>Peptostreptococcaceae</i>	-1,586	0,00016	0,022±0,081	0,081±0,004
<i>Sediminibacterium</i>	-1,024	0,035	0,034±0,085	0,085±0,013
<i>Peptoniphilus</i>	-0,898	0,032	0,057±0,253	0,253±0,023
<i>Mycoplasma</i>	-0,747	0,00013	0,053±0,134	0,134±0,027
<i>Catonella</i>	-0,458	0,031	0,104±0,129	0,129±0,068
<i>Aggregatibacter</i>	-0,449	0,0084	0,11±0,178	0,178±0,072
<i>Prevotella nigrescens</i>	-0,343	0,0006	0,207±0,636	0,636±0,152
<i>Selenomonas</i>	-0,238	0,004	0,461±0,392	0,392±0,37
<i>Granulicatella</i>	-0,096	0,0075	1,976±1,555	1,555±1,873
<i>Prevotella melaninogenica</i>	-0,041	0,0038	11,014±7,879	7,879±10,929
<i>Gemella</i>	0,186	0,00013	0,89±0,706	0,706±1,11
<i>Haemophilus influenzae</i>	0,352	0,00882	0,158±0,574	0,574±0,222

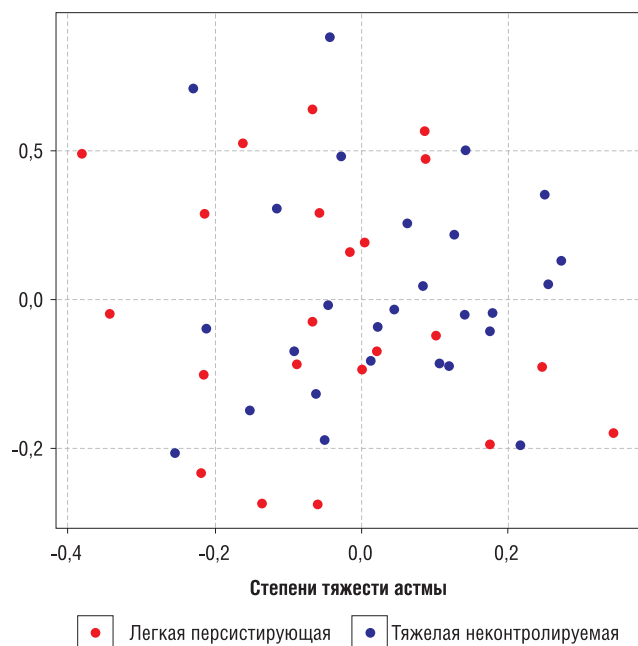
Примечание. Здесь и в табл. 4, 5: \* — чем выше значение коэффициента наклона прямой по модулю, тем сильнее выявленное влияние (значительное различие); \*\* представлены P-значения (p-value) с поправкой на множественное сравнение по формуле Бонферрони.



**Рис. 6.** График сходства таксономического состава метагеномов больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ; n =88)

*Примечание.* Тип А — пациенты с ХОБЛ 1–2-й степени тяжести с невыраженными симптомами и редкими обострениями, тип В — больные ХОБЛ 1–2-й степени тяжести с выраженными симптомами и редкими обострениями, тип С — больные ХОБЛ 3–4-й степени тяжести с невыраженными симптомами и частыми обострениями, тип D — больные ХОБЛ 3–4-й степени тяжести с выраженными симптомами и частыми обострениями.

ных микробиотических сообществ больных БА и ХОБЛ на основании сравнения значений индекса разнообразия Шеннона не выявлены статистически значимые различия в родовой представленности микроорганизмов, составляющих орофарингеальную микробиоту пациентов.



**Рис. 7.** График сходства таксономического состава метагеномов больных бронхиальной астмой (n =50)

**Таблица 2.** Преобладающий род микроорганизмов (в сумме 95% от метагенома во всех образцах орофарингеальных мазков больных хронической обструктивной болезнью легких; n =88)

Род микроорганизмов	Состав метагенома*, %
<i>Streptococcus</i>	31,12±16,86
<i>Prevotella</i>	18,16±10,2
<i>Veillonella</i>	14,71±9,24
<i>Fusobacterium</i>	3,37±3,79
<i>Neisseria</i>	3,29±7,26
<i>Leptotrichia</i>	3,1±3,54
<i>Haemophilus</i>	3,01±4,79
<i>Actinomyces</i>	2,83±2,97
<i>Rothia</i>	2,26±1,82
<i>Porphyromonas</i>	2,12±4,15
<i>Granulicatella</i>	1,87±1,91
<i>Actinobacillus</i>	1,65±5,25
<i>Clostridiales</i>	1,5±1,69
<i>Gemella</i>	1,11±1,16
<i>Campylobacter</i>	1,04±1,37
<i>Gemellaceae</i>	0,77±1,1
<i>Megasphaera</i>	0,64±0,74
<i>Atopobium</i>	0,6±0,81
<i>Coprococcus</i>	0,59±0,58
<i>Capnocytophaga</i>	0,47±0,98
<i>Neisseriaceae</i>	0,46±1,15
<i>Selenomonas</i>	0,39±0,38

*Примечание.* Здесь и в табл.3: \* — данные, представленные в виде M±m, означают среднее значение±стандартное отклонение.

