

## Arabic Abstract

### المستخلص

من المعروف أن فرط ارتفاع الكوليسترول في الدم هو احد العوامل الخطرة في تطوير أمراض القلب والأوعية الدموية. وقد وجد أن جراثيم القناة الهضمية (GM) تؤثر على الكوليسترول وايض الدهون، لكن ما مدى تأثير هذه الجراثيم على المرضى بفرط ارتفاع كوليسترول الدم وعند علاجهم بعقار الأتورفاستاتين (العقار المخفض للكوليسترول) غير معروف حتى الآن. ولقد اصبح تكون أنواع من جراثيم القناة الهضمية أخذ في الظهور كعامل رئيسي في تطور الاضطرابات الأيضية. تهدف هذه الدراسة من التحقق من تغيرات جراثيم القناة الهضمية في مرضى فرط كوليسترول الدم الذين لم يتناولوا عقار الأتورفاستاتين وهو العقار الذي يعمل على تثبيط انزيم الرديكتينز ومقارنتهم بالذين تناولوا العلاج. قسمت هذه التجربة على الحيوانات و الإنسان. في الحيوانات (فئران)، تم تقسيمهم الى سبع مجموعات ، وفقاً الى النظام الغذائي المتبع (نظام غذائي طبيعي ونظام غذائي يحتوي على نسبة عالية من الدهون) ووفقاً للعلاج بعقار أتورفاستاتين (تركيز العقار في النظام الغذائي العادي ١٠ ملغ/كجم، وفي عالي الدهون ٥ و ١٠ و ٢٠ ملغ/كجم). أما في الإنسان فقد تم تقسيمهم الى ثلاثة مجموعات، المجموعة الأولى هم مرضى فرط كوليسترول الدم ولا يتلقون العلاج بالأتورفاستاتين والمجموعة الثانية هم مرضى فرط كوليسترول الدم و يتلقون العلاج بالأتورفاستاتين والمجموعة الثالثة المجموعة الضابطة وهم الأشخاص العاديين. تم استخدام تقنية ١٦ اس التسلسل الجيني الرببوزي العميق لتحليل تغير جراثيم الأمعاء في عينات البراز في كل المجموعات. لوحظ أن عقار الأتورفاستاتين قد غير في تشكيل هيكل وتنوع جراثيم القناة الهضمية في الإنسان والحيوان، وان تشكيل هيكل هذه الجراثيم قد تغير جوهرياً مع زيادة التنوع البكتيري سواء في المجموعات المعالجة وغير المعالجة. من ناحية أخرى، كان التنوع البكتيري في البشر أكبر بين مرضى فرط كوليسترول الدم ولكنهم أقل في المجموعة المعالجة. كما لوحظ انخفاض كبير في مستوى الكوليسترول عند العلاج بالأتورفاستاتين المحدد بالجرعة.

وقد لوحظ زيادة في نمو النوع البكتيري بروتيوباكثيريا مع انخفاض في النوع البكتيري فيرميكوتس/ باكتريوديتس عند علاجها بجرعة محددة من أتورفاستاتين في المجموعة عالية الدهون. اظهرت النتائج كذلك أن الأجناس البكتيرية المهيمنة وتشمل بريفوتيللا، بارابريفوتيللا، أوسيلوسبيريا، بارابريفوتيللا كلارا، بريفوتيللا كوبري، باكتيريوديس

سارتوري، بريفوتيل ديتاسيني و باكتيرويدس كوبروكولا عادت الى النمو في المجموعة عالية الدهون المعالجة. كذلك أظهرت بكتيريا بروتيوباكتيريا، البكتيريا الملينة، أوزيلوسيرا إي و ديسولفوفيريو بيجر اظهرت نمواً مماثلاً في الفئران المعالجة بعقار الأتورفاستاتين. في مرضى فرط الكلسترول في البشر وجد أن النمو النسبي في البكتيريا المرتبطة بتصلب الشرايين مثل بكتيريا كولينزيبا والبكتيريا العقدية كان عالي التنظيم في حين أن الأصناف البكتيرية المضادة للالتهابات والأصناف المفيدة بما في ذلك بكتيريا فيكاليباكتريوم براوسنيتزي، أكرمانزيا موسينيغيا، و جنس أوزيلوسيرا كانت أقل وفرة مقارنة مع المرضى المعالجين بالأتورفاستاتين. إضافة إلى ذلك، لوحظ أن وفرة سلالات بكتيريا ديسولفوفيريو، و البكتيريا المتعلقة بالالتهابات، وبكتيريا بيلوفيا وادسورثيا و بيفيدوباكتريوم بيفيدوم، وكلاهما مرتبطتين بوحدات التصنيف التشغيلي المرتبطة بالحمض الصفراوي قد انخفض مقارنة مع المرضى المعالجين بالعقار.