**Таблица 3.** Преобладающий род микроорганизмов (в сумме 95% от метагенома во всех образцах орофарингеальных мазков больных бронхиальной астмой; n =50)

Род микроорганизмов	Состав метагенома*, %
<i>Streptococcus</i>	28,71±15,51
<i>Prevotella</i>	19,26±8,5
<i>Veillonella</i>	11,79±7,91
<i>Fusobacterium</i>	5,25±4,93
<i>Neisseria</i>	4,54±7,31
<i>Leptotrichia</i>	3,3±5,58
<i>Porphyromonas</i>	2,85±4
<i>Haemophilus</i>	2,83±3,54
<i>Actinomyces</i>	2,48±2,39
<i>Rothia</i>	2,04±1,87
<i>Actinobacillus</i>	2±11,88
<i>Granulicatella</i>	1,97±1,55
<i>Clostridiales</i>	1,58±1,27
<i>Campylobacter</i>	1,23±1,04
<i>Gemella</i>	0,89±0,7
<i>Megasphaera</i>	0,65±0,85
<i>Gemellaceae</i>	0,59±0,67
<i>Capnocytophaga</i>	0,54±1,21
<i>Neisseriaceae</i>	0,53±1,07
<i>Coprococcus</i>	0,52±0,43
<i>Atopobium</i>	0,49±0,47
<i>Selenomonas</i>	0,47±0,39

В то же время при сравнении показателей таксономического разнообразия орофарингеальной микробиоты у больных БА и ХОБЛ на уровне типов выявлено, что значение среднего индекса Шеннона для группы образцов больных ХОБЛ несколько ниже, чем значение индекса альфа-разнообразия, рассчитанного для группы образцов больных БА ( $1,10 \pm 0,24$  и  $1,18 \pm 0,25$ , соответственно,  $p = 0,031$ ; рис. 5).

**Оценка таксономического состава орофарингеальной микробиоты внутри групп пациентов с ХОБЛ и БА**

С использованием многомерного шкалирования при оценке таксономического состава микробиотических сообществ внутри групп пациентов с ХОБЛ (рис. 6) и БА (рис. 7) с различной степенью тяжести течения заболевания значимых различий не обнаружено.

Далее были выделены наиболее представленные таксоны метагеномных сообществ внутри групп больных БА и ХОБЛ (табл. 2, 3). Наиболее представленными родами ( $\geq 10\%$  в структуре идентифицированных метагеномов внутри групп) являются *Streptococcus*, *Prevotella* и *Veillonella*. Среди преобладающих микроорганизмов, состав-

ляющих от 2 до 10% микробиоты, в образцах больных ХОБЛ следует выделить роды *Fusobacterium*, *Neisseria*, *Leptotrichia*, *Haemophilus*, *Actinomyces*, *Rothia* и *Porphyromonas* (см. табл. 2), а в образцах пациентов с БА — *Fusobacterium*, *Neisseria*, *Leptotrichia*, *Porphyromonas*, *Haemophilus*, *Actinomyces*, *Rothia* и *Actinobacillus* (см. табл. 3).

Исследование особенностей состава орофарингеальной микробиоты внутри группы больных БА в зависимости от тяжести заболевания с помощью пакета metagenomeSeq обнаружило, что в сравнении с легкой персистирующей (контролируемой и частично контролируемой) астмой образцы орофарингеальных мазков пациентов с тяжелой БА на фоне более низкого содержания бактерий рода *Prevotella* характеризуются более выраженным присутствием *Bifidobacterium longum*, *Prevotella nanceiensis*, *Neisseria cinerea*, *Aggregatibacter segnis*, а также представителей родов бактерий *Odoribacter*, *Alloiococcus*, *Lactobacillus*, *Megasphaera*, *Parvimonas*, *Moraxellaceae* и *Sneathia* (табл. 4).

Результаты анализа с использованием пакета приложений metagenomeSeq выявили, что орофарингеальной микробиоте больных ХОБЛ 1–2-й степени тяжести в

**Таблица 4.** Микроорганизмы, представленность которых при анализе metagenomeSeq статистически значимо различается в образцах орофарингеальных мазков больных легкой контролируемой/частично контролируемой и тяжелой неконтролируемой бронхиальной астмой (БА)

Операционная таксономическая единица	Коэффициент наклона прямой*	P-значение**	Состав метагенома (M±m) в образцах больных легкой БА (n =23), %	Состав метагенома (M±m) в образцах больных тяжелой БА (n =27), %
<i>Odoribacter</i>	-3,823	0,00893	0,075±0,276	0,276±0,002
<i>Alloiococcus</i>	-2,429	0,00347	0,058±0,279	0,279±0,005
<i>Bifidobacterium longum</i>	-2,357	0,00043	0,067±0,197	0,197±0,006
<i>Lactobacillus</i>	-1,71	0,0022	0,06±0,201	0,201±0,011
<i>Prevotella nanceiensis</i>	-0,406	0,00063	0,504±1,509	1,509±0,356
<i>Megasphaera</i>	-0,259	0,03213	0,731±0,815	0,815±0,583
<i>Neisseria cinerea</i>	-0,241	0,00127	1,292±2,288	2,288±1,056
<i>Prevotella</i>	-0,12	0,00016	5,964±4,546	4,546±5,301
<i>Parvimonas</i>	0,488	0,00745	0,187±0,389	0,389±0,302
<i>Aggregatibacter segnis</i>	1,225	0,01546	0,021±0,043	0,043±0,076
<i>Sneathia</i>	1,825	0,00033	0,013±0,046	0,046±0,082
<i>Moraxellaceae</i>	4,393	0,00069	0,001±0,009	0,009±0,166

**Таблица 5.** Микроорганизмы, представленность которых при анализе metagenomeSeq статистически значимо различается в образцах орофарингеальных мазков больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) 1–2-й и 3–4-й степени тяжести

Операционная таксономическая единица	Коэффициент наклона прямой*	P-значение**	Состав метагенома (M±m) в образцах больных ХОБЛ 1–2-й степени (n =57), %	Состав метагенома (M±m) в образцах больных ХОБЛ 3–4-й степени (n =31), %
<i>Brevibacterium aureum</i>	-3,442	0,04849	0,23±0	0,042±0,23
<i>Scardovia</i>	-1,607	0,01633	0,086±0,005	0,028±0,086
<i>Lachnospiraceae</i>	-0,381	0,00048	0,398±0,256	0,385±0,398
<i>Veillonellaceae</i>	-0,304	0,04597	0,605±0,242	0,328±0,605
<i>Coprococcus</i>	-0,245	0,00344	0,779±0,531	0,708±0,779
<i>Prevotella melaninogenica</i>	0,054	0,01189	9,325±11,122	10,575±9,325
<i>Gemellaceae</i>	0,245	0,00102	0,9±0,835	0,654±0,9
<i>Haemophilus</i>	0,329	0,0132	1,063±0,383	0,255±1,063
<i>Moryella</i>	0,628	0,00878	0,121±0,13	0,071±0,121
<i>Dialister</i>	0,643	0,00023	0,194±0,196	0,11±0,194
<i>Paludibacter</i>	0,853	0,01817	0,131±0,078	0,037±0,131
<i>Leptotrichiaceae</i>	1,035	0,00551	0,092±0,072	0,024±0,092

сравнении с 3–4-й степенью тяжести на фоне снижения представленности *P. melaninogenica* свойственно более высокое содержание *Brevibacterium aureum* и представителей рода *Scardovia*, *Lachnospiraceae*, *Veillonellaceae*, *Coprococcus*, *Gemellaceae*, *Haemophilus*, *Moryella*, *Dialister*, *Paludibacter* и *Leptotrichiaceae* (табл. 5).

## Обсуждение

### Резюме основного результата исследования

При внутригрупповом сравнении микробиотического ландшафта орофарингеальной области как у больных с БА, так и у пациентов с ХОБЛ отмечается изменение состава микробиоты в зависимости от тяжести заболевания.

### Обсуждение основного результата исследования

Орофарингеальная микробиота больных с легкой персистирующей (контролируемой и частично контролируемой) БА в сравнении с пациентами, страдающими тяжелой астмой, характеризуется более выраженной представленностью бактерий рода *Prevotella*. Для большинства микроорганизмов этого рода характерна противовоспалительная активность в случае БА, которая заключается, в частности, в индукции синтеза интерлейкина 10 Т клетками [12]. Однако при тяжелой БА на фоне снижения общей представленности рода *Prevotella* отмечается более выраженное присутствие вида *P. nanceiensis*. Данная бактерия относится к условно-патогенным микроорганизмам, способным вызывать инфекции дыхательных путей, мочеполовой системы и бактериемию [13]. Установлено, что легочное воспаление, вызываемое *P. nanceiensis*, опосредуется преимущественно активацией Toll-подобного рецептора 2 (TLR2) [14], а чрезмерная активация TLR2 приводит к развитию тахифилаксии к препаратам бета-2 агонистов адреналиновых рецепторов, применяемых для лечения БА [15], и поддержанию нейтрофильной компоненты легочного воспаления. Основываясь на этом, можно предположить, что *P. nanceiensis* может служить фактором риска, обуславливающим рост резистентности к бронхолитикам у больных БА, приближая фенотип пациентов к таковому при нейтрофильной астме.

По данным метаанализа, бактерия *Bifidobacterium longum* ранее обнаруживалась в микробиоте кишечника у детей с аллергической симптоматикой, являясь ее значимым компонентом [16]. Нами было показано присутствие этой бактерии в орофарингеальном мазке у больных с тяжелой БА, что отражало сложную взаимосвязь биотопов человеческого организма и комплексного влияния состояния здоровья на микрофлору.