واستناداً إلى تحليل ارتباط سبيرمان، وجد أن هناك ارتباط سلبي مع الكوليسترول الكلي في الدم والبروتين الدهني منخفض الكثافة لمستوى الكوليسترول في الانسان، في سلالة بكتيريا فيكاليباكتريوم، و فيكاليباكتريوم براوسنيتزي، و أكرمانزيا موسينيغيا، ولكن الارتباط مع البروتين الدهني عالي الكثافة والكوليسترول وجد انه كان إيجابياً. وبالمثل فإن الأنواع البكتيرية في الفئران مثل باكتريوم المستقيم، وسلالة الكلوسترديوم، وبريفوتيل ستيركوريا و أوسيلوسيرا وجد انها مرتبطة سلبياً مع البروتين الدهني منخفض الكثافة ومستوى الكوليسترول. بينما وجد أن السلالات البكتيرية مثل بريفوتيل كوبري و بريفوتيل أورانتيا و كلوستريديوم تينوسبورم و كلوستريديوم ألكاليسيلولوسي و جونزيبا إغنافا و باكتيرويدس كوبروكولا و بريفوتيل ألبنيسيس كلها ارتبطت ارتباطاً إيجابياً بالكوليسترول الكلي والبروتين الدهني منخفض الكثافة. إن جراثيم الأمعاء الدقيقة في مجموعة مرضى فرط الكلسترول العالي والمجموعة ذو النظام الغذائي عالي الدهون أظهرت اختلافاً ميكروبياً حيث اظهرت عوداً كبيراً في النمو خلال العلاج بالأتورفاستاتين عند مرضى فرط الكلسترول بتركيزه ٥ الى ٢٠ ملغ / كجم.

في الختام، إن تناول أتورفاستاتين قد يسبب تغييراً في جراثيم القناة الهضمية ، وخاصة بين الأصناف المرتبطة بحمض الصفراء والالتهابات. ولوحظ كذلك زيادة وافرة في البكتيريا المضادة للالتهابات جنباً إلى جنب مع انخفاض في نمو الأصناف المؤدية للالتهابات عند مرضى فرط الكلسترول المعالجين بالعقار. في حين ، وجد أن العلاج

بالأتورفاستاتين خفض من التنوع البكتيري في الحيوانات مع تحول شامل في جراثيم القناة الهضمية، وهذا يشير إلى الأثر الواضح للدواء على جراثيم أمعاء العائل.

**الكلمات المفتاحية:** جراثيم القناة الهضمية ، أتورفاستاتين، نظام غذائي عالي الدهون، فرط كوليسترول الدم.

## Abstract

Hypercholesterolemia is known as one of the important risk factors for the development of cardiovascular diseases (CVD). The composition of gut microbiota (GM) influences cholesterol and lipid metabolism, but the effect of GM in the context of hypercholesterolemia and treatment with atorvastatin (a cholesterol-lowering drug) is unknown. The species composition of the GM is emerging as a key factor in the development of metabolic disorders. The aim of this study was to investigate the alteration in GM due to hypercholesterolemia and with atorvastatin administration, a commonly prescribed HMG-CoA reductase inhibitor. This study was divided into two studies, i.e., i) Animal study and, ii) Human study. In the animal study, 7 experimental groups were developed, based on diet (normal chow diet [NCD] and high-fat diet [HFD]), and atorvastatin treatment [NCD-T (10 mg/kg), HFD-5 mg/kg, HFD-10 mg/kg, HFD-15 mg/kg and HFD-20 mg/kg] in rats. Whereas, in the human study; 3 groups including hypercholesterolemic patients (HP) and atorvastatin-treated hypercholesterolemic patients (At-HP) relative to healthy subjects (HS) were included. 16S rRNA metagenomic sequencing was employed to analyze the GM. The atorvastatin treatment shifted the structure and diversity of GM in both the human and animal model. The GM structure was substantially modulated along with increased bacterial diversity, in atorvastatin-treated HFD and NCD group, then HFD control. Whereas, the bacterial diversity was greater among HP but lower in the At-HP group. Significantly reduced cholesterol level was observed under dose-dependent atorvastatin treatment. Atorvastatin-treatment reduced the Firmicutes/Bacteroidetes ratio, while increased the abundance of Proteobacteria in HFD rats. Dominant taxa include *Prevotella*,

*Paraprevotella*, *Oscillospira*, *Paraprevotella clara*, *Prevotella copri*, *Bacteroides sartorii*, *Prevotella dentasini* and *Bacteroides coprocola*, showed reverted growth in drug-treated HFD group. The *Oscillospira eae* and *Desulfovibrio piger*, exhibited a similar growth response, after atorvastatin treatment to HFD and NCD group. In HP, the relative growth of atherosclerosis (AS)-associated taxa such as *Collinsella* and *Streptococcus* was up-regulated, whereas anti-inflammatory/beneficial taxa, including *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila*, and genus *Oscillospira*, had lower abundance compared with At-HP. In addition, the abundance of *Desulfovibrio* sp., a pro-inflammatory taxon, and *Bilophila wadsworthia* and *Bifidobacterium bifidum*, both bile acid-associated operational taxonomic units (OTUs), were reduced in At-HP compared with HP.

Based on Spearman correlation analysis, a negative correlation ( $\rho > -0.26$ ) with total serum cholesterol and low-density lipoprotein (LDL) -cholesterol level existed for *Faecalibacterium* sp., *Faecalibacterium prausnitzii*, and *Akkermansia muciniphila*, but the correlation ( $\rho > -0.28$ ) with high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol was positive. The GM composition in the HP group was altered, and the taxa that were dysbiotic in the HP group showed significant resilience in the At-HP group. In conclusion, atorvastatin intake causes GM alteration, particularly among taxa associated with bile acid, AS, and inflammation. An overall increased abundance of anti-inflammatory bacteria along with the reduced growth of pro-inflammatory taxa was observed in At-HP. Our animal study highlighted, a pattern in the growth of selective bacteria under dose-dependent atorvastatin treatment, the reduced bacterial diversity and the modulation of an overall

GM, along with the growth of some beneficial taxa, that suggests the impact of the drug on the GM of the host.

**Key words:** Gut microbiota, Atorvastatin, High fat diet, Hypercholesterolemia