*Neisseria cinerea* присутствует в микробиоте орофарингеальной области как у здоровых людей, так и больных БА [17]. Этот микроорганизм считается патогенным, который, однако, в случае иммуносупрессии способен вызывать образование деструктивных полостей легочной паренхимы [18].

Известно, что при снижении числа бактерий рода *Prevotella* в легочной ткани происходит рост представленности *Parvimonas* [19]. Сходная закономерность была выявлена и нами на примере микробиоты орофарингеальной области. Бактерии рода *Parvimonas* являются условно-патогенными микроорганизмами, играющими роль в развитии агрессивного периодонтита [20]. *Aggregatibacter segnis* также относится к условно-патогенным микроорганизмам, вызывающим периодонтит [21]. Связь *Aggregatibacter segnis* с БА установлена впервые, однако известно, что периодонтопатогенные бактерии играют роль

в патогенезе ХОБЛ [22], что также показано нами далее. Интересен факт более выраженного присутствия этого микроорганизма у больных с тяжелой БА по сравнению с легкой формой, что несколько приближает состав микробиоты тяжелой БА к ХОБЛ. Сходная закономерность наблюдается и для рода периодонтопатогенных бактерий *Megasphaera* [23].

Кроме того, известно о росте *Lactobacillus*, которые более представлены у больных с тяжелой БА, а также в микробиоте легочной ткани, взятой во время трансплантации легких у больных крайне тяжелой ХОБЛ [24]. И, наконец, стоит отметить более выраженное присутствие бактерий рода *Alloiococcus* у больных тяжелой БА по сравнению с легкой. Нами показана достоверно более высокая представленность этих бактерий у больных ХОБЛ по сравнению с совокупной выборкой больных БА. Выявленное нами увеличение обсемененности орофарингеальной области бактериями этих родов у больных тяжелой неконтролируемой БА, вероятно, может быть рассмотрено в качестве одного из факторов, сближающих фенотипически сходные варианты тяжелого течения БА и ХОБЛ у ряда пациентов.

Обсеменение дыхательных путей микроорганизмами семейства *Moraxellaceae* у новорожденных ассоциировано с последующим развитием хронического легочного воспаления и бронхообструктивного синдрома [25], которые являются предикторами развития БА. Нами было обнаружено повышение представленности этих бактерий у больных с тяжелой БА по сравнению с больными с легкой степенью заболевания, что говорит об их возможном влиянии на патогенез и течение астмы.

Кроме того, нами обнаружено более выраженное присутствие в микробиоте больных тяжелой БА представителей бактериальных родов *Odoribacter* и *Sneathia*, для которых еще не было показано ассоциации с этой болезнью.

Исследование состава бактериального ландшафта орофарингеальной микробиоты у пациентов с различными степенями тяжести ХОБЛ показало противоположную картину. Так, у больных ХОБЛ 3–4-й степени тяжести по сравнению пациентами с 1–2-й степенью отмечается снижение представленности *P. melaninogenica*. Кроме того, в орофарингеальной микробиоте у больных ХОБЛ 1–2-й степени тяжести отмечается более выраженное присутствие таких родов и семейств условно-патогенных микроорганизмов, как *Haemophilus*, *Leptotrichiaceae*, *Moryella*, *Lachnospiraceae*, и периодонтопатогенных бактерий семейств и родов *Scardovia* и *Veillonellaceae*. Также интересно более выраженное присутствие *Brevibacterium aureum* у больных ХОБЛ 1–2-й степени тяжести. Данная бактерия участвует в расщеплении цифлутрина — пестицида пиретроидного ряда [26]. Известно, что использование пестицидов увеличивает риск развития БА и ХОБЛ [27]. Учитывая более выраженную представленность условно-патогенных микроорганизмов при ХОБЛ 1–2-й степени по сравнению с 3–4-й степенью тяжести можно предположить, что в отличие от БА бактерии являются гораздо более значимым триггером, запускающим легочное воспаление, которое приводит к прогрессированию ХОБЛ впоследствии.

В целом, орофарингеальная микробиота больных БА и ХОБЛ характеризуется схожестью таксономического (качественного) состава как при межгрупповом, так и при внутригрупповом сравнении таксономического состава исследуемых групп образцов больных легкой персистирующей и тяжелой БА, а также мазков пациентов со среднетяжелой ХОБЛ в сравнении с орофарингеальными мазками больных ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого тече-

ния. При сравнении данных анализа таксономического состава орофарингеальной микробиоты больных ХОБЛ и БА выявлен ряд различий в представленности некоторых микроорганизмов.

Так, орофарингальная микрофлора больных БА характеризуется более высокой представленностью бактерий, относящихся к типу *Bacteroidetes*, которые являются значимым компонентом микробиоты здоровых индивидов [5]. Более выраженное присутствие *P. melaninogenica* является благоприятным фактором, благодаря способности данной бактерии несколько снижать активность воспаления в дыхательных путях, в частности путем модулирования иммунного ответа, а также препятствовать колонизации патогенных протеобактерий [14].

Уменьшение количества представителей рода *Granulicatella* и *Gemella* у больных с ХОБЛ, вероятно, отражает большую распространенность табакокурения у данной группы по сравнению с больными БА (индекс курения: среднее (БА) = 2,647, среднее (ХОБЛ) = 58,0412;  $p < 0,05$ ), поскольку для данных бактерий показано снижение представленности в микробиоме ротовой полости в популяции курильщиков [28].

При анализе микробиоты пациентов отмечается выраженное присутствие *Haemophilus influenzae* в орофарингеальной микробиоте больных ХОБЛ в сравнении с пациентами, страдающими БА. *Haemophilus influenzae* — одна из самых частых находок у больных ХОБЛ как в обострении, так и вне его. Значимость и роль этой бактерии в патогенезе и течении ХОБЛ известна уже достаточно давно [29]. Носительство *Haemophilus influenzae* ассоциировано с более выраженным воспалением, высокой вероятностью развития обострений болезни и снижением легочного объема [30]. В состав рода *Mycoplasma*, который также повышен у больных ХОБЛ, входит возбудитель атипичных пневмоний — *M. pneumoniae*, также отмечается роль микоплазм в развитии венерических заболеваний. Роль микоплазменной инфекции в патогенезе стабильной ХОБЛ и ее осложнений остается дискуссионной. В орофарингеальной микробиоте больных ХОБЛ, а также в микробиоте здорового легкого отмечается более выраженное присутствие представителей рода *Actinomyces*, [31]. Согласно имеющимся данным, актиномицеты, в сравнении с другими легочными патогенами, такими как *Haemophilus*, *Veillonella* и *Moraxella*, оказывают гораздо меньшую стимуляцию легочных дендритных клеток на синтез провоспалительных цитокинов, таких как IL 12p70 и IL 23 [31].

Нами также было найдено преобладание у больных ХОБЛ, в сравнении с пациентами с БА, операционной таксономической единицы бактерий семейства *Alcaligenaceae*. В это семейство входят как непатогенные рода бактерий, населяющие природные биотопы, так и патогенные для человека микроорганизмы, относящиеся к роду *Bordetella*. Представители этого рода — патогены, вызывающие коклюш и инфекционный бронхит. Отмечается их роль в развитии обострений хронического бронхита [32].

Орофарингальная флора больных ХОБЛ характеризовалась более выраженным, в сравнении с группой БА, присутствием нескольких родов бактерий, вовлеченных в патогенез воспалительных заболеваний тканей зуба и, вероятно, играющих роль в течении ХОБЛ. К таким бактериям можно отнести представителей рода *Aggregatibacter*, *Veillonella*, *Catonella*, семейства *Peptostreptococcaceae* и бактерий вида *P. nigrescens* [33, 34].

На настоящий момент появляется информация о влиянии микробиоты ротовой полости на тяжесть ХОБЛ. Об-

суждается возможность существования в ротовой полости пула условно-патогенных бактерий, которые могут иметь значение в патогенезе респираторных расстройств [35]. В ряде исследований отмечается связь между курением, наличием ХОБЛ и периодонтита. При персистирующем воспалении в случае периодонтита бактерии могут аспирироваться, вызывая воспаление нижних дыхательных путей и обострение заболевания. При лечении периодонтита у больных ХОБЛ снижается частота обострений по сравнению с нелеченным контролем, что, вероятно, подтверждает влияние патогенов ротовой полости на течение этой болезни [36]. Кроме того, более выраженное присутствие в орофарингеальной микробиоте больных ХОБЛ бактерий, наблюдаемых при периодонтите, может быть объяснено тем, что курение является фактором риска не только для ХОБЛ, но и для развития периодонтита [37]. Интересно, что представленность бактерий рода *Selemonomas*, также участвующих в патогенезе периодонтита, у больных БА оказалась более высокой, чем у пациентов с ХОБЛ. Для этих бактерий, в отличие от вышеописанных, не показана ассоциация с курением: представленность данного патогена одинакова у курящих и некурящих больных с периодонтитом [38].

Следует также отметить преобладание у больных с ХОБЛ, по сравнению с пациентами, страдающими от БА, нескольких родов микроорганизмов, для которых ранее не показана связь с ХОБЛ и БА. Бактерии рода *Alloiooccus*, более представленные у больных с ХОБЛ, являются компонентами нормальной микробиоты, колонизирующими назофарингеальный регион, начиная с младенческого возраста. Эти микроорганизмы условно-патогенны, отмечается их роль в развитии среднего отита у детей [39].

Представители рода *Peptoniphilus* — анаэробные бактерии, населяющие в норме кожные покровы, половые органы и кишечник человека. Имеются данные об участии этих микроорганизмов в патогенезе различных гнойных инфекций, в том числе абсцессов [40] и хронического риносинусита [41].

Бактерии рода *Sediminibacterium* населяют природные и антропогенные биоценозы: эвтрофные озера, сточные воды, влажные почвы, а также систему городского водопровода, участвуя в процессе коррозии водопроводных труб посредством окисления ионов железа [42]. Их возможная роль в патогенезе ХОБЛ может сводиться к снижению эффективности реакции Фентона путем окисления ионов железа и, как следствие, улучшению защиты колоний патогенных микроорганизмов от окислительного стресса, индуцированного иммунной системой человека.

В свою очередь, не выявлены статистически значимые различия в составе орофарингеальной микробиоты у больных тяжелой неконтролируемой БА и ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения.

## Заключение

Таким образом, в таксономическом составе орофарингеальной микробиоты при ХОБЛ и БА были выявлены различия в представленности микроорганизмов на уровне семейств, родов и видов. В то же время различия в бактериальной композиции орофарингеальной микробиоты у больных с тяжелыми формами ХОБЛ и БА не выявлены, что позволяет высказать предположение о сходстве состояния бронхолегочной системы и сближении характера активности иммунной системы при тяжелых стадиях развития данных заболеваний. Такое сходство микро-



биотического ландшафта может говорить о возможном родстве этих двух болезней, рассматриваемом в рамках так называемой голландской гипотезы, однако более рациональным объяснением может послужить сходство влияния тяжелых патологических процессов на состояние дыхательной и иммунной системы.

### Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития на-

учно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (Соглашение № 14.604.21.0075, уникальный идентификатор RFMEFI60414X0075) с использованием оборудования Междисциплинарного центра коллективного пользования Казанского федерального университета, который поддерживается Минобрнауки России (ID RFMEFI59414X0003).

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

- European Respiratory Society. European Lung White Book: Huddersfield, European Respiratory Society Journals. Ltd. 2003.
- Burgel PR, Paillasseur JL, Roche N. Identification of clinical phenotypes using cluster analyses in COPD patients with multiple comorbidities. *Biomed Res Int.* 2014;2014:420134. doi: 10.1155/2014/420134
- Céniat MC, Matzaraki V, Tigchelaar EF, Zhernakova A. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1842(10):1981–1992. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.05.023
- Spasova DS, Charles D. Rapidly expanding knowledge on the role of the gut microbiome in health and disease. *Surh Front Immunol.* 2014;5:318. doi: 10.3389/fimmu.2014.00318.
- Park H, Shin JW, Park SG, Kim W. Microbial communities in the upper respiratory tract of patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One.* 2014;9(10):e109710. doi: 10.1371/journal.pone.0109710.
- Hamady M, Knight R. Microbial community profiling for human microbiome projects: Tools, techniques, and challenges. *Genome Res.* 2009;19(7):1141–1152. doi: 10.1101/gr.085464.108. Epub 2009 Apr 21.
- Sze MA, Hogg JC and Sin DD. Bacterial microbiome of lungs in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2014;9:229–238. doi: 10.2147/COPD.S38932.
- Кунцицина ЮЛ, Шмелев ЕИ. Противовоспалительная терапия больных при хронической обструктивной болезни легких. *Пульмонология.* 2003;2:111–116.
- Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JI, Huttley GA, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone CA, McDonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters WA, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods.* 2010;7(5):335–6. doi: 10.1038/nmeth.f.303.
- DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N. Greengenes, a chimera checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72:5069–6002.
- Paulson JN, Pop M, Bravo HC. MetagenomeSeq: Statistical analysis for sparse high-throughput sequencing. Bioconductor package. URL: <http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/metagenomeSeq.html> (Available: 22.11.2015).
- Hosoki K, Nakamura A, Kainuma K, Sugimoto M, Nagao M, Hiraguchi Y, Tanida H, Tokuda R, Wada H, Nobori T, Suga S, Fujisawa T. Differential activation of eosinophils by bacteria associated with asthma. *Int Arch Allergy Immunol.* 2013;161(Suppl.2):16–22. doi: 10.1159/000350338
- Alauzet C, Mory F, Carlier JP, Marchand H, Jumas-Bilak E, Lozniewski A. *Prevotella nanceiensis* sp. nov., isolated from human clinical samples. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2007;57(Pt.10):2216–2220. doi: 10.1099/ijls.0.65173-0.
- Larsen JM, Musavian HS, Butt TM, Ingvorsen C, Thysen AH, Brix S. Chronic obstructive pulmonary disease and asthma associated *Proteobacteria*, but not commensal *Prevotella* spp., promote toll like receptor 2 independent lung inflammation and pathology. *Immunology.* 2015;144(2):333–42. doi: 10.1111/imm.12376.
- Alkhoury H, Rumzhum NN, Rahman MM, Fitz Patrick M, de Pedro M, Oliver BG, Bourke JE, Ammit AJ. TLR2 activation causes tachyphylaxis to  $\beta$ 2-agonists in vitro and ex vivo: modelling bacterial exacerbation. *Allergy.* 2014;69(9):1215–22. doi: 10.1111/all.12449.
- Melli LC, do Carmo-Rodrigues MS, Araújo-Filho HB, Solé D, de Moraes MB. Intestinal microbiota and allergic diseases: A systematic review. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2015. doi: 10.1016/j.aller.2015.01.013 [Epub ahead of print].
- Ковалева ВВ, Андреева ЗМ, Федосеева ВН, Читаева ВГ. Выделение и идентификация нейссерий при бронхиальной астме. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1975;8:59–62.
- Kamar N, Chabbert V, Ribes D, Chabanon G, Faguer S, Mari A, Guitard J, Durand D, Rostaing L. Neisseria cinerea induced pulmonary cavitation in a renal transplant patient. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22(7):2099–2100.
- Charlson ES, Chen J, Custers-Allen R, Bittinger K, Li H, Sinha R, Hwang J, Bushman FD, Collman RG. Disordered microbial communities in the upper respiratory tract of cigarette smokers. *PLoS One.* 2010;5(12):e15216. doi: 10.1371/journal.pone.0015216.
- Oettinger-Barak O, Sela MN, Sprecher H, Machtei EE. Clinical and microbiological characterization of localized aggressive periodontitis: a cohort study. *Aust Dent J.* 2014;59(2):165–171. doi: 10.1111/adj.12165.
- Nagasawa Y, Iio K, Fukuda S, Date Y, Iwatani H, Yamamoto R, Horii A, Inohara H, Imai E, Nakanishi T, Ohno H, Rakugi H, Isaka Y. Periodontal disease bacteria specific to tonsil in IgA nephropathy patients predicts the remission by the treatment. *PLoS One.* 2014;9(1):e81636. doi: 10.1371/journal.pone.0081636.
- Tan L, Wang H, Li C, Pan Y. 16S rDNA based metagenomic analysis of dental plaque and lung bacteria in patients with severe acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *J Periodontol Res.* 2014;49(6):760–769. doi: 10.1111/jre.12159.
- Kumar PS, Griffen AL, Moeschberger ML, Leys EJ. Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. *J Clin Microbiol.* 2005;43(8):3944–3955.
- Sze MA, Dimitriu PA, Suzuki M, McDonough JE, Campbell JD, Brothers JF, Erb-Downward JR, Huffnagle GB, Hayashi S, Elliott WM, Cooper J, Sin DD, Lenburg ME, Spira A, Mohn WW, Hogg JC. Host Response to the Lung Microbiome in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;192(4):438–445. doi: 10.1164/rccm.201502-0223OC.
- De Schutter I, Dreesman A, Soetens O, De Waele M, Crockaert F, Verhaegen J, Piérard D, Malfroot A. In young children, persistent wheezing is associated with bronchial bacterial infection: a retrospective analysis. *BMC Pediatr.* 2012;12:83. doi: 10.1186/1471-2431-12-83.
- Chen S, Dong YH, Chang C, Deng Y, Zhang XF, Zhong G, Song H, Hu M, Zhang LH. Characterization of a novel glyofluthrin degrading bacterial strain *Brevibacterium aureum* and its biochemical degradation pathway. *Bioresour Technol.* 2013;132:16–23. doi: 10.1016/j.biortech.2013.01.002.
- Mamane A, Baldi I, Tessier JF, Raherison C, Bouvier G. Occupational exposure to pesticides and respiratory health. *Eur Respir Rev.* 2015;24(136):306–319. doi: 10.1183/16000617.00006014.
- Thomas AM, Gleber-Netto FO, Fernandes GR, Amorim M, Barbosa L.F, Francisco AL, de Andrade AG, Setubal JC, Kowalski LP, Nunes DN, Dias-Neto E. Alcohol and tobacco consumption affects bacterial richness in oral cavity mucosa biofilms. *BMC Microbiol.* 2014;14:250. doi: 10.1186/s12866-014-0250-2.

29. Finney LJ, Ritchie A, Pollard E, Johnston SL, Mallia P. Lower airway colonization and inflammatory response in COPD: a focus on *Haemophilus influenzae*. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2014;9:1119–1132. doi: 10.2147/COPD.S54477.
30. Tufvesson E, Bjerner L, Ekberg M. Patients with chronic obstructive pulmonary disease and chronically colonized with *Haemophilus influenzae* during stable disease phase have increased airway inflammation. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2015;10:881–889. doi: 10.2147/COPD.S78748.
31. Larsen JM, Steen-Jensen DB, Laursen JM, Søndergaard JN, Musavian HS, Butt TM, Brix S. Divergent pro-inflammatory profile of human dendritic cells in response to commensal and pathogenic bacteria associated with the airway microbiota. *PLoS One*. 2012;7(2):e31976. doi: 10.1371/journal.pone.0031976.
32. Bonhoeffer J, Bär G, Riffelmann M, Soler M, Heininger U. The role of *Bordetella* infections in patients with acute exacerbation of chronic bronchitis. *Infection*. 2005;33(1):13–17.
33. Li Y, He J, He Z, Zhou Y, Yuan M, Xu X, Sun F, Liu C, Li J, Xie W, Deng Y, Qin Y, VanNostrand JD, Xiao L, Wu L, Zhou J, Shi W, Zhou X. Phylogenetic and functional gene structure shifts of the oral microbiomes in periodontitis patients. *ISME J*. 2014;8(9):1879–1891. doi: 10.1038/ismej.2014.28.
34. Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to the subgingival microbiota. *J Clin Periodontol*. 2001;28(5):377–388.
35. Tan L, Wang H, Li C, Pan Y. 16S rDNA-based metagenomic analysis of dental plaque and lung bacteria in patients with severe acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *J Periodontol Res*. 2014;49(6):760–769. doi: 10.1111/jre.12159.
36. Kucukcoskun M, Baser U, Oztekin G, Kiyan E, Yalcin F. Initial periodontal treatment for prevention of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *J Periodontol*. 2013;84(7):863–870. doi: 10.1902/jop.2012.120399.
37. Hyman JJ, Reid BC. Cigarette smoking, periodontal disease: and chronic obstructive pulmonary disease. *J Periodontol*. 2004;75:9–15.
38. Medikeri RS, Lele SV, Jain PM, Mali P, Medikeri MR. Quantification of *Selenomonas sputigena* in Chronic Periodontitis in Smokers Using 16S rDNA Based PCR Analysis. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(4):ZC13–17. doi: 10.7860/JCDR/2015/12550.5782.
39. Ashhurst-Smith C, Hall ST, Burns CJ, Stuart J, Blackwell CC. In vitro inflammatory responses elicited by isolates of *Alloiooccus otitidis* obtained from children with otitis media with effusion. *Innate Immun*. 2014;20(3):320–326. doi: 10.1177/1753425913492181.
40. Ulger-Toprak N, Lawson PA, Summanen P, O'Neal L, Finegold SM. *Peptoniphilus duerdenii* sp. nov. and *Peptoniphilus koenoenienae* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2012;62(Pt.10):2336–2341. doi: 10.1099/ijs.0.031997-0.
41. Jung MY, Cho JH, Shin Y, Paek J, Park IS, Kim JS, Paek J, Park IS, Kim JS, Kim W, Ma JY, Park SJ, Chang YH. *Anaerobe*. 2014;30:30–34. doi: 10.1016/j.anaerobe.2014.07.005.
42. Wang H, Hu C, Hu X, Yang M, Qu J. Water Res. Effects of disinfectant and biofilm on the corrosion of cast iron pipes in a reclaimed water distribution system. 2012;46(4):1070–1078. doi: 10.1016/j.watres.2011.12.001.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Огородова Людмила Михайловна**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, заведующая кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, заместитель министра науки и образования Российской Федерации  
**Адрес:** 634001, Томск, Московский тракт, д. 2, **e-mail:** lm-ogorodova@mail.ru

**Федосенко Сергей Вячеславович**, кандидат медицинских наук, докторант кафедры госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России  
**Адрес:** 634001, Томск, Московский тракт, д. 2, **e-mail:** s-fedosenko@mail.ru

**Попенко Анна Сергеевна**, лаборант лаборатории биоинформатики ФГБУН «Научно-исследовательский институт физико-химической медицины» ФМБА России  
**Адрес:** 107023, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, **e-mail:** kirika77@gmail.com

**Петров Вячеслав Алексеевич**, младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России  
**Адрес:** 634001, Томск, Московский тракт, д. 2, **e-mail:** vyacheslav.a.petrov@mail.ru

**Тягт Александр Викторович**, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории биоинформатики ФГБУН «Научно-исследовательский институт физико-химической медицины» ФМБА России  
**Адрес:** 107023, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, **e-mail:** at@niifhm.ru

**Салтыкова Ирина Владимировна**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России  
**Адрес:** 634001, Россия, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (382) 251-49-67, **e-mail:** ira.salticova@mail.ru

**Деев Иван Анатольевич**, доктор медицинских наук, ассистент кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России  
**Адрес:** 634001, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (382) 251-49-67, **e-mail:** ivandeyev@yandex.ru

**Куликов Евгений Сергеевич**, доктор медицинских наук, доцент кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России  
**Адрес:** 634001, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (382) 251-49-67, **e-mail:** evgeny.s.kulikov@gmail.com

**Кириллова Наталья Александровна**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России  
**Адрес:** 634001, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (382) 251-49-67, **e-mail:** kirillova@mail.ru

**Говорун Вадим Маркович**, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе ФГБУН «Научно-исследовательский институт физико-химической медицины» ФМБА России, главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории «Омиксные технологии» Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета  
**Адрес:** 107023, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, **e-mail:** niifhm@fmbamail.ru

**Кострюкова Елена Сергеевна**, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией постгеномных исследований в биологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт физико-химической медицины» ФМБА России, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории «Омиксные технологии» Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета  
**Адрес:** 107023, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, **e-mail:** el-es@yandex.ru